KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 35, No. 5, pp. 914~917 (2003)

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

반응표면분석법을 응용한 tagatose와 glycine 모델 용액의 Maillard 갈변반응의 최적화

류소영 · 노희진[1] · 노봉수[2] · 김상용[3] · 오덕근[4] · 이원종[5] · 윤정로[5] · 김석신*
가톨릭대학교 식품영양학과, [1]동양제과(주) 기술개발연구소, [2]서울여자대학교 식품미생물공학과
[3]바이오앤진 기술개발연구소, [4]세종대학교 생명공학과, [5]강릉대학교 식품과학과

Optimization of Maillard Reactions of Tagatose and Glycine Model Solution by Appyling Response Surface Methodology

So-Young Ryu, Hoe-Jin Roh[1], Bong-Soo Noh[2], Sang-Yong Kim[3], Deok-Kun Oh[4], Won-Jong Lee[5], Jung-Ro Yoon[5] and Suk-Shin Kim*
Department of Food Science and Nutrition, The Catholic University of Korea
[1]R&D Center, Tong Yang Confectionery Co.
[2]Department of Food and Microbial Technology, Seoul Women's University
[3]R&D Center, Bio & Gene Co.
[4]Department of Bioscience and Biotechnology, Sejong University
[5]Department of Food Science, Kangnung National University

This study was undertaken to find the optimum condition for the Maillard browning reaction of tagatose and glycine model solution by applying the response surface methodology. Independent variables were pH (3, 5, 7), temperature (70, 85, 100°C), and time (60, 180, 300 min), while the dependent variables were absorbance, yellowness, color difference, and organoleptic score. The quadratic models with the cross-product proved to be suitable, due to the high coefficients of determination and the lack of fit results. Since all the dependent variables had saddle points, the optimal points were determined through ridge analysis. For absorbance, yellowness, and color difference, the optimal points were the lowest values; in contrast, the optimal point of organoleptic score was the highest value.

Key words: tagatose, glycine, Maillard browning reaction, response surface methodology

서 론

Tagatose는 설탕의 92%에 해당하는 단맛을 지니고 있고, 설탕과 유사한 점성과 갈변성을 지니고 있으면서도 g당 6.3 kJ(1.5 kcal)을 공급하는 이상적인 저열량 감미료이다[1-4]. 국외의 경우 설탕을 대체할 수 있는 tagatose의 실용화를 앞두고 있으나, 국내의 경우에는 최근 노 등[5,6]이 tagatose의 물리적·이화학적 특성을 설탕과 비교, 초콜렛제품으로 응용하여 보고한 연구 이외에는 tagatose에 대한 본격적인 연구가 부족한 실정이다.

Maillard 갈변반응은 식품의 가공 또는 저장 중에 환원당과 아미노산 사이에 비효소적으로 일어나는 반응으로서, tagatose와 같은 당류를 식품에 첨가할 경우 이 반응을 피하기 어렵다. Maillard 갈변반응은 식품에 맛, 향기, 색깔, 항산화효과를 부여하는 등 유리한 경우도 있지만, 색깔을 어둡게 하여 품질을 저하시키거나 당이나 아미노산 손실에 기인된 영양 손실을 초래하는 등 불리한 경우도 있기 때문에 식품의 제조 목적에 따라 이 반응을 최적화할 필요가 있다. 이 Maillard 갈변반응을 좌우하는 온도, pH, 시간 등에 대한 연구가 많았음에도 불구하고 이 요인들의 상호의존성과 그에 따른 Maillard 반응의 최적화에 대한 연구는 많지 않으며[7-9] 더욱이 tagatose의 Maillard 갈변반응의 최적화연구는 전혀 이루어지지 않고 있는 실정이다.

