

민꽃게 자숙취의 핵심 향기발현성분

오 광 수

경상대학교 해양생물이용학부 및 해양산업연구소

The Character Impact Compounds of Odor Evolved from Cooked Shore Swimming Crab Flesh

Kwang-Soo OH

Division of Marine Bioscience/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

In order to elucidate a responsible mechanism for the development of the odor characteristics of cooked desirable flavoring materials such as crab and shrimp, shore swimming crab flesh were extracted with various solvents and resulting extracts were evaluated organoleptically after cooking. As a result, 80% aqueous methanol extract (AME) was found to produce a cooked desirable flavoring odor. After dialysis of AME, outer dialyzate was fractionated by ionexchange column chromatography, and each of the fraction obtained was subjected to cooking, followed by organoleptic evaluation. The outer dialyzate fraction, acidic and amphoteric fraction produced a cooked crab-like odor. On the basis of the composition of 80% AME, an artificial crab extract was prepared with pure chemicals. The artificial crab extract thus obtained closely resembled 80% AME in respect of the cooked odor. To elucidate the role of individual components, the artificial extracts from which certain component alone or as group was omitted were subjected to organoleptic evaluation after cooking. All of neutral, acidic, basic, and sulfur containing amino acids and quaternary base compounds were involved in the development of the cooked crab-like odor. The cooked odor of artificial extract without addition of ribose was lacking in the characteristics of cooked crab odor, and phosphorus compound accelerated the development of the cooked crab-like odor.

Key words: Crab, Cooked odor, Character impact compounds, Extracts, Flavor precursor

서 론

수산물에는 다양한 정미성분이나 향기성분이 함유되어 있기 때문에 그들의 풍미는 매우 다양하다 (坂口, 1988; 徳永, 1981). 수산물의 풍미성분 중에서 정미성분 즉, 수산물의 엑스분에 관한 연구는 국내외에서 지금까지 활발히 수행되어 왔고, 그 연구의 성과는 천연 조미료 등의 개발에 활용되고 있다. 한편, 수산물의 향기성분에 관한 연구는 휘발성 화합물의 포집이나 취급이 어렵고, 분석기기 또한 최근들어 보급되기 시작하였으므로 이에 관한 연구는 정미성분에 비해 훨씬 적고, 그 연구 성과도 그리 많지 않다. 계와 같은 갑각류의 자숙취에는 어류와는 달리 특유의 강한 냄새가 있으며, 이들 냄새는 대부분의 경우 바람직한 향기로서 전부터 수산물의 가공에 있어서 중요한 물질로 인식되고 있다. 자숙한 계의 향기성분에 관해서 국내외에서 몇몇 연구 결과가 보고된 바 있으나 (Oh et al., 2001; Hayashi, 1990; Chung, 1999), 그 냄새의 본체 즉, 자숙취의 전구물질부 (前驅物質部)에 관한 연구는 거의 수행되어 있지 않다. 일반적으로 식품의 향기에 관한 연구에서는 대상 식품으로부터 휘발성성분을 포집하고, 이것을 GC나 GC/MSD로써 분석하여 향기성분을 분석하는데, 이러한 방식으로는 향기에 기여하는 정도에 관계없이 극히 다수의 휘발성 성분을 동정하게 되고, 이들 성분 중에 어떠한 성분이 식품의 특유한 향기 발현에 관여하는 핵심 향기성분 (character impact compounds) 인가를

판정하는 것은 극히 곤란한 경우가 많다.

