

마른멸치 貯藏中の 水分活性과 非酵素的 褐變反應

韓 性 彬* · 李 鍾 祐* · 李 康 鎬*

NON-ENZYMATIC BROWNING REACTIONS IN DRIED ANCHOVY
WHEN STORED AT DIFFERENT WATER ACTIVITIES

Seong-Bin HAN, Jong-Ho LEE, and Kang-Ho LEE*

In this paper, non-enzymatic browning reactions as a factor of self stability of boiled and dried anchovy were studied to discuss the effect of water activity to the discoloring reaction and the preservative moisture content. The development of rancidity of the fish meat was also mentioned since the fish is fatty and the lipid oxidation is a functional deteriorative reaction.

Fresh anchovies were boiled in 10% salt solution immediately after the catch, sun dried, and stored at room temperature (20°C) for two months in humidistat chambers maintaining different levels of water activity as described in Table 1. The pigments formed by non-enzymatic browning reactions were extracted in two fractions: those were chloroform-methanol soluble and water dialyzed fraction, and analyzed spectrophotometrically at the wavelength of 460 nm. These two fractions were considered, respectively to be the brown pigments formed by lipid oxidation reactions for the former and for the latter, to be the pigments developed by sugar-amino or Maillard reaction. The oxidation of lipid in anchovy meat during the storage was measured as the changes in peroxide value and the color development of thiobarbituric acid reaction.

It is summarized from the results that the rate of both reactions, lipid oxidation and browning, was affected by water activity levels. In regard to the changes in peroxide and TBA value during the storage, the propagation of lipid oxidation was obviously accelerated at lower humidities whereas the development of browning progressed at the higher. These two reactions occurring simultaneously and contrary in activity resulted in that the rate of deterioration occurring oxidatively or by browning, was the minimum at the water activity of 0.32-0.45 which were 7-9% as moisture content and slightly higher value than that of monolayer ($A_w=0.21$, 5.11% as moisture content). It is also noted that the lipid oxidative browning was presumed to dominate sugar-amino reactions so that the rate of browning of the meat was ultimately depended on the development of rancidity although sugar-amino reactions initiated earlier than the other at the first ten days of storage, particularly at higher humidity. At the lower humidity sugar-amino reactions were occurred gradually but lower levels in color development in contrast to the consistent increase in lipid oxidative browning.

* 釜山水產大學 食品工學科, Dept. Food Sci. & Tech., Pusan Fisheries College

緒 言

乾燥食品의 加工 또는 貯藏中의 品質低下에 關하여 많은 研究結果를 들 수 있으나 그中 특히 脂質酸化에 依한 惡變에 對하여 Maloney등(1966) 및 Labuza 등 (1966)의 報告를 들 수 있고 非酵素的 褐變에 對하여는 Lea (1958) 및 Tannenbaum(1966)의 業績을 들지 않을 수 없다. 이들은 모두 品質劣下反應에 關與하는 重要한 因子로서 組織中의 水分의 作用과 活性에 對하여 強調하였고°Salwin(1959; 1962; 1963)은 單分子層의 水分量을 나타내는 水分活性(water activity;aw)이 食品의 品質安定化를 위한 最適條件이라고 하였다. 한편 Karel과 Nickerson(1964), Martinez와 Labuza(1968) 및 Labuza등(1972)은 Salwin이 指摘한 바의 水分活性의 效果는 認定하였으나 그것이 品質 安定化에 必要한 水分量의 最低限界이지 最適條件은 아니라고 示唆하였고 最適의 條件은 그보다 多少 높은 水分量에 있고 또한 食品에 따라 달리 나타날 것으로 說明하였다.

本實驗에 있어서는 脂肪含量이 높고 消費量에 있어서 代表的인 水産乾製品의 하나인 멸치의 貯藏에 있어서 支配的인 惡變反應이라고 볼 수 있는 褐變反應에 對한 貯藏濕度 또는 水分活性의 影響에 關하여 考察하였다. 事實市販되고 있는 鹽乾멸치는 貯藏동안의 品質의 低下에 對한 考慮없이 보관되어 大部分의 製品이 極히 惡化된 狀態로 消費者에게 供給되고 있는 實情이다. 本實驗의 結果는 이와 같은 製品의 貯藏이나 包裝에 對한 基本資料로서 活用될 것으로 期待된다.

