

멸치(*Engraulis japonicus*) 액젓 부산물로부터 마이야르 반응을 통해 유도된 휘발성 향기성분

김진현¹ · 차용준² · 유대웅^{1,2,3*}

¹창원대학교 생활과학연구소, ²창원대학교 식품영양학과, ³창원대학교 시니어 휴먼 에콜로지 협동과정(식품영양학전공)

Volatile Flavor Compounds Derived from Anchovy *Engraulis japonicus* Sauce Residues through Maillard Reactions

Jin Hyeon Kim¹, Yong-Jun Cha² and Daeung Yu^{1,2,3*}

¹Research Institute of Human Ecology, Changwon National University, Changwon 51140, Republic of Korea

²Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Republic of Korea

³Interdisciplinary Program in Senior Human-Ecology, Major in Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Republic of Korea

Volatile flavor compounds of optimal Maillard reactions (MR) derived with the addition of precursors (AP), control (without AP) and raw as anchovy *Engraulis japonicus* sauce residue were identified and comparatively analyzed using solid phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry (SPME/GC/MS). MR was produced by adding 1% (w/w) glucose and mixed amino acids (threonine 0.543%, glutamic acid 0.194%, glycine 0.382%, w/w) to raw (100 g of anchovy sauce residue and 100 mL of distilled water), and heating at 110 °C for 2 h. Among 65 flavor components detected, 7 compounds were produced through Maillard reaction to change in content. A total of 7 volatile flavor compounds, including 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, dimethyl disulfide, methylpyrazine, dimethyl trisulfide, methional, and 2-furanmethanol, tended to increase in the order of raw, control, and MR, but methylpyrazine was not detected in control. Amounts of 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, dimethyl disulfide, methylpyrazine, dimethyl trisulfide, methional, and 2-furanmethanol having positive odors (dark chocolate-, garlic-, hazelnut-, cooked potato-like) were 11.04, 50.15, 3.25, 8.38, 4.60, 9.59, and 3.08 times higher, respectively, in MR than those in raw.

Keywords: Anchovy sauce residue, Maillard reactions, Solid phase microextraction (SPME)/GC/MSD, Volatile flavor compounds

서 론

액젓은 전통적인 수산물 발효 식품으로 독특한 향미를 가지며, 김치의 부재료 및 조미료로 널리 사용되어져 왔다(Lee et al., 2003). 대표적으로 우리나라에서 생산량이 가장 많은 멸치액젓은 멸치(*Engraulis japonicus*)에 25-30%의 소금을 첨가하여 적어도 6개월 이상 발효시킨 다음 고형물을 여과하여 제거하여 얻어진다(Ding et al., 2020). 하지만 비린내에 기인하는 특유의 이취로 젊은 세대나 개인에 따라서는 액젓을 기피하는 원인이 되기도 한다(Fukami et al., 2004; Cho et al., 2015). 액젓

의 풍미는 제품의 품질에 큰 영향을 미치는 중요한 요소로 알려져 있다(Giri et al., 2010). Giri et al. (2010)에 따르면 액젓은 ammoniacal, cheesy 및 meaty 등의 복합적인 향으로 구성되어 있다고 하였고, Fukami et al. (2004)은 액젓 특유의 비린내와 불쾌취가 휘발성 아민류, 알데히드류, 케톤류 등에서 기인한다고 하였다.

멸치액젓 가공잔사는 발효된 멸치액젓의 압착 및 여과과정에서 발생하며 여전히 단백질을 포함한 총질소, 미네랄 및 지방산과 같은 풍부한 영양원과 정미성분을 함유하고 있으나, 일부만이 어분, 비료 및 사료로 이용되며 다른 용도로 활용됨이 없

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 213. 3513 Fax: +82. 55. 213. 7480

E-mail address: duyuu@changwon.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0174>

Korean J Fish Aquat Sci 56(2), 174-181, April 2023

Received 21 January 2023; Revised 6 February 2023; Accepted 16 February 2023

저자 직위: 김진현(연구원), 차용준(명예교수), 유대웅(교수)

이 대부분이 부산물로서 폐기되고 있다. 이들 중 대부분은 높은 염분 함량으로 인해 산업폐기물로 처리되어 상당한 사회경제적 비용을 초래하고 있다(Han et al., 2002; Pratumwan et al., 2006). 따라서 멸치액젓 가공잔사를 유효자원으로의 재활용하기 위한 연구가 이루어지고 있지만, 이를 조미료 소재로 개발한 연구는 농산부산물인 간장박과 액젓 가공잔사의 최적 혼합 조건에 대한 연구(Kim et al., 2002)와 멸치액젓 잔사 추출물에 다시마추출액, 표고버섯엑기스 및 무즙농축액을 혼합하여 최적 제조 조건을 규명한 연구(Shim et al., 2020)가 유일하다.

Maillard 반응은 식품의 가공 및 저장 중에 일어나 식품의 향미에 영향을 주며, Maillard 반응과 Strecker degradation 반응을 통해 얻어지는 향은 반응향(reaction flavor) 또는 가공향(processed flavor)이라고도 불린다. 즉, 아미노산류와 같은 질소화합물과 카르보닐 화합물과 같은 반응 전구물질로부터 가열처리 또는 효소작용과 같은 가공 기술을 통해 생성되며, 주로 풍미에 긍정적으로 생성된 고기향이나 savory 향이 식품 자체의 풍미를 증진시킨다(Manley, 1992). 특히 가열 반응에 의해 유도 생성된 반응향 기술은 참치 dark muscle의 효소 가수분해물(Jang et al., 2005), 간장가공 부산물(Cha and Wang, 2018), 대게가공 자숙액(Ahn et al., 2014), 및 불고기향(Seo et al., 2015) 등에서 이미 적용 및 보고되었다(Manley and Ahmedi, 1995; Jaeger et al., 2010).

