J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
31(6), 953~957(2002)

한국식품영양과학회지

GC Olfactometry를 이용한 새우의 휘발성성분 특성평가

이미정 · 이신조 · 조지은 · 정은주* · 김명찬* · 김경환 · 이양봉†

부경대학교 식품공학과
*수산식품연구소

Flavor Characteristics of Volatile Compounds from Shrimp by GC Olfactometry (GCO)

Mi-Jeong Lee, Shin-Jo Lee, Ji-Eun Cho, Eun-Joo Jung*, Myung-Chan Kim*, Gyong-Hwan Kim and Yang-Bong Lee†

Dept. of Food Science and Technology, and Institute of Sea Food Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
**Seasoning & Spicy Trading Co., Kyunggi 423-080, Korea*

Abstract

Volatile compounds from shrimp whole body (SWB) and shrimp shell waste (SSW) were isolated, and identified by the combination of SDE (simultaneous steam distillation and solvent extraction), GC (gas chromatography, HP-5890 plus)and MSD (mass selective detecter) or olfactometry. The peak numbers isolated from SWB and SSW were 20 and 46, respectively. The amounts of the volatile compounds isolated from SSW were higher than those of SWB. SWB produced more low-boiling compounds below 70°C and SSW did more high boiling compounds over 100°C. The volatile compounds identified from SSW were 9 pyrazines, 5 acids, 4 aldehydes, and 4 alcohols. These volatile compounds were evaluated by aroma extraction dilution analysis and gas chromatography olfactometry (GCO). Some compounds which were not detected by GC-FID and GC-MSD were found to be a strong shrimp flavor of $\log_3$ FD 3 value by GCO. Strong shrimp odors were detected in low temperature while nutty aromatic odors and unpleasant oily smells were found in high temperature.

Key words: shrimp, olfactometry, volatile compounds

서 론

식용으로 하는 새우 중, 대하와 보리새우가 가장 많은 양으로 소비되고 있으며 고급 수산식품으로 분류되어 수산산업에서는 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 특히 보리새우 중에서 *Penaeus* 종은 총 새우 어획량의 약 40% 정도를 차지하고 있다(1). 그러나 국내의 새우에 관한 연구는 주로 새우 및 새우 젓갈 형태에서의 휘발성 성분 분석이 Cha 등(2)에 의해 이루어지고 있으며 그 이외의 가공 형태나 껍질과 같은 부산물에 관한 연구는 키토산에 대한 영양적인 연구(3,4) 이외에는 부족한 현실이다.

새우의 부산물로 새우의 껍질이 주목할 만한데 그 이유는 새우 껍질이 독특한 향을 보유하는 점과 산패가 적기 때문에 부산물에 의한 향미 성분을 얻고자 하는데 많은 장점을 예상할 수 있으며 증가하는 추세의 음식물 쓰레기를 줄이는 환경보전적 기여도와 부산물을 이용함으로 또한 향미산업의 경제성이 기대되어진다(5 8). 그러나 새우는 여러 식품으로 이용이 가능하며 가공이 많이 되어지지만 새우의 껍질은 단단하기 때문에 다시 사용하기보다는 폐기되어지고 있는 실정이다(9).

Triqui와 Helmut(10)에 의한 새우(*Engraulis encrasicholus L.*)의 향성분에 관한 연구에서는 수산물 특유의 고소한 향보다는 sulfide류 등의 부패취가 나오는 것으로 보고되었다. 반면 Kubota 등(11)에 의한 연구에서는 가열조리된 새우의 향에 있어서는 고소한 향의 성분인 pyrazine류가 보다 많이 분리·동정되어졌다. Hsieh 등(12)에 의한 연구에서 red crayfish나 blue crab 등의 유사 갑각류에 있어서도 이러한 고소한 nutty 향이나 almond 향이 다종 발견되었다. 이러한 향을 동일하게 보유하고 있는 새우의 껍질에서 고부가가치, 고품질 향의 개발이 가능할 것으로 보인다.

