

탈지대두단백 산 가수 분해물과 당의 반응에 의하여 생산된 Maillard Reaction Products의 이화학적 특성 및 항산화성

김윤숙^{1*} · 문지혜¹ · 김명희² · 최희돈¹ · 박용곤¹

¹한국식품연구원

²영남대학교 식품·외식학부

Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Maillard Reaction Products from Defatted Hydrolyzed Soybean Protein with Various Sugars

Yoonsook Kim^{1*}, Ji-Hye Moon¹, Myunghee Kim², Hee-Don Choi¹, and Yong-Kon Park¹

¹Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

²School of Food Science and Technology/Food Service Industry, Yeungnam University, Gyeongbuk 712-749, Korea

Abstract

Maillard reaction products (MRPs) were produced from aqueous solution of various sugars with defatted hydrolyzed soybean protein (DFHSP) with different temperatures and pressures. Physicochemical properties of MRPs were investigated; also, DPPH and hydroxyl radical scavenging activity and sensory properties were evaluated. MRPs from ribose and DFHSP had the highest reactivity with larger pH reduce, higher browning index increase and higher antioxidant activity than other MRPs from other sugars. The antioxidant activities were increased with increasing temperatures and pressures of reaction. The highest antioxidant activity and sensory preference were obtained from MRPs with ribose at 140°C with 2.8 kg/cm² for 30 mins.

Key words: Maillard reaction, antioxidant, defatted soybean, HVP

서 론

Maillard 반응은 식품의 가공 및 저장 중에 일어나는 갈변 반응으로 aldehyde나 ketone기를 가지는 환원당과 amino 화합물이 반응하여 갈색물질(멜라노이드)을 생성하게 된다. 이는 실제로도 우유, 씨리얼, 고기 등 여러 식품의 가공 및 저장 중의 색과 향미 및 산화적 안정성과 self-life에 영향을 주는 중요한 비효소적 갈변반응으로 알려져 있다(1-3). 이러한 Maillard 반응의 model system에 대해 기질의 종류 및 농도(4-6), 반응 온도 및 시간(4), pH(4,7,8), 반응용매(9-12) 등의 요인이 미치는 영향에 관한 많은 연구가 진행되었으며 보고된 바 있다. 이와 더불어 최근에는 가압상태에서 Maillard 반응의 갈변율과 휘발성물질의 동정 등에 관한 연구도 활발히 이루어지고 있다(3,13,14). Maillard 반응에서 당과 아미노산의 반응으로 생성되는 갈색중합체인 melanoidin은 지질의 산화율을 낮추고 metal chelation 뿐만 아니라 radical 소거활성이 높아 항산화 능력이 높은 것으로 알려져 있다(15-17). 반응에 참여하는 기질의 농도와 양, pH 등은 MRP의 항산화활성에 큰 영향을 주는 인자로 보고되고 있다(6,7).

또한 최근 조미료나 반응향료 생산에 열, 효소처리 기술뿐 아니라 Maillard 반응이 중요한 기술로 활용되고 있다. 국내에서 식물단백 가수 분해물(HVP)은 고기 향 등을 내는 기본 전구물질로 향료산업에 이용되고 있으며 탈지대두 단백질 산 분해액의 경우 유리아미노산과 염, 다양한 휘발성 화합물을 포함하고 있어 식품산업에서 조미액으로 많이 사용되고 있다. 탈지대두 단백질 산 분해액의 유리아미노산 특유의 맛을 함유하는데 특히 glutamic acid는 umami의 주요성분으로 알려져 있다(18,19). HVP는 자체적으로 고기 향을 내기도 하지만 함황 아미노산과 ribose, thiamine, 인지질 등의 전구체와 다양한 반응을 통해 풍부한 향미를 얻을 수 있어 meat flavor에 근접한 반응기질과 조건을 찾고자 하는 연구들이 많이 시도되었다(5,19,20).

본 연구에서는 이러한 연구들을 바탕으로 탈지대두 단백질 산 가수 분해물과 환원당(glucose, fructose, ribose)을 기질로 하여 반응 온도, 시간, 압력 등 다양한 반응조건의 model system을 설정하고 생성된 각 MRP의 이화학적, 항산화 및 관능적 특성을 조사하여 우수한 기질과 반응 조건을 찾고자 한다.

*Corresponding author. E-mail: kimyus@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9281, Fax: 82-31-780-9281

재료 및 방법

시료 및 시약

본 연구에서 사용한 당은 D-(+)-glucose, D-(-)-fructose, D-ribose로 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)의 일급시약을 사용하였고 식물단백 가수 분해물은 (주)매일식품에서 2007년에 생산된 탈지대두단백 산 가수 분해물(200S)을 사용하였다. DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl), 2-deoxy-ribose, EDTA(ethylene diaminetetraacetic acid), mono-sodium phosphate, disodium phosphate, potassium chloride, trichloro acetic acid(TCA)는 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고 2-thiobarbituric acid(TBA)는 Tokyo Kasei Co.(Tashma, Kita-ko, Tokyo, Japan)의 제품을 사용하였다.

MRP의 제조

Maillard 반응에 적합한 기질과 반응조건을 선정하기 위해 전구물질로 탈지대두 단백질 산 가수 분해물을 기본원료로 하여 여기에 일반적으로 Maillard 반응에 많이 이용되는 당류를 조합하였다. 반응조합은 glucose, fructose, ribose와 탈지대두 단백질 산 가수 분해물액의 비율을 1:1로 하되 각각의 고형분은 2 g씩 되도록 조절하였고 최종 부피를 50 mL로 하였다. MRP 생성은 대기압상태로 water bath(C-WBE, Chang Shin Science Co., Korea)에서 100°C 4시간, oil bath(C-WHT, Chang Shin Science Co., Korea)에서 120°C 2시간, 140°C 1시간 동안 반응을 시켰다. 고온, 고압의 상태로는 autoclave(AC-300, C.P.K., Korea)에서 121°C에서 1.5 kg/cm², 140°C는 2.8 kg/cm²의 압력으로 30분 동안 반응시켰다.