이에 본 연구에서는 활용도가 매우 낮은 멸치액젓 가공잔사로부터 향미를 개선한 고부가가치성의 조미료 소재 개발을 목적으로 먼저 Maillard 반응을 유도하여 생성된 향기성분의 프로파일 일을 비교분석 하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

남해안에서 어획된 멸치(*E. japonicus*)를 소금과 2:1 (w/w)의 비율로 섞어 야외에 비치된 발효조(5톤 규격)에서 2년동안 숙성 후 여과하여 얻은 멸치액젓 가공잔사를 경상남도 창원시에 소재한 (주)대영수산식품(Changwon, Korea)으로부터 2021년 10월에 제공받아 사용하였다. 시료는 일정량으로 소분하여 냉동고(-25°C, FU-014; GMS Co. Ltd., Yangju, Korea)에 보관하였다가 필요 시마다 꺼내 실험에 사용하였다. 첨가물인 glucose는 Daesang (Seoul, Korea)에서, 아미노산류(glycine, threonine, glutamic acid)는 Vixxol Co. (Ansan, Korea)에서 무상으로 제공받았다.

Maillard 반응 유도 생성물의 제조

멸치액젓 가공잔사를 이용하여 특정 향미를 가지는 조미료 소재로 개발하기 위해서 추가적으로 Maillard 반응을 생성할 수 있는 전구물질의 첨가가 필요하여 반응표면분석법으로 최적 조건을 유도하였다(Kim, 2022). 이를 통해 얻어진 Maillard

반응 유도 생성물의 제조 조건은 멸치액젓 가공잔사와 증류수를 1:1 (w/w)로 혼합한 다음(이하 raw), 여기에 1% (w/w) glucose 및 3종류의 아미노산 혼합물, 0.543% (w/w) threonine, 0.194% (w/w) glutamic acid 및 0.382% (w/w) glycine을 첨가하여 110°C에서 2시간 동안 autoclave에서 가열하였다(Maillard reactions, MR). 이때 glucose와 아미노산혼합물을 첨가하지 않고 단지 가열한 것을 대조구(control)로 하였다. Raw 및 2종류의 열처리 시료(control 및 MR)는 가열 후 실온에서 냉각한 다음 여과지(Whatman no.4; Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과하였다.

일반성분, 아미노질소, 염도 및 pH

멸치액젓 가공잔사의 일반성분은 AOAC (1995)법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식회화법으로 측정하였다. 아미노질소는 동염법(Spies and Chamber, 1951)으로 분석하였으며, 염도와 pH는 시료 5 g을 증류수에 10배 희석하여 교반한 다음 여과한 여액을 취하여 각각 염도계(TM-30D; Takemura Electric Work, Tokyo, Japan)와 pH 미터기(Starter 3100; Ohaus, Parsippany, NJ, USA)를 이용하여 측정하였다.

유리아미노산 분석

유리아미노산은 시료 1 g과 증류수 40 mL를 혼합하여 6,000 g (Combi R515; Hanil Scientific Inc., Daejeon, Korea)에서 20분동안 원심분리한 후 상등액을 취하여 100 mL로 정용한 다음 0.20 µm cellulose acetate syringe filter (Hyundai Micro Co., Seoul, Korea)로 여과하였다. 여과된 시료는 ACCQ-Tag 방법을 사용하여 유도체화하여 Waters AccQ Tag amino acid analysis column (3.9 mm × 150 mm)이 장착된 Waters Alliance HPLC system (Waters, Milford, MA, USA)에 주입하여 분석하였다(Table 1).

휘발성 향기성분의 추출

휘발성 향기성분은 raw, control 및 MR를 solid phase micro-extraction (SPME)법에 의해 분석하였다. 즉, 휘발성 성분의 흡착을 위해 SPME 장치(Supelco™ SPME Fiber Holder, Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA)와 PDMS/DVB (Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene) fiber (Supelco, Inc.)를 분석 직전에 220°C에서 10분동안 GC (gas chromatography) injection port에서 활성화한 다음 사용하였다. 시료 6 mL와 내부표준물질로서 hexyl acetate 1 µL (101.14 ng)를 20 mL headspace glass vial (Supelco, Inc.)에 담은 후 aluminum crimp seal (20 mm) 및 polytetrafluoroethylene (PTFE)/silicone septum (60 mils)으로 밀봉하였다. 다음으로 60°C에서 40분동안 fiber를 vial 내에서 노출해 휘발성 화합물을 흡착한 다음, GC injection port에서 10분간 fiber를 노출하여 탈착하였다.

Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)에 의한 휘발성 향기성분의 분석

추출한 휘발성 향기성분은 GC/MS spectrometry (Perkin Elmer Clarus 600T)로 분석하였고, column은 Elite Wax capillary column (60 m length×0.25 mm I.D. ×0.25 µm film thickness; Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)를 사용하였다. 온도는 40°C에서 5분 유지한 후 4°C/분으로 승온하여 220°C에서 10분간 유지하였다. GC 주입부와 interface 온도는 220°C, mass range는 33–350 amu, electron multiplier voltage은 1,500 V, ionization voltage는 70 eV, 운반기체인 He의 선상 속도는 1 mL/min를 사용하였다. GC/MS에 의해 분리된 peak의 동정은 표준품과의 retention index (RI) 비교 및 NIST (The National Institute of Standards and Technology) standard MS library data (Perkin Elmer Co.)로 확인하였으며, 동정된 휘발성 화합물의 정량은 내부표준물질(hexyl acetate)을 이용하여 상대적 함량(factor=1, ng/g)으로 계산하였다.

