

지질산화에 의한 갈변에 관한 연구 - 지질과 아미노산의 Maillard 반응에 있어서 Aw와 온도의 영향 -

서 재 수

고신대학교 식품영양학과

Studies on Lipid Oxidative Browning - Effects of Water Activities and Temperatures on Maillard Reaction of Amino Acids-Oil -

Jae-Soo Suh

Dept. of Food and Nutrition, Kosin University, Pusan 606-701, Korea

Abstract

This study was carried out in order to investigate the browning reactions of fish oil-amino acid model system at different temperatures and water activities. The 23 amino acids, induced during dehydration in the presence of oil and avicel (5 to 45°C), Aw 0.33 to 0.95, were resulted in three types of browning patterns : Type I showed high browning rates at Aw 0.33, 0.95 than at Aw 0.52, 0.75 (phenylalanine, trans-4-hydroxy-L-proline, methionine, valine). Type II showed high browning rates decreased with increasing water activity (poline, leucine, isoleucine, arginine). Type III showed high browning rates at Aw 0.52, 0.75 than at Aw 0.33, 0.95 (tryptophan, cysteine, threonine, lysine). The temperature effect on the browning development of the four most active amino acids : phenylalanine, valine, trans-4-hydroxy-proline and methionine are shown to represent the 23 amino acids. Above 25°C the browning rate began to increase. Activation energy of the amino acids-fish oil was 8 to 40kcal/mole, and Q_{10} were 2 to 10.

Key words : nonenzymic browning, Maillard reaction

서 론

식품의 가공 및 저장 중에 일어나는 현상 중의 하나인 갈변은 식품자체의 품질저하 및 악변의 주된 요인으로 생각되며, 그 갈변의 결과 amino acid의 손실을 초래한다. 이 갈변은 효소적 갈변이라기 보다는 비효소적 갈변으로 carbonyl compounds와 amino compounds 상호 간의 반응이다. 이 반응의 carbonyl원으로는 당 특히 환원당에 의한 것인데, 지질을 함유한 식품 특히 고도 불포화지방산의 함량이 높은 어육의 경우 지질의 산화에 의하여 생성된 carbonyl 화합물이 이 갈변반응의 carbonyl원이 된다(1). 구성지질 중에서 인지질이 당지질이나 중성지질에 비해 산화가 빠르므로 주 carbonyl원이 된다고 알려져 있다(2).

건조 수산식품과 같이 가열 또는 탈수 공정이 수반되는 식품의 품질안정을 위해 amino와 aldose 간의 갈변 반응에서 amadori나 color compound 생성은 매우 중요하다고 보고되고 있다(3-14). 유리 amino acid (FAA)는 비효소적 반응에 있어서 peptide나 protein 보다 반응성이 크며(5-7), 특히 어육의 제조 중에 많이 생성된다. 또 Maillard반응의 정도는 그 반응의 조건 즉 수분활성도나 온도 등에 크게 좌우되며(15-22), 당-amino간의 반응에서 여러가지 amino acids 중에서 lysine, histidine, glycine, taurine 등이 강하게 반응하는 것으로 보고되고 있다(15).

한편 당-amino간의 반응에 의해 일어나는 Maillard 반응에 관한 보고는 많지만 지질산화에 의하여 생성된 연구 보고는 찾아보기 어려운 실정이다.

본 연구에서는 고도불포화지방산의 함량이 높은 어육에 23종의 amino acids를 반응시켜 수분활성 및 저장 온도를 달리하여 그 반응의 정도를 검토하여 고품질 어육 제조조건 구명 및 저장조건을 알아내기 위한 기초자

³ 이 논문은 1992년도 교육부지원 대학교수 국비해외파견 조성비에 의하여 연구되었음

료로 삼고자 한다.

재료 및 방법

재료

모든 시약은 분석용을 사용했으며 amino acid (Table 1) 는 taurine과 glycine 외는 L-form, fish oil (menheden), 각종 염류 (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO) 및 avicel (Fluka제)를 사용하였다.

모델계의 조성

23종의 amino acid를 각각 0.2g과 avicel 0.6g를 잘 섞은 다음 fish oil 0.4g을 석유 ether에 용해시켜 첨가한 후 45°C에서 휘발시켜 시료로 사용하였다.