이화학적 특성

MRP용액의 pH는 pH meter(720 A, Orion Research Inc., USA)를 사용하여 측정하였다. 갈변도는 MRP를 희석하여 spectrophotometer(DU650 spectrophotometer, Beckman, USA)를 사용하여 갈색색소의 측정범위인 420 nm에서 측정하였다. 반응조건별로 제조된 MRP용액의 색도는 색도계(Color QUEST II, Hunter Associates Laboratory Inc., Virginia, USA)를 이용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness/greenness), 황색도(b, yellowness/blueness)로 나타내었다.

항산화 효과 측정

DPPH assay에 의한 항산화활성(IC₅₀): 항산화활성은 Brand-Williams 등(21)의 DPPH에 의한 전자공여능의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.1 mM DPPH 에탄올 용액 1.0 mL에 에탄올 1.0 mL, 농도별로 희석한 MRP 0.5 mL를 넣고 10초간 vortexing 한 후 암소에서 15분간 반응시킨 후에 520 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

측정치는 다음 식에 대입하여 계산하였고 IC₅₀값은 각 MRP의 DPPH radical 소거율이 50%일 때의 희석배수(DF)로 산출하여 각 MRP의 소거활성을 비교하였다.

DPPH radical scavenging activity (%) = [(A₀ - A₁) / A₀] × 100
A₀: Absorbance of control, A₁: Absorbance of sample

Hydroxyl radical 소거활성(IC₅₀): 농도별로 희석된 반응액의 hydroxyl radical 소거활성은 Fe³⁺/ascorbate/EDTA/H₂O₂ system에서 발생하는 OH·에 의해서 deoxy-ribose 산화를 억제하는 각 MRP의 활성으로 측정하였다(22). 시험관에 0.02 M sodium phosphate buffer(pH 7.4) 0.3 mL, 10 mM FeSO₄ · 7H₂O 및 10 mM EDTA 0.15 mL, 10 mM 2-deoxyribose용액 0.15 mL을 가하고 농도별로 증류수로 희석한 MRP 0.075 mL, 증류수 0.525 mL을 첨가한 후 마지막으로 10 mM의 H₂O₂용액 0.15 mL을 첨가하였다. 이것을 37°C에서 2시간 incubation을 시킨 후에 2.8% tri-chloroacetic acid(TCA) 0.75 mL과 1.0% TBA/50 mM NaOH 0.75 mL을 첨가하여 끓는 물에서 10분 동안 boiling 하였다. 즉시 ice water에서 냉각시켜 spectrophotometer를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Hydroxyl radical 소거율이 50%일 때의 MRP의 희석배수(DF)를 산출하여(IC₅₀) 각 시료의 소거활성을 비교하였다.

$$\text{OH}\cdot \text{ scavenging activity (\%)} = \{1 - [(A_s - A_0) / (A_c - A_0)]\} \times 100$$

A₀: Absorbance with no treatment, A_c: Absorbance of control, A_s: Absorbance of sample

관능적 특성 측정

여러 반응조건에 따라 제조된 MRP에 대하여 관능검사를 실시하였다. 반응 후 생성된 MRP는 전문가로 구성된 5명의 관능 평가단에 의하여 관능적 특성이 구분되었으며 최적의 반응 조건은 5명으로 구성된 패널에 의하여 5점 척도(매우좋다-5점, 좋다-4점, 보통이다-3점, 싫다-2점, 매우싫다-1점)의 기호도 평가 결과를 반영하여 선정하였다. 관능 검사요원은 현재 한국식품연구원에 재직 중인 연구원 중 5명을 선발하였고 고기 향 및 고소한 향 근접성에 대한 기호도 조사를 실시하였다. 시료는 세척한 후에 건조시킨 15 mL tube에 담아 50°C oven에서 예열시켜 사용하였고 관능 검사의 오류를 제거하기 위하여 무작위로 순서를 정하여 제공하였다.

통계처리

실험 데이터는 SAS(statistical analysis system) 통계 프로그램을 이용하여 분산분석을 행하였으며 ANOVA 분석 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다. 모든 항목은 3회 반복 실험하여 평균과 표준편차로 나타냈다.

결과 및 고찰

pH변화

3종류의 당(glucose, fructose, ribose)과 HVP인 탈지대두 단백질 가수 분해물(DFHSP)을 각각 동량으로 조합하여 반응조건으로 온도와 압력을 달리한 MRP의 pH 변화는 Table 1과 같았다. 모든 시료의 pH는 반응 후에 감소하는 경향을 보였다. 당에 의한 pH의 변화에서는 ribose로 조합된 시료는 다른 당에 비하여 모든 반응 조건에서 유의적으로 낮은 pH를 나타내었다. 5탄당인 R/DFHSP의 기질이 glucose와 fructose와 같은 6탄당의 MRP보다 높은 쪽의 pH 감소를 보여 활발한 반응성을 보였다. Ko 등(5)은 여러 가지 당과 glycine의 Maillard 반응 후 pH변화는 ribose와 xylose와 반응시킨 MRP의 pH가 가장 크게 감소되었는데 이러한 결과로 반응속도가 빠른 5탄당일수록 낮은 pH를 나타내는 결과를 보인다. 이러한 현상은 Ames(3)의 연구에서 Maillard 반응 중 pH감소는 formic acid와 acetic acid 등의 유기산 형성 등에 의한 것이라는 결과에 의해서도 뒷받침되고 있다. Benjakul 등(6)은 glucose의 경우 fructose와 galactose보다 반응 후 pH가 높게 나타났다고 보고하였으며 본 연구에서도 비슷한 경향을 보였다. 120°C에서 2시간, 121°C에서 30분 반응시킨 MRP의 경우에는 fructose가 약간 높은 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

온도별로는 100°C에서 4시간 반응시킨 MRP의 반응 후 pH감소가 다른 군에 비하여 적었으며 대기압상태의 120°C

Table 1. Changes in pH of various sugar-defatted hydrolyzed soybean protein MRPs heated under atmospheric or high pressure at different temperatures