결과 및 고찰

멸치액젓 가공잔사의 식품학적 특성

원료인 멸치액젓 가공잔사의 일반성분과 유리아미노산 조성

Table 1. The analytical condition of HPLC for free amino acids analysis

Parameters	Conditions			
Instrument	Alliance 2695			
Column	Waters AccQ Tag amino acid analysis column (3.9 mm×150 mm)			
Detector	UV/vis detector 248 nm - Emission: 395 nm, Excitation 250 nm			
Mobile phase	A: 10% eluent A (acetate-phosphate buffer) +90% HPLC grade water B: Acetonitrile C: HPLC grade water			
	Time (min)	A (%)	B (%)	C (%)
	0.0	100	0	0
	0.5	99	1	0
	18.0	95	5	0
Gradient	19.0	91	9	0
	29.5	83	17	0
	33.0	0	60	40
	36.0	100	0	0
	45.0	100	0	0
Flow rate	1 mL/min			
Injection volume	5 µL			

HPLC, High performance liquid chromatography.

을 분석한 결과를 Table 2과 Table 3에 각각 나타내었다. 조단백질은 16.47%, 아미노질소는 1,009.39 mg%, 조지방은 19.97%를 함유하고 있어 여전히 식품소재로서 우수한 단백질원임을 알 수 있었다. 특히 멸치액젓 가공잔사의 유리아미노산 총량은 3,444.53 mg/100g이었으며, leucine이 357.46 mg/100g으로 가장 높은 함량을 보였고, alanine (295.23 mg/100g), histidine (257.66 mg/100g), lysine (254.90 mg/100g) 순으로 많았다. 한편 arginine, aspartic acid, cysteine, serine, threonine 및 tyrosine의 함량은 1.56–77.09 mg/100g으로 상대적으로 적은 함량이었다.

Table 2. Proximate composition, salinity and pH of anchovy *Engraulis japonicus* sauce residue¹

	Amount
Moisture (%)	43.60±1.22
Crude protein (%)	16.47±1.30
Crude lipid (%)	19.97±0.98
Crude Ash (%)	19.18±0.27
Amino-N (mg%)	1,009.39±11.93
Salinity (%)	9.87±0.05
pH	6.51±0.01

¹Mean value±SD (n=3).

Table 3. Free amino acid compositions of anchovy *Engraulis japonicus* sauce residue¹

Free amino acid	Amount (mg/100g)
Asp	51.11±4.43
Ser	1.56±0.26
Glu	253.32±19.02
Gly	129.24±9.71
His	257.66±5.17
Arg	9.03±4.54
Thr	45.24±6.17
Ala	295.23±17.44
Pro	158.58±4.06
Cys+Tyr	77.09±0.45
Val	240.44±9.14
Met	121.71±2.30
Lys	254.90±24.78
Ile	206.40±7.83
Leu	357.46±12.94
Phe	175.44±3.09
NH ₃	810.12±91.70
Total	3,444.53±224.03

¹Mean value±SD (n=3).

반응조건에 따른 휘발성 향기성분

Maillard 반응 유도 생성 전구물질을 넣은 MR과 전구물질을 넣지 않고 가열만 한 control 및 가공잔사(raw)의 휘발성 향기성분을 SPME방법으로 추출하여 GC/MSD로 분석한 휘발성 향기성분을 Table 4에 나타내었다. 총 65종의 휘발성 향기성분이 검출 및 동정되었으며, 그룹별로는 알데히드류 15종, 케톤류 10종, 푸란류 4종, 알코올류 7종, 에스테르류 6종, 합질소화합물 16종, 함황화합물 3종 및 기타화합물 4종으로 구성되었다. Raw와 MR은 정성적인 차이는 거의 없었으나, 특이적으로 control에서 fatty-oily향에 기여하는 alkanal 및 alkenal류인 (E)-2-hexenal, (Z)-4-heptenal, 2-ethyl-2-hexenal, decanal (Heath and Reineccius, 1986), 산류와 알코올 간의 반응을 통하여 생성되어 fruit 및 sweet 향에 기여하는 에스테르류인 ethyl-2-methylbutanoate, ethyl-3-methylbutanoate, ethyl tetradecanoate (Cha and Cadwallader, 1995), 가열반응에서 생성되는 것으로 알려져 있는 푸란류인 2-ethyl-5-methyl-furan, (Z)-2-(2-pentenyl)furan가 검출되었다. 이는 멸치젓 발효과정 중에 지방의 분해 및 산화과정을 통하여 저급지방산 및 알데히드 물질로 전환된 것으로 추정되며, 에스테르도 이들 카르보닐 화합물과 알코올의 반응으로 추정된다(Karahadian and Lindsay, 1989). Chen and Ho (1999)는 serine/threonine/glutamine-ribose/glucose/fructose의 모델 실험에서 10 mmol의 아미노산과 당당류를 50 mL의 증류수에서 실험하였으며, 이는 본 실험에서의 당 및 아미노산류 첨가량(0.7-4.6 mmol/50 mL)보다 훨씬 많은 것으로 보고되었다. 따라서 이러한 정성적 차이가 없

는 경향은 MR에 첨가된 당(glucose) 및 아미노산류가 실질적 차이를 나타낼 정도로 반응향을 유도 생성하기에는 부족한 양이 아니었나 사료되어 추가적인 연구가 필요하다. 반면에 MR에서 negative한 영향을 끼치는 heptanal, (E,Z)-2,6-nonadienal과 같은 alkanal 및 alkenal류, 2-heptanone과 같은 ketone류, trimethylamine 등의 휘발성화합물의 함량은 원료인 raw와 전구물질 미첨가군인 control에 비해 낮아 이취가 감소되었을 것으로 사료되었다(자료 미제시).