따라서 본 연구에서는 민꽃게를 시료로 하여 갑각류 특유의 바람직한 자숙 향기성분의 전구물질부 및 핵심 향기발현성분을 분리·검색하였고, 또한, 이들 전구물질들을 조합·제처리하여 발생하는 인공 향기성분을 천연 계의 자숙취와 비교 분석하였으며, 아울러 이들 전구물질들이 자숙취의 발현에 미치는 영향 등에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 시료는 우리나라 연안에서 생산되는 갑각류 중 비교적 활용도가 낮고 가격이 저렴하나, 갑각류 특유의 풍미를 갖는 민꽃게 (*Charybdis japonica*, 갑폭: 5.5~8.5 cm, 체중: 31.2~74.9 g)로서 통영시 소재 수산시장에서 살아있는 상태로 구입하여 -25℃의 동결고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

일반성분, pH 및 휘발성염기질소 (VBN)의 측정

수분은 상압가열건조법, 조단백질 및 총질소량은 semimicro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 건식회화법으로 측정하였고, 환원당은 Bertrand법 (小原, 1982-a)으로 분석한 후 Bertrand 당류정량표로부터 glucose 함량으로 나타내었다. pH는 시료를 균질화한 다음 pH meter (Basic, Fisher Co., USA)로써 측정하였고, 휘발성염기질소 (VBN) 함량은 Conway unit를 사용

Corresponding author: kwangsoo@gaechuk.gsnu.ac.kr

하는 미량화산법 (日本厚生省, 1960)으로, 아미노질소 함량은 Formol 적정법 (小原, 1982-b)으로 측정하였다.

향기성분 전구물질의 추출, 가열처리 및 관능검사

초파 (chopper)로써 마쇄한 민꽃게 육 30 g에 acetone, 냉수, chloroform:methanol (2:1), methanol 및 ethanol과 같은 추출용제 150 mL를 가해 5분간 균질화한 후 1,000×g에서 20분간 원심분리하여 추출액을 얻었고, 추출잔사에 대하여 이 조작을 2회 반복하였다. 추출용제 중 냉수의 경우는 3,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 모든 추출액은 용제취가 나지 않을 때까지 40℃ 이하에서 용제를 감압제거한 후, 시료 육의 수분 (78% 내외)이 되도록 순수를 가해 24 mL로 하였다. 추출잔사도 같은 방법으로 용제를 제거한 후 소량의 순수를 가해 생육과 같은 수분함량이 되도록 하였다.

각종 용제추출액, 추출잔사 및 대조구로서 무처리 민꽃게 육을 각각 삼각플라스크에 넣어 솜마개를 하고 이를 알루미늄박으로 싼 후, 100℃ 수조 상에서 30분간 가열하고, 실온까지 냉각한 다음 게 자숙취에 익숙하도록 숙달시킨 7인의 panel을 구성하여 각 추출용제별로 얻어진 시험구에서 나는 냄새를 대조구와 비교하여 그 관능적 특징을 기술하도록 하였다.

향기성분 전구물질부의 분획 및 관능검사

민꽃게의 자숙취의 전구물질부를 구명하기 위해 Wasserman and Gray (1965)의 방법과 Batzer (1962)의 방법을 참조하여 Fig. 1과 같이 자숙취 전구물질부의 분획을 시도하였다.

추출: 신선한 민꽃게 육을 마쇄하여 Fig. 1과 같은 방법으로 추출, 분획하였다. 즉, 마쇄 계육 200 g에 chloroform:methanol (2:1) 혼합용액을 420 mL 가해 균질화한 후 흡입여과하고, 잔사는 동일 용제를 가해 2회 반복 추출하였다. 다음 추출액을 모아 순수를 100 mL 가하여 충분히 혼합 후 원심분리하여 상하층으로 분리하고, 하층의 chloroform층에 300 mL의 순수를 가해 수세한 다음 감압하에서 chloroform을 제거하고 이를 지질 전구물질부 (lipid fraction)로 하였다. Chloroform 추출잔사는 400 mL의 80% methanol 용액을 가해 균질화하여 15분간 방치 후 흡입 여과하고, 잔사는 동일한 용제 300 mL를 가해 2회 반복 추출하였다. 이 추출액과 전술한 chloroform:methanol 추출액의 수세액 (수용성획분)을 합하여 감압농축 후 동결건조기 (Eyela, freeze dryer FDU-540, Japan)로써 동결건조한 다음, 이 동결건조물을 순수에 녹여 40 mL로 정용하여 이를 F-A 획분으로 하였다. 80% methanol 추출잔사는 그대로 동결건조한 후 분쇄하여 F-B 획분으로 하였다.