Substrate ¹⁾	Reaction temp. (°C)/time (hr)	Pressure (kg/cm ²)	pH
G/DFHSP	100/ 4	atm.	5.23 ± 0.12 ^{2)a3)}
F/DFHSP			5.01 ± 0.05 ^{bcd}
R/DFHSP			4.80 ± 0.02 ^e
G/DFHSP	120/ 2	atm.	4.98 ± 0.02 ^{cd}
F/DFHSP			5.02 ± 0.01 ^{bc}
R/DFHSP			4.97 ± 0.01 ^{cd}
G/DFHSP	140/ 1	atm.	5.09 ± 0.01 ^b
F/DFHSP			4.98 ± 0.01 ^{cd}
R/DFHSP			4.92 ± 0.01 ^d
G/DFHSP	121/ 0.5	1.5	5.04 ± 0.03 ^{bc}
F/DFHSP			5.19 ± 0.01 ^a
R/DFHSP			4.61 ± 0.02 ^f
G/DFHSP	140/ 0.5	2.8	4.64 ± 0.02 ^f
F/DFHSP			4.48 ± 0.02 ^g
R/DFHSP			4.18 ± 0.04 ^h

¹⁾G/DFHSP: glucose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, F/DFHSP: fructose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, R/DFHSP: ribose-defatted hydrolyzed soybean protein solution.

²⁾Values represent the mean ± SD of three replications.

³⁾Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p < 0.05$).

와 140°C의 MRP는 시간에 관계없이 pH 변화가 비슷한 수준으로 나타났다. 140°C에서 대기압상태로 1시간 동안 반응시켰을 때 G/DFHSP, F/DFHSP, R/DFHSP가 각각 5.09, 4.98, 4.92인 것에 반해 같은 온도로 30분 동안 2.8 kg/cm²의 압력을 가해 제조한 4.64, 4.48, 4.18로 훨씬 낮은 pH를 보여 가압 상태에서 반응성이 크게 증대되는 것으로 판단되었다. 그중에서도 R/DFHSP의 기질을 가압반응기에서 140°C에서 30분 동안 2.8 kg/cm²의 압력으로 반응시킨 후 pH가 4.18로 감소해 가장 높은 반응성을 보였다. Hill 등(14)은 초기 pH가 5.1인 MRP의 대기상태와 600 MPa의 압력을 가한 상태에서 반응시켰을 때 대기상태에서보다 압력을 가한 것이 pH 감소율이 크게 나타난 결과를 보인다.

갈변도 변화

갈변도에 대한 당 종류의 영향으로 fructose = glucose < ribose 순으로 갈변도가 높아졌다(Fig. 1). 대기압상태의 모든 온도대에서 G/DFHSP와 F/DFHSP의 갈변도에 비하여 R/DFHSP는 유의적으로 높은 갈변도를 나타내었다. 가압상태의 121°C에서는 G/DFHSP와 F/DFHSP가 각각 0.88, 0.69인 것에 반해 R/DFHSP가 11.312로 11배 정도의 높은 차이를 보였으며 140°C에서는 8.36, 9.35에 비해 20.34로 당 종류에 따른 갈변도 차이가 크게 나타났다. 이러한 결과는 아미노산과 당의 반응에서 ribose, xylose와 같은 5탄당과의 반응이 가장 크고 6탄당, 이당류의 순서로 낮아졌다는 연구들에 의해 확인된바 있다(3,5,6). 그러나 Ryu 등(23)은 tagatose > xylose > fructose > glucose > sucrose의 순서로 갈변도가 증가하였다고 보고하였으며 Naranjo 등(24)이 fructose의 경우 glucose보다 chain의 open이 쉬워 당-아미노산 복합체가 더 쉽게 형성되어 갈변도가 높았다고 보고한 결과와는 일치

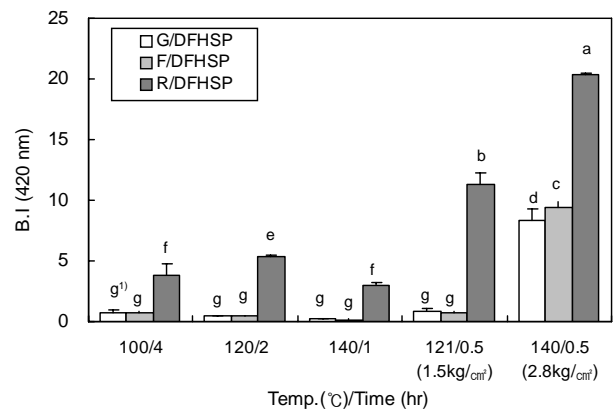


Fig. 1. Changes in browning intensity of various sugars-defatted hydrolyzed soybean protein MRPs produced at atmospheric or high pressure conditions.

G/DFHSP: glucose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, F/DFHSP: fructose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, R/DFHSP: ribose-defatted hydrolyzed soybean protein solution. Values represent the mean ± SD of three replications. ¹⁾Values with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

하지 않고 시료간의 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. Chun 등(4)은 다양한 당과 glycine의 Maillard 반응 후 갈변도가 초기에는 fructose와의 MRP가 반응속도가 빠르지만 시간이 경과할수록 glucose 혼합물이 더 빨리 갈색색소를 형성한다는 결과를 확인한 바 있다. 이러한 반응 속도의 차이는 fructose의 환상구조가 glucose에 비하여 아미노산과 반응성이 크고 빨리 이성화되어 초기에 빠른 증가를 보이나 glucose는 disubstituted amines의 형태로 되어 반응 후기에 더 빠르게 진행되는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서 나타난 현상은 반응시간의 차이에 의한 것으로 생각된다.