최근 제품개발, 공정개발, 원가절감, 분석방법개발, 품질관리 등 다양한 분야의 최적화연구를 위해 반응표면분석법(Response Surface Methodology, RSM)이 널리 사용되고 있다[10-14]. 이 반응표면분석법은 독립변수가 복합적인 작용으로 종속변수에 영향을 주고 있을 때 반응의 변화가 이루는 반

*Corresponding author : Suk Shin Kim, Department of Food Science and Nutrition, The Catholic University of Korea, Buchon City, Kyonggi-do 420-741, Korea
Tel: 82-32-340-3316
Fax: 82-32-340-3316
E-mail: kimsukshin@catholic.ac.kr

응표면에 대한 통계적인 분석을 하는 도구이다. 이를 통해 독립변수와 종속변수 간의 함수관계를 자료로부터 추정하여 독립변수 값의 변화에 따른 종속변수 값의 예측이나 독립변수의 어떤 값에서 반응량이 최적화될 수 있는지 탐색하는 방법이다. 또한 이 방법은 tagatose와 같이 고가인 시료에 적용할 때 대단히 유리한 것으로 알려져 있다.

이에 따라 본 연구에서는 tagatose와 glycine을 혼합한 모델용액을 대상으로 반응표면분석을 응용하여 pH, 온도, 시간이 Maillard 갈변반응에 미치는 영향을 알아보고, 적정한 갈색이 발현될 수 있는 최적조건을 찾고자 하였다.

재료 및 방법

재료

모델용액 제조용 glycine은 Sigma사(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)의 특급시약을 사용하였고, tagatose(순도99%)는 MD사(MD Foods Ingredients amba, Denmark)로부터 공급받아 사용하였으며, 모델용액 제조 시 3차 증류수를 사용하였다.

모델용액 제조 및 가열실험

0.2 M tagatose 수용액과 0.2 M glycine 수용액을 각각 1 : 1로 혼합한 당-아미노산 모델용액의 pH를 0.1 N HCl과 0.1 N NaOH로 3, 5, 7로 조정하고 15 mL씩 screw cap이 달린 시험관에 넣고 마개를 한 다음 70, 85, 100°C의 수조에서 1, 3, 5시간 가열하였다. 가열이 끝난 시험관을 흐르는 수돗물로 냉각시킨 후 흡광도와 색도를 측정하였다.

갈변도 측정 실험

흡광도의 측정: Maillard 갈변반응액의 흡광도를 UV-VIS spectrophotometer(Hitachi, U-2000, Japan)를 사용하여 파장 420 nm에서 측정하였다[15,16].

색도의 측정: Maillard 갈변반응액의 색도는 색차계(Tokyo Denshoku, Digital Color Meter TC-3600, Japan)를 사용하여 Hunter L(명도), a(적색도), b(황색도)값으로 측정하였다. 이때 사용된 표준판은 L = 90.4, a = 0.8, b = 3.0의 값을 가진 백색판이였으며, 측정된 Hunter값들로부터 다음 식에 의해 ΔE (색차)를 계산하였다[17].

$$\Delta E = \sqrt{[(L_t - L_0)^2 + (a_t - a_0)^2 + (b_t - b_0)^2]} \quad (1)$$

여기서 L_t, a_t, b_t는 t시간이 경과한 후 반응액의 값이고, L_0, a_0, b_0는 표준백색판의 값이다.