Water activity의 조절은 각각의 포화염용액 (Aw 0.33, 0.52, 0.75, 0.95)에서 24시간 배시케이트에서 조절하였으며, 이를 밀봉하여 5, 25, 35 및 45°C에 4일간 저장하여 갈변시켰다.

갈변도의 측정

상기의 시료를 0.1g씩 취하여 10ml의 chloroform/methanol (1 : 1)용액에 하루 밤 용해시켜 여과 (Whatman No.42)하여 420nm (BACKMAN, Model DU-6)에서 흡광도를 측정하였다

결과 및 고찰

갈변반응에서 Aw의 영향

23종의 amino acids와 fish oil간의 갈변의 정도를 Aw 0.33, 0.52, 0.75, 0.95에서 그 값을 보면 서로 다른 경향을 나타냈었다 (Fig. 1~4).

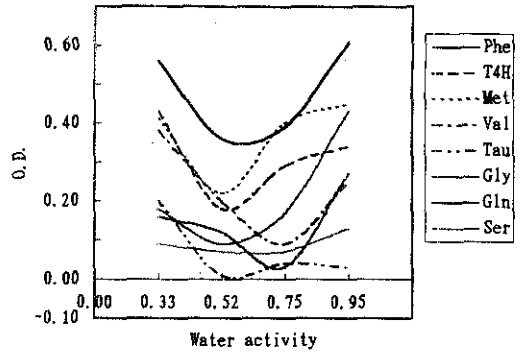
Aw 0.33~0.95 사이에서 23종의 amino acids와 fish oil

Table 1. Various amino acids used in Maillard reaction

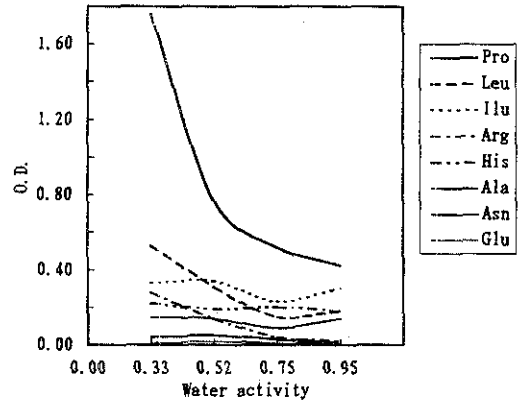
Lys	L-Lysine	His	L-Histidine
Gly	Glycine	Cys	L-Cysteine
Met	L-Methionine	Gln	L-Glutamine
Val	L-Valine	Trp	L-Tryptophan
Tau	Taurine	Asp	L-Aspartic acid
Ala	L-Alanine	Arg	L-Arginine
Asn	L-Asparagine	T4H	trans-4-Hydroxy-L-Proline
Ilu	L-Isoleucine	Leu	L-Leucine
Phe	L-Phenylalanine	Pro	L-Proline
Ser	L-Serine	Thr	L-Threonine
Tyr	L-Tyrosine	Cyst	L-Cystine
Glu	L-Glutamic acid		

과의 갈변반응에서 세가지 형태를 나타내었다. 먼저 45°C에서 Type I은 Aw가 중간 수분활성도에서 보다 낮은 수분활성도와 높은 수분활성도에서 갈변도가 높은 것으로 이 형태의 amino acid는 phenylalanine, trans-4-hydroxy-L-proline, methionine, valine 등이고 taurine, glycine, glutamine, serine 등도 같은 형태이지만 갈변의 정도가 낮았다. Type II는 Aw가 증가할수록 갈변도가

Type I



Type II



Type III

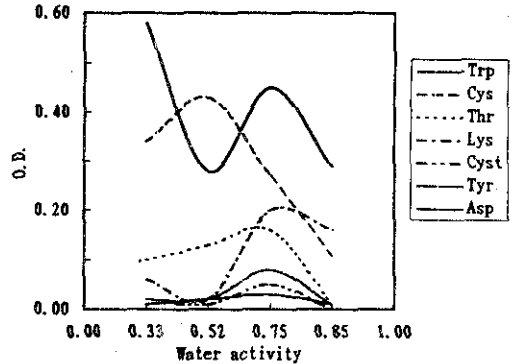


Fig. 1. Maillard reaction of amino acids with oil at 45°C at different water activities (Type I~III).

