

반응표면분석법을 이용한 Ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 마이알 반응기질 조건 최적화

문지혜 · 최희돈 · 최인욱 · 김윤숙[†]
한국식품연구원

Optimization for Maillard Reaction Substrate Conditions of Ribose and Hydrolyzed Wheat Gluten Solution Using Response Surface Methodology

Ji-Hye Moon, Hee-don Choi, In-wook Choi, and Yoonsook Kim[†]

Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

Response surface methodology (RSM) was applied to optimize substrate conditions of ribose and hydrolyzed wheat gluten solution for Maillard reaction. Independent variables were NaCl concentration of hydrolyzed wheat gluten (X_1), concentration of ribose (X_2) and concentration of hydrolyzed wheat gluten (X_3), while the dependent variables of the central composite design (CCD) were browning index (absorbance 420 nm), DPPH radical scavenging activity (DF) and sensory preference (score). Optimum substrate conditions at 140°C, 30 min reaction were 3% NaCl concentration of hydrolyzed wheat gluten, 6.2% concentration of ribose and 13.27% concentration of hydrolyzed wheat gluten. The coefficients of determination (R^2) were 0.975, 0.960 and 0.854, the model fit was very significant ($p < 0.001$). DPPH radical scavenging activities and sensory preferences were predicted as 700 (DF) and 8.42 (score), respectively. The model solution increased more browning and DPPH radical scavenging activities with increasing ribose and hydrolyzed wheat gluten concentration. Especially hydrolyzed wheat gluten concentration was the most influential factor, while NaCl concentration of hydrolyzed wheat gluten hardly affected the responses. Sensory preference was increased with rising wheat gluten concentration and decreasing NaCl concentration of hydrolyzed wheat gluten.

Key words: Maillard reaction, hydrolyzed wheat gluten, response surface methodology (RSM)

서 론

식품이 실제로 함유하고 있는 향을 여러 가지 전구체를 사용하여 발현시키는 것을 reaction flavor라 하며, 그 주요 가공기술로는 열처리 및 효소작용을 들 수 있다. 특히 가열에 의하여 향을 제조할 때 Maillard reaction과 strecker degradation에 근거를 두고 있으며 MRP(Maillard reaction products)와 중간생성물에 대하여 개선제, 증강제, 첨가제 등을 사용하여 제조되어진다(1). 식품의 고유한 향미와 색을 얻기 위하여 가열처리를 통해 식품성분 중 유리된 aldehyde group이나 keto group을 가진 환원당 또는 가수분해 되어 환원당을 만들 수 있는 당류와 아미노산, 펩타이드, 단백질 등과 같은 amino group을 가진 질소화합물이 가열 반응하여 갈색물질을 형성하면서 특유한 냄새를 갖는다. Maillard 반응은 품질이 우수한 식품의 제조에 중요한 역할을 하며, 빵 크러스트의 색, 파스타의 색은 이에 의해 결정되며 커피 및 구운 육류제품 등 가열 가공된 식품은 여러 가지 수준의

MRP를 포함하고 있다. 또한 이때 생성된 MRP는 항산화성, 항돌연변이성 등 여러 생리활성을 가지는 것으로 밝혀지고 있다(2). Maillard 반응은 기질의 종류 및 농도(3,4), 반응온도 및 시간(5), pH(5-7), 수분활성(8) 등의 요인에 의해 식품의 색, 향, 항산화 특성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

Ribose는 Maillard 반응에 참여해 고기에 많이 존재하는 inosine-5'-monophosphate(IMP)로 생성되어 쇠고기 향 발현에 중요한 환원당으로 알려져 있다. 또한 기질로 5탄당이 6탄당보다 반응성이 강한 것으로 알려져 있는데 이는 주로 향 특성보다는 반응속도에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(9). Reaction flavor의 천연소재로는 일반적으로 혼합간장, 소스류 등 가공식품의 원료 및 첨가물로 널리 사용되는 HVP(hydrolyzed vegetable protein)가 사용되고 있다. HVP는 탈지대두나 소맥, 옥수수 등을 산으로 가수분해하여 맛이 강하고 간장 특유의 풍미를 나타낸다(10). 이러한 특성을 이용하여 HVP를 기본원료로 몇몇 반응 전구물질을 첨가해 meatlike flavor를 개발(11)하거나 HVP 및 효모 추출물을

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

첨가하여 고기 향 개발을 시도한바 있다(12). 그러나 HVP를 얻기 위한 산 분해과정에서 바람직하지 못한 부산물이 형성되고 중화과정에서 다량의 염(salt)이 형성되는 단점이 있다(10). 최근에는 저염 식품에 대한 수요가 증가하는 추세로(13), 이에 따라 전기투석에 의한 간장이나 젓갈류의 저염화가 이루어지고 있으며(14), 탈염된 참치 자숙액의 정미성을 이용하여 천연 복합조미료 및 조미간장으로의 이용(15)이 시도된 바 있다. 천연조미료 생산에 있어서도 Maillard 반응 기질로 많이 사용되는 HVP의 저염화가 필요한 실정이다.