색도의 관능적 평가

모델용액의 최적 색깔의 기준을 시판되는 담색맥주의 색깔로 정했다. 시판 맥주에 3차 증류수를 가해 2, 4, 8배 희석한 시료와 시판 맥주를 rotary evaporator로 2, 4, 8배 농축시킨 시료를 만들어 가 표준시료마다 흡광도를 측정하였다. 또한 시료의 색깔에 대한 관능 평점의 경우 시료의 농도와 관능평점의 관계를 1차반응으로 가정한 후 시판맥주의 색깔이 표준이므로 이에 임의적으로 5점을 부여하였고 2배 희석하거나 농축한 맥주의 색도에는 관능점수 4를, 4배 희석하거나 농축한 맥주의 색도에는 관능점수 3을, 8배 희석하거나 농축한 맥주의 색도에는 관능점수 2를 부여하였다. Table 1에 이 표준시료들의 흡광도와 관능평점의 관계를 정리하여 나타내었다. 이 결과 시료농도의 대수값과 관능평점은 Fig. 1과 같이 y축의 절편값을 최대값으로 가지며 기울기가 반대인 직선관계를 보였다. 이러한 결과를 토대로 각 시료의 관능평점은 별도의 관능검사없이 흡광도 측정값을 Table 1의 표준시료의 경우와 비교하여 보간법으로 계산하였다.

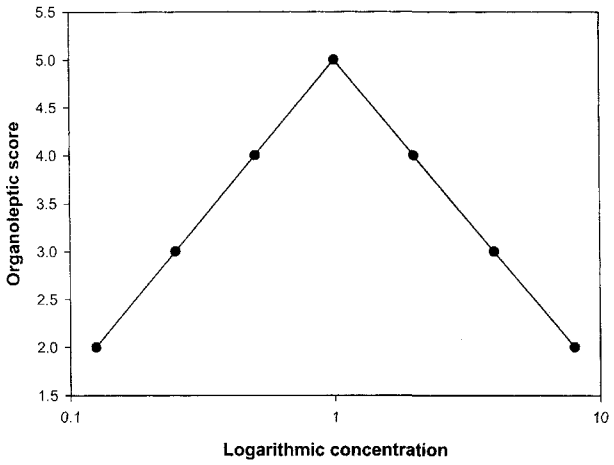

Fig. 1. The linear relationship between organoleptic score and logarithmic concentration.

Table 1. Absorbance and organoleptic score of standard color sample

Sample number	Concentration	Absorbance	Organoleptic score
1	1/8	0.033	2
2	1/4	0.065	3
3	1/2	0.128	4
4	1/1	0.255	5
5	2/1	0.748	4
6	4/1	1.576	3
7	8/1	2.846	2

Maillard 갈변반응 최적화를 위한 실험계획

Maillard 갈변반응의 최적조건을 알아보고자 중심합성계획(central composite design)을 사용하여 실험계획을 세웠고, 반응표면 회귀분석을 위해 SAS(Statistical Analysis System) program을 사용하였다. 독립변수인 반응pH(X_1), 반응온도(X_2), 반응시간(X_3)을 −1, 0, 1로 부호화하였고 420 nm에서의 흡광도, 황색도, 색차, 관능점수를 종속변수로 하여 Table 2와 같이 3개의 독립변수를 3수준으로 하는 일부요인설계(fractional factorial design)에 의해 실험을 설계하여 15개의 선정된 조건에서 실험을 실시하였다. 이 때 세 개의 독립변수에 대한 2차 회귀모형은 다음과 같았다.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 +$$

Table 2. The fractional factorial design by RSM computer program for optimization

Treatment	pH	Temperature (℃)	Time (min)
1	3(-1)	70(-1)	180(0)
2	7 (1)	70(-1)	180(0)
3	3(-1)	100(1)	180(0)
4	7 (1)	100(1)	180(0)
5	3(-1)	85 (0)	60(-1)
6	7 (1)	85 (0)	60(-1)
7	3(-1)	85 (0)	300(1)
8	7 (1)	85 (0)	300(1)
9	5 (0)	70(-1)	60(-1)
10	5 (0)	100(1)	60(-1)
11	5 (0)	70(-1)	300(1)
12	5 (0)	100(1)	300(1)
13	5 (0)	85 (0)	180(0)
14	5 (0)	85 (0)	180(0)
15	5 (0)	85 (0)	180(0)

$$\beta_1{}^1X_1{}^2+\beta_2{}^2X_2{}^2+\beta_3{}^3X_3{}^2 \quad (2)$$

여기서 Y는 종속변수, 즉 흡광도, 황색도, 색차, 관능점수이고, X_1, X_2, X_3는 독립변수, 즉, X_1은 pH, X_2는 반응온도, X_3는 반응시간이며, β는 계수이다. X_1, X_2 및 X_3의 각 독립변수는 수준을 3수준으로 하고 계산의 편의를 위하여 다음 식을 사용하여 −1~1 범위의 code value를 갖도록 선형화하였다.

