

Reaction flavor 기술을 이용한 구운 쇠고기향 개발

김기원 · 백형희*
단국대학교 식품공학과

Development of a Burnt Beef Flavor by Reaction Flavor Technology

Ki-Won Kim and Hyung Hee Baek*
Department of Food Engineering, Dankook University

To develop a burnt beef flavor by reaction flavor technology, hydrolyzed vegetable protein (HVP) was reacted with precursors. Ribose, cysteine, furaneol, thiamin, methionine, garlic powder, and phospholipid were selected as suitable precursors for producing a burnt beef flavor. HVP and the selected precursors were reacted in a high pressure reactor to optimize reaction parameters, such as temperature, time, and water content. Optimum reaction conditions were 130°C, 1 hr, and 7.5% water addition. A burnt beef flavor was generated without pH adjustment. On the basis of an omission test, cysteine, furaneol, thiamin, and garlic powder were evaluated for optimization using response surface methodology. The optimum composition of precursors was determined to be 7.7% cysteine, 7.3% furaneol, 2.1% thiamin, and 6.9% garlic powder. Based on these results, optimum reaction conditions for the production of a burnt beef flavor from HVP were 5% ribose, 5% methionine, 5% phospholipid, 7.7% cysteine, 7.3% furaneol, 2.1% thiamin, 6.9% garlic powder, 7.5% water addition, 130°C reaction temperature, and 1hr reaction time.

Key words: reaction flavor, burnt beef flavor, flavor, response surface methodology

서 론

Process flavor란 전구물질로부터 어떤 형태의 가공기술을 통해 생산된 향을 일컫는 것으로 주요 가공기술로는 열처리 및 효소작용을 들 수 있다. 특히 가열에 의해 생산된 향을 reaction flavor라고 한다⁽¹⁾. Reaction flavor 기술은 현재 향료 업계에서 고기향이나 savory향을 생산하는데 많이 이용되고 있다⁽²⁾. 식생활패턴의 변화에 따른 간편 편의(ready-to-eat) 식품의 수요증가는 고기향이나 savory향에 대한 수요를 증가시키고 있다.

쇠고기향은 아미노산, 펩타이드, 단백질, 핵산, 지방, 당 및 thiamin 등의 전구물질을 가열할 때 생성되는데, Maillard 반응, Strecker분해, Maillard 반응 중간생성물과 H₂S, ammonia 및 thiol과의 반응, thiamin의 열분해, 아미노산 및 당의 열분해, 지방산화 그리고 ribonucleotide의 분해가 쇠고기향 생성에 관여하는 중요한 반응들로 알려져 있다⁽³⁾. 특히, 황 함유 아미노산인 cysteine과 ribose의 Maillard 반응은 고기향 생성에 중

요한 역할을 한다고 알려져 있다^(4,5). Cysteine은 가열시 Strecker분해에 의해 반응성이 강한 2-mercaptoacetaldehyde, acetaldehyde 및 H₂S를 생성하고 이러한 화합물이 고기향에 중요한 향기성분의 전구물질로 반응을 한다⁽³⁾. 또한, phospholipid도 고기향의 중요한 전구물질로 작용한다⁽⁶⁻⁸⁾.

식물성 단백질 가수분해물(HVP)은 최초의 process flavor로 대두 또는 밀단백질을 HCl로 110~140°C에서 가수분해하여 아미노산(주로 glutamic acid)을 얻는데, 이때 당과의 Maillard 반응에 의해 향이 생성된다. HVP는 그 자체로 고기향을 내기도 하지만 고기향을 개발하기 위한 process flavor의 기본 전구물질로 오랫동안 사용되어 왔다⁽⁹⁾. 최근에는 효소적으로 생산한 HVP를 process flavor의 전구물질로 이용하기도 한다⁽¹⁰⁾. 국내에서 process flavor 기술을 이용한 고기향 개발에 관한 연구로는 당-아미노산반응을 이용한 고기향 개발 및 Maillard반응 전구물질에 HVP 및 yeast extract를 첨가하여 고기향을 개발하고자 한 시도가 있었다^(11,12).

최근에는 실험방법의 최적화를 위해 반응표면분석법이 많이 사용되고 있다⁽¹³⁾. 이전에는 주로 사용된 실험방법은 독립 변수(independent variables)들 중에서 한 변수를 제외하고 모든 변수를 고정시키고 한번에 한 변수만을 변화시켜 그 효과를 관찰하는 one-factor-at-time-method이었다. 그러나 식품 연구와 같이 다양한 독립변수들의 상호작용으로 결과가 나타나는 경우 한 변수만을 변화시켜 그 상호작용을 연구하는

*Corresponding author : Hyung Hee Baek, Department of Food Engineering, Dankook University, San 29, Anseo-dong, Cheonan 330-714, Korea
Tel: 82-41-550-3565
Fax: 82-41-550-3566
E-mail: baek@dankook.ac.kr

실험방법은 많은 시간과 경비를 요한다. 따라서 시간과 경비를 절감시키고 요인별 상호작용을 관찰할 수 있는 반응표면 분석법이 많이 사용되고 있다^(14,16).

따라서 본 연구에서는 HVP를 이용하여 구운 쇠고기향을 개발하기 위하여 전구물질을 선정하고, 반응표면분석법을 이용하여 전구물질의 조성을 최적화 하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 HVP는 (주)세우로부터 제공받아 사용하였다. Reaction flavor의 전구물질로 사용한 thiamin과 마늘 분말은 (주)태경농산으로부터 제공받았으며, furaneol은 Firmenich Co., (Casted, France)로부터 구입하였다. 그 외에 D-ribose, L-cysteine, L-methionine, L-lysine 및 phospholipid는 Sigma-Aldrich Chemical Co.,(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

반응전구물질 탐색

구운 쇠고기향 개발에 필요한 전구물질을 탐색하기 위하여 10 mL funnel top ampule (Wheaton, Millville, NJ, USA)에 2.0 g의 HVP를 넣고 Table 1에 나타난 조성대로 0.1 g의 전구물질을 첨가하여 질소가스로 충전 후 밀봉하여 100°C 건조오븐에서 2 시간 동안 반응시켰다. 상온으로 냉각시킨 후 ampule을 개봉하여 생성된 향의 관능적 특징을 파악하였다.