최근에는 Maillard 반응에 온도, pH, 시간 등의 조건이 미치는 영향에 관한 연구에 반응표면 분석법이 이용(3-8)되고 있으며 HVP로부터 구운 쇠고기 향 발현 연구(8) 및 진주 조개 엑스분의 풍미개선연구 등에 이용된 바 있다(16). 대부분의 연구는 기질의 조건보다는 온도 및 시간, pH 등 반응조건 설정에 대한 연구에 중점을 두고 있으며 MRP의 항산화 특성과 관능적 특성을 고려한 기질조건을 최적화 및 이들 요인들의 상호의존적 조건 설정에 관한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 반응표면 분석법(Response Surface Methodology, RSM)을 활용하여 반응기질인 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도 요인을 최적화하여 항산화 활성이 강하고 고기향미를 가지는 MRP를 생산하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서 사용한 당은 D-ribose로 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)의 일급시약을 사용하였고 식물단백 가수분해물(hydrolyzed vegetable protein)은 (주)매일식품(Suncheon, Korea)에서 2007년에 생산된 소맥 글루텐 산 가수분해물(W, glutamic acid 34.53%, 분해도 99%)을 사용하였다. DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl)는 Sigma Co.의 제품을 사용하였다.

기질농도 최적화를 위한 실험계획

Ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 적정 농도에 측정과 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 최적 염 농도를 설정하기 위하여 반응표면분석을 실시하였다. 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(%), X_1), ribose 농도(%), X_2), 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도(%), X_3)를 독립변수로 하였으

며 이를 각각 5단계(-2, -1, 0, 1, 2)로 부호화하여 중심합성계획(central composite design, CCD)에 따라 실험을 진행하였다(Table 1). 실험군의 수는 3개의 요인변수가 5수준을 갖도록 중심합성계획에 의해 17구간으로 설정하여 실험을 실시하였으며 독립변수에 영향을 받는 종속변수(dependent variables)는 갈변도(Y_1)와 DPPH radical 소거활성을 통한 항산화효과(Y_2), 관능평가(Y_3)로 설정하였다. 이 종속변수를 만족시키는 최적조건을 찾기 위해서는 MINITAB statistical software(Version 13, Minitab Inc., State College, PA, USA)를 사용하였으며 반응표면 그래프를 그리기 위해 Maple software(Maple 7, Waterloo Maple Inc., Waterloo, ON, Canada)를 사용하였다.

MRP 생성

중심합성계획에 제시된 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도로 조절하기 위하여 소맥 글루텐 산 가수분해물을 농축기(Rotavapor R-114, BUCHI, Flawil, Switzerland)로 용량대비 각각 30, 50, 70, 90, 100%가 되게 감압농축 하여 과포화상태로 침전을 발생시켜 이때 석출되는 염을 Whatman No. 4(pore size 20 μ m)의 여과지로 여과한 후 초기 용량만큼 증류수를 첨가하였다. 염 농도가 2.97~22.82%인 소맥 글루텐 산 가수분해물을 제조하였다. 제시된 반응조합에 따라 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액을 증류수에 용해하였으며 pH 9로 조절하였고 최종 용량을 50 mL로 하였다. 이를 플라스크에 넣고 환류냉각관을 연결시킨 뒤 oil bath (C-WHT, Chang Shin Science Co., Seoul, Korea)에서 140 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 반응시켰다.

갈변도

MRP의 갈변도는 spectrophotometer(DU 650 spectrophotometer, Beckman, Fullerton, CA, USA)를 사용하여 갈색색소의 측정범위인 420 nm에서 측정하였다.

DPPH assay에 의한 항산화 활성(IC₅₀)

항산화 활성은 Brand-Williams 등(17)의 DPPH에 의한 전자 공여능의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 0.1 mM DPPH 용액 1.0 mL에 에탄올 1.0 mL, 농도별로 희석한 MRP 0.5 mL를 넣고 10초간 교반한 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(dilution factor, DF)로 산출하여 각 MRP의 소거활성을 비교하

Table 1. Levels of the independent variables for experimental design of Maillard reaction

Independent variables	Symbol	Levels				
		-1.682	-1	0	1	1.682
NaCl conc. of HWG ¹⁾ (%)	X_1	2.97	7.00	12.90	18.80	22.82
Ribose conc. (%)	X_2	1.28	4.00	8.00	12.00	14.72
HWG conc. (%)	X_3	1.28	4.00	8.00	12.00	14.72

¹⁾Hydrolyzed wheat gluten.

였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

A_0 : absorbance of control, A_1 : absorbance of sample

관능적 특성

MRP의 향 특성에 익숙하도록 훈련된 5명의 패널을 구성하여 여러 반응변수로 조합된 MRP의 기호도를 9점 척도법 [매우좋다(9점), 좋다(7점), 보통이다(5점), 싫다(3점), 매우 싫다(1점)]를 이용하여 평가하였다. 시료는 세척한 후에 건조시킨 15 mL tube에 담아 50°C oven에서 예열시켜 사용하였으며 관능검사의 오류를 제거하기 위해서 시료의 순서는 무작위로 정하였다.