투석에 의한 분획: F-A 획분 36 mL를 투석용 cellulose tubing (직경 16 mm, M.W cut limit 10,000, Sigma Co., USA)에 넣고 순수 300 mL에 대하여 냉장고 중에서 교환하면서 40시간 투석하였다. 투석 중 순수는 8시간마다 교환하였고, 얻어진 투석 외액은 동결건조시킨 후 소량의 순수에 녹여 전량을 36 mL로 한 것을 F-C 획분으로 하였다. 투석 내액도 동일한 방법으로 처리하여 36 mL로 한 것을 F-D 획분으로 하였다.

이온교환수지에 의한 분획: Amberlite CG-120 Type-I (H⁺,

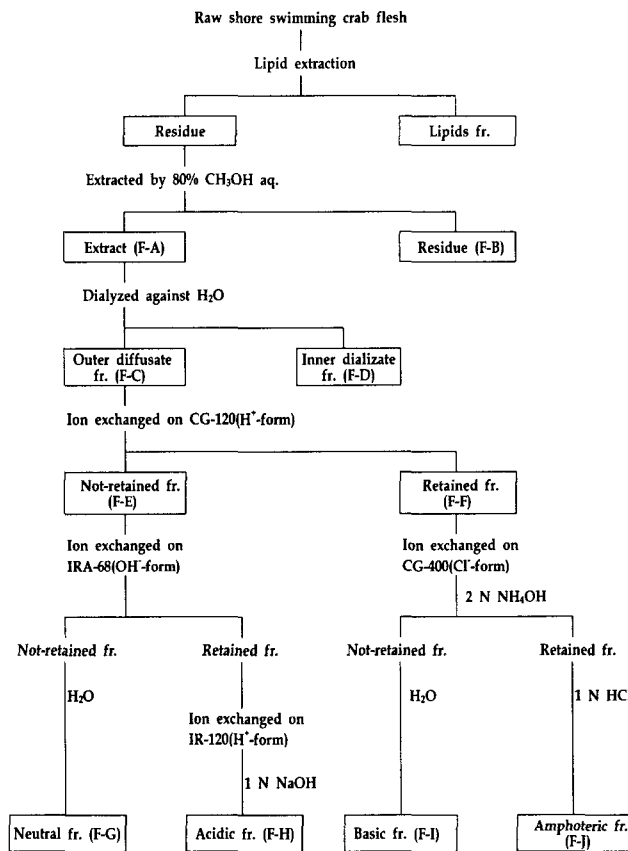


Fig. 1. Sheme of fractionation of precursors of the cooked crab-like odor.

Organo Co., Japan)을 채운 유리컬럼 (φ1.8×10 cm)에 F-C 획분 10 mL를 흡착시키고 순수 100 mL를 2 mL/min. 속도로 유출시킨 다음, 이 유출액을 동결건조한 후 순수로서 10 mL로 정용하여 F-E 획분으로 하였다. 한편, 수지에 흡착된 성분은 2.0 N NH₄OH 용액으로 유출시켜 감압하에서 암모니아를 제거한 다음, 동결건조시켜 순수로서 10 mL로 정용한 것을 F-F 획분으로 하였다. 다음 휘발성 전구물질부를 중성, 산성, 염기성, 양성 (兩性)성분으로 분리하기 위해 Amberlite CG-120을 채운 유리컬럼 (φ1.8×20 cm)에 Amberlite IRA-68 (OH⁻, Organo Co., Japan)을 채운 유리컬럼 (φ1.8×20 cm)을 연결하여 F-C 획분 20 mL를 흡착시키고 순수 200 mL를 2 mL/min. 속도로 유출시켰다. 여기서 염기성 및 양성 성분은 CG-120 컬럼에, 산성성분은 IRA-68 컬럼에 흡착되고 중성성분은 유출되는데, 이 유출액을 동결건조시켜 순수로서 20 mL로 정용한 중성획분을 F-G 획분으로 하였다.