온도와 압력의 영향을 살펴보면 모든 당에서 대기압상태의 140°C에서 갈변도가 낮은 반면 가압상태의 140°C, 2.8 kg/cm²로 압력을 준 MRP가 가장 높은 갈변도를 보였다. G/DFHSP와 F/DFHSP 기질은 대기압상태와 가압상태의 121°C에서 갈변도가 1에 못 미치는 반면 140°C, 2.8 kg/cm²에서는 8.36과 9.35로 갈변도가 증가하여 압력에 의한 갈변이 촉진되었음을 알 수 있었다. R/DFHSP은 대기상태의 100°C, 120°C, 140°C에서 각각 3.81, 5.36, 3.00의 갈변도를 보인 것에 비해 가압반응기에서 140°C, 2.8 kg/cm² 압력을 주어 30분간 반응시킨 MRP의 갈변도가 20.34로 매우 높은 반응성을 보였다. Moreno와 Hill 등(13,14)은 glucose-lysine model system에서 대기상태와 압력을 가한 상태에서 각각 반응시켰을 때 압력을 가해 제조한 MRP의 갈변도(420 nm)가 대기상태에서보다 높게 나타났다고 보고하고 있으며 본 실험에서도 이러한 결과와 유사한 경향을 보였다. 그러나 이들은 glucose-lysine model system에서 초기 pH가 5.1과 6.5와 같이 낮은 pH에서는 압력을 가한 상태보다 대기상태에서 갈변이 더 빠르게 일어나는데 여기서 높은 압력은 lysine의 carboxylic group의 이온화를 유도하여 이것으로 인

해 pH 감소를 유도하여 Maillard 반응의 색 발달을 늦추어 갈변율을 낮추게 된다고 하였다. 반면 pH 8.0과 10.1과 같이 높은 pH에서는 lysine의 amino group이 완충되어 해리가 평형상태가 되어 압력이 독립적으로 작용해 색 발달을 가속화시켜 갈변율이 증가되는 현상을 보고하여(14) Maillard 반응에 대한 압력에 대한 영향은 아미노산의 종류 및 초기 pH가 주요 인자로 작용됨을 밝혔다.

색도의 변화

반응액의 당 종류와 반응온도, 반응시간에 따른 색 변화를 Hunter 값으로 측정된 결과(Table 2), L값은 갈변도가 다른 두 당과의 반응보다 높게 나타났던 R/DFHSP의 경우 높은 갈변으로 인해 낮은 값을 나타냈었으나 대기압 140°C 및 가압 121°C 처리구를 제외한 반응군에서 유의적 차이를 보이지 않았다. R/DFHSP의 기질을 가압반응기에서 140°C에서 2.8 kg/cm²의 압력을 가한 MRP의 L값이 0.07로 가장 낮은 것으로 나타났다.

적색도를 나타내는 a값은 모든 반응조건에서 F/DFHSP의 기질이 높은 수치를 보여 적색을 많이 띠는 것으로 나타났고 ribose와 반응시킨 MRP가 낮은 값을 나타냈으며 F/DFHSP를 140°C, 2.8 kg/cm²의 압력으로 반응시킨 것이 12.02로 가장 높게 나타났고 같은 조건에서 R/DFHSP를 반응시킨 것이 0.53으로 가장 낮게 나타났다. 황색도를 나타내는 b값은 ribose와 반응시킨 MRP가 낮은 값을 나타내었으며 R/DFHSP가 140°C, 2.8 kg/cm²가 0.12로 가장 낮게 나타났으며 140°C에서 F/DFHSP의 기질이 9.60으로 가장 황색이 높게 나타났다. 대체적으로 가압상태의 MRP가 대기상태에서 반응된 것보다 L값과 b값이 낮게 나타내는 경향을 보였다.

Table 2. Changes in color of various sugar-defatted hydrolyzed soybean protein MRPs heated under atmospheric or high pressure at different temperatures

Substrate ¹⁾	Reaction temp. (°C)/time (hr)	Pressure (kg/cm ²)	Color ²⁾		
			L	a	b
G/DFHSP	100/ 4	atm.	1.64±0.24 ^{3)cde4)}	3.76±0.25 ^{cdef}	2.81±0.41 ^{cde}
F/DFHSP			1.84±0.19 ^{cde}	4.48±0.20 ^{cdef}	3.16±0.33 ^{bcdde}
R/DFHSP			0.95±0.57 ^{de}	2.54±0.64 ^{def}	1.22±0.38 ^{de}
G/DFHSP	120/ 2	atm.	6.86±3.75 ^a	9.27±4.42 ^{abc}	8.64±6.18 ^a
F/DFHSP			5.44±1.00 ^{ab}	9.75±1.92 ^{abc}	6.38±1.97 ^{abc}
R/DFHSP			1.43±0.06 ^{de}	5.70±0.35 ^{bcddef}	0.17±0.37 ^e
G/DFHSP	140/ 1	atm.	4.32±0.74 ^{abc}	7.84±1.58 ^{abcd}	7.37±1.25 ^{ab}
F/DFHSP			5.64±0.29 ^{ab}	9.72±0.78 ^{abc}	9.60±0.50 ^a
R/DFHSP			1.29±0.08 ^{de}	5.14±0.32 ^{cdef}	1.17±0.13 ^{de}
G/DFHSP	121/ 0.5	1.5	2.39±0.16 ^{cde}	5.34±0.12 ^{cdef}	3.99±0.14 ^{bcdde}
F/DFHSP			3.18±0.30 ^{bcd}	6.69±0.01 ^{abcd}	5.45±0.50 ^{abcd}
R/DFHSP			0.16±0.01 ^e	1.12±0.01 ^{ef}	0.27±0.01 ^e
G/DFHSP	140/ 0.5	2.8	2.06±1.58 ^{cde}	11.37±8.06 ^{ab}	3.14±2.66 ^{bcdde}
F/DFHSP			2.01±0.13 ^{cde}	12.02±0.71 ^a	3.09±0.18 ^{bcdde}
R/DFHSP			0.07±0.01 ^e	0.53±0.04 ^f	0.12±0.01 ^e

^{1),3),4)} Refer footnote to Table 1.