고온·고압 반응기를 이용한 구운 쇠고기향 생성

반응온도 및 교반속도: 선정된 전구물질조성을 가지고 구운 쇠고기향을 생성시키기 위해 고온·고압 반응기(Next

Instrument Co., Suwon)를 이용하였다(Fig. 1). 우선 reaction flavor 생산에 필수요소인 반응온도와 교반속도를 선정하기 위한 실험을 실시하였다. 50 g의 HVP에 대해 증량비로 각각 5%의 ribose, cysteine, thiamin, furaneol, methionine, 마늘분말 및 phospholipid를 혼합하여 고온·고압 반응기에서 반응온도는 100, 130 및 150°C로, 교반속도는 100과 200 rpm으로 변화시켜 1시간 반응시킨 후 생성된 향특성을 관능적으로 평가하였다.

수분함량: 고온·고압 반응에 의한 구운 쇠고기향 생성시 수분함량이 미치는 영향을 알아보기 위해 130°C, 100 rpm 조건에서 위에서 제시한 전구물질조성에 각각 수분을 1.25 g에서 7.50 g까지 1.25 g씩 증가하면서 첨가하여 1시간 반응시킨 후 향특성을 관능적으로 평가하였다. 이때 수분활성도는 hygrometer(thermoconstanter TH200, Novasina, Switzerland)로 측정하였다.

pH의 영향: pH가 구운 쇠고기향 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 HCl 및 NaOH로 pH를 조정된 증류수로 반응물의 pH를 조정하여 반응을 시켰다. 즉 pH를 각각 0.66, 11.8, 12.5, 12.6, 12.7로 조정된 증류수 3.75 g씩 넣고 반응시켜, pH 7.0인 증류수 3.75 g을 넣고 반응시킨 대조구와 관능적인 특징을 비교하였다.

Omission test

전구물질 조성을 최적화하기 위한 반응표면분석법을 행하기 전에 독립변수를 결정하기 위하여 omission test를 실시하였다. 즉 선정된 전구물질 조성에서 전구물질을 하나씩 제거하여 반응을 시키고 10명의 관능검사 요원에 의해 양적묘사 분석(QDA) 및 기호도 조사를 행하였다. 이때 어떤 전구물질이 제거되었을 때 향특성이 가장 부정적으로 변한 전구물질

Table 1. Precursors used for the development of a burnt beef flavor

Sample No.	Precursor
1	H ¹⁾ +R ²⁾ +C ³⁾
2	H+R+T ⁴⁾
3	H+R+D ⁵⁾
4	H+R+F ⁶⁾
5	H+R+C+D
6	H+R+C+F
7	H+R+C+D+F
8	H+R+C+F+T
9	H+R+C+F+T+M ⁷⁾
10	H+R+C+F+T+G ⁸⁾
11	H+R+C+F+T+L ⁹⁾
12	H+R+C+F+T+M+G+L
13	H+R+C+F+T+M+GP ¹⁰⁾
14	H+R+C+F+T+M+A ¹¹⁾
15	H+R+C+F+T+M+A+GP
16	H+R+C+F+T+M+A+PL ¹²⁾
17	H+R+C+F+T+M+GP+PL

¹⁾H: HVP, ²⁾R: ribose, ³⁾C: cysteine, ⁴⁾T: thiamin, ⁵⁾D: diacetyl (approximately 100 μL), ⁶⁾F: furaneol, ⁷⁾M: methionine, ⁸⁾G: glycine, ⁹⁾L: lysine, ¹⁰⁾GP: garlic powder, ¹¹⁾A: acetaldehyde (approximately 125 μL), ¹²⁾PL: phospholipid.

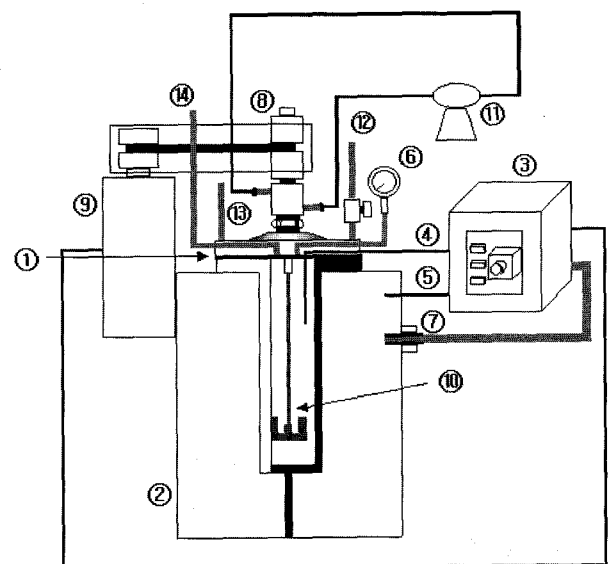


Fig. 1. Schematic diagram of a high pressure reactor.

① reactor, ② heater, ③ controller, ④ reactor thermocouple, ⑤ heater thermocouple, ⑥ analogue pressure gauge, ⑦ automatic heater switch, ⑧ magnetic driver, ⑨ motor, ⑩ impeller, ⑪ circular pump, ⑫ safety relief valve, ⑬ purging valve, in, ⑭ purging valve, out.