材料 및 方法

1. 試料

1972년 9월 26일 鎭海灣 멸치잡이 배에서 体重 4~5g 程度의 生멸치 *Engraulis taponicus* Temmik et Schlagel를 船上에서 海水에 天日鹽을 加하여 比重 1,0406의 소금물(약 10% 소금물)을 만들고 약 4分間 煮熟後 전져 24時間 天日乾燥하여 紙袋에 넣어 實驗室에 가져와 頭部와 內臟을 除去하고 Fig.1에서의 같은 構造의 恒濕槽內에 貯藏하였다.

2. 試料의 貯藏

恒濕槽는 直徑 20cm, 높이 40cm의 투명한 圓筒形 아크릴로서 氣密하도록 製作하였다. Table 1에 적은 各貯藏濕度を 얻기 위하여 Rockland(1960)가 제시한 飽和鹽溶液 1ℓ씩을

Table 1. Salts for Controlling Water Activity

Salts	Water activity	
	Expected*	Measured
Lithium Chloride (LiCl)	0.11	0.11
Potassium Acetate(CH ₃ COOK)	0.23	0.22
Magnesium Chloride (MgCl ₂)	0.33	0.34
Potassium Nitrite (KNO ₂)	0.48	0.45
Sodium Bromide (NaBr)	0.58	0.54
Sodium Chloride (NaCl)	0.75	0.76
Ammonium Phosphate(NH ₄ H ₂ PO ₄)	0.92	0.93

* Rockland, 1960

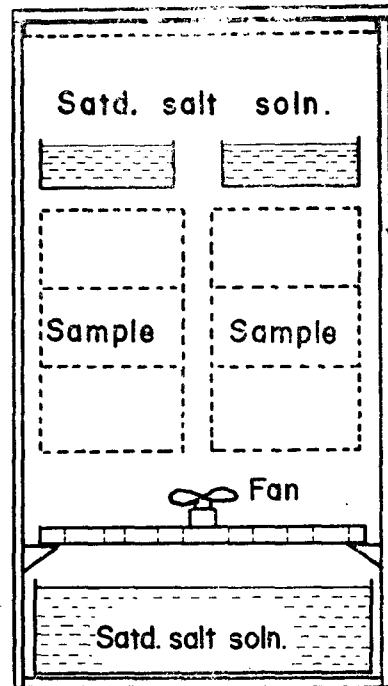


Fig.1. Schematic structure of the humidistat chamber.

各槽에 加하고 fan에 依한 強制循環으로 平衡時間을 短縮시켰다. 30分 作動, 30分 휴식으로 72時間 後에 平衡에 到達하였으며 濕度測定에는 Honeywell 社製 Y477A 型 Humidity & Temperature meter를 使用하였고 試料 貯藏期間中 各槽는 黑布로써 遮光하였다. 貯藏室溫은 18~22°C였고 이에 따른 濕度の 平均實測値는 Table 1에

적은 바와 같다.

3. 實驗方法

各 實驗에 使用한 試料는 30mesh의 磨粹粉末로 하여 使用하였다.

水分含量的 測定: 常壓乾燥法(105°C)에 의하였다

等溫吸濕曲線: 試料 約 2g을 五酸化磷메시케에타에 넣어 7日間 乾燥시킨 다음 各濕度의 恒濕槽에 12日間 貯藏하여 充分히 平衡시킨後 水分을 測定하여 吸濕曲線을 求하였다.

單分子層의 水分量(Monolayer moisture): BET 吸着式의 變形式 即,

$$R/a(100-R) = I + SR$$

단 R:相對濕度 a:R일 때 乾物 100g當의 水分量(g), I:절편, S:기울기에서 R를 橫軸, R/a(100-R)를 縱軸으로 하여 Fig. 3을 얻었고 外插하여 I를 求하고 이를 式에 代入하여 S를 求하여 單分子層의 水分 a₁을 (Adamson, 1960) 곧,

$$a_1 = 1/I + 100S$$

에서 a₁을 求하였다.