통계분석

소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도, ribose 농도, 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도에 따른 MRP의 특성은 Minitab program을 사용하여 반응표면회귀분석으로 통계 처리 하였다. 이때 독립변수 X_i 와 X_j 에 대한 종속변수 Y (갈변도, 항산화 효과, 기호도)는 다음과 같은 2차 회귀식으로 나타내었으며, β_0 는 상수이고 β_i , β_{ii} , β_{ij} 는 회귀계수이다.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

Maillard 반응 조건의 최적화는 Minitab program을 이용하여 각각의 반응변수에 대한 목표 값을 설정하여 그 범위를 만족시키면서 합성된 만족도(D)를 최대화하는 인자의 최적 조합으로 결정하였다.

결과 및 고찰

갈변도의 변화

갈변속도는 반응하는 환원당의 종류에 대한 영향을 많이 받는다. 환원당의 반응성은 5탄당이 6탄당보다 반응성이 강하며 이는 주로 향 특성보다는 반응속도에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(9). 선행 연구(결과 미제시)에서 갈색반응 속도가 빠르며 바람직한 쇠고기 향 생성에 최적 기질인

Table 2. Central composite design and responses of dependent variables for optimization of Maillard reaction conditions

No.	Coded levels of variable			Responses		
	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3
1	-1	-1	-1	7.5	134.5	5.0
2	1	-1	-1	9.3	141.6	4.7
3	-1	1	-1	21.4	175.6	4.7
4	1	1	-1	15.6	183.2	6.0
5	-1	-1	1	25.8	543.1	7.3
6	1	-1	1	23.5	296.4	7.0
7	-1	1	1	72.7	845.7	5.2
8	1	1	1	47.6	654.3	4.7
9	-1.682	0	0	30.6	343.0	5.5
10	1.682	0	0	29.7	404.9	5.7
11	0	-1.682	0	6.0	94.6	3.7
12	0	1.682	0	58.5	670.2	3.5
13	0	0	-1.682	2.5	35.2	4.7
14	0	0	1.682	54.3	737.7	6.0
15	0	0	0	30.8	400.7	4.5
16	0	0	0	30.8	405.4	4.5
17	0	0	0	32.0	424.4	4.5

X_1 : NaCl conc. of HWG (%), X_2 : ribose conc. (%), X_3 : HWG conc. (%). Y_1 : browning index, (absorbance 420 nm), Y_2 : DPPH radical scavenging activity (DF), Y_3 : flavor sensory test (score). Maillard reaction produced at 140°C for 30 min in oil bath, MRP solution's initial pH 9.

ribose를 선정하였고, 아미노산원으로는 소맥 글루텐 산 가수분해물을 선정하였다. 기질 조건으로 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(%), X_1 와 ribose 농도(%), X_2 , 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도(%), X_3 를 조절하여 Maillard 반응에 영향을 받는 종속변수 Y_1 (갈변도, absorbance 420 nm)의 실험값을 Table 2에 나타내었다. 갈변도(Y_1)는 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도가 7.0%, ribose 농도가 12%, 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도가 12%일 때 72.7로 가장 높은 값을 나타내었으며, 염 농도가 12.9%, ribose 농도가 8%, 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도가 1.28%일 때 2.5로 가장 낮게 나타났다.

t -statistic에 근거하여 종속변수 Y_1 의 일차항(X_1 , X_2 , X_3), 이차항(X_1^2 , X_2^2 , X_3^2), 상호항(X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3)의 계수와 유의성을 나타낸 결과(Table 3), Y_1 의 경우 일차항에서 X_2 와

Table 3. Estimated coefficients of the fitted quadratic polynomial equation for different responses based on t -statistic

	Y_1		Y_2		Y_3	
	Coefficient	p-value	Coefficient	p-value	Coefficient	p-value
Intercept	31.3473	0.001	410.641	0.001	4.45464	0.001
X_1	-2.4100	0.098	-23.380	0.280	0.03927	0.813
X_2	13.1432	0.001	125.303	0.001	-0.27359	0.132
X_3	14.8582	0.001	211.327	0.001	0.43834	0.029
X_1X_1	-0.8785	0.547	-14.438	0.532	0.54515	0.018
X_2X_2	-0.1361	0.925	-11.451	0.618	-0.16196	0.389
X_3X_3	-1.4972	0.317	-10.019	0.662	0.45676	0.036
X_1X_2	-3.8000	0.055	6.975	0.797	0.17500	0.431
X_1X_3	-2.9250	0.119	-56.600	0.067	-0.22500	0.318
X_2X_3	6.3500	0.006	72.225	0.028	-0.67500	0.015

X_1 : NaCl conc. of HWG (%), X_2 : ribose conc. (%), X_3 : HWG conc. (%). Y_1 : browning index (absorbance 420 nm), Y_2 : DPPH radical scavenging activity (DF), Y_3 : flavor sensory test (score).