Table 2. Levels of the amount of precursors expressed in coded and natural unit for a burnt beef flavor

Code units ¹⁾	Independent variables (% of HVP)			
	Cysteine	Furaneol	Thiamin	Garlic powder
-2	0	0	0	0
-1	2.5	2.5	2.5	2.5
0	5	5	5	5
+1	7.5	7.5	7.5	7.5
+2	10	10	10	10

¹⁾Code units are given by the following equations: Cysteine=(Cysteine-5)/2.5; Furaneol=(Furaneol-5)/2.5; Thiamin=(Thiamin-5)/2.5; Garlic powder=(Garlic powder-5)/2.5.

Table 3. Aroma properties of various reaction flavors

Sample no. ¹⁾	Aroma properties
1	Burnt beef favor, Strong burnt
2	Yeast extract, Burnt beef flavor
3	Fishy
4	Scorched, Beef flavor, Boiled soybean sauce
5	Burnt rubber
6	Burnt beef favor
7	Seaweed-like
8	Baked potato, Boiled soybean sauce, Scorched
9	Baked potato, Boiled soybean sauce, Scorched, Sesame oil
10	Burnt rubber
11	Strong burnt rubber
12	Baked potato, Boiled soybean sauce, Scorched
13	Sesame oil, Seaweed-like, Burnt
14	Sesame oil, Burnt rubber
15	Seaweed-like, Sour
16	Burnt rubber
17	Burnt beef flavor

¹⁾Sample numbers correspond to those in Table 1.

을 구운 쇠고기향 생성에 중요한 역할을 하는 전구물질이라고 판단하고 반응표면분석법시 독립변수로 사용하였다. 각 시료별 관능검사는 4회 반복 실시하였으며, 시험결과는 SAS program을 이용하여 one-way ANOVA와 Duncan's multiple range test에 의해서 유의성(p<0.05)을 검정하였다¹⁷⁾.

반응표면분석법

전구물질 조성을 최적화하기 위하여 50 g의 HVP에 각각 5%의 ribose, methionine 및 phospholipid를 기본 base로 하고, cysteine, furaneol, thiamin 및 마늘분말을 독립변수로 하여 반응표면분석법을 행하였다. 네 가지 독립변수, 즉, cysteine, furaneol, thiamin과 마늘분말의 HVP에 대한 중량 비(%)는 Table 2와 같다. 부호화된 값은 아래 공식에 의해 구하였다.

$$Z = (X - X^0) / \Delta X$$

여기서, Z는 부호화된 값, X는 실제값, X⁰는 중심값, ΔX는 Z의 1 단위에 해당하는 X의 증가량이다. 각 독립변수는 다섯 단계(-2, -1, 0, 1, 2)로 부호화하였다(Table 2). 실험계

Table 4. Aroma properties of a burnt beef flavor depending on various reaction conditions in a high pressure reactor

Temperature (°C)	Reaction condition		Aroma description
	Time (hr)	rpm	
100	1	100	- ¹⁾
130	1	100	Burnt beef flavor
150	1	100	Burnt rubber
100	1	200	-
130	1	200	Fatty
150	1	200	Burnt

¹⁾Not reacted.

Table 5. Effect of water addition on the generation of a burnt beef flavor

Water added (%) ¹⁾	Aroma description
0.0	HVP-like
2.5	Sour
5.0	Burnt
7.5	Burnt beef
10.0	Beef jerky
12.5	Beef jerky
15.0	Beef jerky

¹⁾Percent to HVP amount.

획은 중심합성계획을 적용하였다. 측정된 값들은 2차 모델식을 적용하여 다중회귀분석에 의해 분석하였다. 2차 모델식은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^4 b_i X_i + \sum_{i=1}^4 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=2}^4 b_{ij} X_i X_j \quad (i < j)$$

여기서, b₀는 절편, b_i, b_{ii}, b_{ij}는 회귀계수, X_i, X_j는 부호화된 독립변수이다.

관능검사

관능검사요원은 단국대학교 대학원에 재학 중인 석사과정 대학원생 4명과 동학과 학부과정 4학년에 재학 중인 학부생 6명을 선발하였다. 선발된 10명의 관능검사요원은 각 시료의 향특성을 표현하기 위해서 0으로 부호화된 시료를 QDA 이전에 제공하여 관능검사요원들 간에 용어를 통일 할 수 있도록 하였다. 기호도는 9점법[매우좋다(9점), 좋다(7점), 보통이다(5점), 싫다(3점), 매우싫다(1점)]를 이용하였으며 냄새의 표현은 7 cm bar를 이용하여 강도를 표시하도록 하였다. 각 시료는 반응표면분석법의 design point에 맞게 전구물질을 첨가하여 반응시켜 만들었으며 용기는 세척 후 150°C 건조 오븐에서 6시간 이상 건조시킨 갈색 유리병을 사용하였다. 또한 관능검사요원들의 관능검사에 미치는 오류를 제거하기 위해 난수표를 이용하여 시료번호를 부여하였다.