일반적으로 이러한 향기 성분의 추출을 있어서 동시 증류 추출법(simultaneous steam distillation and solvent extraction : SDE)이나 초임계 추출법(supercritical extraction process)이 이용되고 있으며, 분석을 위해서는 주로 GC(gas chromatograph)-FID(frame ionization detector) 및 GC-MSD (mass selective detector)가 사용되고 있다. 또한 aroma ex-

†Corresponding author. E mail: yblee2@hanmail.net
Phone: 82-51-620-6427, Fax: 82-51-622-9248

tract dilution analysis (AEDA) 법에 근거하여 GCO를 이용한 sniffing test를 실시하면 FID나 MSD에서 검출되지 않는 향성분을 인지할 수 있다. 본 연구에서는 SDE 법을 이용하여 새우의 껍질에서 분리한 향기 성분 분석을 통하여서 천연 소재의 조미성분의 개발과 나아가서 향성분의 품질평가에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

실험에 사용된 재료는 부산시 남구 남천동 활어시장에서 구입한 15 cm가량의 새우(대롱수염새우, *Solenocera prominentis*)를 500 g씩 나누어 -70°C의 심온 냉동고에 보관하였다. 각 시료는 실험에 앞서 흐르는 물에 3회 수세한 후, 증류수로 세척하여 사용하였다. 휘발성 성분의 분리방법으로는 Likens-Nickerson apparatus를 이용한 SDE(simultaneous steam distillation & solvent extraction) 방법을 사용하여 휘발성 성분을 추출하였다.

동시 증류 추출법(SDE)

향기성분의 추출에는 Likens-Nikerson apparatus에 의한 SDE를 사용하였다. 즉, 시료를 마쇄하여 3 L 용량의 플라스크에 500 g 넣은 후 증류수 1 L를 첨가하였다. 용매용 플라스크에는 50 mL의 diethyl ether를 넣었다. 이때 시료용 플라스크에 내부 표준물질(internal standard)로 2,4,6-trimethylpyridine을 2 mL(92.2 μg) 첨가하였다.

시료를 가열하는 온도는 100°C로 하였고 diethyl ether는 활발히 휘발할 수 있도록 60~70°C 정도로 가열하였다. 가열을 약 2시간 정도 지속한 후 dietyl ether가 담긴 플라스크를 제거하여 냉동 보관으로 수분제거 후 질소가스를 이용하여 농축하였다. Sodium sulfate anhydrous를 사용하여 수분을 제거하는 과정을 수행하였고, 이후 sandwich 기법을 이용하여 1 μL를 GC에 주입하여 분석하였다(12,13).

GC-FID(frame ionized detecter)와 GC-MSD(mass selective detector) 에 의한 분석

GC 오븐(HP-5890 plus, Hewlett packard, USA)의 온도 조건은 초기온도 30°C에서 5분간 머무른 다음 3°C/min의 속도로 증가하다가 200°C에서 5분간 유지하도록 온도를 제어하였다. Column은 HP-Innowax(30 m×0.25 mm, I.D.×0.25 μm)의 polar column을 사용하였다.

GC에 주입된 총 휘발성 성분은 GC-MSD에 의해 분리·동정하였고 GC 오븐(HP-5890 plus, Hewlett packard, USA)과 MSD(HP-5972, Hewlett packard, USA)의 작동 조건은 column으로 HP-Innowax(30 m×0.25 mm×0.25 μm), 운반기체는 He 가스(1 mL/min), split ratio는 50 : 1이었다.

주입구 온도는 210°C이며 solvent delay time은 3 min이었다. Mass range는 33~300 a.m.u., ionization voltage는 70 eV, electron multiplier voltage는 1800 V이었다. Mass spectrum library는 NBS75K.L(Wiley)이었다.

GCO (GC-Olfactometry)에 의한 분석

GCO(SGE international 093500, Australia)를 이용하여 휘발성 성분의 특성을 조사하였다. GC FID를 통해 휘발성 성분을 분리한 chromatogram을 참고로 하여 sniffing port를 통해 휘발되는 냄새와 chromatogram상의 peak를 비교·분석하였다. 원액을 시작으로 3배씩 희석하는 AEDA(aroma extract dilution analysis)법으로 냄새가 검출되지 않을 때까지 실험을 계속 수행하였다. 그리고 flavor dilution factor는 희석비로서 log3FD (이후 FD로 표기함)로 표시하였다(14).