감소하는 현상을 나타낸 것으로서 낮은 Aw에서 최고치의 갈변도를 보인 것으로 proline, leucine, isoleucine, arginine, histidine, alanine 등이고, asparagine, glutamic acid

은 매우 낮은 갈변 정도로 수분활성도에 따른 변화가 없었다. Type III은 Type I과는 대조적인 경향을 보인 것

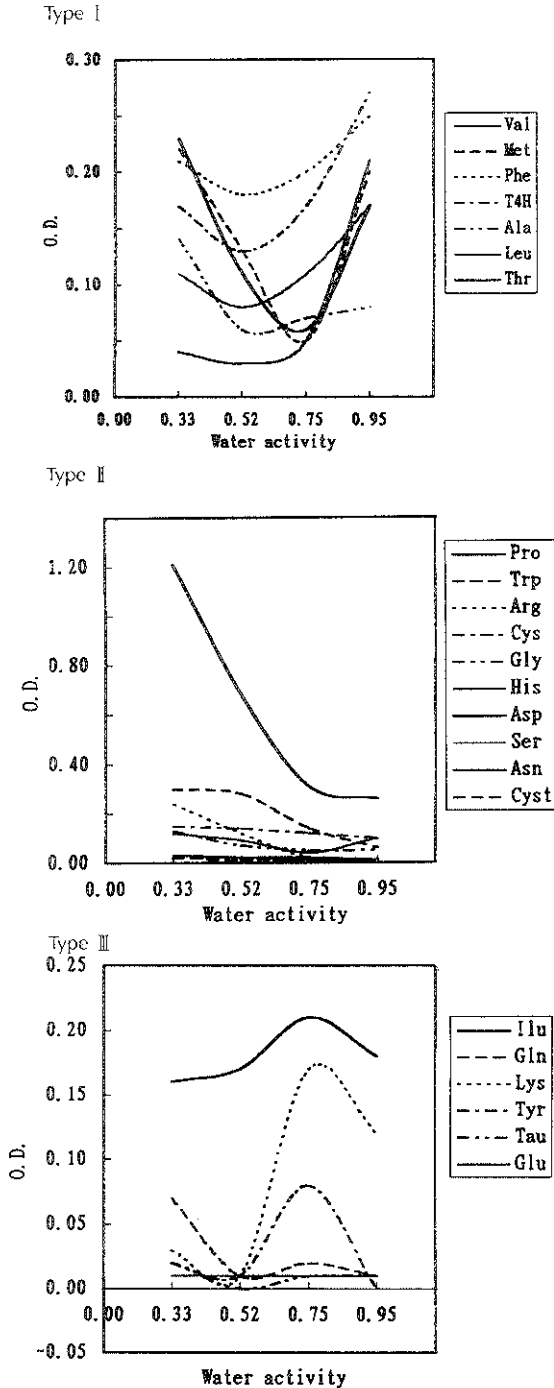


Fig. 2. Maillard reaction of amino acids with oil at 35°C at different water activities (Type I ~ III).