결과 및 고찰

반응전구물질 탐색

HVP로부터 구운 쇠고기향을 생성시키기 위한 반응 전구

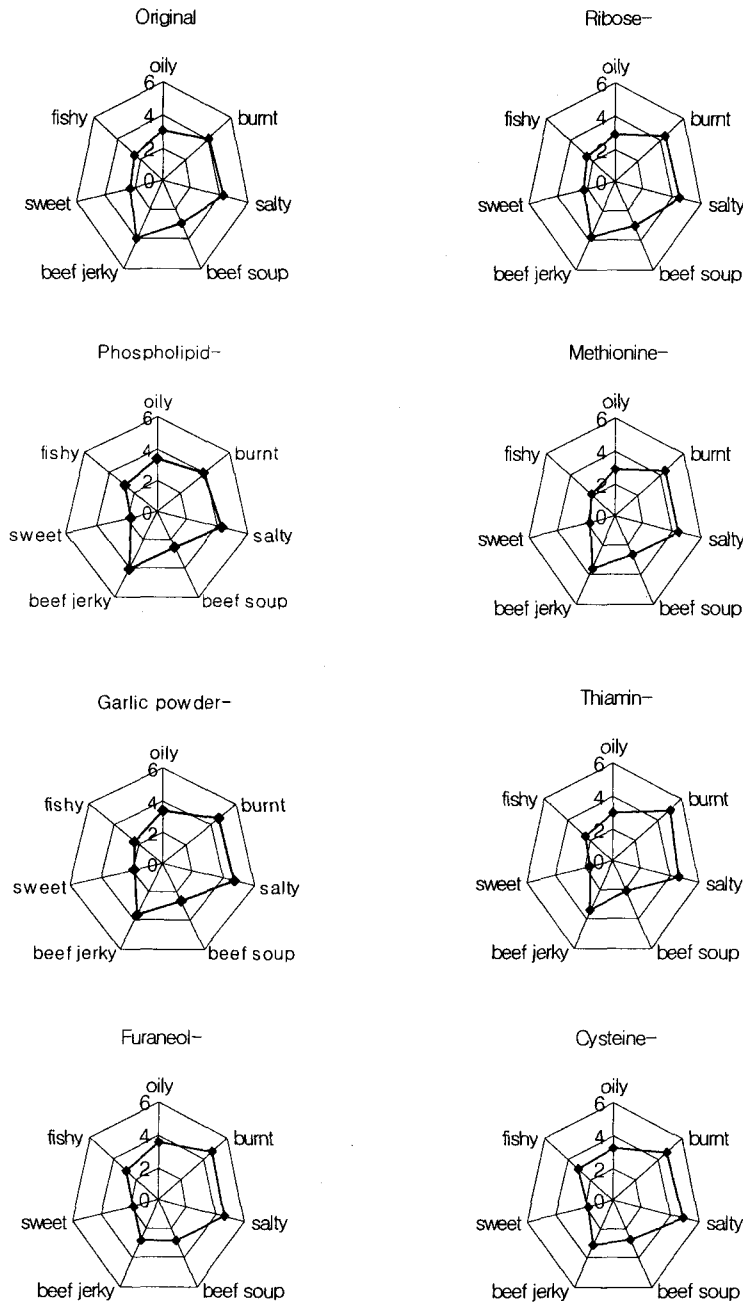


Fig. 2. Quantitative descriptive analyses of burnt beef flavors in omission test.

물질을 선정하기 위하여 쇠고기향 생성에 중요하게 작용하는 반응들을 고려하여 전구물질을 탐색하였다. 먼저 HVP와 ribose를 기본 base로 하고 전구물질 조성을 변화시켜가면서 반응을 시킨 후 향 특성을 관능적으로 평가하였다(Table 3). Ribose는 쇠고기향 생성에 중요한 Maillard 반응에 관여하는 환원당으로, 고기에 많이 존재하는 inosine-5'-monophosphate (IMP)로부터 생성된다⁽³⁾. 일반적으로 5탄당이 6탄당보다 반응성이 더 강하고, 당 종류는 향 특성보다는 반응속도에 더 관여하는 것으로 알려져 있다⁽³⁾. 전구물질의 선택은 먼저 쇠고기향에 중요한 황함유 향기성분을 생성하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 cysteine^(4,5,18)과 thiamin^(18,19)을 반응시켜 보았으며, Maillard반응 중간생성물로 반응성이 강한 α -

dicarbonyl 화합물인 diacetyl, 그리고 furaneol을 각각 첨가하여 반응 시켰다(시료 no. 1-4). Furaneol은 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)furanone으로서, 쇠고기향에 중요한 역할을 한다고 알려져 있을 뿐 아니라, cyclic α -dicarbonyl 화합물로서 Maillard 반응의 전구물질로 알려져 있는 화합물이다⁽²⁰⁻²³⁾. Table 3에서 보듯이 cysteine과의 반응(시료 no. 1)에 의해 탄내가 강한 구운 쇠고기 향이 생성되었으며 thiamin과의 반응(시료 no. 2)과 furaneol과의 반응(시료 no. 4)도 구운 쇠고기향을 발현함을 알 수 있었다. Diacetyl과의 반응(시료 no. 3)은 쇠고기향과는 전혀 다른 향 특성을 나타내었다. 따라서 구운 쇠고기 향과 가장 비슷한 향을 생성한 cysteine을 전구물질로 결정하고 다른 전구물질들을 더 첨가하여 반응을 시

Table 6. Effect of precursor removal in reaction system on acceptability

Precursor	Acceptability ¹⁾
Original ²⁾	60 ^{a,3)}
ribose removal	53 ^{ab}
phospholipid removal	51 ^{abc}
methionine removal	49 ^{bc}
garlic powder removal	45 ^{bc}
thiamin removal	44 ^{bc}
furaneol removal	39 ^{cd}
cysteine removal	37 ^d

¹⁾Acceptability was measured by marking 7 cm bar.

²⁾Original consisted of 50 g HVP, 5% ribose, 5% cysteine, 5% thiamin, 5% furaneol, 5% methionine, 5% garlic powder, and 5% phospholipid.

³⁾Values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

켜보았다(시료 no. 5~8). 그 결과 furaneol과의 반응(시료 no. 6)에 의해 구운 쇠고기 향이 발현됨을 알 수 있었다. 그 외에 아미노산 및 phospholipid 등 여러 가지 전구물질을 반응 시켜본 결과 구운 쇠고기향을 생성하는 전구물질조성으로 HVP, ribose, cysteine, furaneol, thiamin, methionine, 마늘분말 및 phospholipid를 결정하였다(시료 no. 17).