Table 4. Response surface model for Maillard reaction conditions

Responses	Quadratic polynomial model	R ²	p-value
Y ₁	$Y_1 = 31.3473 - 2.4100X_1 + 13.1432X_2 + 14.8582X_3 - 0.8785X_1^2 - 0.1361X_2^2 - 1.4972X_3^2 - 3.8000X_1X_2 - 2.9250X_1X_3 + 6.3500X_2X_3$	0.975	0.001
Y ₂	$Y_2 = 410.641 - 23.380X_1 + 125.303X_2 + 211.327X_3 - 14.438X_1^2 - 11.451X_2^2 - 10.019X_3^2 + 6.975X_1X_2 - 56.600X_1X_3 + 72.225X_2X_3$	0.960	0.001
Y ₃	$Y_3 = 4.45464 + 0.03927X_1 - 0.27359X_2 + 0.43834X_3 + 0.54515X_1^2 - 0.16196X_2^2 + 0.45676X_3^2 + 0.17500X_1X_2 - 0.22500X_1X_3 - 0.67500X_2X_3$	0.854	0.029

Y₁: browning index (absorbance 420 nm), Y₂: DPPH radical scavenging activity (DF), Y₃: flavor sensory test (score).

Table 5. Analysis of variance for response of dependent variables (Y₁, Y₂ and Y₃)

Responses	Sources	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	F-value	p-value
Y ₁	Model	9	5989.74	665.53	30.58	0.001
	Linear	3	5453.43	1817.81	83.53	0.001
	Quadratic	3	29.77	9.92	0.46	0.721
	Cross-product	3	506.54	168.85	7.76	0.013
	Residual	7	152.33	21.76	—	—
	Lack of fit	5	151.37	30.27	63.07	0.016
	Pure error	2	0.96	0.48	—	—
Total	16	6142.08	—	—	—	—
Y ₂	Model	9	902748	100305	18.45	0.001
	Linear	3	831790	277263	51.00	0.001
	Quadratic	3	3209	1070	0.20	0.895
	Cross-product	3	67749	22583	4.15	0.055
	Residual	7	38059	5437	—	—
	Lack of fit	5	37744	7549	47.94	0.021
	Pure error	2	315	157	—	—
Total	16	940807	—	—	—	—
Y ₃	Model	9	14.3789	1.59765	4.55	0.029
	Linear	3	3.6673	1.22244	3.48	0.079
	Quadratic	3	6.4166	2.13885	6.10	0.023
	Cross-product	3	4.2950	1.43167	4.08	0.057
	Residual	7	2.4564	0.35091	—	—
	Lack of fit	5	2.4564	0.49128	—	—
	Pure error	2	0.001	0.001	—	—
Total	16	16.8353	—	—	—	—

Y₁: browning index (absorbance 420 nm), Y₂: DPPH radical scavenging activity (DF), Y₃: flavor sensory test (score).

X₃은 1% 이내에서 유의적인 영향을 미치는 것으로 나타났으나 이차항과 X₂X₃(p<0.05)을 제외한 상호항은 모두 유의하지 않는 것으로 나타났다. Table 4는 Y₁(갈변도)에 대한 반응표면 모델식(response surface model equation)을 나타낸 것으로 결정계수(R²)가 0.975로 유의성은 1% 이내에서 인정되었다. 또한 종속변수 Y₁의 ANOVA(analysis of variance)의 결과(Table 5)에 의하면 Y₁(browning index)은 이차항을 제외한 모든 항에서 유의성이 있는 것으로 인정되었다(p<0.05).

Maillard 반응 시 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X₁)와 ribose의 농도(X₂), 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도(X₃)가 갈변도에 미치는 영향을 알아보기 위해 Maple software를 사용하여 그래프로 나타내었다(Fig. 1). 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X₁)와 ribose의 농도(X₂)의 상관관계(Fig. 1a)를 살펴보면 ribose의 농도가 증가할수록 갈변도는 증가하는 경향을 보였다. 갈변도는 소맥 글루텐의 염 농도가 낮은 범위에서는 ribose 농도의 증가에 따라 갈변

도는 직선적으로 크게 증가하였으나 염 농도가 증가할수록 갈변도 증가의 기울기는 감소하였다. 또한 ribose의 함량이 높은 범위에서는 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도의 함량이 증가할수록 갈변도가 감소하는 경향을 나타냈다. 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X₁)와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 농도(X₃)와의 상관관계(Fig. 1b)에서도 소맥 글루텐의 농도가 증가할수록 갈변도는 완만하게 증가되었으며 염 농도가 낮은 범위에서는 소맥 글루텐 산 가수분해물액의 농도 증가에 따라 갈변도가 급격히 증가되었다. 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도가 높은 범위에서 염 농도가 증가될수록 갈변도가 저하되었으나 감소 폭이 적어 미세한 영향을 주는 것으로 판단된다. Kwak과 Lim(18)은 된장 제조 시 고농도의 NaCl은 저농도에서보다 된장의 색 발달을 늦추게 된다고 보고하였다. 이는 된장에서 발생하는 당과 아미노산의 Maillard 반응이 고염의 조건에서 저하된다는 결과를 보여주는 것으로 본 실험에서 기질의 염 농도가 높을수록 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도 증가에