Maillard 반응에 의해 생성된 향기성분

멸치액젓 가공잔사에 Maillard 반응 유도 생성 전구물질을 첨가하여 반응향을 유도하여 긍정적인 영향을 미친 총 20종의 휘발성 향기성분을 Fig. 1에 나타내었다. 분지형 및 방향족 알데히드류 3종(2-methylbutanal, 3-methylbutanal, benzaldehyde)과, 합질소화합물류 13종(pyridine, pyrazine, methylpyrazine, 2-ethylpyridine, 2,5-dimethylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine, 2,3-dimethylpyrazine, 2-ethyl-6-methylpyrazine, trimethylpyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine, tetramethylpyrazine, 2-ethenyl-6(5)-methylpyrazine, 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine), 함황화합물류 3종(dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide, methional) 및 푸란 1종(2-furanmethanol)이 검출 및 동정되었다. 이들 화합물류는 반응향 유도로 생성되었으나, 전구물질을 첨가하지 않고 단지 가열만 한 control에서도 raw에 비해 더 많이 생성되었다. 이러한 결과는 원료인 멸치액젓 가공잔사에 반응향 유도의 전구물질인 유리아미노산이 3,444.53 mg/100g으로 상당량 존재(Table 3)하였기 때문으로 추정되며,

Table 4. Volatile flavor compounds detected in raw (R), control (C), and MR (M)¹

Aldehydes (15)	2-Methylbutanal (R, C, M), 3-Methylbutanal (R, C, M), Hexanal (R, C, M), 2-Methyl-2-butenal (R, M), Heptanal (R, C, M), (E)-2-Hexenal (C), (Z)-4-Heptenal (C), 3-Methylhexanal (R, C, M), 2-Ethyl-2-hexenal (C), Octanal (R, C, M), Nonanal (R, C, M), (E,E)-2,4-Heptadienal (R, C, M), (E,Z)-2,6-Nonadienal (R, C, M), Decanal (C), Benzaldehyde (R, C, M)
Ketones (10)	2-Butanone (R, C, M), 2-Pentanone (R, C, M), 2-Hexanone (R, C, M), 2,3-Hexanedione (R, C, M), 2-Heptanone (R, C, M), 2-Octanone (R, C, M), 6-Octen-2-one (C, M), 6-Methyl-5-hepten-2-one (R, M), 2-Nonanone (R, C, M), (E,E)-3,5-Octadien-2-one (R, C, M)
Alcohols (7)	Butanol (R, M), (Z)-2-Penten-1-ol (R, C, M), 3-Methyl-1-butanol (R, C, M), Pentanol (R, C, M), (E)-2-Penten-1-ol (R, C, M), (Z)-2-Hexen-1-ol (R, C, M), 1-Octen-3-ol (R, C, M), Linalool (R, C, M)
N-containing compounds (16)	Trimethylamine (R, C, M), Pyridine (R, C, M), 4-Methyl-pyridine (C), 2-Ethylpyridine (R, C, M), Pyrazine (C, M), Methylpyrazine (R, M), 2,5-Dimethylpyrazine (R, C, M), 2,6-Dimethylpyrazine (R, C, M), 2,3-Dimethylpyrazine (R, M), 2-Ethyl-6-methylpyrazine (R, C, M), Trimethylpyrazine (R, C, M), 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine (R, C, M), Tetramethylpyrazine (R, C, M), 2-Ethenyl-6(5)-methylpyrazine (R, M), 2,3,5-Trimethyl-6-ethylpyrazine (R, M), 3,5-Diethyl-2-methylpyrazine (C)
S-containing compounds (3)	Dimethyl disulfide (R, C, M), Dimethyl trisulfide (R, C, M), Methional (R, C, M)
Esters (6)	Ethyl acetate (R, C, M), Ethyl butanoate (R, C, M), Ethyl-2-methylbutanoate (C), Ethyl-3-methylbutanoate (C), Ethyl pentanoate (R, M), Ethyl tetradecanoate (C)
Furans (4)	2-Ethylfuran (R, C), 2-Ethyl-5-methyl-furan (C), (Z)-2-(2-Pentenyl)furan (C), 2-Furanmethanol (R, C, M)
Miscellaneous compounds (4)	(S)-Limonene (R, C), (R)-Limonene (C), Acetic acid (R, C, M), 3-Methylbutanoic acid (R, C, M)

¹Raw, 100g of anchovy *Engraulis japonicus* sauce residue and 100 mL of distilled water; MR, Maillard reaction (MR) derived with the addition of precursors (AP) and heating at 110°C for 2 h; Control, Heated at 110°C for 2 h without AP.