²⁾ L: degree of lightness, a: degree of redness, b: degree of yellowness.

DPPH radical 소거활성

DPPH radical 소거활성 측정에 의한 수용액 계에서 항산화 효과의 측정결과는 Fig. 2와 같았다. 당 종류에 의한 영향을 살펴본 결과 모든 온도조건에서 hexose인 glucose나 fructose에 비하여 반응성이 큰 pentose인 ribose를 기질로 한 MRP의 항산화 효과가 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 대기압 상태의 100°C, 120°C, 140°C와 가압상태의 121°C에서 반응시킨 G/DFHSP와 F/DFHSP는 유의적 차이를 보이지 않고 비슷한 수준의 활성을 보였으나 R/DFHSP는 이에 비해 약 5배 이상의 효과를 나타냈다. 이는 Lim 등(15)이 색도를 동일하게 조절한 MRP의 항산화 효과의 측정으로 conjugated dienes의 함량 측정과 과산화물가에 의한 항산화 측정, DPPH radical 소거활성을 측정한 결과 5탄당인 xylose와 반응시킨 arginine의 항산화 효과가 높은 것을 확인하였다. 또한 Jing과 Kitts(17)도 ribose-lysine의 높은 DPPH radical 소거활성을 발견하였고 이는 당 종류의 영향으로 5탄당이 6탄당보다 반응성이 크고 특히 강한 전자공여성으로 인해 항산화 효과가 매우 크다고 보고한 결과와 유사

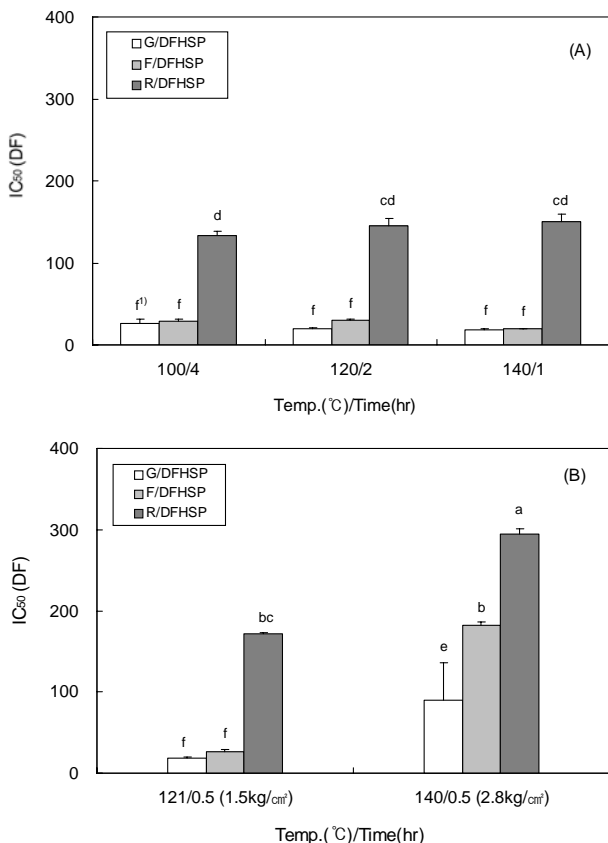


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of sugars-defatted hydrolyzed soybean protein MRPs produced at atmospheric (A) or high pressure (B) conditions.

G/DFHSP: glucose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, F/DFHSP: fructose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, R/DFHSP: ribose-defatted hydrolyzed soybean protein solution. Values represent the mean \pm SD of three replications. ¹⁾Values with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

하게 나타났다. Benjakul 등(6)은 6탄당 중에서 glucose-PPP(porcine plasma protein)의 MRP보다 fructose-PPP의 MRP가 DPPH radical 소거활성이 높게 나타났다고 보고하고 있는데 이는 glucose와 fructose 구조 차이에 의한 수소기여능 등의 radical 소거율에 더 유력한 조건을 가지고 있기 때문으로 유추하였으나 본 연구에서는 그 차이를 확인할 수 없었다.

또한 대기상태의 조건에서 G/DFHSP와 F/DFHSP의 기질은 반응시간에 관계없이 100°C와 120°C보다 140°C에서 낮은 활성을 보였으나 R/DFHSP의 경우 대기압, 140°C에서 1시간 반응하였을 때 높은 활성을 보여 150.67(DF)의 소거활성을 나타내었다. 반응조건을 강화하여 가압반응기에서 압력을 가한 MRP는 대기상태보다 높은 항산화 효과를 보였다. 반응에 사용한 모든 당에서 140°C에서 2.8 kg/cm²로 30분 반응 후에 89.47, 182.05, 293.96(DF)의 소거활성을 나타내어 model system의 반응조건에서 가장 높은 항산화 효과를 보이는 것은 R/DFHSP의 기질을 140°C에서 2.8 kg/cm², 30분 반응시킨 것이었다. 5탄당의 높은 반응성과 가압 등의 반응 조건은 MRP의 DPPH radical 소거활성을 증가시켜 기능적 특성을 향상할 수 있는 것으로 결론할 수 있다.

Sumaya-Martinez 등(25)도 ribose-hydrolysate MRP가 온도가 증가할수록 높은 항산화 효과를 나타내었다는 보고를 하였으며 본 결과와 유사한 것으로 해석되었다. 갈변도와 항산화활성의 관계에서 Manzocco(26)는 Maillard 반응 동안의 색변화는 열에 의해 유도되는 항산화 물질의 형성과 관계가 있다고 하였으며 갈변도가 높았던 ribose와 반응시킨 MRP의 항산화 효과가 높게 나타난 결과와 유사한 양상으로 생각된다. 그러나 Maillard 등(16)은 glucose-arginine의 경우 갈변도와 DPPH radical 소거율 사이에 직선적인 비례관계를 가지나 glucose-lysine의 경우 반응시간에 따라 갈변도가 증가하는 반면 항산화 효과는 최대점까지 증가하다 감소하는 경향을 보였다고 보고하여 갈변도 외에 반응시간도 요인이 됨을 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거활성

Hydroxyl radical은 높은 반응성을 가지는 free radical로 금속이온의 존재 시 superoxide anion과 hydrogen peroxide로부터 형성되는데 이 radical은 산소와 반응하여 더 많은 활성산소종인 활성산소 radical을 만들게 되고 이것이 생체고분자의 산화를 일으켜 노화나 암 발생 등의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 이에 제조된 MRP용액의 hydroxyl radical 소거활성을 연구하여 항산화 효과에 의한 억제효과를 비교하고자 하였다(Fig. 3). 항산화성 비교는 IC₅₀값인 hydroxyl radical 소거율이 50%일 때의 희석배수(DF)로 하였으며 DF값이 높을수록 항산화 효과가 큰 것으로 나타났다.