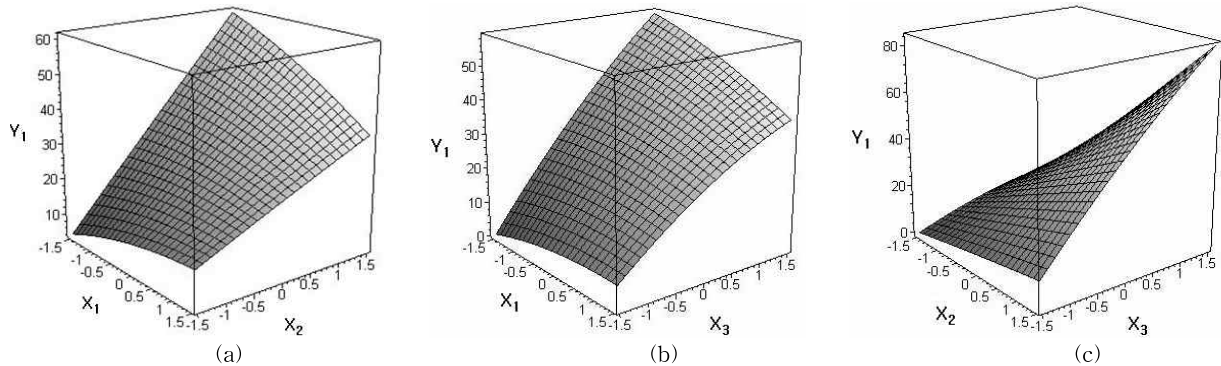


Fig. 1. Response surface plots for browning index in Maillard reaction. X_1 : NaCl conc. of HWG (%), X_2 : ribose conc. (%), X_3 : HWG conc. (%), Y_1 : browning index (absorbance 420 nm).

따른 갈변도의 증가를 억제하는 것으로 나타났다. Ribose의 농도(X_2)와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 농도(X_3)의 상관관계(Fig. 1c)는 소맥 글루텐의 함량이 높은 범위에서는 ribose의 농도가 증가할 때 갈변도는 최대값을 나타내었다. Maillard 반응에서 당과 아미노산 기질의 농도에 따른 갈변도 변화에 대한 연구로, Matmaroh 등(3)은 fructose-glycine 반응액에서 두 기질을 동량으로 하여 농도를 증가시켰을 때 420 nm에서 두 기질의 농도에 따라 흡광도가 증가한 결과를 나타낸 바 있다. Ko 등(12)은 cystine과 lactose-maltose 혼합액에 HVP와 HAP, YE(yeast extract)를 여러 농도로 첨가하여 반응시켰을 때 모두 첨가 농도가 높을수록 278 nm와 420 nm에서의 흡광도가 증가하고 반응속도와 상수 값도 증가하는 결과를 나타내었다.

DPPH assay에 의한 항산화 활성 변화

중심합성계획에 따라 제조한 각 MRP의 DPPH radical 소거활성에 의한 수용액계의 항산화 효과는 Table 2에 나타내었다. 항산화 효과를 나타내는 DPPH radical 소거활성은 염 농도가 7.0%, ribose 농도가 12%, 소맥 글루텐 가수분해물의 농도가 12%일 때 845.7(DF)로 가장 높은 활성을 보였고 가장 높은 갈변도를 가지는 실험군과 같았다. 염 농도가 12.9%, ribose 농도가 8%, 소맥 글루텐 가수분해물의 농도가 1.28%일 때 DPPH radical 소거활성이 35.2로 가장 낮게 나

타났으며 역시 갈변도가 가장 낮은 실험군이였다. t -statistic에 근거한 종속변수 Y_2 의 일차항(X_1, X_2, X_3), 이차항(X_1^2, X_2^2, X_3^2), 상호항(X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3)의 계수와 유의성을 나타낸 결과(Table 3), 일차항에서 X_2, X_3 에서 유의성을 나타내었고($p < 0.01$), 상호항 중에서는 X_2X_3 ($p < 0.05$)을 제외하고는 모두 유의성을 나타내지 않았다. Y_2 (DPPH radical 소거활성(IC_{50}), DF)에 대한 반응표면 모델식의 R^2 는 0.960으로 반응모형이 적합하였으며, 통계적으로도 유의성이 1% 이내로 인정되었다(Table 4). 또한 분산분석 결과(Table 5)에 의하면 일차항은 매우 유의적인 수준을 보였으나($p < 0.01$), 이차항과 상호항은 통계적으로 유의하지 않으며 독립변수 간의 상호작용은 거의 없는 것으로 사료된다($p > 0.05$).

소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X_1)와 ribose 농도(X_2)의 상관관계(Fig. 2a)를 살펴보면 소맥글루텐의 염 농도는 MRP의 DPPH radical 소거활성에 큰 영향을 주지 않았으며 ribose의 농도에 따라 직선적으로 증가하는 그래프를 나타내었다. 또한 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X_1)와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 농도(X_3)와의 상관관계(Fig. 2b)에서는 소맥 글루텐 산 가수분해물이 낮은 농도 범위에서는 염 농도에 따른 큰 차이가 없었으며 농도가 높은 범위에서 염 농도가 증가할수록 항산화 효과가 저하되는 경향을 나타내었으나 그 감소 폭이 매우 작아 미세한 영향을