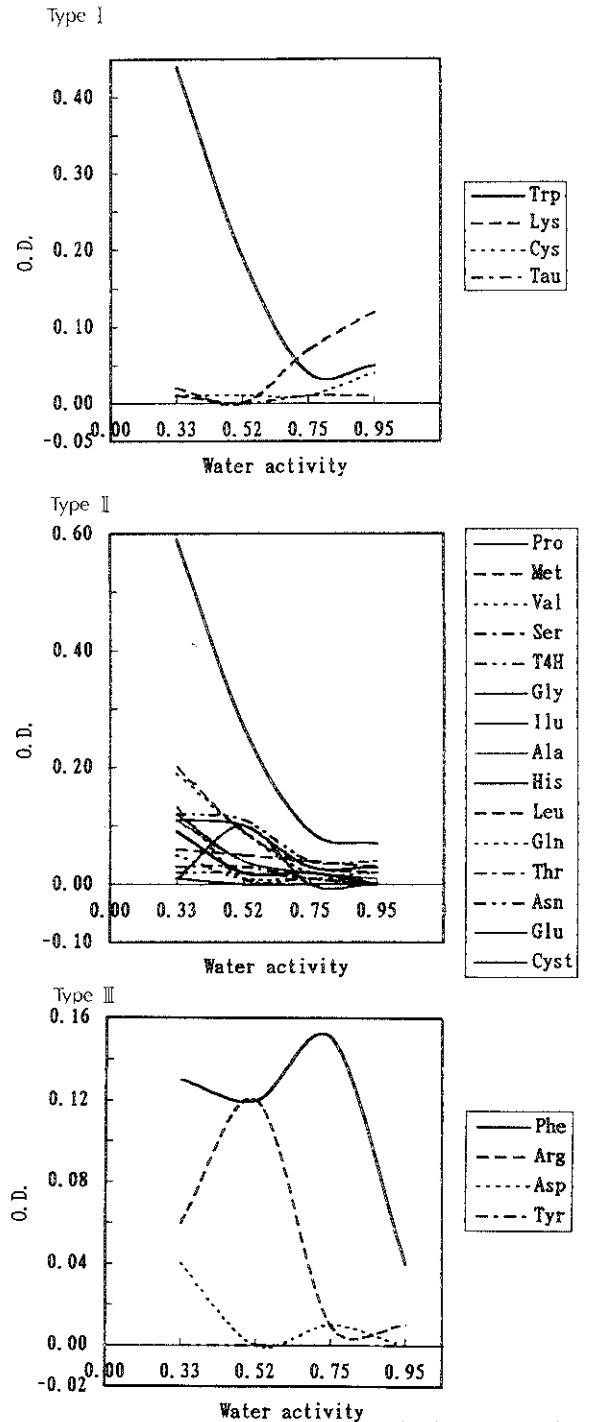


Fig. 3. Maillard reaction of amino acids with oil at 25°C at different water activities (Type I ~ III).

으로 중간 수분활성도인 0.52와 0.75에서의 갈변도가 0.33과 0.95에 비해 높은 값을 보인 것으로 tryptophan,

cysteine, threonine, lysine 등이고, cystine, tyrosine, aspartic acid 등은 그 정도가 매우 낮았다. 이러한 결과는 maillard 반응에서 당-amino acid의 결과와는 다른 결과를 나타내었다(15). Proline, arginine, cysteine과 threonine를 제외하고는 낮은 수분활성도와 높은 수분활성도가 중간 수분활성도에서의 갈변도 보다 더 높은 값을 보인 것이 대부분으로 이는 지질의 산화가 Aw에 영향을 받기 때문인 것으로 판단되며 또 phenylalanine, proline, tryptophan 등이 대체로 높은 수치를 나타냈고, serine, taurine, glutamic acid, asparagine, tyrosine, alanine, histidine, arginine, cystine의 경우는 Aw의 변화에 큰 차이가 없었다. 35°C 저장, 25°C 저장 및 5°C 저장에서도 3가지의 형태로 45°C와 비슷한 경향이었으나 45°C에 비해 낮은 갈변도를 보였고, 또 Aw의 값에 다른 그 값의 변화가 적은 amino acid가 많았다. 갈변의 정도도 35°C와 45°C에 비해 25°C와 5°C에서 매우 낮았다. 이는 지질 산화에 의하여 생성되는 carbonyl compound의 생성이 낮은 온도의 4일 동안 크게 생성되지 않았기 때문으로 생각된다.

갈변반응에서 온도의 영향

갈변의 정도와 각 amino acid들은 온도에 높은 의존도를 나타냈다. Aw에 대한 갈변도의 형태가 온도의 변화에 따라 한 형태에서 다른 형태로 바뀌는 amino acid가 많았는데 phenylalanine, taurine, trans-4-hydroxy-L-proline, methionine, valine은 45°C와 35°C에서 같은 형태를 나타냈다 [Fig. 1 (Type I), Fig. 2 (Type I)]. 또 proline과 asparagine은 전 온도구간에서 같은 type II를 보였다 [Fig. 1 (Type II), 2 (Type II), 3 (Type II) and 4 (Type II)].