결과 및 고찰

SDE 장치를 이용한 시료의 부위별 비교

새우를 육과 껍질 부분을 분리하지 않은 것(shrimp whole body, SWB)과 가공 부산물인 껍질 부분(shrimp shell waste, SSW)만을 모아 Likens-Nickerson 장치를 이용해서 휘발성 성분을 추출하였다. Fig. 1과 같이, 각각 20개와 46개의 성분이 분리된 것을 알 수 있었다. 휘발성 성분의 양적인 면에서도 껍질 부분만을 처리한 시료에서 훨씬 더 많은 것을 볼 수

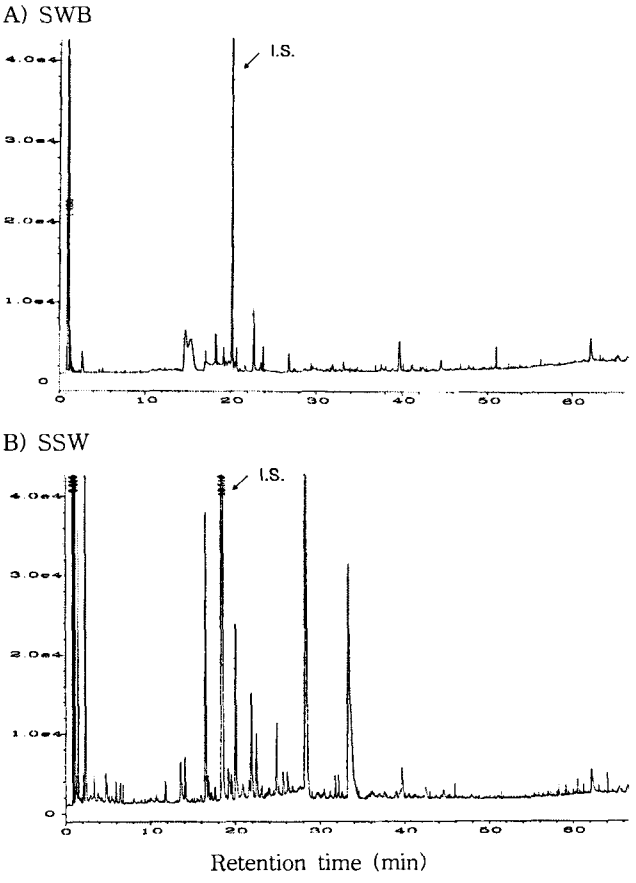

Fig. 1. Comparison of gas chromatograms of volatile extracted from shrimp whole body (SWB) and shrimp shell waste (SSW) by simultaneous steam distillation and solvent extraction.

있었고, 휘발성 성분의 조성비와 형태가 서로 다른 것을 알 수 있었다. SWB와 SSW의 휘발성 성분의 비교를 위하여 내부 표준 물질인 2,4,6-trimethylpyridine을 첨가하여 비교한 결과 전반적으로 SSW의 휘발성 성분이 SWB에 비하여 다량·다수의 휘발성 성분을 보였다. 특징적으로는 SWB의 분석 결과 고비점 화합물의 조성비가 30%이상 차지한다는 것이었다. SSW만을 모아서 믹서기로 분쇄한 다음 휘발성 성분을 추출한 경우의 시료를 GC-MSD로 37개의 compounds를 분리·동정하여 Fig. 2 및 Table 1의 결과를 얻었다. Pyrazine류는 pyrazine, methyl pyrazine(고소미 향)(15), 2,6 dimethyl pyrazine(고소한 향)(16), 2,3-dimethyl pyrazine, 2-ethyl-5-methyl pyrazine(과일향)(15), trimethyl pyrazine(구운향)(15), 2 ethyl-3,5-dimethyl pyrazine(구수한 향)(15), tetramethyl pyrazine, 2,3-dimethyl pyrazine의 9종이 분리되었다. Pyrazine류가 많이 분리된 것은 Bailey(16)에 의하면 높은 온도 처리가 pyrazine 화합물을 더욱 많이 형성하고 주요 원인이라 말하고 있으며 이는 새우에 있어서 구운 상태에서 더 많은 compound가 발견되어지는 이유가 된다. 동일하게 Kubota 등(11)에 의하면 shrimp와 blue crab에 있어서도 이런 pyrazine류가 가열 조리 후 초기에 발견되는 향성분이었다. 주로 고소미 향, 고소한 향, 구수한 향, 구운 향이 많이 분리되어 고소한 향이 많았다. Pyridine류는 pyridine, 3-methyl pyridine의 2종이 분리되었다. Pyrrole류가 2-methyl 1H pyrrole로 1종 분리되어지는데 이는 조리된 양배추의 향을 가진다(17). Pyrazine, pyridine과 함께 가열 조리된 새우의 향미 성분의 주요한 고소한 향을 내는 성분으로 분류되어지며 pyrazine, pyridine과 함께 GC 분석 초기 RI값에 나타나는 향 성분이다. Acid류는 5종으로 분리되었으며 acetic acid(시큼한 향)(18), decanoic acid(유지 냄새)(15), dodecanoic acid(기름 냄새)(15), tetradecanoic acid, hexanoic acid(15)가 분리되었다. Acid류는 wax 성분의 향이나 부드러운 향을 냄으로 단백한 향이나 때로는 약간의 비릿한 향을 내는 것으로 분류되었다. 그러나 acetic acid의 경우, 온도가 높으면 신냄새를 내는 불쾌취를 내기도 한다. Alcohol류로는 2-octanol(고소한 향) (2), 4-methyl 1 heptanol, 1