過酸化物質: Wheeler의 改良法(還流冷却法)에 準하여 試料 5g을 달아 chloroform-methanol(3:1 v/v)溶液 20ml를 加하여 脂質을 抽出하고 氷초산 15ml 및 沃度加里 1g을 加하여 逆流冷却器를 달아 湯浴上에서 溶媒가 逆流하기 始作할 때로부터 正確히 3分間 沸騰시킨 후 물로 急冷시켜 澱粉을 指示藥으로 하여 滴定, 同時에 對照實驗하여 脂質 1kg에 對한 mg當量으로 計算하였다.

TBA Test: Turner의 方法에 따라 試料 1g을 取하여 20% 三鹽化醋酸(2M 磷酸에 녹임)과 0.01M thiobarbituric acid (TBA)를 加하여 30分間 100°C 水浴內에서 加熱하여 發色시킨 다음 10分間 氷冷시킨 後 2400 r.p.m 에서 15分間 遠心分離하여 上澄液을 取하여 Beckman DU 分光光度計로써 波長 538nm의 吸光度를 測定하여 試料 1g에 對한 吸光度×100의 값으로 表示하였다.

褐變色素의 分割 및 定量: Fig. 2의 操作에 따라 chloroform-methanol 分割과 水溶性透析分割으로 區分하였다. 透析은 VISKING社製 36/32型 透析膜을 使用하여 50ml의 再증류수를 外液으로 하여 3°C에서 48時間 투석된 物質을 Maillard反應에 의한 褐變色素 劃分으로 하였고 脂質의 酸化에 의한 褐變色素劃分은 Chloroform-methanol(2:1) 용액 10ml로써 3回 抽出한 全液을 取하였고 各劃分은 波長 460nm에서의 吸光度를 測定하였다.

結果 및 考察

1. 等溫吸濕曲線과 Monolayer value

試料肉組織의 抱水力和 水分의 結合狀態等을 알기 위하여 測定한 等溫吸濕曲線은 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 水分活性的 變化에 따라 比較的 完만한 吸着을 나타내나 多分子層吸水의 幅이 넓음을 보이고 平衡水分의 값이 多少높음을 나타내고 있다. Kaplow (1970)가 指摘한 바, 水分活성에 따라 水分含量的 變化가 적은 乾物일수록 安定하다는 理論에 건주어 볼 때 밀치는 比較의 高濕度에서도 低水分量을 維持하여 乾燥가 쉽고 平衡水分이 높으므로 腐敗에 이르는 濕度の 값이 높다함을 보이고 있으나 品質變敗의 主原因은 脂肪의 酸化이거나 非酵素的 褐變反應에 있음을 示唆하고 있다.

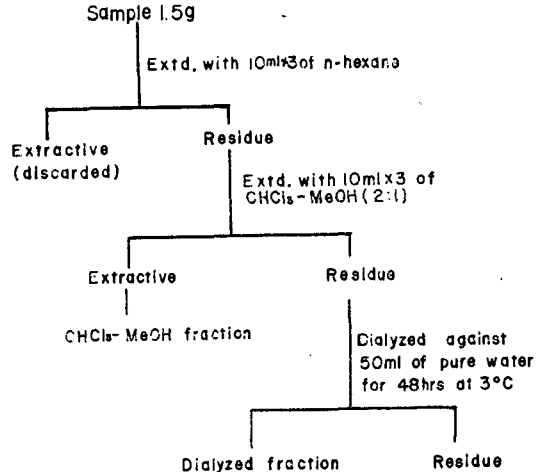


Fig. 2. Diagrammatic procedure of pigment fractionation.

한편 Fig. 4에서 보는 바와 같이 BET式에서 計算된 Monolayer vlaue는 a_w 0.21일 때 水分 5.12%의 값으로 나타나 있다. 이것은 Salwin(1963)이 測定한 蛋白食品에 對한 값 3~5%보다 多少 높은 값을 보이고 있는데 前者의 試料는 無脂肪 乾物에 對한 것이고 또 本實驗에 使用한 鷓鴣는 鹽乾品이었으므로 스금의 吸濕에 對한 影響을 考慮하지 않을 수 없다. 또한 Martinetz(1968)에 依한 鷓鴣肉에 對한 測定值 即 $a_w=0.19$ 일 때 5%의 水分량과는 비슷한 값을 보이고 있다.