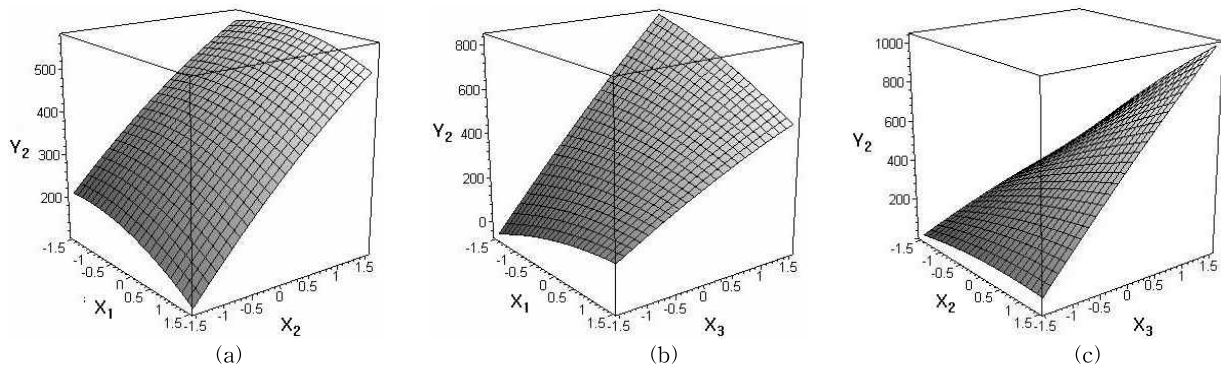


Fig. 2. Response surface plots for DPPH radical scavenging activity in Maillard reaction. X_1 : NaCl conc. of HWG (%), X_2 : ribose conc. (%), X_3 : HWG conc. (%), Y_2 : DPPH radical scavenging activity (DF).

주는 것으로 사료된다. 항산화 활성에 대한 ribose의 농도 (X_2)와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 농도(X_3)와의 상관관계(Fig. 2c)는 상대적으로 ribose의 농도의 증가에 따른 큰 변화가 없었으며 소맥 글루텐의 농도가 증가할수록 항산화 활성이 급격하게 증가하였다. 따라서 DPPH radical 소거 활성에 대하여 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도와 두 기질인 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도와의 상호작용보다는 두 기질 농도간의 상호작용이 더 크게 작용하는 것으로 판단된다.

Thongraung과 Kangsan(19)은 surimi wash water와 당의 Maillard 반응에서 NaCl의 첨가는 갈변을 저하시키고 MRP의 DPPH radical 소거효과를 향상시킨다고 보고하였으나 본 실험에서는 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도 조건에 따른 DPPH radical 소거활성의 변화가 적어 다소 다른 경향을 나타내었다. 또한 Benjakul 등(20)은 porcine plasma protein에 대한 당의 농도를 달리하여 DPPH radical 소거활성을 측정된 결과 당의 농도가 증가될수록 DPPH radical 소거활성도 증가되는 결과를 보인바 있다. 본 실험에서 두 기질인 ribose의 농도와 소맥 글루텐의 농도가 DPPH radical 소거활성에 큰 영향을 미쳤으며 상대적으로 소맥 글루텐의 농도를 증가시켰을 때 항산화 활성이 더 크게 증가하였다.

또한 갈변도와 항산화 활성의 관계에서 Manzocco 등(21)은 Maillard 반응과정에서 색변화는 열에 의해 유도되는 항산화 물질의 형성과 관계가 있다고 한 보고하였으며 Maillard 등(22)은 glucose-arginine의 경우 갈변도와 DPPH radical 소거율 사이에 직선적인 비례관계를 가지나 glucose-lysine의 경우 갈변도가 증가에 따른 항산화 효과는 최대점까지 증가하다 감소하는 경향을 보인다고 하였다. 본 실험에서도 두 기질농도에 대한 갈변도와 DPPH radical 소거활성의 그래프(Fig. 1c, Fig. 2c)가 둘 다 직선적으로 증가하여 갈변도와 항산화 활성이 직선적인 비례관계를 가지는 것으로 판단된다.

관능평가에 대한 영향

소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도와 ribose 농도, 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도를 실험계획법에 따라 다양한 농도로 조합하여 육류향의 조화와 강도를 고려한 기호도 평가를 실시하였다. 그 결과(Y_3), 염 농도가 7.0%, ribose 농도가 4%, 소맥 글루텐 가수분해물의 농도가 12%일 때 기호도 점수가 7.3점으로 가장 높았으며 관능요원들이 익힌 고기향과 찐 내의 향 특성을 묘사하였다. 염 농도가 12.9%, ribose 농도가 14.72%, 소맥 글루텐 가수분해물의 농도가 8%일 때 3.5점의 낮은 점수로 고무 향과 탄내 등의 이취를 나타내었다. Table 3은 t -statistic에 근거해서 독립변수에 따른 종속변수의 각 항의 계수와 유의성을 나타낸 것으로, X_3 의 일차항과 X_1X_1 , X_3X_3 의 이차항에서만 유의성이 인정되었다($p < 0.05$). 상호항 중 X_2X_3 을 제외하고는 모두 유의성을 나타내지 않았다($p < 0.05$). Y_3 (기호도 평가, score)에 대한 반응표면 모델식의 R^2 는 0.854로 통계적으로도 유의성이 5% 이내로 인정되었다(Table 4). 또한 분산분석(ANOVA) 결과(Table 5)에 의하면 이차항을 제외하고는 통계적으로 유의성을 나타내지 않았으며($p > 0.05$), 독립변수 간의 상호작용은 거의 없는 것으로 생각된다.