구운 쇠고기향 생성 반응조건 최적화

앞에서 결정한 전구물질 조성을 가지고 구운 쇠고기향의 생성에 영향을 미치는 반응조건을 최적화하기 위하여 고온·고압 반응기를 이용하여 반응온도, 교반속도, 수분활성도 및 pH 등의 반응조건을 최적화하였다. 반응온도는 구운 쇠고기향 발현에 매우 중요한 인자로서 Maillard 반응에 필수적이다. 그러나, 이러한 반응온도는 180°C에서 15분 이내(따라서 낮은 온도에서는 더 장시간)로 제한되어 있는데 이는 IOFI (International Organization of Flavor Industries)에서 제시한 reaction flavor 제조에 대한 지침이다⁽¹⁾. 일반적으로 고기를 가열할 때 heterocyclic amine과 같은 발암성 물질이 생성될 수도 있기 때문에 reaction flavor에서도 생성될 가능성이 존재한다고 볼 수 있다. 보통의 조리조건인 200°C 이내에서도 돌연변이원의 생성이 보고 되었으며, D,L-tryptophan이 300°C 이상의 온도로 가열될 때 돌연변이원 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole과 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole이 생성된다고 알려져 있다⁽²⁾. 따라서 낮은 온도에서의 반응은 이런 돌연변이원의 생성을 최소화 할 수 있고 이를 미국에서도 GRAS(generally recognized as safe)로 간주하고 있다⁽²⁴⁾. 따라서 본 실험에서는 180°C보다 훨씬 낮은 온도에서 반응을 시켰다. 즉, 반응시간을 1시간으로 고정하고 반응온도를 100, 130, 그리고 150°C로 변화시키면서 반응을 시켰다. 온도, 시간 및 교반속도 등의 반응조건을 달리하여 전구물질조성을 반응시켰을 때 향특성은 Table 4에 나타낸 바와 같다. 즉, 130°C, 100 rpm에서 1시간 반응시켰을 때 구운 쇠고기 향이 가장 강하였다. 100°C에서 반응시킨 경우에는 100과 200 rpm의 교반속도에서 모두 반응이 일어나지 않아 Maillard 반응 특유의 갈색화나 향생성이 거의 이뤄지지 않았다. 150°C에서 반응시킨 경우도 교반속도에 따라 약간의 차이는 있었으나 전체적으로 탄 냄새가 강했다. 그러나 130°C

Table 7. Central composite design of 31 runs for the study of four experimental factors

Run no.	Independent variables				Dependent variable
	Cysteine	Furaneol	Thiamin	Garlic powder	Acceptability
1	-1	-1	-1	-1	51
2	1	-1	-1	-1	53
3	-1	1	-1	-1	61
4	1	1	-1	-1	69
5	-1	-1	1	-1	61
6	1	-1	1	-1	66
7	-1	1	1	-1	57
8	1	1	1	-1	53
9	-1	-1	-1	1	45
10	1	-1	-1	1	54
11	-1	1	-1	1	59
12	1	1	-1	1	69
13	-1	-1	1	1	43
14	1	-1	1	1	46
15	-1	1	1	1	38
16	1	1	1	1	72
17	-2	0	0	0	59
18	2	0	0	0	58
19	0	-2	0	0	36
20	0	2	0	0	52
21	0	0	-2	0	60
22	0	0	2	0	63
23	0	0	0	-2	58
24	0	0	0	2	52
25	0	0	0	0	62
26	0	0	0	0	55
27	0	0	0	0	53
28	0	0	0	0	59
29	0	0	0	0	56
30	0	0	0	0	55
31	0	0	0	0	52

에서 반응을 시켰을 경우 교반속도에 따라 그 차이를 보였는데 200 rpm의 경우 약간 느끼한 냄새가 있었으나 100 rpm의 경우 좋은 구운 쇠고기향이 생성되었다. 따라서 고온·고압 반응기에서 구운 쇠고기향을 생성시키는 조건은 130°C, 1 hr, 100 rpm으로 정하였다.

수분함량도 생성된 구운 쇠고기향에 영향을 주었다(Table 5). 수분함량이 낮을 경우 반응이 제대로 일어나지 않았으며, 반대로 수분함량이 너무 높을 경우에는 반응 생성물의 향도 원하지 않는 방향으로 변했을 뿐 아니라 반응물의 형태도 좋지 않았다. 즉, HVP에 대해 중량비로 7.5%의 증류수를 첨가했을 경우 구운 쇠고기향이 생성되었음은 물론이며, 반응시킨 후 상온에서 냉각하고 이를 분말화 할 수 있었다. 그러나 수분함량이 많은 경우 상온에서 방치해도 분말화 하는데 어려움이 있었다. 따라서 구운 쇠고기향을 생성하는 데 가장 좋은 수분첨가량은 HVP에 대해 7.5%(수분활성도는 0.23)로 결정하였다.