갈변반응에 대한 온도의 영향은 활성이 강한 4종의 amino acid인 phenylalanine (Fig. 5), valine (Fig. 6), trans-4-hydroxy-L-proline (Fig. 7) 및 methionine (Fig. 8)을 그

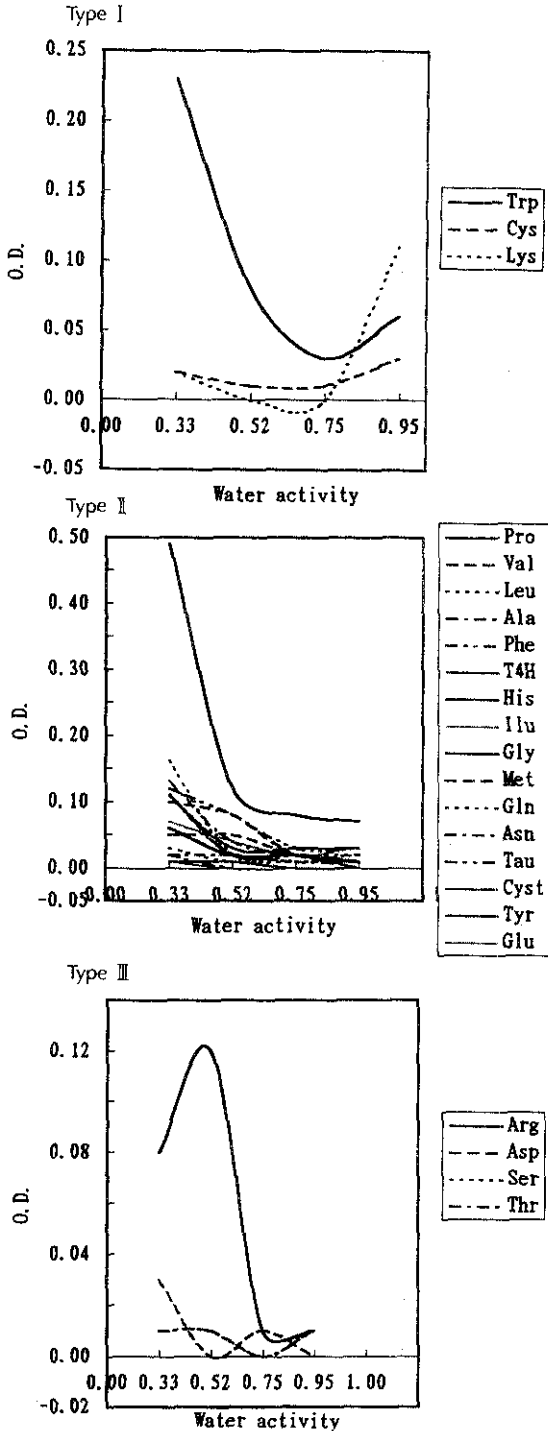


Fig. 4. Maillard reaction of amino acids with oil at 5°C at different water activities (Type I ~ III).

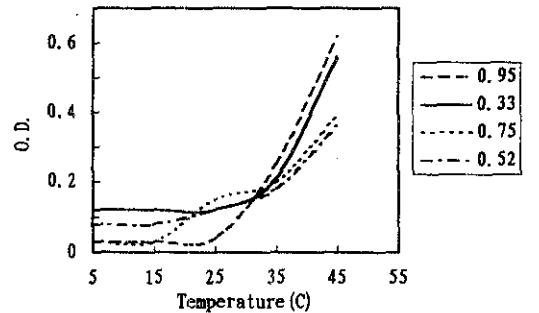


Fig. 5. Effect of temperatures on browning rate for phenylalanine-oil at different water activities.

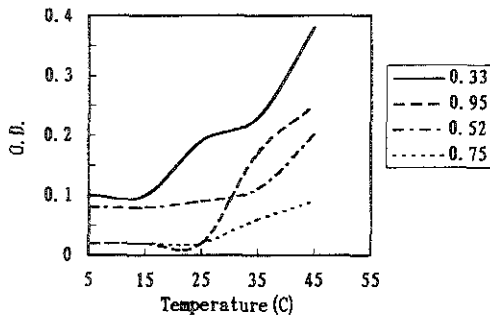


Fig. 6. Effect of temperatures on browning rate for valine-oil at different water activities.

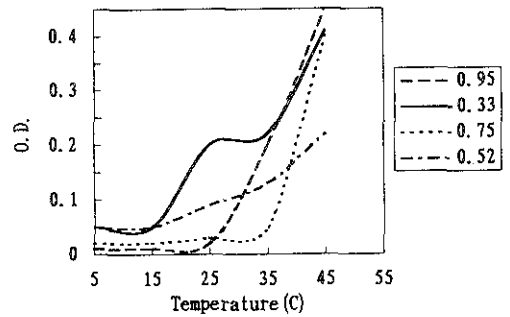


Fig. 8. Effect of temperatures on browning rate for methionine-oil at different water activities.