소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X_1)와 ribose의 농도(X_2) 및 소맥 글루텐의 농도(X_3)가 MRP의 향에 대한 관능적 특성에 미치는 영향을 살펴보았다(Fig. 3). 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X_1)와 ribose의 농도(X_2)의 상관관계(Fig. 3a)를 살펴보면 소맥 글루텐의 염 농도가 낮은 범위에서는 ribose의 농도가 증가할수록 기호도가 저하되었고 염 농도가 높은 범위에서는 ribose의 농도에 영향을 받지 않았다. 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도(X_1)와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 농도(X_3)와의 관계(Fig. 3b)에서도 염 농도가 낮은 범위에서는 관능적으로 느껴지는 고기향에 대하여 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도의 영향이 컸으며 염 농도가 높은 범위에서는 소맥 글루텐 농도가 8%인 부근까지 기호도가 감소하다가 다시 증가하는 경향을 나타내었다. 소맥 글루텐의 농도가 높고 염의 농도가 낮은 범

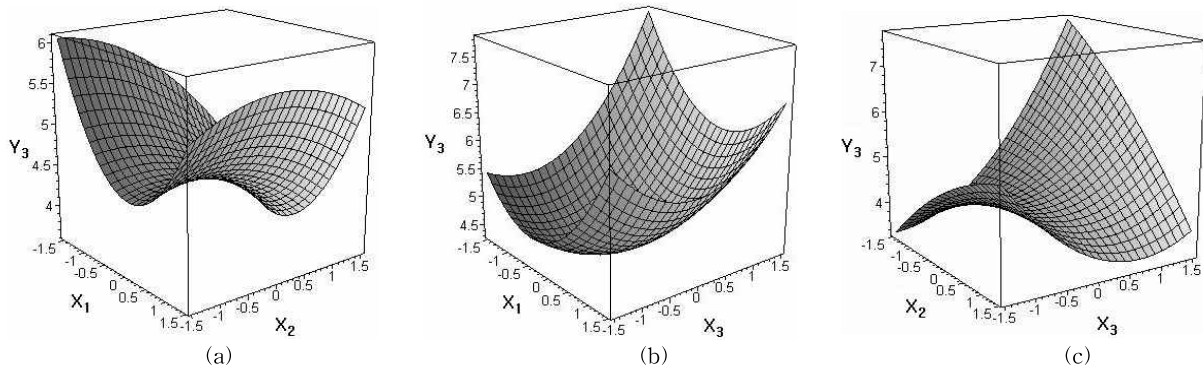


Fig. 3. Response surface plots for sensory preference in Maillard reaction. X_1 : NaCl conc. of HWG (%), X_2 : ribose conc. (%), X_3 : HWG conc. (%), Y_3 : flavor sensory test (score).

위에서 기호도가 가장 높게 나타났다. Ribose의 농도(X_2)와 소맥 글루텐 산 가수분해물 용액의 농도(X_3)와의 상관관계 (Fig. 3c)는 소맥 글루텐의 농도가 낮을 때 ribose의 농도의 영향은 적었으며 소맥 글루텐의 농도가 높은 범위에서는 ribose의 농도가 증가할수록 기호도가 급격히 감소하였다. 이러한 결과는 두 기질 모두 높은 농도로 반응시켰을 때 반응성이 증대되어 지나치게 강한 냄새와 기호도를 저하시키는 탄내 등의 이취가 발생되어 생긴 결과로 판단된다. Ribose의 함량이 낮고 소맥 글루텐의 함량이 높은 곳에서 최고점을 나타내었으며 익힌 고기 향과 유사하게 향이 발현되어 기호도가 증가되었다.

또한 Ko 등(12)은 cystine과 lactose-maltose 혼합액에 HVP, HAP를 농도별로 첨가하였을 때 낮은 농도에서는 달콤하고 매운 향이 강했던 반면에 농도가 높아질수록 고소하고 육류에 근접한 향 특성을 나타내었고 이보다 더 높은 농도에서는 탄내가 강해지는 결과를 나타내어 향 특성에 대한 HVP와 HAP의 첨가 농도의 영향을 보고한 바 있다. 본 실험에서도 ribose의 농도변화보다 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도 변화에 따른 기호도의 변화가 컸으며 ribose 농도에 비해 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도가 높을 때 관능검사 요인들이 적절한 강도와 조화로운 고기 향을 느껴 기호도가 높게 평가되었다.

최적 기질농도 예측

통계적 분석에 의하여 향산화 활성과 관능적 평가에 대한 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도와 참여기질인 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 최적 기질 농도를 구명하기 위해 Minitab software의 Multiple Response Optimizer를 사용하였다. 종속변수 향산화 활성(Y_2)과 기호도(Y_3)의 경우, 그 값이 최대화되는 것을 목적으로 하였다. 반응표면분석법에 의해 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 MRP의 높은 향산화 효과와 조화로운 고기 향 발현을 만족시킬 수

있는 최적 조건은 염 농도 3%, ribose 농도 6.2%와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도 13.27%였다. 그 결과, DPPH radical 소거활성은 700(DF), 관능점수 8.42점인 MRP를 얻을 수 있다고 예측할 수 있었으며 이때의 만족도는 0.97이었다 (Table 6, 7).