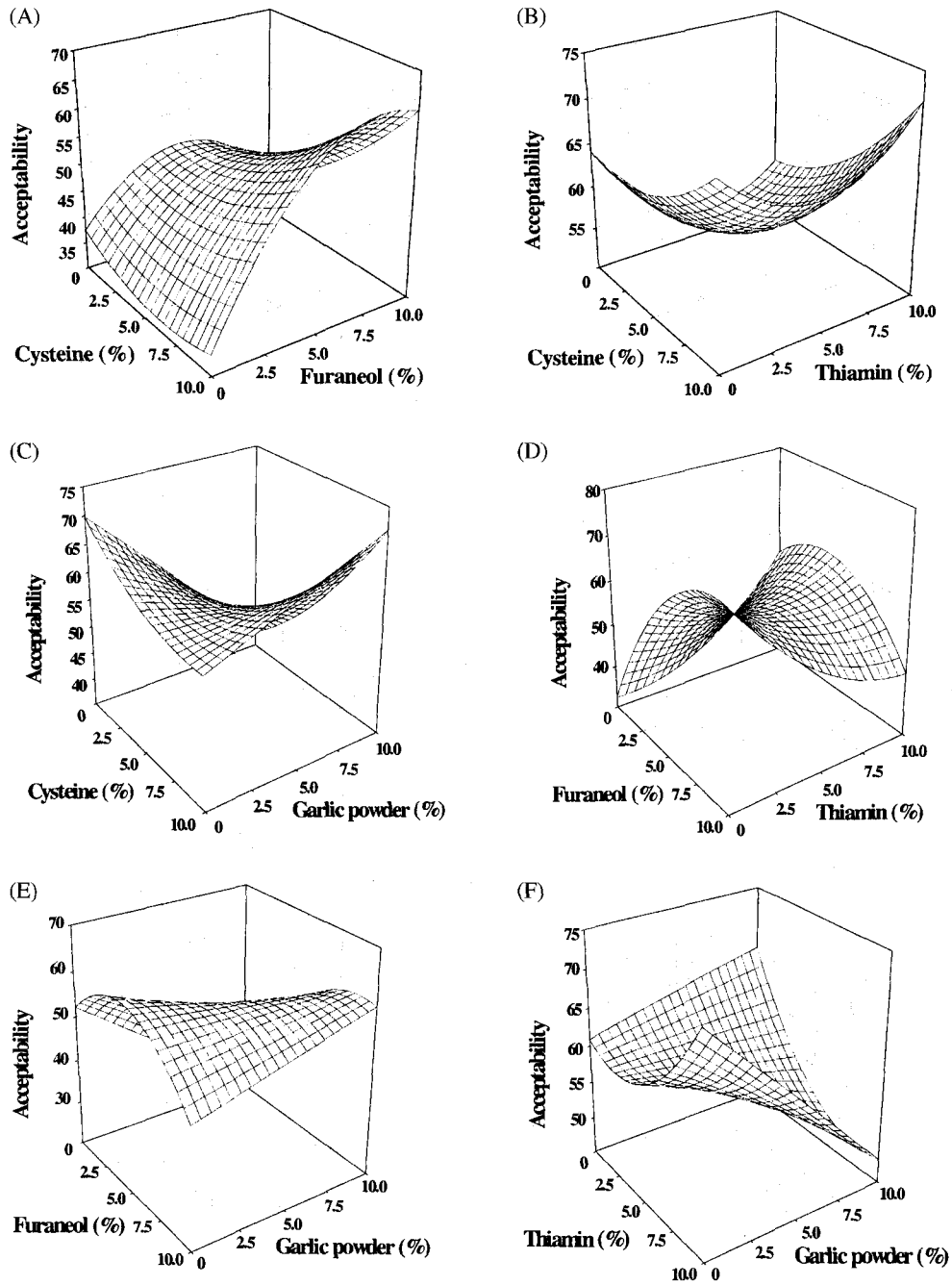


Fig. 3. Response surface plots of effects of independent variables on acceptability (A: cysteine vs furaneol, B: cysteine vs thiamin, C: cysteine vs garlic powder, D: furaneol vs thiamin, E: furaneol vs garlic powder, F: thiamin vs garlic powder).

pH 또한 구운 쇠고기향 생성에 영향을 주었는데, 온도와 마찬가지로 IOFI 지침에는 pH 8을 넘지 말아야 한다고 규정하고 있다⁽¹⁾. 그러나 HVP에 전구물질을 혼합한 것은 액체 상태가 아니기 때문에 직접적인 pH 조정에 따른 효과를 알아볼 수 없었다. 따라서 시료의 pH를 조정하는 대신, HVP에 7.5%로 첨가하는 수분의 pH를 조정함으로써 시료의 pH를 변화시켰다. pH를 조정한 증류수 첨가시 bitter, pungent, sour, 그리고 burnt rubber flavor 등 원하지 않는 방향으로 향특성이 변화하였다. 따라서 pH는 변화시키지 않는 것으로 하였다(data not shown).

전구물질 조성 최적화를 위한 omission test

구운 쇠고기향을 제조하기 위해 선정된 7종류의 전구물질을 모두 최적화하기가 어려우므로 구운 쇠고기향 생성에 중요한 역할을 하는 전구물질을 먼저 결정한 후 결정된 전구물질에 대하여 최적화를 하기로 하였다. 이를 위해 omission test를 행하였다. 즉, 실험에 의해 선정된 전구물질조성에서 전구물질을 하나씩 제거하고 반응을 시킨 후, 생성된 향특성을 10명의 관능검사요원들에 의해 기호도 및 QDA를 실시하였다. Omission test를 실시하기에 앞서 모든 전구물질을 첨가한 상태에서 반응을 시킨 후 반응생성물을 관능검사요원

Table 8. Model coefficients¹⁾ estimated by multiple linear regression for optimization of a burnt beef flavor

Factor	Coefficient
	Acceptability
Constant	56.00
Linear	
C	2.70**
F	3.79**
T	-0.79
GP	-2.38*
Quadratic	
C ²	0.84
F ²	-2.78**
T ²	1.59
GP ²	-0.03
Interactions	
C×F	1.81
C×T	0.56
C×GP	2.81*
F×T	-3.19**
F×GP	2.56
T×GP	-1.94
R ²	0.7313
F	3.11
Probability>F	0.016

¹⁾Model on which X₁=Cysteine (C), X₂=Furaneol (F), X₃=Thiamin (T), and X₄=Garlic powder (GP).

**Significant at 0.05 level.

*Significant at 0.1 level.