당 종류에 의한 영향은 대기압 조건에서 100°C와 140°C에서는 시료 간의 유의적 차이는 없었으나 120°C에서는 G/

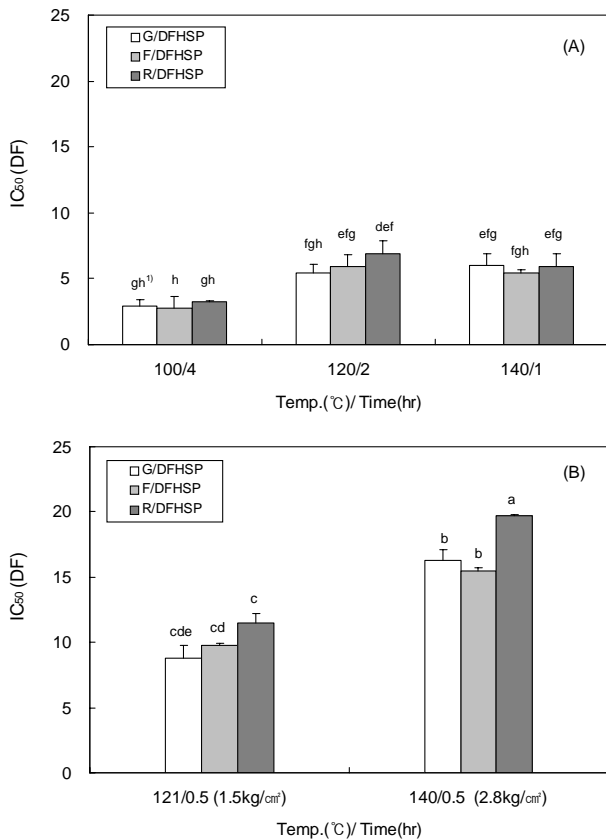


Fig. 3. Hydroxy radical scavenging activity of sugars-defatted hydrolyzed soybean protein MRPs produced at atmospheric (A) or high pressure (B) conditions. G/DFHSP: glucose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, F/DFHSP: fructose-defatted hydrolyzed soybean protein solution, R/DFHSP: ribose-defatted hydrolyzed soybean protein solution. Values represent the mean±SD of three replications. ¹Values with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

DFHSP와 F/DFHSP의 소거활성이 5.5, 5.9인 것에 반해 R/DFHSP는 6.9로 나타나 ribose를 기질로 한 MRP의 활성이 약간 높았으나 F/DFHSP와의 유의적인 차이는 없었다 (Fig. 3A). 가압상태에서도 당에 의한 유의적인 차이는 보이지 않았으나 121°C에서 G/DFHSP와 F/DFHSP의 소거활성은 각각 8.8, 9.8로 ribose를 당원으로 했을 때의 11.5보다 다소 낮은 것으로 나타났으며 140°C에서는 16.3, 15.4인 것에 반해 R/DFHSP는 19.7로 당원에 의한 유의적 차이는 보이지 않았다 (Fig. 3B). Jing과 Kitts(17)의 결과에서는 glucose, fructose, ribose와 lysine을 반응시켜 제조한 MRP의 hydroxyl radical 소거활성의 차이가 크지 않았다는 결과와는 일치하였으나 glucose, fructose, ribose-casein의 hydroxy radical 소거효과는 glucose와 fructose의 경우 비슷하고 ribose의 MRP는 저해율이 가장 낮게 나타난 Jing과 Kitts(27)의 결과와는 다소 차이가 있었다.

대기압 조건에서 반응 생성된 시료의 hydroxy radical 소거활성은 가압조건에서 반응 생성된 시료보다 낮은 값을 나타내었으며 100°C에서 4시간 반응시킨 G/DFHSP, F/DFHSP,

R/DFHSP의 MRP는 각각 2.9, 2.7, 3.2로 가장 낮은 소거활성을 나타내었다. 가장 높은 소거활성은 가압상태에서 R/DFHSP를 140°C에서 30분 동안 반응시킨 것으로 19.7(DF)로 나타났다. 대기상태나 압력을 가한 상태 모두 대체적으로 ribose와 조합하여 반응시킨 MRP의 hydroxy radical 소거율이 높은 것으로 나타났는데 DPPH radical 소거율 측정 결과와도 일치하여 항산화적 능력을 극대화시킬 수 있는 당원으로 기대된다. Wijewickreme 등(28)도 다른 당과의 비교에서 ribose-lysine MRP의 hydroxyl radical 소거능이 가장 높게 나타났다고 보고하였으며 Osawa 등(29)은 5탄당 MRP의 hydroxyl radical 소거활성에 환원활성은 중요한 인자라고 보고하였다.

관능적 특성

당(glucose, fructose, ribose)과 탈지대두단백 산 가수 분해물을 기질로 한 MRP의 온도 및 압력조건에 따른 관능적 특성을 비교한 결과는 Table 3과 같았다. 고기 향에 근접 정도에 따라 기호도로 조사하였는데 전체적으로 기호도가 높지 않았으나 그중 ribose와 조합하여 반응시킨 기질이 고기 향에 근접하여 상대적으로 다른 시료에 비해 높은 기호도를 나타내었으나 glucose와 fructose를 사용한 MRP의 기호도와 유의적 차이를 나타내지 않았다. Ko 등(5)은 여러 당과 아미노산을 조합하여 고기 향에 근접한 반응기질을 찾고자 하였는데 xylose나 ribose를 단독 또는 혼합하여 cystine과 반응시킨 MRP가 고기 향에 가장 근접하였다고 보고한 결과와 유사하게 나타났다.