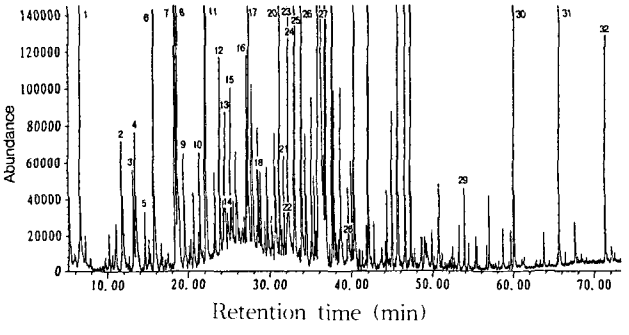

Fig. 2. Total ion chromatogram of volatiles extracted from shrimp shell waste with simultaneous steam distillation and solvent extraction.

Table 1. Composition of volatiles extracted from shrimp shell waste with SDE

Peak no.[1]	Compound	RI[2]	Peak area ($\times 10^6$)	Ratio of peak area (%)
1	Diethyl disulfide	1090	9.3	1.8
2	Pyridine	1180	3.8	0.8
3	Pyrazine	1194	3.6	0.7
4	3-Methyl pyridine[T]	[3]	4.9	1.0
5	(Z) 4-Heptenal	1230	1.9	0.4
6	Methyl pyrazine	1273	10.0	2.0
7	2,6 Dimethyl pyrazine	1284	26.8	5.3
8	4,6 Dimethyl pyrimidine[T]	[3]	8.7	1.7
9	2,3-Dimehtyl pyrazine	1330	4.9	1.0
10	2-Ethyl 5-methyl pyrazine	1384	3.2	0.6
11	Trimethyl pyrazine	1395	54.1	10.7
12	2-Ethyl 3,5-dimethyl pyrazine	1451	5.6	1.1
13	2,6 Diethyl pyrazine	1454	4.5	0.9
14	Acetic acid	1457	0.4	0.1
15	Tetramethyl pyrazine	1458	4.3	0.9
16	Benzaldehyde	1495	5.8	1.2
17	2-Ethyl 1-hexanol	1484	8.0	1.6
18	2-Methyl 1H-pyrrole	1498	2.1	0.4
19	3,5-Dimethyl-1,2,4 trithiolane[T]	[3]	3.6	0.7
20	4-Methyl-1-heptanol[T]	[3]	7.4	1.5
21	*cis* 1,4-Dimethyl cyclohexane[T]	[3]	2.7	0.5
22	Benzeneacetaldehyde	1561	0.1	0.1
23	1-Nonanol	1624	6.5	1.3
24	2-Acetylthiazole	1659	6.1	1.2
25	5-Propyl tridecane[T]	[3]	6.2	1.2
26	2-Cyclohexen-1-one[T]	[3]	17.0	3.4
27	10-Dodecenol[T]	[3]	11.4	2.3
28	1-Methyl naphthalene	1939	1.5	0.3
29	Decanoic acid	2361	2.0	0.4
30	Dodecanoic acid	2504	22.0	4.4
31	Tetradecanoic acid	[3]	6.6	1.3
32	Hexadecanoic acid	[3]	6.7	1.3

[1]The peak number are matched with these in Fig. 2.
[2]Kovet retention index from several references (2,8,9,13-17).
[3]Means that RI values from references were not found.
[T]Tentatively identified compounds by matching mass data with reference of NBS75K.

nonanol, 10 dodecenol(기름 냄새) (15)의 4종이 분리되었다. Aldehyde류는 benzaldehyde(아몬드 향)(15), benzeneacetaldehyde, (Z) 4-heptanal의 3가지 휘발성 성분이 분리되었다. 이는 산패취에서 발견되기도 하나, crayfish에서는 almond 향으로 묘사되어져서 새우 가열조리시 구수한 향을 내는 성분으로 보여진다. Ketone류는 2-cyclohexen-1-one, 6,10-dimethyl-5,9 undecadien-2-one의 2종으로 분리되었다. Hsieh 등(12)에 의하면 ketone류는 비릿한 향(buttery)이나 꽃냄새(floral)같은 향이나, 수산물에 있어서는 이취로 묘사되어진다고 보고하였다. 이취에 가까운 ketone이 적은 부분만이 분석된 것은 새우의 향성분이 가열 공정 중에서도 산패되는 부분이 그다지 많지 않음을 추정할 수 있다(17).