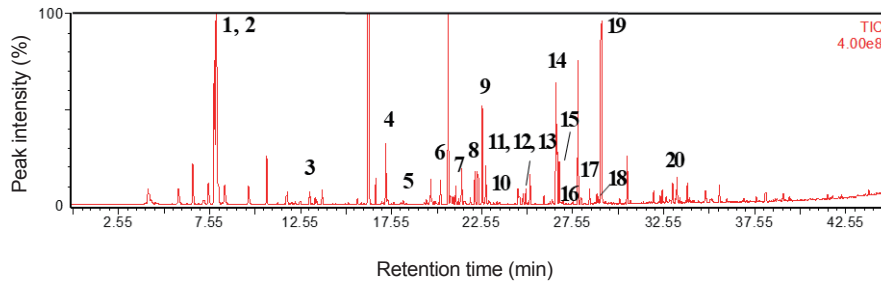


Fig. 1. Total ion chromatograms of volatile flavor compounds derived from Maillard reaction (MR) in anchovy *Engraulis japonicus* sauce residue¹. ¹MR refer to comment in Table 4. 1, 2-methylbutanal; 2, 3-methylbutanal; 3, dimethyl disulfide; 4, pyridine; 5, pyrazine; 6, methylpyrazine; 7, 2-ethylpyridine; 8, 2,5-dimethylpyrazine; 9, 2,6-dimethylpyrazine; 10, 2,3-dimethylpyrazine; 11, dimethyl trisulfide; 12, 2-ethyl-6-methylpyrazine; 13, trimethylpyrazine; 14, 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine; 15, methional; 16, tetramethylpyrazine; 17, 2-ethenyl-6(5)-methylpyrazine; 18, 2,3,5-trimethyl-6-ethylpyrazine; 19, benzaldehyde; 20, 2-furanmethanol.

특히 합질소화합물 중에서 고소한 향을 가지는 pyrazine류가 11종이나 검출되었는데, 이는 미생물에 의한 발효 또는 열처리에 의한 Maillard 반응을 통해 생성된 것으로 추정된다(Nursten, 2005; Müller and Rappert, 2010). 또한 MR에 첨가된 전구물질의 함량은 반응향을 유도 생성하기에는 일부 함량이 적었기 때문인 것으로 사료되나, 앞으로 관능적인 요소 및 현장에 적합한 조건을 찾는 추가적인 연구가 필요할 것으로 여겨졌다.

한편 반응향 유도 휘발성향기성분 중 첨가된 전구물질에 의해 raw 및 control 대비 함량이 상대적으로 증가한 화합물은 2-methylbutanal (no. 1), 3-methylbutanal (no. 2), dimethyl disulfide (no. 3), methylpyrazine (no. 6), dimethyl trisulfide (no. 11), methional (no. 15) 및 2-furanmethanol (no. 20) 총 7종이었다(Table 5). 따라서 이들 각 화합물의 이온(ions, m/z)함으로 이온크로마토그램을 Fig. 2에 다시 나타내었으며, 이들 화합물의 함량은 Table 6에 나타내었다.

알데히드류

알데히드류는 2- 및 3-Methylbutanal이 동정되어, raw에서 각각 10.25 및 4.39 ng/g이었으나, 가열 후(control) 40.28 및 32.28 ng/g으로 증가하였고, MR에서 113.16 및 220.18 ng/g으로 더욱 증가하여 raw에 비해 11.04 및 50.15배 수준이었다. 이 화합물들은 dark chocolate향을 가지며(Cha et al., 1998), Maillard 반응에서 Strecker 분해반응으로 생성된 것으로 여겨진다(Reineccius, 2006). Shimoda et al. (1996)은 액젓에서 2-methylpropanal, 2-methylbutanal 및 3-methylbutanal과 같은 methyl aldehyde류는 액젓류의 meaty 향에 기여한다고 하였다. Cho et al. (2022)는 식물단백 가수분해물(hydrolyzed vegetable protein, HVP)과 환원당의 혼합물로부터 가열에 의해 형성된 3-methylbutanal과 같은 meat-like 향을 가지는 휘발성 향기성분의 생성을 확인하였다.

함황화합물류

함황화합물은 dimethyl disulfide (garlic 향), dimethyl trisul-

fide (cooked cabbage-like 향) 및 methional (cooked potato-like 향)이 동정되었다(Cha et al., 1998; Flavor Database, 2022). Dimethyl disulfide 및 dimethyl trisulfide는 raw에서 각각 3.18 및 2.39 ng/g이었으나, control에서 0.50 및 1.79 ng/g으로 감소하였다가, MR에서 10.35 및 11.00 ng/g (3.25 및 4.60배)으로 증가하였다. Dimethyl disulfide는 methionine의 미생물 분해산물인 methanethiol의 산화물이라고 알려져 있고(Christensen et al., 1981), dimethyl trisulfide는 cysteine으로부터 가열반응에 의해 형성되어질 수 있다고 하였다(Mussinan and Katz, 1973). Chung and Cadwalladar (1994)는 dimethyl disulfide와 dimethyl trisulfide가 다량으로 시료 중에 존재할 경우 바람직한 향을 masking 시켜 부정적인 효과를 가질 것이라고 하였다. 그러나 Pham et al. (2008)은 이들 화합물이 액젓의 향에 있어 중요한 역할을 한다고 하였고, Cha et al. (1998)는 밴딩이젓의 특유의 냄새성분과 관련 있다고 하였다. Methional은 raw에서 3.31 ng/g였고, control 및 MR에서 6.29 및 31.58 ng/g (9.54 배)으로 증가하였다. Methional은 methionine과 cysteine의 열분해에서 유래한다고 알려져 있으며(Hofmann and Schieberle, 1995), 구운 쇠고기(Kim et al., 2006), 볶은 맥아와 보리(Parr et al., 2021), 커피(Kumazawa and Masuda, 2003) 등

Table 5. Characteristic mass values of volatile flavor compounds derived from Maillard reactions

No.	Compound	Ions (m/z)	RT
1	2-Methylbutanal	86	7.85
2	3-Methylbutanal	86	7.97
3	Dimethyl disulfide	94	13.13
6	Methylpyrazine	94	20.25
11	Dimethyl trisulfide	126	24.55
15	Methional	104	26.88
20	2-Furanmethanol	98	33.09

RT, Retention time.