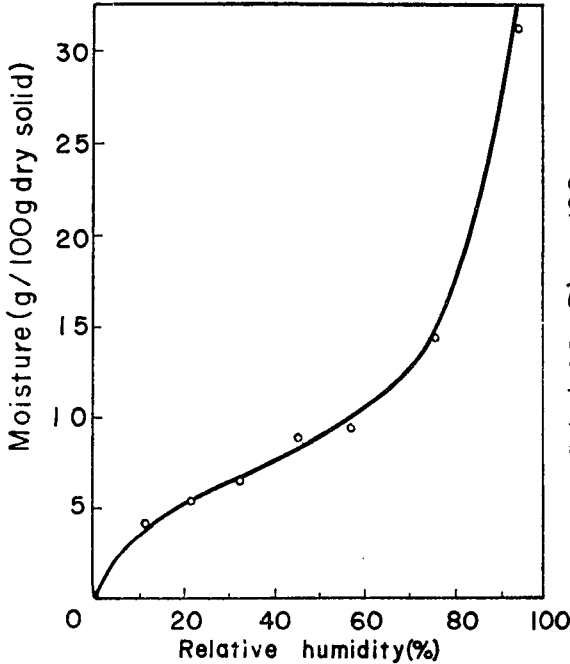


Fig. 3. Moisture adsorption isotherm of boiled and dried anchovy meat at 22°C.

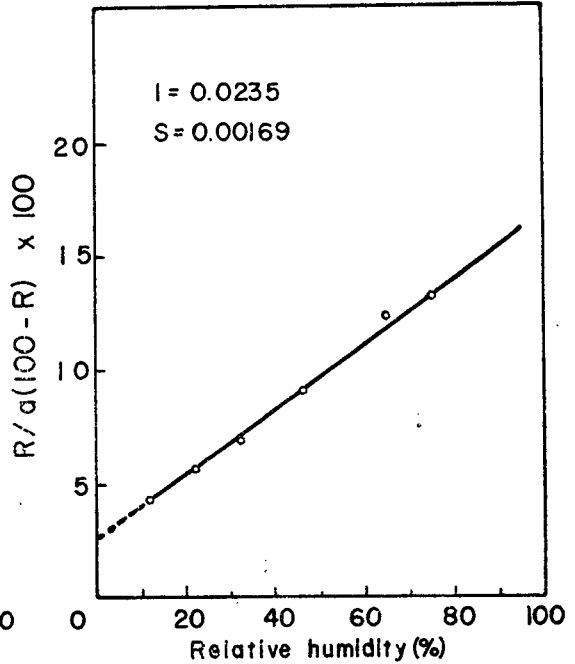


Fig. 4. Linear adsorption isotherm, calculated from BET equation.

2. 脂質의 酸化

Table 1에 表示된 水分活性에 있어서 測定된 各實驗值를 보다 뚜렷한 變化의 pattern을 보기 위하여 네개의 水分活性 區分 各 $a_w=0.11\sim0.22$, $0.32\sim0.45$, $0.58\sim0.75$ 및 0.92 로 묶어 그림으로 表示하였다.

各濕度에 있어서의 貯藏기간에 따른 過酸化物質 및 TBA值의 變化는 Fig. 5와 Fig. 6과 같다. Fig. 5에 의하면 過酸化物質은 $a_w=0.11\sim0.22$ 에서 貯藏 30日경에 極大值를 보였고 $a_w=0.92$ 에서는 40日, $a_w=0.32\sim0.45$ 에서는 50日이 경과한 후에야 極大值를 볼 수 있다.

Fig. 6에 의한 TBA值도 Fig. 5와 비슷한 傾向을 볼 수 있으며 $a_w=0.11\sim0.22$ 에서는 貯藏 20日경, $a_w=0.92$ 에서는 30日, $a_w=0.32\sim0.45$ 에서는 큰 變化를 볼 수 없으나 40~50日頃에 多少 높은 값을 보였다. 이러한 結果는 Martinetz(1368) 등이 鷓鴣肉중의 脂質酸化를 調査한 結果와 비슷하며 水分活性이 높아 질수록 酸化速度는 현저히 감소하는 것을 볼 수 있는데 이러한 水分의 抑制效果는 食品의 表面에 있어서 酸化과정에서 生成되는 過酸化物質과 水素結合을 形成하여 過酸化物質의 分解를 保護하는 結果라고 說明할 수 있다(Maloney 등, 1966). 그러나 $a_w=0.75$ 以上에 있어서는 水分의 保護效果가 減少하여 오히려 脂質의 酸化가 增加하는 것으로 보아서, 이는 不活性化狀態로 存在하고 있던 金屬이 擴散되어 觸媒作用을 나타내거나 혹은 높은 水分活性에서 多孔組織이 膨潤되어 酸素의 吸着을 阻장하는 結果라고 생각된다. 이상의 結果로서 monolayer水分($a_w=0.21$) 以下에서 가장 脂