한편, 산성성분이 유출되지 않고 흡착되어 있는 IRA-68 컬럼에 Amberlite IR-120 (H⁺, Sigma Co., USA)을 채운 유리컬럼 (φ1.8×30 cm)을 연결하고 1.0 N NaOH 용액 200 mL와 순수 300 mL를 흘려 Na 이온이 제거된 산성성분을 용리시켰다. 이 유출액을 동결건조시켜 순수로서 20 mL로 정용한 산성성분을 F-H 획분으로 하였다.

또, F-G 획분의 분리에 이용되었던 CG-120 컬럼에는 염기성

및 양성성분이 흡착되어 있는데, 이 컬럼에 2.0 N NH_4OH 용액을 150 mL 흘려 이 성분들을 유출시켰다. 다음 감압 하에서 과잉의 암모니아를 제거한 후 Amberlite CG-400 Type-I (Cl^- , Organo Co., Japan)을 채운 유리컬럼 ($\phi 1.8 \times 12 \text{ cm}$)에 흡착시키고 순수 100 mL를 가해 염기성성분을 유출시켰으며, 이어 1.0 N HCl 용액을 흘려 양성성분을 용리시켰다. 이 염기성 및 양성성분을 동결건조시킨 후 소량의 순수에 녹여 각각 20 mL로 정용한 것을 F-I 및 F-J 획분으로 하였다.

각 획분의 관능검사: 각 획분 1 mL에 순수 3 mL를 가하여 pH를 6.8로 조정후 삼각플라스크에 옮겨 솜마개로 막고 이를 알루미늄박으로 싸 다음 100°C 수조에서 30분간 가열하여 실온까지 방냉한 후, 동일한 방법으로 가열처리한 대조 민꽃계 육의 냄새와 비교하였다. 각 획분별로 얻어진 시험구에서 나는 냄새를 7인의 panel이 대조구와 비교하여 그 관능적 특징을 기술하도록 하였다.

향기 전구물질부의 가열에 의한 변화

Fig. 1의 방법과 같이 처리하여 얻은 민꽃계 육의 투석 외액 (F-C 획분)을 동결건조한 후 일정량의 순수에 녹여 냄새성분의 수용성 전구물질부를 조제하였다. 이를 100°C 에서 30분간 가열처리하고, 가열 전후의 수용성 전구물질부의 성분 변화를 분석함으로써, 민꽃계 가열향기의 생성에 미치는 전구물질부 구성성분의 영향에 대하여 검토하였다.

엑스분 조성의 분석

유리아미노산은 시료 엑스분을 일정량 취하고 여기에 약 10% 정도의 5'-sulfosalicylic acid를 첨가하여 제단백시켜 감압건고하였고, Li-citrate buffer (pH 2.20, 0.20 M)로서 정용한 후 아미노산 자동분석계 (LKB-4150 α , LKB Biochrom LTD., England)로 분석하였다. ATP 관련물질은 Oh et al. (1988)과 Ryder의 방법 (1985)에 따라 일정량의 엑스분을 취해 제단백 및 탈지처리한 다음 5.0 N KOH 용액을 넣어 pH를 6.5~6.8로 조정후 원심분리하였고 중화 PCA 용액으로 100 mL로 정용하였다. 이를 5°C 에서 3시간 이상 방치하여 결정성물질을 제거한 후 C_{18} 칼럼 (Waters 125A, particle size 10 μm , $\phi 3.9 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$, USA)을 사용하는 HPLC (9500 system, Youngin Co., Korea)로써 분석하였으며, 이때 분석조건은 이동상 0.04 M $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 0.06 \text{ M } \text{K}_2\text{HPO}_4$ (pH 7.5), 유량 0.7 mL/min., 검출기는 UV 254 nm이었다.