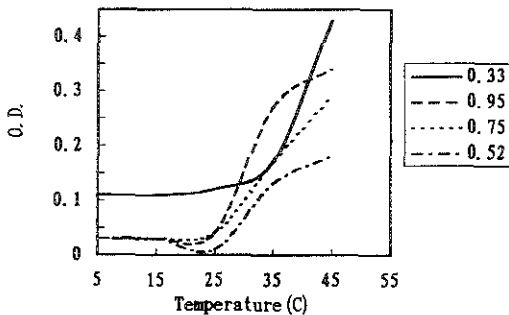


Fig. 7. Effect of temperatures on browning rate for T4H-oil at different water activities.

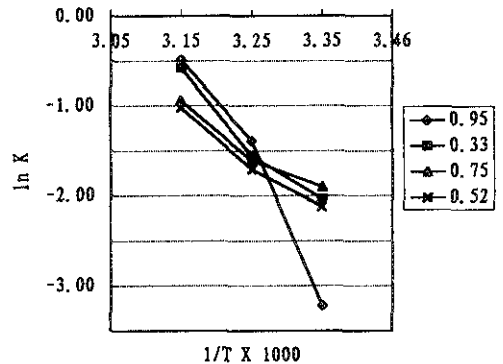


Fig. 9. Arrhenius plot for the rate of browning rate a phenylalanine-oil at different water activities.

림으로 나타냈으며 23종의 amino acid 모두 온도 의존도는 매우 높았다. 온도 25°C 이하에서는 5°C와 25°C와의 값 차이가 없었다. 25~35°C에서는 서서히 증가하는 경향을 보였고 35°C 이상의 온도에서는 급격히 증가하였다. 즉 온도에 의해 가속됨을 알 수 있었다. 이는 Tsai 등 (15)이 보고한 당-amino 반응에서의 결과와 같았다.

Labuza (23)도 35°C 이상의 온도에서 건조식품의 갈변이 탁월하게 높았다고 보고했으며 35°C가 갈변 가속 온도라고 말할 수 있다. 본 연구에서도 35°C 이상 온도에서 갈변도가 가속되었다. 갈변도는 Aw에 의한 영향보다는 온도에 의한 영향이 큼을 알 수 있다.

갈변의 kinetics

Phenylalanine-fish oil계의 45°C Aw 0.95의 갈변 정도는 다른 조건에 비해 매우 높은 값을 나타냈으며 Arrhenius plot (Fig. 9)으로 표시했다. 25°C 이하에서는 타 온도에 비해 매우 낮은 값을 나타냈고 35°C 이상에서는 높은 값을 보였다.

Activation energy는 Table 2에서 보는 바와 같이 8~40kcal/mole로 식품과 model계에서의 10~40kcal/mole에 근접한 값을 보였다 (15,16,23). 전반적으로 activation

Table 2. Activation energy for Maillard browning in amino acids-oil at different water activities at 25~45°C

	Water activity			
	0.33	0.52	0.75	0.95
Type I				
Phe	21.54	10.05	8.53	24.11
T4H	11.67	4.49	27.64	19.70
Met	6.35	8.17	24.61	27.94
Val	6.50	7.71	11.80	22.77
Tau	24.76	14.53	10.16	11.59
Gly	3.79	8.37	17.84	31.47
Gln	11.39	10.30	10.98	15.18
Ser	11.26	13.86	39.31	43.74
Type II				
Pro	9.85	9.56	16.20	15.71
Leu	19.15	16.72	13.10	17.07
Ilu	10.78	11.48	18.54	21.89
Arg	13.78	1.80	11.88	11.31
His	7.99	21.55	20.56	34.36
Ala	2.70	11.00	13.58	27.22
Asn	5.17	8.27	8.41	23.08
Glu	5.47	12.51	8.27	18.77
Type III				
Trp	8.09	3.44	22.33	16.16
Cys	13.70	36.07	27.35	9.32
Thr	11.58	14.88	28.33	48.21
Lys	10.08	11.93	9.83	2.90
Cyst	4.24	9.92	4.61	2.60
Tyr	29.46	20.32	33.30	17.57
Asp	16.17	20.79	8.97	39.44