온도가 낮은 반응조건에서 MRP는 대체적으로 간장과 비슷한 냄새로 인하여 기호도가 저하되는 경향을 나타냈는데 이것은 탈지대두단백 산 가수 분해물액의 원래의 냄새에 큰

Table 3. Sensory evaluation of various sugar-defatted hydrolyzed soybean protein MRPs heated under atmospheric or high pressure at different temperatures

Substrate ¹⁾	Reaction temp. (°C)/time (hr)	Pressure (kg/cm ²)	Preference (score)
G/DFHSP F/DFHSP R/DFHSP	100/ 4	atm.	1.66±0.58 ^{2)abc3)} 1.66±0.58 ^{abc} 1.66±0.58 ^{abc}
G/DFHSP F/DFHSP R/DFHSP	120/ 2	atm.	1.00±0.01 ^c 1.33±0.58 ^{bc} 1.00±0.01 ^c
G/DFHSP F/DFHSP R/DFHSP	140/ 1	atm.	1.66±0.58 ^{abc} 1.33±0.58 ^{bc} 2.00±0.01 ^{ab}
G/DFHSP F/DFHSP R/DFHSP	121/ 0.5	1.5	1.66±0.58 ^{abc} 1.33±0.58 ^{bc} 2.33±0.58 ^a
G/DFHSP F/DFHSP R/DFHSP	140/ 0.5	2.8	1.66±0.58 ^{abc} 1.66±0.58 ^{abc} 2.00±0.03 ^{ab}

¹⁻³⁾Refer footnote to Table 1.

영향을 받은 것으로 판단된다. 처리구 중에서 121°C, 1.5 kg/cm²의 압력으로 30분 반응시킨 MRP가 적절한 강도와 mild하고 달콤한 향으로 높은 기호도를 나타내었다. 이에 반해 140°C, 2.8 kg/cm²의 MRP는 탄내와 간장냄새로 인해 기호도가 크게 저하됨을 보였다. Yoon 등(19)은 Maillard 초기반응이 일어나기 시작하면서 구수한 냄새가 나게 되고 그 이후 반응이 진행될수록 구수한 맛을 내는 성분은 줄어들고 이미를 나타내는 성분이 증가하게 된다고 보고하였고, Ko 등(30)은 HVP 첨가구의 향의 변화는 낮은 농도에서 황내와 단내가 많이 존재하는 반면 높은 농도에서는 고기내와 고소한 냄새가 증가하고 시간이 증가될수록 탄내가 강해진다고 보고한 결과와 유사한 양상으로 보인다. 한편 당류는 Maillard 반응 시 삶은 쇠고기향의 생성에 관여하는 전구물질로서 일반적으로 5탄당이 반응성이 더 강하고, 당의 종류는 발생하는 향의 특성보다는 반응속도에 더 관여한다(31). 따라서 본 실험에서 전체적인 기호도가 높지 않은 것은 당류보다는 탈지대두 단백질 산 가수 분해물액이 원인이 될 수도 있을 것으로 판단하였다.

요 약

본 연구는 식물단백 가수 분해물(HVP)인 탈지대두 단백질 산 가수 분해물(DFHSP)과 환원당(glucose, fructose, ribose)을 기본 원료로 하여 여러 가지 반응온도, 반응시간, 압력 등 다양한 반응조건 model system하에서 MRP를 제조하여 이화학적 특성과 항산화 효과, 관능적 특성이 우수한 MRP생산을 위한 최적기질과 반응조건을 찾고자 하였다. 반응액의 이화학적 특성은 pH, 갈변도, 색도의 변화로 비교하였으며 항산화활성은 DPPH radical 소거활성과 hydroxy radical 소거활성을 통해 측정하였으며 관능적 특성은 기호도로 비교하였다. 당 종류에 따른 MRP의 반응성을 비교한 결과, MRP의 pH 감소와 갈변도의 증가는 환원당 중 ribose와 반응시킨 MRP가 유의적으로 크게 나타났으며 대기상태에서 제조된 시료보다 압력을 가해 반응시킨 MRP가 높은 반응성을 보였다. Glucose와 fructose를 사용한 경우에는 유의적 차이를 보이지 않았다. 그중에서도 R/DFHSP을 가압 반응기에서 140°C에서 30분 동안 2.8 kg/cm² 압력을 주어 반응시킨 MRP가 가장 높은 pH 감소와 갈변도를 보였다. DPPH radical 소거활성과 hydroxy radical 소거활성의 경우 glucose나 fructose의 hexose보다 반응성이 큰 pentose인 ribose를 당원으로 한 R/DFHSP 반응계가 높은 활성을 보였으며 이를 가압상태의 조건으로 반응시킬 경우 항산화활성이 훨씬 증대되는 효과를 보였다. 관능적 특성비교 결과 ribose와 반응시킨 MRP가 고기 향에 근접한 MRP의 기질로 선정되었으며 대기압 상태의 낮은 반응조건에서 제조될 경우 탈지대두 단백질 산 가수 분해물액 자체의 간장냄새로 인하여 기호도가 높지 않았다. 가압반응조건에서는 R/DFHSP을

121°C에서 1.5 kg/cm²의 압력 하에서 30분간 반응시킨 MRP의 경우 고기 향에 근접하는 평가를 얻었으나 140°C에서 2.8 kg/cm²의 압력 하에서 제조 시 탄내가 심하여 기호도가 저하되었다. 이상의 결과에서 반응성과 항산화적 측면에서는 ribose를 당원으로 하며 가압의 조건을 가해 MRP를 제조할 경우 상당한 항산화활성 증강효과를 얻을 수 있으나 관능적 특성을 고려하였을 때는 높은 압력은 너무 높은 반응성으로 인해 기호도 감소의 원인이 된다.