다른 열치 貯藏中의 水分活性和 非酵素的 褐變反應

質의 變化가 심하며 $a_w=0.75$ 以上の 높은 水分活성에 있어서도 比較的脂質의 酸化가 잘 일어나고 $a_w=0.32\sim 0.45$ 에서 가장 安定하다는 것을 說明할 수 있다. 一般적으로 過酸化물이 急速히 生成되었다가 分解할 경우 TBA 反應物質을 生成한다 하였으나 Fig.5와 Fig.6에서 볼수 있는 바와 같이 本實驗의 結果에서는 오히려 TBA 의 增加가 過酸化물의 增加보다 多少 빠르거나 비슷한 것은 熱치와 같은 多脂肪魚(14%)에 있어서는 貯藏初期의 旺盛한 酸化過程에서 明確한 區分이 가지 않는 것이라 보아진다.

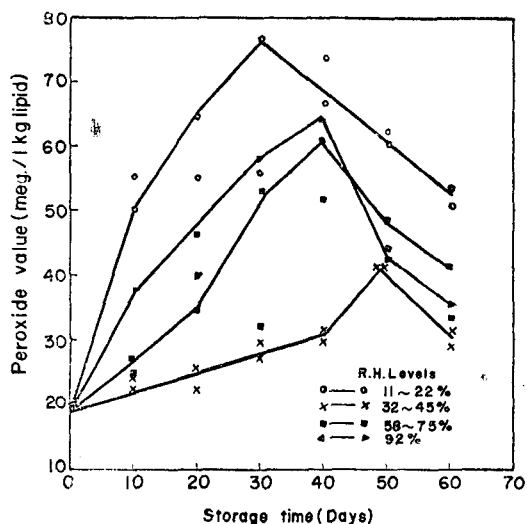


Fig. 5. Changes in peroxide value under different levels of humidity.

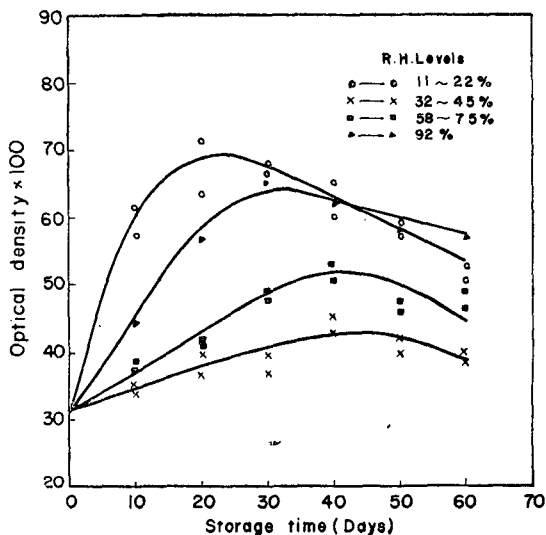


Fig. 6. Changes in thiobarbituric acid value under different levels of humidity.

3. 非酵素的 褐變

水分活성에 따른 各試料의 chloroform-methanol 分割 및 水溶性透折分割을 波長 460nm에서 吸光度를測定하여 OD×100으로 나타낸 것은 Fig 7과 Fig. 8과 같다. Fig. 7에 의하면 脂質의 酸化에 의한 褐變生成物이라 看做되

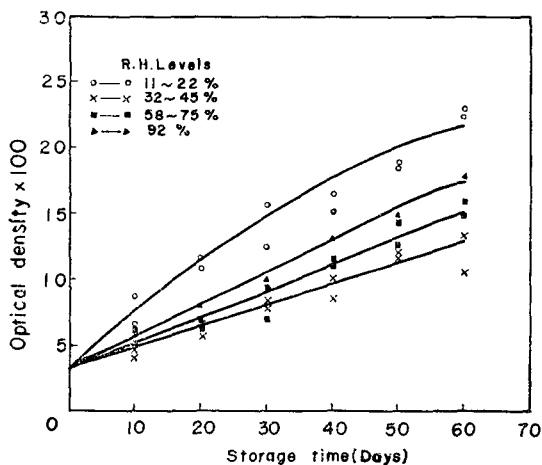


Fig. 7. Color development of chloroform-methanol soluble fractions.