$$X_1 \text{ code} = (\text{pH}-5)/2 \quad (3)$$

$$X_2 \text{ code} = (\text{온도}-85)/15 \quad (4)$$

$$X_3 \text{ code} = (\text{시간}-180)/120 \quad (5)$$

결과 및 고찰

Maillard 반응의 최적화 결정

반응pH, 반응온도, 반응시간에 따른 tagatose와 glycine 모델용액의 Maillard 갈변반응의 최적조건을 알아보기 위하여 Table 2의 15개 처리조합으로 Maillard반응을 유도하고 흡광도, 황색도, 색차를 조사한 결과는 Table 3와 같았다.

Tagatose-glycine 모델용액의 Maillard 갈변반응조건을 최적화하기 위하여 반응pH, 반응온도, 반응시간의 세가지 조건을 독립변수 X_1, X_2 및 X_3로 놓고 흡광도, 황색도, 색차, 관능점수를 종속변수 Y_1, Y_2, Y_3, Y_4로 입력하여 그 관계를 Taylor second order equation(Taylor 2차식)으로 계산한 회귀식을 Table 4에 나타내었다.

흡광도, 황색도, 색차 모두 pH, 온도, 시간의 순으로 영향을 더 많이 받는 것으로 나타났고, Lackfit을 이용한 적합결여검정에서 현재의 모형이 적합한 것으로 나타났으며 최적점에 대한 분석결과 안장점(saddle point)으로 나타나 흡광도가 최소화되는 것을 기준으로 능선(ridge)분석을 행하였다.

흡광도에 대한 회귀식(Y_1)의 결정계수(R^2)는 0.94이었고, 일차항들의 계수와 교차곱 항의 계수 간에는 p = 0.0043, 0.0296으로 $p<0.05$ 이내에서 유의성이 있었으나 이차항들의 경우는 p = 0.1129로 유의성이 없는 것으로 나타났으며, 최적점은 pH 3.36, 온도 85.44℃, 시간 110.79분으로 예측되었다. 황색도에 대한 회귀식(Y_2)의 결정계수(R^2)는 0.98이었고, 일차항, 이차항, 교차곱 항의 계수 간에는 p = 0.0001, 0.0207, 0.0024로 $p<0.05$ 이내에서 유의성이 모두 인정되었으며, 최적점은 pH 4.35, 온도 83.88℃, 시간 66.73분으로 예측되었다. 색차에 대한 회귀식(Y_3)의 결정계수(R^2)는 0.91이었고, 일차항, 이차항, 교차곱 항의 계수 간에는 p = 0.0194, 0.2390, 0.0625로 $p<0.05$ 이내에서는 일차항만 유의성이 인정되었으며, 최적점은 pH 3.39, 온도 86.60℃, 시간 109.21분으로 예측되었다.

관능평점 역시 pH, 온도, 시간의 순으로 영향을 받는 것으로 나타났고, Lackfit을 이용한 적합결여검정에서 현재의 모형이 적합한 것으로 나타났으며 최적점에 대한 분석결과 안장점(saddle point)으로 나타났으나 최대점과 최소점을 알 수가 없었기에 능선(ridge)분석을 행한 결과 반응변수들이 최대값을 나타내었다. 관능평점에 대한 회귀식(Y_4)의 결정계수(R^2)는 0.98이었고, 일차항, 이차항, 교차곱 항의 계수 간에는