트리메틸아민옥사이드 (TMAO) 및 트리메틸아민 (TMA)은 Hashimoto and Okaichi (1957)의 방법, 총크레아티닌 (total creatinine)은 佐藤과 福山 (1958)의 방법에 따라, 베타인 (betaine)은 Konosu and Kaisai (1961)의 방법에 준하여 비색 정량하였다. 무기이온성분 중 양이온은 시료 엑스분을 회분도가니에 일정량 취해 $500 \sim 550^\circ\text{C}$ 에서 건식회화시킨 다음 (小原, 1982-c), Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP, Atomscan 25, TJA, USA)로써 Na, K, Ca, P, Cu, Mg, Fe 및 Zn의 함량을 분석하였고, Cl의 함량은 Mohr법으로 (桂, 1976), PO_4 의 함량은 Fiske and Subbarow (1925)의 방법에 따라 정량하였다.

합성엑스분에서 발생하는 휘발성성분의 관능검사 및 GC pattern 비교

합성엑스분의 조제 및 관능검사: 민꽃계 육 합성엑스분은 80% methanol 추출성 계육 엑스분의 수용성 전구물질부의 분석치를 기초로 하여 표준시약 (Sigma Co., USA)으로서 분석치의 2배 농도가 되도록 합성엑스분을 조제하였다. 단, 환원당은 ribose를 사용하였으며, 이를 삼각플라스크에 취해 솜마개 및 알루미늄박으로 싸 후 100°C 에서 30분간 가열처리하여 방냉한 다음 동일조건에서 가열처리한 대조구의 냄새를 기준으로 관능적 특성을 비교하였다.

Omission test: 민꽃계 수용성 전구물질부의 구성성분이 자속취 발현에 미치는 영향을 검토하기 위해 다음과 같은 방법으로 특정 성분 제거시험 (omission test)을 실시하였다. 즉, 합성엑스분의 구성성분 중 군 (group)별 또는 한 성분씩을 빼고 합성엑스분을 조제하여 100°C 에서 30분간 가열한 후 실온까지 방냉한 다음 관능적 특성을 비교하였다.

합성엑스분의 휘발성성분의 포집: 분석치의 2배 농도로 조제한 계육 합성엑스분 100 mL를 밀폐형 추출용기 (sample reaction cylinder, 0.3 L Hoke SS-DOT, USA)에 넣고 150°C 에서 3시간 동안 반응시킨 다음, dichloromethane으로 약 1시간 교반하면서 추출하였다. 추출액은 Na_2SO_4 로 탈수시킨 후 Kuderna-Danish 농축장치로 일정량까지 농축하여 GC 분석용 휘발성성분 시료로 하였다. 한편, 천연 계육의 휘발성성분은 후술하는 휘발성성분의 추출 및 포집방법에 따라 행하여 GC 분석용 시료를 조제하였다.

휘발성성분의 GC pattern 분석: GC pattern 분석용 시료 3 μL 를 Fused silica gel column (60 m \times 0.32 mm i.d., film thickness 0.25 μm , DB-1; J&W Scientific Co., USA)이 장착된 HP 5890 GC에 주입하여 분석하였고, 나타난 천연 및 합성 민꽃계 엑스분 자속취의 GC chromatogram pattern을 비교하였다. 이 때의 분석 조건은 injector 온도는 270°C , detector 온도 300°C , helium carrier gas의 유량은 1.0 mL/min.이었고, oven 온도는 40°C 에서 5분간 머문 후 260°C 까지 $2^\circ\text{C}/\text{min}$.의 속도로 승온시킨 다음 260°C 에서 10분간 머물렀다.

결과 및 고찰

일반성분 조성, pH와 휘발성염기질소 함량

시료 민꽃계 육의 일반성분 조성, pH와 휘발성염기질소 (VBN) 함량은 Table 1과 같다. 시료 민꽃계 육의 수분함량은 77.9%, 조단백질은 17.5% 정도였고, 지방함량은 1% 이하로 나타났다. 시료 육의 pH와 VBN 함량은 각각 7.48 및 16.8 mg%이었다.