Table 3. Q_{10} for the Maillard reaction in amino acids-oil at different water activities in the temperature range 35-45°C

	Water activity			
	0.33	0.52	0.75	0.95
Type I				
Phe	2.60	2.03	1.95	2.47
T4H	2.57	1.36	1.67	1.26
Met	1.92	1.71	7.49	2.26
Val	1.68	1.85	1.52	1.47
Tau	8.78	1.25	2.85	2.64
Gly	1.40	1.32	3.46	8.41
Gln	2.30	15.50	1.69	3.86
Ser	2.56	3.25	2.96	10.75
Type II				
Pro	1.46	1.14	1.70	1.58
Leu	4.81	4.03	1.32	1.04
Ilu	2.10	2.05	1.06	1.65
Arg	1.16	1.16	1.71	1.75
His	1.75	2.06	4.43	1.88
Ala	1.08	2.54	1.48	1.87
Asn	1.30	2.25	1.38	1.63
Glu	1.57	2.50	1.43	1.00
Type III				
Trp	1.90	1.03	3.13	4.90
Cys	2.27	3.04	2.26	1.11
Thr	2.35	4.48	3.47	-
Lys	1.83	3.00	1.16	1.33
Cyst	1.00	1.33	1.00	1.00
Tyr	1.16	1.36	1.07	2.33
Asp	-	1.33	2.00	1.60

energy은 중간 Aw에 비해 낮은 Aw와 높은 Aw에서 그 값이 높았다. Type I의 경우 Aw 0.52와 Aw 0.75에 비해 Aw 0.33과 Aw 0.95 높은 값을 나타냈으며, Type II에서는 arginine을 제외하고는 Aw의 증가와 비례하여 그 값이 증가하였다. 또 Type III의 경우에는 Aw 0.33과 Aw 0.95에 비해 Aw 0.52와 Aw 0.75에서 그 값이 높았다. 일반적으로 Type I, II, III 모두 갈변도가 높은 Aw에서 activation energy의 값이 높았다.

35°C와 45°C에서의 Q_{10} 값은 (Table 3) Type I, II, III 모두 대부분 2~10 범위였고, Type I에서 glutamine의 경우 Aw 0.52에서 15 이상, serine은 Aw 0.95에서 10 이상의 높은 수치를 나타냈다. Type II와 III에서는 Aw의 변화에 따른 값의 변화가 Type I에 비해 커지 않았다. 일반적으로 반건조나 건조식품에서 Q_{10} 은 2~6으로 보고하고 있다(16).

요 약

23종의 amino acid와 fish oil과의 갈변 반응에서 Aw

및 온도의 영향을 조사한 결과 Aw 0.33에서 Aw 0.95에서 3가지 형태를 보였다. Type I은 Aw 0.33과 Aw 0.95에서의 갈변도가 Aw 0.52와 0.75 보다 높은 값을 나타낸 것이며 (phenylalanine, trans-4-hydroxy-L-proline, methionine, valine), Type II는 수분활성도가 증가할수록 갈변도가 감소한 것이며 (poline, leucine, isoleucine, arginine), Type III은 Aw 0.33과 0.95 보다는 Aw 0.52와 0.75에서 높은 갈변도를 나타냈다 (tryptophan, cystein, threonine, lysine). 온도에 대한 갈변도의 정도는 높은 온도 의존도를 보였는데 특히 phenylalanine, valine, trans-4-hydroxy-proline 및 methionine이었다. Activation energy는 8~40kcal/mole이었고, Q_{10} 값은 2~10이었다.