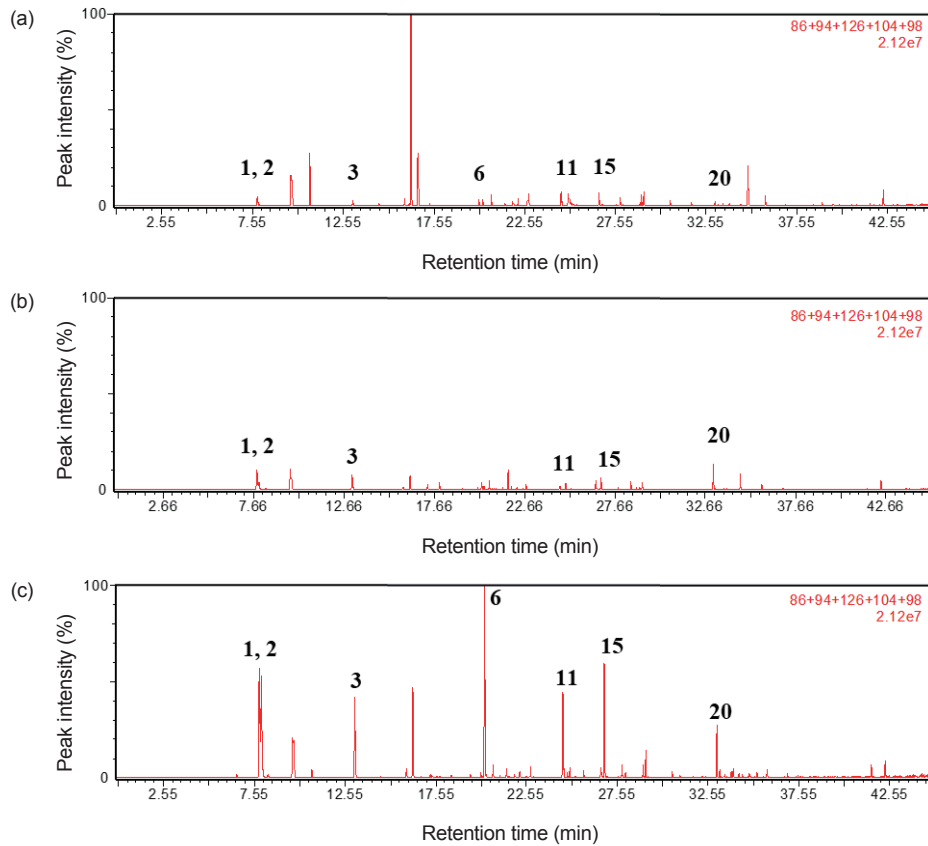


Fig. 2. Combined mass chromatograms of volatile compounds derived from Maillard reactions in raw (a), control (b), and MR (c)¹. ¹Raw, Control and MR refer to comment in Table 4. 1, 2-methylbutanal; 2, 3-methylbutanal; 3, dimethyl disulfide; 6, methylpyrazine; 11, dimethyl trisulfide; 15, methional; 20, 2-furanmethanol.

Table 6. Concentrations of volatile compounds derived from Maillard reactions in raw, control, and MR^{1,2}

No.	Compound	RI ³	Raw		Control		MR		Odor description
			Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	
1	2-Methylbutanal	904	10.25	1.70	40.28	14.92	113.16	30.15	dark chocolate-like ⁵
2	3-Methylbutanal	908	4.39	1.94	32.28	12.65	220.18	42.20	dark chocolate-like ⁵
3	Dimethyl disulfide	1067	3.18	0.17	0.50	0.13	10.35	2.46	fresh, garlic, green onion-like ⁶
6	Methylpyrazine	1258	2.08	0.85	- ⁴	-	17.43	2.22	hazelnut-like, green ⁷
11	Dimethyl trisulfide	1379	2.39	1.53	1.79	0.54	11.00	1.40	cooked cabbage-like ⁵
15	Methional	1447	3.34	2.10	6.29	1.18	31.58	13.07	cooked potato-like ⁶
20	2-Furanmethanol	1648	5.36	3.12	8.10	0.06	16.49	2.14	burnt sugar ⁸

¹Concentration (ng/g) of each compound was calculated as a relative content to hexyl acetate (101.14 ng/g) put in sample (factor=1). ²Raw, Control and MR refer to comment in Table 4. ³Retention index (RI) on Elite Wax capillary column. ⁴Not detected. ⁵Cha et al. (1998). ⁶Flavor Database (2022). ⁷Guo et al. (2022). ⁸Giri et al. (2010). MR, Maillard reaction.

의 가열제품에서 검출되었다.

피라진류

피라진류는 미생물에 의해 발효를 통해 자연적으로 생성되거나 열처리에 의한 Maillard 반응을 통해 생성되는 두 개의 질

소 원자를 가진 방향족 헤테로고리 화합물이다(Nursten, 2005; Müller and Rappert, 2010). 대부분의 식품에서 nutty, roasted, toasted 향을 부여하여 가공향의 중요한 특성인 savory향을 나타낸다고 알려져 있다(Maga and Sizer, 1973). Methylpyrazine

은 raw에서 2.08 ng/g이 검출되었지만, control에서는 검출되지 않았고, MR에서 17.43 ng/g (8.38 배)이 검출되었다. 이는 첨가한 당 및 아미노산류가 향기 성분을 만드는 전구체로 사용되었기 때문에 사료된다(Yu et al., 1998). Song et al. (2013)은 대두 단백질 가수분해물과 xylose 및 cysteine의 Maillard 반응에서 meat-like 향을 유발하는 질소 헤테로고리 화합물 형성을 보고하였다.