들에게 제공하여 느껴지는 관능적 특성들을 서술하게 하고 공통되는 용어를 파악하였다. 파악된 용어는 oily, burnt, salty, beef soup, beef jerky, sweet, 그리고 fishy였다. 전체적인 향의 강도는 omission test시 모든 전구물질을 첨가한 상태에서 반응을 시킨 original에 비해 각 전구물질을 제거한 반응에서 약해졌으며, 제거된 전구물질의 종류에 따라 파악된 각각의 향특성별로 감소 정도도 차이가 있었다(Fig. 2). 먼저 cysteine이 제거 되었을 때 구운 쇠고기향의 강도가 현저하게 감소하였으며, QDA 프로파일도 original과 큰 차이가 있음을 알 수 있었다. 그외에 furaneol, thiamin, 마늘분말이 제거되었을 때 쇠고기향이 감소하였으며, QDA 프로파일도 original과 차이가 있었다. Ribose, phospholipid, methionine이 제거되었을 때는 QDA 프로파일도 original과 큰 차이를 보이지 않았다. Cysteine을 제거시켰을 때 기호도가 가장 감소하였으며, 그 다음으로 furaneol, thiamin, 마늘분말의 순서로 기호도가 감소하였다(Table 6). 즉 전구물질 조성 중 cysteine이 가장 중요한 역할을 한다는 것을 의미하며, 그 다음으로 furaneol, thiamin, 마늘분말이 중요한 전구물질임을 의미한다. 따라서 HVP를 base로 하여 ribose, methionine과 phospholipid를 HVP에 대하여 5%(w/w)로 고정하고, cysteine, furaneol, thiamin과 마늘분말 4종류의 전구물질을 반응표면 분석법으로 최적화하였다.

반응표면분석법에 의한 전구물질 조성 최적화

Cysteine, furaneol, thiamin과 마늘분말 4종류의 전구물질을

Table 9. Critical values and true values estimated by response surface methodology¹⁾

Factor	Critical value	True value (%)
Cysteine	1.09	7.7
Furaneol	0.91	7.3
Thiamin	-1.19	2.1
Garlic powder	0.75	6.9

¹⁾The percentages of ribose, methionine, and phospholipid were 5% (w/w) of HVP.

독립변수로, 기호도를 종속변수로 하여 반응표면분석법을 행한 결과는 Table 7 과 Fig. 3에 나타내었다. Cysteine과 furaneol과 상관관계를 살펴보면 furaneol함량이 증가할수록 기호도가 증가 하였으며, furaneol함량이 높은 범위에서는 cysteine 함량이 증가할수록 기호도도 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3A). Furaneol은 쇠고기향에 중요한 역할을 하는 향기 성분일 뿐 아니라⁽²⁰⁾, 열에 불안정하여 반응성이 강한 전구물질을 생성하며⁽²¹⁾, cysteine과의 반응으로 thiophene과 같은 향기성분을 생성한다고 알려져 있다^(22,23). Furaneol의 이와 같은 반응성으로 인해 furaneol과 cysteine의 함량이 증가할수록 기호도가 증가했다고 생각되어 진다. Cysteine과 thiamin의 상관관계를 살펴보면, cysteine 함량이 높고 thiamin 함량은 낮은 범위에서 또는 cysteine과 thiamin함량이 모두 높은 범위에서 기호도가 높은 경향을 보여주었다(Fig. 3B). Cysteine과 마늘함량에 있어서는 cysteine과 마늘분말의 함량이 모두 낮은 범위이거나 모두 높은 경우에 기호도가 높았다(Fig. 3C). Wu 등⁽¹⁰⁾은 효소분해에 의해 생성된 HVP로부터 쇠고기 향을 가진 reaction flavor를 개발하기 위하여 반응표면 분석법을 사용하여 반응조건 및 ribose와 cysteine 양을 최적화하였으며, 높은 pH, 낮은 함량의 cysteine에서 쇠고기향이 강하게 생성되었다고 보고하였다. 다중회귀분석을 통해 모델식의 계수를 예측해본 결과는 Table 8과 같으며 모델식은 $Y = 56.00 + 2.70 X_1 + 3.79 X_2 - 2.38 X_4 - 2.78 X_2^2 + 2.81 X_1 X_4 - 3.19 X_2 X_3$ 로 나타났으며, 회귀식의 R²는 0.7313이었다. 반응표면 분석결과 안장점을 나타내어 능선분석을 통해 최적점을 구해본 결과 Table 9에 나타낸 바와 같이 최적 전구물질조성은 7.7% cysteine, 7.3% furaneol, 2.1% thiamin 및 마늘분말 6.9%로 나타났다. 따라서 고온·고압 반응기에서 구운 쇠고기 향을 생산하기 위한 전구물질의 조성 및 반응조건은 HVP, 5% ribose, 5% methionine, 5% phospholipid, 7.7% cysteine, 7.3% furaneol, 2.1% thiamin 및 6.9% 마늘분말, 수분 7.5% 첨가, 반응온도 130°C, 교반속도 100 rpm, 그리고 반응 시간 1시간으로 결정하였다.