GCO를 이용한 sniffing test

새우 껍질만을 모아서 SDE 추출한 시료를 단계적으로 희석(flavor dilution)하여 sniffing port를 통해 냄새를 직접 맡

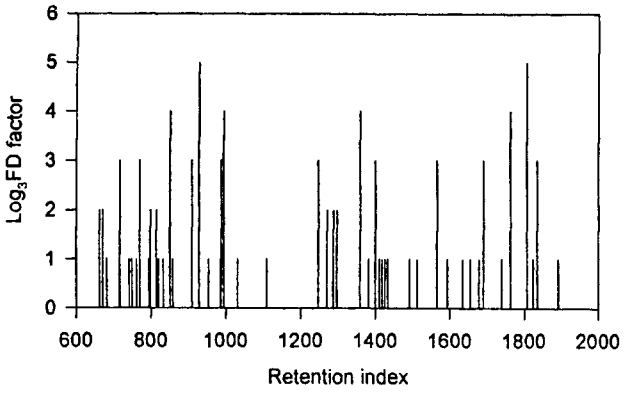

Fig. 3. Flavor dilution chromatograms of volatile compound extracted from shrimp shell waste by GCO.

Table 2. Description and intensity of odor active compounds isolated from shrimp shell waste by gas chromatography olfactometry

Retention index[1)]	Intensity[2)]	Odor description[3)]
717	$9(3^2)$	Nutty
771	$9(3^2)$	Nutty, shrimp
851	$27(3^3)$	Shrimp
928	$81(3^4)$	Strong shrimp
994	$27(3^3)$	Yogurt
1286	$3(3^1)$	Fermented shrimp
1358	$27(3^3)$	Sweet shrimp
1762	$27(3^3)$	Rotten fried oil
1807	$81(3^4)$	Rotten fried oil

[1)]Retention index is Kovets matched with Fig. 3.
[2)]AEDA was done by diluting the previous solution with three time dilution factor.
[3)]Odor description was done by gas chromatography olfactometry.

아서 Fig. 3의 결과를 얻었으며 Table 2에는 특징적인 휘발성 성분의 강도와 냄새를 묘사하였다. Peak의 크기와 상관없이 강한 향을 내는 성분들이 몇 종류 있는 것으로 나타났다. RI 값이 717 부근(3^2)의 값은 ethyl formate로 추정되며 851의 경우(3^3)는 isopropyl furamate로 추정되는데 이는 ester류로서 가열 조리된 고소한 향을 내며 고소한 향이나 새우향으로 묘사되어졌다. 가장 높은 FD 5값의 RI 928(3^4)의 향성분은 tetrahydropyran으로 새우에서 FID 상에서 초기에 많이 나타났으며 이는 새우의 강한 고소한 향(strong shrimp)로 묘사되어졌다(18). 여기서 초기 RI 값에서 다수 발견되어지는 pyran이나 pyrazines가 새우의 특유의 구운 향을 강하게 발산함을 알 수 있다. 낮은 온도에서 새우 냄새가 났을 뿐이고, 온도가 올라갈수록 시료와 상관없이 고소한 냄새, 향기로운 냄새 등 여러 가지가 나타났으며, 고온에서는 불쾌한 기름 냄새가 났다.

요 약

새우를 육과 껍질 부분을 분리하지 않은 것과 폐기되고 있는 껍질부분만을 모아 SDE 장치를 이용해서 휘발성 성분을 조사해 본 결과, 각각 26개와 46개의 성분이 분리된 것을 알 수 있었다. 휘발성 성분의 양에서도 껍질 부분을 처리한 시료에서 훨씬 더 많은 것을 볼 수 있었다. 시료를 마쇄하는 전처리 공정을 거치면서 추출율을 살펴보면 SSW의 경우에는 눈에 띄게 휘발성 성분의 양이 늘어난 것을 알 수가 있었다. GC-MSD로 분리·동정한 결과, pyrazines이 9종, acids 5종, aldehydes 3종, alcohol 4종, pyridines 2종로 나타났다. SSW를 AEDA법으로 단계적으로 희석하여 GCO를 통해 sniffing test를 실시한 결과, 낮은 온도에서는 진한 새우 냄새가 지배적이었고, 온도가 올라갈수록 고소한 냄새, 향기로운 냄새 등이 나다가 고온에서는 불쾌한 기름 냄새가 났다. GC-FID에서는 검출되지 않는 영역에서도 고소한 향이나 부드러운 향 성분이 $\log_3$ FD 3이상의 높은 향 인지도를 나타내었다.