퓨란류

퓨란류는 가열반응에서 생성되는 것으로 알려져 있으며, burnt sugar향을 가지는 2-Furanmethanol이 유일하게 동정되었다(Giri et al., 2010). Raw에서 5.36 ng/g였고, control 및 MR에서 8.10 및 16.49 ng/g (3.08 배)으로 증가하였다. 2-Furanmethanol은 시판 일본 액젓 *Ishiru*, 시판 중국 액젓 *Yu Lu* 등에서 검출되었으나(Shimoda et al., 1996; Michihata et al., 2002; Jiang et al., 2011), 4,500 ng/g의 높은 역치를 가져 전체향에 대한 기여는 크지 않을 것으로 여겨진다(Giri et al., 2010).

이상의 결과를 정리하면, 멸치액젓 가공잔사에 1% (w/w) glucose 및 3종류의 아미노산 혼합물[0.543% (w/w) threonine, 0.194% (w/w) glutamic acid, 0.382% (w/w) glycine]을 첨가하여 반응향을 유도(110°C에서 2시간)한 결과, Maillard 반응을 통해서 긍정적인 냄새(positive odor)를 가지는 총 7종의 화합물(2-methylbutanal, 3-methylbutanal, dimethyl disulfide, methylpyrazine, dimethyl trisulfide, methional 및 2-furanmethanol)의 함량이 raw에 비해 각각 11.04, 50.15, 3.25, 8.38, 4.60, 9.59 및 3.08배 증가한 것을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2022년도 중소기업산학 협력사업(과제번호: S3253078)의 연구수행으로 인한 결과물이며 이에 감사드립니다.