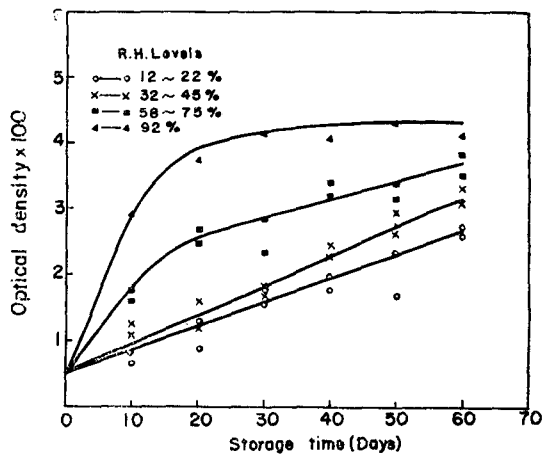


Fig. 8. Color development of water dialyzed fractions.

는 chloroform-methanol 分割의 變化는 $a_w=0.11\sim 0.22$ 인 경우를 除外하고는 a_w 의 增加에 따라 漸次的으로 增加하는 것을 볼 수 있으며 $a_w=0.11\sim 0.22$ 에서 가장 높은 값을 보이며 $a_w=0.32\sim 0.45$ 에서 가장 낮은 값을 나타내었다. 이것을 脂質酸化와의 結果와 關聯하여 考察하여 볼 때 鷓鴣肉의 褐變은 脂質의 酸化에 의한 褐變이 水分活성이 낮은 경우에는 變色反應의 主軸을 이루고 있다는 것을 알 수 있다. Fig.8에 의하면 Maillard 反應은 水分活성이 높을수록 높은 값을 나타내는 傾向을 볼 수 있다. $a_w=0.9$ 에 있어서는 貯藏 20日경에 急增하여 그 이후에는 거의 變化를 보이지 않으며 $a_w=0.11\sim 0.22$ 및 $a_w=0.32\sim 0.45$ 에서는 徐徐히 增加하고 있으나 그 값은 매우 낮게 나타내고 있다. Labuza등(1970)이 鷓鴣肉을 55°C 에서 貯藏하여 水分活性和 amino-sugar 反應을 實驗한 結果를 보더라도 水分이 amino-sugar 反應을 支配的으로 促進한다는 事實과 符合하며 높은 水分活性에서 反應의 誘發期間이 빠른 것은 褐變反應物質의 流動性的 增加에 依한 것으로 생각되며 貯藏期間 20日 경과 후 反應이 完滿한 것은 反應系에 參與하는 遊離 sugar의 限定된 量에 基因된 結果가 아닌가 추측된다.

이상의 結果를 綜合하면 非酵素的 褐變은 monolayer이하의 水分量에 있어서는 脂質의 酸化에 의한 褐變이 主導的인 役割을 보이며 높은 水分活性에서는 Maillard 反應이 誘發期間과 反應速度가 빠르며 兩反應의 中間에 該當하는 $a_w=0.32\sim 0.45$ 에서 共히 낮은 값을 보였으며 위의 結果에서 나타난 $A_w=0.32\sim 0.42$ 일 때의 水分含量은 6~9%에 該當하고 貯藏을 爲한 適水分含量이 된다.

한편 全貯藏期間을 通하여 볼 때 鷓鴣肉의 褐變은 Maillard 反應에 의한 것 보다는 脂質의 酸化에 의한 것이 더 重要視된다. 그러므로 鷓鴣肉의 貯藏安定度를 論할 때는 脂質의 酸化가 第一의 問題點이 된다고 볼 수 있다. 實驗의 結果에서 a_w 의 調節이 品質安定化에 效果가 있다고 보나 抗氧化劑의 併用 또는 貯藏容器內의 atmosphere의 조절 등으로 酸化反應의 抑制가 同伴하여야 할 것이라 생각 되고 앞으로의 課題로서 興味있다 하겠다.