감사의 글

이 연구는 1998년도 부경대학교 해양식량자원개발 특성화사업단의 지원 하에 수행한 실험의 결과이며 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Lannelongue M, Finne G, Hanna MO, Nickelson R, Vanderzant G. 1982. Storage characteristics of brown shrimp (*Penaeus aztecus*) stored in retail package containing CO_2 enriched atmospheres. *J Food Sci* 47: 911-917.
2. Cha YJ. 1999. Identification of aroma-active compounds in Korean salt-fermented fishes by aroma extract dilution analysis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 312-318.
3. Lee EH, Ahn CB. 1992. Utilization of chitin prepared from the shellfish crust 1. Functional properties of chitin, chitosan, and microcrystalline chitin. *J Korean Fish Soc* 25: 45-51.
4. Lee GT, Park SM, Baek UD. 1995. Originals: Preparation and rheological properties of chitin and chitosan 1. Effect of preparation condition on the degree of deactylation and the molecular weight of chitosan. *J Korean Fish Soc* 28: 392-397.
5. Pearson JA. 1977. Cholesterol and fatty acids in Australin seafoods. *CSIRO Food Res Q* 37: 33-40.
6. Reddy SK, Nip WK, Tang CS. 1981. Changes in fatty acids and sensory quality of fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored under frozen conditions. *J Food Sci* 46: 353-361.
7. Teshima S, Kanazawa A, Okamoto H. 1976. Analysis of fatty acids of some crustaceans. *Memoris of Fisheries Kagoshima University (Japan)* 25: 41-48.
8. Takao M, Katsuyama M. 1985. Variation in lipid composition during the growing period of the prawn : 1. Comparative studies on the flesh lipid composition of the wild and cultured prawn. *Bull Korean Fish Soc* 18: 297-308.
9. Hall RL. 1968. Food flavors: Benefits and problems. *Food Technol* 22: 1388.
10. Triqui R, Helmut G. 1987. Determination or potent odorants in ripened anchovy (*Engraulis encrasicholus* L.) by aroma extract dilution analysis and by gas chromatography-olfactometry of headspace sample. In *Flavor and lipid chemistry of seafood.* Shahidi F, Cadwallader KR, eds. ACS symposium series 674, p 31 38.

11. Kubota K, Uchida C, Kurosawa K, Komuro A, Kobayasi A. 1988. Identification and formation of characteristic vol atile compounds from cooked shrimp. In *Thermal generation of aroma*. Shahidi F, Cadwallader KR, eds. ACS symposium seriese 674, p 376-385.
12. Hsieh TCY, Vejaphan W, Williams SS, Matiella JE. 1988. Volatile flavor components in thermally processed Luisiana red swamp cray fish and blue crab. In *Thermal generation of aroma*. Parliment TH, Mcgorrin RJ, Ho CT, eds. ACS symposium series 409, p 386-395.
13. Guenther E. 1972. The production of essential oil. In *The essential oils*. Krieger publish company, New York. p 185 187.
14. Bligh EG, Dyer WJA. 1959. Rapid method of total lipid ex traction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917.
15. Acree T, Arn H. 1997. Gas chromatography-olfactory (GCO) of natural product, flavornet internet site. PhD Dissertation, Cornell University. p 1-7.
16. Bailey ME. 1983. The maillard reaction and meat flavor. In *The maillard reaction in food and nutrition*. Waller GR, Feather MS, eds. ACS symposium series 215, p 177-181.
17. Shibamoto T. 1989. Volatile flavor chemicals formed by the maillard reaction. In *Thermal generation of aroma*. Par liment TH, Mcgorrin RJ, Ho CT, eds. ACS symposium series 409, p 134-142.
18. Cha YJ, Lee GH, Cadwallader KR. 1997. Aroma-active com pounds in salt-fermented anchovy. In *The maillard reaction in food and nutrition*. Waller GR, Feather MS, eds. ACS symposium series 215, p 131-147.

(2001년 8월 20일 접수; 2002년 12월 5일 채택)