자속취 전구물질부의 추출 및 관능검사

시료 민꽃계 육의 각종 용제추출액을 100°C 수조 상에서 30분간 가열한 다음, 실온까지 냉각한 후 관능검사에 의해 각 시험구에서 나는 냄새를 대조구와 비교하여 그 특징을 기술한 결과를 Table 2에 나타내었다. Acetone 및 chloroform:methanol 추출액은 양자 모두 약간의 탄내, 어유 산패취 및 비린내가 났으며, 민꽃계 자속

Table 1. Proximate composition, pH and volatile basic nitrogen (VBN) content of the raw shore swimming crab flesh

Proximate composition (%)				pH	VBN (mg%)
Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash		
77.9	17.5	0.8	2.3	7.48	16.8

Table 2. Descriptions and intensity of odors evolved from cooked extracts* of shore swimming crab flesh extracted with several solvents

Solvents	Odor description	Odor intensity
Acetone	Burnt, Oxidized fish oil	Moderate
Chloroform-methanol (2:1)	Burnt and fishy, Oxidized fish oil	Strong
Cold water	Crab odor	Weak
Ethanol	Amines and fishy, Cooked crab odor	Strong
Methanol (80%)	Sweet and green, Cooked crab odor	Strong

*Cooking condition: 100°C, 30 min.

취의 냄새는 전혀 감지되지 않았다. 따라서 지질구 (脂質區)는 전구물질이 아니라고 여겨졌다. 이를 보완하기 위해 별도의 실험으로 민꽃게 육을 Bligh and Dyer (1959) 법으로 추출한 후, 지질구 및 수용성인 수용성 물질구로 나누어 가열처리하고 관능검사를 실시하여 본 결과, 지질구에서는 역시 어유 산패취가 감지되었고, 수용성 물질구에서는 강한 감미를 띠는 탄내와 게 자숙취 특유의 냄새가 감지되었다. 한편, 냉수추출물에서는 게 냄새가 미약하게 감지되었고, ethanol 추출물은 탄내 및 비린내가 약간 나는 게 냄새가 비교적 강하게 발생하였으나, 대조구와는 차이가 있었다. 80% methanol 추출물의 경우는 강한 감미를 띠는 은은한 게 냄새가 다른 시험구에 비해 가장 강하게 발생하였으나, 역시 대조구인 천연 게 냄새와는 약간의 차이를 보였다.

각종 용제로 추출하고 남은 민꽃게 잔사 게 자숙취 발현과의 관계를 살펴보기 위해 각 추출잔사를 100°C 수조 상에서 30분간 가열한 다음 관능검사에 의해 각 시료에서 나는 냄새의 특징을 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 각 시험구 모두 냄새의 강도에 있어서 차이는 있었으나, 대부분 자숙한 계육과 유사한 냄새가 감지되었고, 그 강도는 80% methanol 추출잔사가 가장 약했고, ethanol 추출잔사, 냉수 추출잔사, chloroform:methanol 추출잔사 순으로 점차 강해졌다. Acetone 추출잔사의 경우는 용제의 제거가 완전히 되지 않아 냄새 감지에 어려움이 있었다. 이처럼 각 추출잔사에서 약하나마 게 자숙취가 감지되는 것은 추출처리가 불충분함을 나타낸 것으로 생각되었다. Table 2, 3의 결과에서 알 수 있듯이 지질성분은 냄새의 전구물질과 관계가 적었으며, methanol이 냄새성분의 전구물질 추출에 가장 적합한 것으로 나타났다.

그리고, methanol 추출의 횟수 (1~5차) 및 농도 (60~100%)에

Table 3. Descriptions and intensity of odors evolved from cooked residues* extracted with several solvents

Solvents	Odor description	Odor intensity
Acetone	Sweet, cooked crab odor	Strong
Chloroform-methanol (2:1)	Sweet and green, cooked crab odor	Strong
Cold water	Crab odor	Moderate
Ethanol	Cooked crab odor	Weak
Methanol (80%)	Cooked crab odor	Weak

*Cooking condition: 100°C, 30 min.