문 헌

1. 豊水正道 : 7-1 水産食品中の脂質酸化と油燻け. 日本水産學會誌, 36, 847(1970)
2. Lee, K. H., Suh, J. S., Lee, J. H., Ryu, H. S., Jeong, I. H. and Song, S. H. : Lipid oxidative browning in dried fish meat. 1. Oxidation of fish oil and browning. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 22, 33(1987)
3. Hayashi, K. and Takagi, T. : Browning of dried-seasoned squid product-II. On the color-evaluation of dried-seasoned squid product and examples of the method. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 46, 87(1980)
4. Ogawa, H., Araki, S., Oohusa, T. and Kayama, M. Maillard browning of dried laver "Hoshi-nori". *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51, 433(1985)
5. Hodge, J. E. : Chemistry of browning reactions in model systems. *J. Agric. Food Chem.*, 1, 928(1953)
6. Reynolds, T. M. : Chemistry of nonenzymic browning I. The reaction between aldose and amines. *Advan. Food Res.*, 12, 1(1963)
7. Reynolds, T. M. : Chemistry of nonenzymic browning II. *Adv. Food Res.*, 14, 168(1965)
8. Bailey, M. E. : The Maillard reaction and meat flavor. In "The Maillard reaction in foods and nutrition" Waler, G. R. and Feather, M. S. (eds.), American Chemical Society, Washington, D.C., p.169(1963)
9. Lane, M. J. and Nursten, H. E. : The variety of odors produced in Maillard model systems and show they are influenced by reaction condition. In "The Maillard reaction in foods and nutrition" Waler, G. R. and Feather, M. S. (eds.), American Chemical Society, Washington, D.C., p.141(1983)
10. Person, A. M. and Gray, J. I. : Mechanism responsible for warmed-over flavor in cooked meat. In "The Maillard reaction in foods and nutrition" Waler, G. R. and Feather, M. S. (eds.), American Chemical Society, Washington, D.C., p.287(1983)
11. Baltes, W. and Bochmann, G. : Model reactions on roast aroma formation-The reaction of serine and threonine with sucrose. In "Amino-carbonyl reaction in food

- and biological systems" Fujimaki, M., Namiki, M. and Kato, H. (eds.), Kodanaha LTD, Tokyo, p.245 (1986)
12. Boissel, J. P., Kasper, T. and Binn, H. F. : Protein cross-linking during *in vitro* non-enzymatic glycation. In "Amino-carbonyl reaction in food and biological systems" Fujimaki, M., Namiki, M. and Kato, H. (eds.), Kodanaha LTD, Kokyo, p.433 (1986)
 13. Fujii, S., Tsuchida, H., Kishihara, S. and Komoto, M. : Interaction of sulfite-ammonia caramel color and β -amylase. In "Amino-carbonyl reaction in food and biological systems" Fujimaki, M., Namiki, M. and Kato, H. (eds.), Kodanaha LTD, Kokyo, p.559 (1986)
 14. Yen, G. C. and Lee, T. C. : Mutagenic and nutritional effects of nitrite on Maillard browned casein. In "Amino-carbonyl reaction in food and biological systems" Fujimaki, M., Namiki, M. and Kato, H. (eds.), Kodanaha LTD., Kokyo, p.539 (1986)
 15. Tsai, C. H., Kong, M. S. and Pan, B. S. : Water activity and temperature effects on nonenzymic browning of amino acids in dried squid and simulated model system. *J. Food Sci.*, **56**, 665 (1991)
 16. Labuza, T. P. and Saltmarch, M. : The nonenzymatic browning reaction as affected by water in foods. In "Water activity : Influence on food quality" Tockland, L. B. and Stewart, G. F. (eds.), Academic Press, New York, p. 605 (1981)
 17. Willits, C. O., Underwood, J. C., Lento, H. G. Jr. and Ricciuti, C. : Browning of sugar solutions. 1. Effect of pH and type of amino acid in dilute sugar solutions. *Food Res.*, **23**, 61 (1958)
 18. Underwood, J. C., Lento, H. G. and Willits, C. O. : Browning of sugar solutions : effect of pH on the color produced in diluted glucose solutions containing amino acids with amino groups in different positions in the molecule. *Food Res.*, **24**, 181 (1959)
 19. Namiki, M. and Hayashi, T. : Development of novel free radicals during the amino-carbonyl reaction of sugars with amino acids. *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 487 (1975)
 20. Duston, T. R. and Orcutt, M. W. : Chemical changes in proteins produced by thermal processing. *J. Chemical Education*, **61**, 303 (1984)
 21. Whistler, R. L. and Daniel, J. R. : Carbohydrates. In "Food chemistry" Fennema, O. R. (ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, p.69 (1985)
 22. Leung, H. K. : Influence of water activity on chemical reactivity. In "Water activity : Theory and applications to food" Rockland, L. B. and Beuchat, L. R. (eds.), Marcel Dekker, Inc., p.27 (1987)
 23. Labuza, T. P. : Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *J. Chemical Education*, **61**, 348 (1984)

(1995년 9월 28일 접수)