Table 3. Absorbance, yellowness, color difference, and organoleptic score of tagatose- glycine model solution

Treatment	pH	Temperature	Time	Absorbance	Yellowness	Color difference	Organoleptic score
1	3(-1)	70(-1)	180(0)	0.016	1.75	5.834	0.970
2	7 (1)	70(-1)	180(0)	0.023	2.11	5.838	1.394
3	3(-1)	100(1)	180(0)	0.060	4.30	6.403	2.844
4	7 (1)	100(1)	180(0)	0.287	10.8	14.745	4.935
5	3(-1)	85 (0)	60(-1)	0.012	1.90	5.875	0.727
6	7 (1)	85 (0)	60(-1)	0.026	2.40	5.979	1.576
7	3(-1)	85 (0)	300(1)	0.018	2.55	5.643	1.091
8	7 (1)	85 (0)	300(1)	0.108	6.85	7.853	3.683
9	5 (0)	70(-1)	60(-1)	0.017	1.81	5.718	1.030
10	5 (0)	100(1)	60(-1)	0.045	3.20	5.955	2.375
11	5 (0)	70(-1)	300(1)	0.021	1.91	5.886	1.273
12	5 (0)	100(1)	300(1)	0.347	12.0	17.321	4.813
13	5 (0)	85 (0)	180(0)	0.034	2.60	5.981	2.031
14	5 (0)	85 (0)	180(0)	0.028	2.50	5.904	1.697
15	5 (0)	85 (0)	180(0)	0.025	2.50	5.957	1.515

Table 4. Taylor second order equations calculated by RSM program

Response	Taylor second equation
Absorbance	$Y_1 = 3.04469-0.1502X_1-0.0617X_2-0.00379X_3+0.00183X_1X_2+0.0000792X_1X_3$ $+0.000041X2X3+0.000125X12+0.000298X22+0.00000079X32$
Yellowness	$Y_2 = 84.0603-5.4708X_1-1.60796X_2-0.11891X_3+0.05125X_1X_2+0.00396X_1X_3$ $+0.00121X_2X_3+0.11302X_1^2+0.0077X_2^2+0.0000305X_3^2$
Color difference	$Y_3 = 115.594-5.479X_1-2.2041X_2-0.1407X_3+0.0694X_1X_2+0.00219X_1X_3$ $+0.00155X_2X_3-0.0156X_1^2+0.0103X_2^2+0.0000314X_3^2$
Organoleptic score	$Y_4 = 24.5871-2.49095X_1-0.39794X_2-0.04320X_3+0.01619X_1X_2+0.00332X_1X_3$ $+0.000317X_2X^3+0.09119X_1^2+0.001923X_2^2+0.000016533X_3^2$

$p = 0.0003$, 0.0898, 0.0061로 $p<0.05$ 이내에서는 일차항과 교차곱 항의 계수간의 유의성이 인정되었으며, 관능평점을 극대화할 수 있는 최적점은 pH 6.13, 온도 94.37°C, 시간 244.16분으로 예측되었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 흡광도, 황색도, 색차를 기준으로 반응표면분석을 하는 경우 종속변수의 값을 최소화하는 최적점을 찾게 되는 모순이 나타났다. 그러나 관능평점의 경우 종속변수를 극대화하는 최적점을 찾게 되었므로 tagatose-glycine 모델용액의 Maillard 반응의 최적화는 관능평점을 기준으로 삼아야 한다고 판단되었다.