대해 관능검사한 결과, 추출횟수는 3회 정도로 완전 추출이 가능했으며, methanol 농도는 80%일 때가 냄새의 강도가 가장 강한 것으로 나타났다.

민꽃게 자숙취 전구물질부의 분획 및 관능검사

시료 계의 자숙취 전구물질부를 구명하기 위해 Fig. 1에서와 같이 투석 및 이온교환수지법 등을 이용해 냄새성분의 전구물질부를 분획하고, 이를 100°C 수조 상에서 30분간 가열한 다음 관능검사에 의해 각 시료에서 나는 냄새의 특징을 살펴본 결과는 Table 4 및 5와 같다.

지질구 (lipid fr.), F-A (methanol 가용구)와 F-B (추출잔사) 획분을 관능검사한 결과, 지질구에서는 약간의 탄내 및 어유산패취가 났고, 자숙한 계육의 냄새는 감지되지 않았다. F-A 획분에서는 대조구 냄새와는 약간의 차이는 있었으나 자숙 계육과 유사한 냄새가 발생하였으며, F-B 획분은 아무 냄새도 감지되지 않았다. F-A 및 F-B 획분을 합하여 가열하였을 경우 대조구와 비슷한 은화하며 조화를 이룬 냄새가 발생하였다.

한편, F-A 획분을 투석하여 얻은 F-C (투석외액) 획분의 가열 후 냄새는 연한 소독취를 띤 자숙 계육과 유사한 냄새가 발생하였고, F-D 획분 (투석내액)의 경우는 거의 냄새가 없었다. 그리고, F-B와 F-C 획분을 합한 경우는 대조구와 아주 유사한 냄새가 발생하였으나, F-B와 F-D 획분을 합하여 가열했을 때는 F-D 획분과 같이 거의 냄새가 없었다. 이상의 결과에서 자숙 계육 냄새의

Table 4. Descriptions of odors evolved from cooked crab extracts separated by ion exchange column chromatography

Fractions*	Odor description
Lipid fraction	Burnt and oxidized odor
F-A	Cooked crab-like odor (strong)
F-B	Odorless
(F-A) + (F-B)	Cooked crab odor (moderate and harmony)
F-C	Medicine-like(weak) + Cooked crab odor (strong)
F-D	Odorless
(F-B) + (F-C)	Cooked crab, odor, Pleasant (moderate)
(F-B) + (F-D)	Odorless

*Refer to the comment in Fig. 1.

Table 5. Odor descriptions of the cooked fractions separated from the outer diffusate fraction in dialysis of shore swimming crab extracts

Fractions*	Odor description
F-I	Odorless
F-J	Odorless
(F-I) + (F-H)	Sweet (weak)
(F-J) + (F-H)	Cooked crab odor (weak)
(F-I) + (F-B)	Odorless
(F-J) + (F-B)	Odorless
(F-I) + (F-H) + (F-B)	Sweet and green (weak)
(F-J) + (F-H) + (F-B)	Cooked crab odor, pleasant (moderate)
F-E	Caramel-like (weak)
F-F	Cooked crab odor (slight)
(F-E) + (F-B)	Sweet and green (slight)
(F-F) + (F-B)	Cooked crab odor (weak)
(F-F) + (F-G)	Burnt crab odor (weak)
(F-F) + (F-H)	Cooked crab odor (weak)
(F-F) + (F-G) + (F-B)	Cooked crab odor (weak)
(F-F) + (F-H) + (F-B)	Cooked crab odor, pleasant and harmony (moderate)

*Refer to the comment in Fig. 1.

전구물질부는 수용성이고 투석성의 저분자 성분일 것으로 추정되었다.