本實驗에서 $a_w=0.92$ 에 貯藏한 試料는 25日 이후에 表面에 若干의 곰팡이의 發育을 볼 수 있었으며 事實上, $A_w=0.75$ 이상의 條件은 意義가 없다고 생각된다.

結 論 및 要 約

水分活性을 調節한 恒濕槽內에 煮乾鷓鴣肉을 貯藏하여 脂質의 酸化 및 chloroform-methanol 分割과 水溶性透析分割을 各各 脂質에 의한 褐變과 Maillard 反應에 의한 褐變으로 區分하여 그 變色度를 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

(1) 鷓鴣肉의 單分子層水分量(monolayer value)은 水分活性이 0.21일 때 乾物로서 5.12%의 水分含量일 때였다.

(2) 鷓鴣肉의 脂質酸化는 $a_w=0.11\sim 0.22$ 에서 가장 심하였고 $a_w=0.32\sim 0.45$ 에서 크게 抑制되었다.

(3) Maillard 反應에 의한 褐變은 水分活性이 커질수록 誘發期間이 빠르고 反應速度도 큰 反面 $a_w=0.45$ 이하에서는 貯藏期間中 徐徐히 進行되었다.

(4) 脂質에 의한 褐變은 $a_w=0.11\sim 0.22$ 에서 가장 심하며 (2)(3)(4)의 結果를 綜合하면 鷓鴣肉의 褐變은 貯藏初期에 있어서는 Maillard 反應이 優先하여 일어나고 貯藏期間이 경과함에 따라, 脂質의 酸化에 의한 褐變이 主導的 役割을 한다고 보아진다.

(5) 鷓鴣肉의 褐變에 準하여 品質安定을 期하는 乾鷓鴣肉 貯藏에는 $a_w=0.32\sim 0.45$ 또는 乾物로서 8% 程度의 水分含量을 유지시켜 주는 것이 좋다고 느껴진다.

文 献

Adamson, A.W.(1960): "Physical chemistry of surface". Interscience Publ., New York, N. Y.

Kaplow, M.(1970): Development of intermediate moisture foods for military use. Food Technol. 24, 896.

Karel, M. and J. T.R.Nickerson (1964): Effects of relative humidity, air and vacuum on browning of dehydrated orange juice. Food Tech. 18, 104.

- Labuza, T.P., F.J. Maloney, and M. Karel (1966): Autoxidation of methyl linoleate in freeze-dried model systems. II. Effect of water on cobalt-catalysed oxidation. J. Food Sci. 31, 885.
- _____, S.R. Tannenbaum, and M. Karel.(1970): Water content and stability of low-moisture and intermediate-moisture foods. Food Tech. 24, 543.
- _____, L. McNally, D. Gallagher, J. Hawkes, and F. Hurtado (1972): Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid oxidation. J. Food Sci. 37, 154.
- Lea, C.H. (1958): Conference on fundamental aspects of the dehydration of food stuffs Aberdeen, Soc. Chem. Ind. (London) 24.
- Maloney, J.F., T.P. Labuza, H. David, and M. Karel(1966): Autoxidation of methyl linoleate in freeze-dried model systems. I. Effect of water on the autocatalysed oxidation. J. Food Sci. 31, 878.
- Martinetz, F. and T.P. Labuza (1968): Effect of moisture content on rate of deterioration of freeze-dried salmon. J. Food Sci. 33, 241.
- Rockland, L.B. (1960): Saturated salts solution for static control of relative humidity between 5° and 45°C. Anal. Chem. 32, 1375.
- Salwin, H. (1959): Defining minimum moisture content for dehydrated foods. Food Tech. 13, 594.
- _____(1962): The role of moisture content in deteriorative reaction of dehydrated foods. Food Tech. 17, 34.
- _____(1963): Moisture levels required for stability in dehydrated foods. Food Tech. 17, 1114.
- Tannenbaum, S.R. (1966): Protein carbonyl browning systems: a study of the reaction between glucose and insulin. J. Food Sci. 31, 53.