요 약

본 연구는 tagatose와 glycine을 혼합한 모델용액을 대상으로 반응표면분석을 응용하여 pH, 온도, 시간이 Maillard 갈변반응에 미치는 영향을 알아보고, 적정한 갈색이 발현될 수 있는 최적조건을 찾고자 수행되었다. 반응pH, 반응온도, 반응시간을 독립변수로 하고 흡광도, 황색도, 색차, 및 관능평점을 종속변수로 하여 pH 3, 5, 7, 온도 70, 85, 100°C, 시간 60, 180, 300분의 범위에서 반응표면분석을 행하였다. 회귀식의 결정계수는 0.91~0.98의 높은 범위를 보였고, 적합결여검정 결과 모형들이 적합한 것으로 나타났다. 흡광도, 황색도, 색차, 및 관능평점 모두 종속변수들이 안장점을 보여 능선분석을 하였는데, 흡광도, 황색도, 색차의 경우 최소점을 기준으로 최적점을 찾았으나 관능평점의 경우 최대점을 기준으로 최적점을 찾을 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 가톨릭대학교 교비연구비의 지원으로 이루어졌음.

문 헌

1. Nabors, L.O. Sweet choices: Sugar replacements for foods and beverages. Food Technol. 56: 28-34, 45 (2002)
2. Levin, G.V., Zehner, L.R., Saunders, J.P. and Beadle, J.R. Sugar substitutes: Their energy values, bulk characteristics and potential health benefits. Am. J. Clin. Nutr. 62(supplement): 1161S-1168S (1995)
3. Zehener, L.R. D-Tagatose as a low-calorie carbohydrate sweetener and bulking agent. US patent 4,786,722 (1998)
4. Mazur, A.W. Functional sugar substitutes with reduced calories. Eur. Patent 0341062A2 (1989)
5. Roh, H.J., Kim, S.Y., Noh, B.S., Kim, S.S. and Oh, D.K. Application of a low calorie sweetener, tagatose to chocolate product. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 237-240 (1998)
6. Roh, H.J., Kim, S.Y., Kim, S.S., Oh, D.K., Han, K.Y. and Noh, B.S. Physicochemical properties of a low calorie sweetener, tagatose. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 24-29 (1999)
7. Bates, L., Ames, J.M., MacDougall, D.B. and Taylor, P.C. Laboratory reaction cell to model Maillard color development in a strach-glucose-lysine system. J. Food Sci. 63: 991-996 (1998)
8. Lee, G.D., Kim, J.S. and Kwon, J.H. Monitoring of dynamic changes in Maillard reaction substrates by response surface methodology. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 212-219 (1996)
9. Ryu, K.C., Chung, H.W., Lee, G.D. and Kwon, J.H. Color changes and optimization of organoleptic properties of roasted polygonatum odoratum tea. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 831-837 (1997)
10. Park, N.Y., Kwon, J.H. and Kim, H.K. Optimization of extraction condition for ethanol extracts from *chrysanthemum morifolium* by response surface methodology. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1189-1196 (1998)
11. Jeong, Y.J., Lee, G.D. and Kim, K.S. Optimization for the fermentation condition of persimmon vinegar using response surface methodology. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1203-1208 (1998)
12. Hong, J.H., Youn, K.S. and Choi, Y.H. Optimization for the process of osmotic dehydration for the manufacturing of dried kiwifruit. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 348-355 (1998)
13. Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J.L. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. J. Food Sci. 57: 190-193 (1992)
14. Kim, Y.H., Chang, K.S. and Park, Y.D. Optimization of β-carotene from carrot by supercritical carbon dioxide. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 411-416 (1998)
15. Song, P.S., Chichester, C.O. and Stadman, F.H. Kinetic behavior and mechanism of inhibition in the Maillard reaction: Kinetic behavior of the reaction between D-glucose and glycine. J. Food Sci. 31: 906-913 (1966)
16. Song, P.S. and Chichester, C.O. Kinetic behavior and mechanism of inhibition in the Maillard reaction; Mechanistic considerations in the reaction between D-glucose and glycine. J. Food Sci. 31: 914-926 (1966)
17. Francis, F.J. Blueberries as a colorant ingredient in food products. J. Food Sci. 50: 754-756 (1985)

(2003년 8월 3일 접수; 2003년 9월 15일 채택)