요 약

HVP로부터 구운 쇠고기향을 제조하기 위하여 쇠고기향 생성에 중요하게 작용하는 반응들을 고려하여 전구물질을 탐색한 결과, 구운 소고기향을 생성하는 전구물질조성으로 HVP, ribose, cysteine, furaneol, thiamin, methionine, 마늘분말 및 phospholipid를 선정 하였다. 선정된 전구물질조성을 고온·고압 반응기를 이용하여 구운 쇠고기향 생성에 영향을 주는

반응조건들을 알아본 결과, 최적 반응조건은 130°C, 교반속도 100 rpm 및 반응시간 1시간에 수분 7.5% 첨가시 좋은 구운 쇠고기향이 생성되었다. Omission test에 의해 구운 쇠고기향 생성에 중요한 역할을 하는 전구물질을 선정할 결과 cysteine, furaneol, thiamin 및 마늘분말이었다. HVP, 5% ribose, 5% methionine, 5% phospholipid를 기본 base로 하고, cysteine, furaneol, thiamin, 그리고 마늘분말을 독립변수로 하여 반응표면분석법을 행한 결과 전구물질의 최적조성은 7.7% cysteine, 7.3% furaneol, 2.1% thiamin 및 6.9% 마늘 분말로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 과학기술부 선도기술개발사업 (00-G-08-02-A-07)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

문 헌

- Manley, C.H. Process flavors, pp. 139-154. In: Source Book of Flavor. Reineccius, G.R. (ed.). Chapman and Hill, New York, NY, USA (1994)
- Manley, C.H. and Ahmedi, S. The development of process flavors. Trends Food Sci. Technol. 6: 46-51 (1995)
- Nagodawithana, T.W. Savory Flavors, pp. 164-224. Estekay Associate, Inc., Milwaukee, WI, USA (1995)
- Hofmann, T. and Schiberle, P. Evaluation of the key odorants in a thermally treated solution of ribose and cysteine by aroma extract dilution techniques. J. Agric. Food Chem. 43:2187-2194 (1995)
- MacLeod, G. The scientific and technological basis of meat flavors, pp. 191-223. In: Developments in Food Flavors. Birch, G.G. and Lindley, M.G. (eds.). Elsevier Applied Science, London, UK (1986)
- Mottram, D.S. and Edwards, R.A. The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef. J. Sci. Food Agric. 34: 517-522 (1983)
- Whitfield, F.B., Mottram, D.S., Brock, S., Puckey, D.J. and Salter, L.J. Effect of phospholipid on the formation of volatile heterocyclic compounds in heated aqueous solutions of amino acids and ribose. J. Sci. Food Agric. 42: 261-272 (1988)
- Farmer, L.J., Mottram, D.S. and Whitfield, F.B. Volatile compounds produced in Maillard reactions involving cysteine, ribose and phospholipid. J. Sci. Food Agric. 49: 347-368 (1989)
- Swaine, R.L. Hydrolyzed vegetable protein as a flavoring agent. Perfumer Flavorist 18: 35-38 (1993)
- Wu, Y.F., Baek, H.H. and Cadwallader, K.R. Development of a meat-like process flavoring from soybean-based enzyme-hydrolyzed vegetable protein (E-HVP). J. Food Sci. 65: 1220-1227 (2000)
- Ko, S.N., Yoon, S.H., Yoon, S.K. and Kim, W.J. Development of meat-like flavor by Maillard reaction of model system with amino acids and sugars. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 827-838 (1997)
- Ko, S.N., Nam, H.S. and Kim, W.J. Development of meat-like flavor by Maillard reaction with addition of natural flavoring materials. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 839-846 (1997)
- Myers, R.H. Response Surface Methodology. Allyn and Bacon Inc., Boston, MA, USA (1971)
- Mouquet, C., Dumas, J.C. and Guilbert, S. Texturization of sweetened mango pulp: optimization using response surface methodology. J. Food Sci. 57: 1395-1400 (1992)
- Shin, J.H., Rheem, S., Seo, J.K., Lee, S.K., Shim, J.H., Kim, S.K. and Baek, Y.J. Optimization minimum degradation condition of red pigments in red bell pepper (*Capsicum annuum* L.) using response surface methodology. Food Sci. Biotechnol. 8: 351-356 (1999)
- Park, N.Y., Kwon, J.H. and Kim, H.K. Optimization of extraction conditions for ethanol extracts from *Chrysanthemum morifolium* by response surface methodology. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1189-1196 (1998)
- SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1990)
- Bolton, T.A., Reineccius, G.A., Liardon, R. and Ba, T.H. Role of cysteine in the formation of 2-methyl-3-furanthiol in a thiamin-cysteine model reaction, pp. 270-278. In: Thermally Generated Flavors: Maillard, Microwave, and Extrusion Processes. Parliment, T.H., Morello, M.J. and McGorin, R.J. (eds.). American Chemical Society, Washington, DC, USA (1994)
- Grosch, W. and Zeiler-Hilgart, G. Formation of meatlike flavor compounds, pp. 183-192. In: Flavor Precursors: Thermal and Enzymatic Conversions. Teranishi, R., Takeoka, G.R. and Guntert, M. (eds.). American Chemical Society, Washington, DC, USA (1992)
- Tonsbeek, C.H.T., Plancken, A.J. and Van de Weerdhof, T. Components contributing to beef flavor. Isolation of 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanone and its 2,5-dimethyl homolog from beef broth. J. Agric. Food Chem. 16: 1016-1021 (1968)
- Shu, C.K., Mookherjee, B.D. and Ho, C.T. Volatile components of the thermal degradation of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone. J. Agric. Food Chem. 33: 446-448 (1985)
- Shu, C.K., Hagedorn, M.L. and Ho, C.T. Two novel thiophenes identified from the reaction between cysteine and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone. J. Agric. Food Chem. 34: 344-346 (1985)
- Shu, C.K. and Ho, C.T. Parameter effects on the thermal reaction of cystine and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone, pp. 229-241. In: Thermal Generation of Aromas. Parliment, T.H., McGorin, R.J. and Ho, C.T. (eds.). ACS Symposium Series 409, American Chemical Society, Washington, DC, USA (1989)
- Lin, L.J. Regulatory status of Maillard reaction flavors, pp. 7-15. In: Thermally Generated Flavors: Maillard, Microwave, and Extrusion Processes. Parliment, T.H., Morello, M.J. and McGorin, R.J. (eds.). American Chemical Society, Washington, DC, USA (1994)

(2003년 8월 6일 접수; 2003년 9월 8일 채택)