References

- Ahn JS, Jeong EJ, Cho WJ and Cha YJ. 2014. Optimal conditions of reaction flavor for synthesis of crab-like flavorant from snow crab cooker effluent. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43, 128-134. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.1.128>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. AOAC, Washington D.C., U.S.A., 69-74.
- Cha YJ and Wang W. 2018. Production of savory flavors in hydrolysate of soy sauce residue using reaction flavor technology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47, 161-167. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2018.47.2.161>.
- Cha YJ, Kim H and Cadwallader KR. 1998. Aroma-active compounds in Kimchi during fermentation. *J Agric Food Chem* 46, 1944-1953. <https://doi.org/10.1021/jf9706991>.
- Cha YJ, Kim H, Jang SM and Yoo YJ. 1998. Identification of aroma-active components in salt-fermented big-eyed herring on the market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27, 1053-1058.
- Cha YJ and Cadwallader KR. 1995. Volatile components in salt-fermented fish and shrimp pastes. *J Food Sci* 60, 19-24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb05597.x>.
- Chen J and Ho CT. 1999. Comparison of volatile generation in serine/threonine/glutamine-ribose/glucose/fructose model systems. *J Agric Food Chem* 47, 643-647. <https://doi.org/10.1021/jf980771a>.
- Cho H, Park MK and Kim YS. 2022. Study on volatile compounds formed from the thermal interaction of hydrolyzed vegetable proteins with reducing sugars. *Food Sci Biotechnol* 32, 283-298. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01194-w>.
- Cho YJ, Jung MH, Kim BK, Jung WY, Gye HJ and Jung HJ. 2015. Effect of raw material freshness on quality and safety of anchovy fish sauce. *J Food Compos Anal* 27, 1194-1201. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2015.27.4.1194>.
- Christensen BW, Kjaer A and Madsen JØ. 1981. Volatile sulfur compounds and other headspace constituents of North Sea fish oils. *J Am Oil Chem Soc* 58, 1053-1057. <https://doi.org/10.1007/bf02679325>.
- Chung HY and Cadwallader KR. 1994. Aroma extract dilution analysis of blue crab claw meat volatiles. *J Agric Food Chem* 42, 2867-2870. <https://doi.org/10.1021/jf00048a040>.
- Ding A, Zhu M, Qian X, Shi L, Huang H, Xiong G, Wang J and Wang L. 2020. Effect of fatty acids on the flavor formation of fish sauce. *LWT* 134, 110259. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110259>.
- Flavor Database. 2022. Flavornet. Retrieved from <https://www.flavornet.org/flavornet.html> on Jun 10, 2022.
- Fukami K, Funatsu Y, Kawasaki K and Watabe S. 2004. Improvement of fish-sauce odor by treatment with bacteria isolated from the fish-sauce mush (moromi) made from frigate mackerel. *J Food Sci* 69, 45-49. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb15514.x>.
- Giri A, Osako K and Ohshima T. 2010. Identification and characterisation of headspace volatiles of fish *miso*, a Japanese fish meat based fermented paste, with special emphasis on effect of fish species and meat washing. *Food Chem* 120, 621-631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.036>.
- Han GH, Kim BY and Lee JK. 2002. Production of extrudates formulated from pacific sand lance sauce by-product and dried Biji. *Kor J Food Sci Technol* 34, 186-193.
- Heath HB and Reineccius G. 1986. *Flavor Chemistry and Technology*. AVI Publishing Company, Westport, CT, U.S.A., 76-100.
- Hofmann T and Schieberle P. 1995. 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. <https://doi.org/10.1021/jf00056a042>.
- Jaeger H, Janositz A and Knorr D. 2010. The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies. *Pathol Biol* 58, 207-213. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.09.016>.
- Jang H, Kim M, Jung E, Shin E, Lee S, Lee S, Kim S and Lee Y. 2005. Optimization and flavor quality of enzymatic hydrolysate from dark muscle of skipjack. *Prev Nutr Food Sci* 10, 11-16. <https://doi.org/10.3746/jfn.2005.10.1.011>.
- Jiang JJ, Zeng QX and Zhu ZW. 2011. Analysis of volatile compounds in traditional Chinese fish sauce (Yu Lu). *Food Bioproc Tech* 4, 266-271. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0173-8>.
- Karahadian C and Lindsay RC. 1989. Role of oxidation in the formation and stability of fish flavors. In: *Flavor Chemistry: Trends and Developments*. Teranishi R, Buttery RG and Shahidi F, eds. American Chemical Society, Washington D.C., U.S.A., 60-75.
- Kim H, Lee JS and Cha YJ. 2002. Processing of functional enzyme-hydrolyzed sauce from anchovy sauce and soy sauce processing by-products 1. Optimization of hydrolysis conditions by response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31, 653-657. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2002.31.4.653>.
- Kim JH. 2022. Development of seasoning sauce from anchovy sauce residue by reaction flavoring technology. M.S. Thesis, Changwon National University, Changwon, Korea.
- Kim KW, Seo WH and Baek HH. 2006. Identification of characteristic aroma-active compounds from burnt beef reaction flavor manufactured by extrusion. *Korean J Food Sci Technol* 38, 621-627.
- Kumazawa K and Masuda H. 2003. Investigation of the change in the flavor of a coffee drink during heat processing. *J Agric Food Chem* 51, 2674-2678. <https://doi.org/10.1021/jf021025f>.
- Lee SS, Kim SM and Shin IS. 2003. Studies on physiological activity of *Bacillus subtilis* JM-3 isolated from anchovy sauce. *Korean J Food Sci Technol* 35, 684-689.
- Maga JA, Sizer CE and Myhre DV. 1973. Pyrazines in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 4, 39-115. <https://doi.org/10.1080/10408397309527153>.
- Manley C. 1992. Process flavors. In: *Source Book of Flavors* (2nd Edition). Reineccius G, ed. Chapman & Hall, New York, NY, U.S.A., 139-154.
- Manley CH and Ahmed S. 1995. The development of process flavors. *Trends Food Sci Technol* 6, 46-51. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)88942-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88942-6).
- Michihata T, Yano T and Enomoto T. 2002. Volatile compounds of headspace gas in the Japanese fish sauce ishuru. *Biosci Biotechnol Biochem* 66, 2251-2255. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2251>.
- Müller R and Rappert S. 2010. Pyrazines: Occurrence, formation and biodegradation. *Appl Microbiol Biotechnol* 85, 1315-1320. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2362-4>.
- Mussinan, CJ and Katz I. 1973. Isolation and identification of some sulfur chemicals present in two model systems approximating cooked meat. *J Agric Food Chem* 21, 43-45. <https://doi.org/10.1021/jf60185a024>.
- Nursten HE. 2005. *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry, and Implications*. Royal Society of Chemistry, London, U.K.
- Parr H, Bolat I and Cook D. 2021. Identification and categorization of volatile sulfur flavor compounds in roasted malts and barley. *J Am Soc Brew Chem* 81, 76-87. <https://doi.org/10.1080/03610470.2021.2003669>.
- Pham AJ, Schilling MW, Yoon Y, Kamadia VV and Marshall DL. 2008. Characterization of fish sauce aroma-impact compounds using GC-MS, SPME-Osme-GCO, and Stevens' Power Law exponents. *J Food Sci* 73, 268-274. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00709.x>.
- Pratumwan K, Jangchud A, Wuttijumnong P and Wisarayut C. 2006. Development of pet food using solid waste from fish sauce production. The Proceedings of 44th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry, Economics and Business Administration. Bangkok, Thailand, 166-170.
- Reineccius G. 2006. *Flavor Chemistry and Technology* (2nd Edition). Taylor and Francis, Boca Raton, FL, U.S.A., 103-137.
- Seo WH, Kim YK, Jang SH and Baek HH. 2015. Aroma characterization of roasted Bulgogi reaction flavor manufactured by a high-temperature reaction apparatus. *Korean J Food Sci Technol* 47, 176-183. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.2.176>.
- Shim KB, Jeong YG, Lee HS and Jang MS. 2020. Development of a seasoning sauce using hot water extracts from anchovy *Engraulis japonica* fish sauce processing by-products. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 417-422. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0417>.
- Shimoda M, Peralta RR and Osajima Y. 1996. Headspace gas analysis of fish sauce. *J Agric Food Chem* 44, 3601-3605. <https://doi.org/10.1021/jf960345u>.
- Song N, Tan C, Huang M, Liu P, Eric K, Zhang X and Jia C. 2013. Transglutaminase cross-linking effect on sensory characteristics and antioxidant activities of Maillard reaction products from soybean protein hydrolysates. *Food Chem* 136, 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.100>.
- Spies TR and Chamber DC. 1951. Spectrometric analysis of amino acid and peptides with their copper salt. *J Biol Chem* 191, 787-797.
- Yu TH, Chen BR, Lin LY and Ho CT. 1998. Flavor formation from the interactions of sugars and amino acids under microwave heating. *Dev Food Sci* 40, 493-508. [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(98\)80071-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(98)80071-X).