요 약

본 연구는 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 적용하여 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도와 기질인 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도가 MRP의 갈변도와 향산화 활성, 기호도에 미치는 영향을 분석하여 기질조건을 최적화 하고자 하였다. 종속변수 회귀식의 결정계수(R^2)는 각각 0.975, 0.960, 0.854로 나타났으며 반응모형에서 갈변도와 향산화 활성은 모두 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도가 증가함에 따라 증가하여 두 기질 농도에 영향을 크게 받았다. 그러나 갈변도는 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도가 높아짐에 따라 감소하는 경향을 보였고 DPPH radical 소거활성은 염 농도의 영향을 받지 않았다. 관능적 기호도로 평가된 고기향미에 대한 향 특성은 소맥 글루텐의 염 농도가 낮으며 ribose의 농도에 비해 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도가 높을 때 발현되었다. 본 실험에서 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물을 이용한 MRP의 높은 DPPH radical 소거활성과 관능적으로 고기향미에 근접한 향 특성을 나타내는 최적조건으로서, 소맥 글루텐 산 가수분해물의 염 농도가 3%, ribose 농도 6.2%와 소맥 글루텐 산 가수분해물의 농도 13.27%로 나타났다. 이때 DPPH radical 소거활성은 700(DF)과 관능점수 8.42점을 만족시킬 수 있는 MRP를 얻을 수 있었다. 따라서 ribose와 소맥 글루텐 산 가수분해물로 제조된 MRP의 저염화에 따른 갈변도와 향산화 효과 및 관능적 기호도에 대하여 두 기질의 농도를 조절하여 최적화함으로써 이를 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

Table 6. Optimal conditions of Maillard reaction

Independent variables	Critical value	
	Coded	Uncoded
X_1	-1.6818	3
X_2	-0.4481	6.20
X_3	1.3185	13.27

X_1 : NaCl conc. of HWG (%), X_2 : ribose conc. (%), X_3 : HWG conc. (%).

Table 7. Predicted values of response variables in critical Maillard reaction

Response variables	Predicted values ¹⁾
Y_2	700
Y_3	8.42

Y_2 : DPPH radical scavenging activity (DF), Y_3 : flavor sensory test (score).

¹⁾Calculated using the predicted polynomial equations for response variables.

문 헌

1. Yoo SS. 2001. Reaction flavor technique for generation of food flavor. *Food Industry Nutr* 6: 27-32.
2. Park NY, Jeong YJ, Lee GD, Kwon JH. 2000. Monitoring of Maillard reaction characteristics under various roasting conditions of *Polygonatum odoratum* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 647-654.
3. Matmaroh K, Benjakul S, Tanaka M. 2006. Effect of reactant concentrations on the Maillard reaction in a fructose-glycine model system and the inhibition of black tiger shrimp polyphenol oxidase. *Food Chem* 98: 1-8.
4. Ryu SY, Roh HJ, Noh BS, Kim SY, Oh DK, Lee WJ, 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.
5. 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.
- 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.
 - Kim KW, Baek HH. 2003. Development of a burnt beef flavor by reaction flavor technology. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1045-1052.
 - Nagodawithana TW. 1995. *Savory flavor*. Esteekey Associate Inc., Milwaukee, WI, USA. p 164-224.
 - Chae HJ, In MJ, Kim MH. 1997. Characteristic properties of enzymatically hydrolyzed soy proteins for the use in protein supplements. *Agric Chem Biotechnol* 40: 404-408.
 - 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.
 - 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.
 - Seo BC, Oh JM. 2002. Development of low-salt foods. *Korean J Community Nutr* 7: 401-404.
 - Chung JH, Mok CK, Lim SB, Woo GJ, Baek HH, Park YS. 2002. Desalination of traditional soy sauce using electro-dialysis. *Korean J Food Sci Technol* 34: 811-817.
 - Kim SK, Byun HG, Jeon YJ, Joo DS, Kim JB. 1999. Development of natural seasoning using desalinated tuna boiled extract. *J Korean Fish Soc* 32: 75-82.
 - Kang JG, Kang ST, Kang JY, Xu Z, Oh KS. 2006. Flavor enhancement of pearl oyster extract by Maillard reaction. *J Agric Life Sci* 40: 55-63.
 - Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol* 28: 25-30.
 - Kwak EJ, Lim SI. 2004. The effect of sugar, amino acid, metal ion, and NaCl on model Maillard reaction under pH control. *Amino Acids* 27: 85-90.
 - Thongraung C, Kangsan S. 2010. Influence of pH, NaCl and pre-incubation on utilization of surimi wash water in generation of antioxidative material by using the Maillard reaction. *Int J Food Sci Technol* 45: 1696-1702.
 - 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.
 - Manzocco L, Calligaris S, Mastrocola D, Nicoli MC, Lerici CR. 2001. Review of non enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci Technol* 11: 340-346.
 - Maillard MN, Billaud C, Chow YN, Ordonaud C, Nicolas J. 2007. Free radical scavenging inhibition of polyphenol-oxidase activity and copper chelating properties of model Maillard systems. *Food Sci Technol* 40: 1434-1444.

(2010년 12월 23일 접수; 2011년 2월 8일 채택)