문 헌

- Jing H, Kitts DD. 2000. Comparison of the antioxidative and cytotoxic properties of glucose-lysine and fructose-lysine Maillard reaction products. *Food Res Intern* 33: 509-516.
- Morales FJ, Jimenez-Perez S. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chem* 72: 119-125.
- Ames JM. 1998. Applications of the Maillard reaction in the food industry. *Food Chem* 62: 431-439.
- Chun YH, Kim CK, Kim WJ. 1986. Effects of temperature, pH and sugars on kinetic property of Maillard reaction. *Korean J Food Sci Technol* 18: 55-60.
- Ko SN, Yoon SH, Yoon SK, Kim WJ. 1997. Development of meat-like flavor by Maillard reaction of model system with amino acids and sugars. *Korean J Food Sci Technol* 29: 827-838.
- Benjakul S, Lertittikul W, Bauer F. 2005. Antioxidant activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-sugar model system. *Food Chem* 93: 189-196.
- Lertittikul W, Benjakul S, Tanaka M. 2007. Characteristics and antioxidative activity of Maillard reaction products from a porcine plasma protein-glucose model system as influenced by pH. *Food Chem* 100: 669-677.
- Ajandouz EH, Tchiakpe LS, Dalle Ore F, Benajiba A, Puigserver A. 2001. Effects of pH caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model system. *J Food Sci* 66: 926-931.
- Shen SC, Wu JSB. 2004. Maillard browning in ethanolic solutions. *J Food Sci* 69: 273-279.
- Shen SC, Tseng KC, Wu JSB. 2007. An analysis of Maillard reaction products in ethanolic glucose-glycine solution. *Food Chem* 102: 281-287.
- Mustapha WAW, Hill SE, Blanshard JMV, Derbyshire W. 1998. Maillard reactions: do the properties of liquid matrices matter. *Food Chem* 62: 441-449.
- Cerny C, Guntz-Dubini R. 2006. Role of the solvent glycerol in the Maillard reaction of D-fructose and L-alanine. *J Agric Food Chem* 54: 574-577.
- Moreno FJ, Molina E, Olano A, Lopez-Fandino R. 2003. High-pressure effects on Maillard reaction between glucose and lysine. *J Agric Food Chem* 51: 394-400.
- Hill VM, Ledward DA, Ames JM. 1996. Influence of high hydrostatic pressure and pH on the rate of Maillard browning in a glucose-lysine system. *J Agric Food Chem* 44: 594-598.
- Lim WY, Kim JS, Moon GS. 1997. Antioxidative effect and characteristics of different model melanoidins with same color intensity. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1045-1051.
- Maillard MN, Billaud C, Chow YN, Ordonaud C, Nicolas J. 2007. Free radical scavenging inhibition of polyphenoloxidase activity and copper chelating properties of model

- Maillard systems. *Food Sci Technol* 40: 1434-1444.
17. Jing H, Kitts DD. 2004. Antioxidant activity of sugar-lysine Maillard reaction products in cell free and cell culture system. *Arch Biochem Biophys* 429: 154-163.
 18. Aaslyng MD, Martens M, Poll L, Nielsen PM, Flyge H, Larsen LM. 1998. Chemical and sensory characterization of hydrolyzed vegetable protein, a savory flavoring. *J Agric Food Chem* 46: 481-489.
 19. Yoon SH, Lee JK, Nam HS, Lee HJ. 1994. Formation of meatlike flavors by Maillard reaction using hydrolyzed vegetable protein. *Korean J Food Sci Technol* 26: 781-786.
 20. Kim DS, Kim JS. 2004. Manufacturing of meat flavor extract used for browning reaction. *Korean J Food Nutr* 17: 313-321.
 21. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* 28: 25-30.
 22. Halliwell B, Gutteridge JMC, Aruoma OI. 1987. The deoxy-ribose method: a simple test tube assay for determination of rate constant for reaction of hydroxy radicals. *Anal Biochem* 165: 215-219.
 23. Ryu SY, Roh HJ, Noh BS, Kim SY, Oh DK, Lee WJ, Yoon JR, Kim SS. 2003. Effects of various sugars including tagatose and their molar concentrations on the Maillard browning reaction. *Korean J Food Sci Technol* 35: 898-904.
 24. Naranjo GB, Malec LS, Vigo MS. 1998. Reducing sugars effect on available lysine loss of casein by moderate heat treatment. *Food Chem* 62: 309-313.
 25. Sumaya-Martinez MT, Thomas S, Linard B, Binet A, Guerard F. 2005. Effect of Maillard reaction conditions on browning and antiradical activity of sugar-tuna stomach hydrolysate model system. *Food Res Intern* 38: 1045-1050.
 26. Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lericri CR. 2001. Review of non enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci Technol* 11: 340-346.
 27. Jing H, Kitts DD. 2002. Chemical and biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products. *Food Chem Toxicol* 40: 1007-1015.
 28. Wijewickreme AN, Krejpcio Z, Kitts DD. 1999. Hydroxyl scavenging activity of glucose, fructose, and ribose-lysine model Maillard products. *J Food Sci* 64: 457-461.
 29. Osawa T, Katsuzaki H, Hagiwara Y, Hagiwara H, Shibamoto T. 1992. A novel antioxidant isolated from young green barley leaves. *J Agric Food Chem* 40: 1135-1138.
 30. Ko SN, Nam HS, Kim WJ. 1997. Development of meat-like flavor by Maillard reaction with addition of natural flavoring materials. *Korean J Food Sci Technol* 29: 839-846.
 31. Kang JG, Kang ST, Kang JY, Xu A, Oh KS. 2006. Flavor enhancement of pearl oyster by Maillard reaction. *J Agric Life Sci* 40: 55-63.

(2008년 10월 20일 접수; 2008년 11월 18일 채택)