투석외액 중 강산성 양이온교환수지에 흡착되지 않은 F-E 획분과 흡착된 F-F 획분을 가열처리 후 관능검사를 한 결과는 Table 5와 같다. F-E 획분에서는 자숙한 게육 냄새와는 전혀 다른 약한 카라멜향이, F-F 획분에서는 자숙한 게육과 유사한 냄새가 감지되었으나 그 강도는 현저히 약했다. 또 F-F 획분에 추출잔사인 F-B 획분을 가하여 가열할 경우, 자숙한 게육과 같은 냄새가 발생하였고, 그 강도는 이온교환수지 처리 전에 비해 비교적 약했다. 따라서 게 자숙취의 전구물질부는 주로 F-F 획분이라고 생각되나, F-F 만으로는 원래의 게 냄새 강도가 나오지 않았으므로 F-E 획분도 게 자숙취의 강도 증진 면에서 영향을 미치는 것으로 추정되었다.

이를 좀더 명확히 하기 위해 F-E 획분을 약염기성 이온교환수지에 흡착되지 않는 F-G 획분 (중성획분)과 흡착되는 F-H 획분 (산성획분)으로 분획하고, 이들을 각각 F-F 획분에 첨가하여 가열하고 그 냄새들을 관능검정한 결과, 전자의 경우 구운 게 냄새가 약하게, 후자는 자숙한 게육의 냄새가 약하게 발생하였다. 특히 후자에 F-B 획분을 가하여 가열할 경우, 감미롭고 조화를 이룬 자숙 게육과 같은 냄새가 발생하였으며 냄새의 강도도 강해졌다. 따라서 자숙 게육의 냄새 강도와 조화, 감미로움에는 F-H 및 F-C 획분이 관여할 것으로 추정되었다.

다음으로 F-F 획분을 강염기성 음이온교환수지에 흡착되지 않는 F-I 획분 (염기성획분)과 흡착되는 F-J 획분 (양성획분)으로 분획하고, 이들을 각각, 또는 F-F 및 F-B 획분에 첨가하여 가열하고 그 냄새들을 관능검정한 결과, Table 5와 같이 F-I, F-J 획분 단독으로는 특징적인 냄새가 인지되지 않았으나 F-J 획분에 F-H

및 F-B 획분을 가하여 가열할 경우 상쾌함이 있는 자숙 게육 특유의 냄새가 발생하였고, 냄새 강도는 중간 정도이었다.

이상의 결과를 미루어 볼 때 자숙한 게육의 특징적인 냄새는 특정 단일성분에서 발생하는 것이 아니고, 산성 및 양성성분의 물질을 주체로 여러 가지 성분이 동시에 가열될 때 발생하는 것이라고 생각된다.

가열에 따른 향기성분 전구물질부의 함량 변화

민꽃게 자숙취의 전구물질부를 확인하기 위해 80% methanol 추출성 엑스성분을 100°C에서 30분간 가열처리한 후 엑스성분 조성의 변화를 살펴본 결과를 Table 6~9에 나타내었다. 80% methanol 추출성 엑스성분의 총질소 성분은 가열처리 후 약간 감소하였으며, 아미노질소량 역시 약간 감소하는 경향을 보였는데, 이는 유리아미노산 등 저분자량의 질소성분들이 가열처리 중 일부 분해되었거나, Maillard 반응에 관여하여 약간씩 감소한 것으로 생각된다. 일반적으로 식품을 가열할 때 발생하는 냄새를 가열향기라고 부르는데, 이는 주로 식품성분 중 당-아미노기 성분 상호간에 일으키는 Maillard 반응에 의한 것으로 생각되고 있다 (Ho et al., 1989). 게 자숙취는 생 게육을 가열처리할 때 발생하는 것이기 때문에 Maillard 반응의 관여를 고려해 볼 필요가 있다고 생각된다. 그러나, 환원당의 함량은 가열처리에 따른 변화가 거의 없었는데, 이는 Maillard 반응의 중간생성물 중에는 강한 환원력을 나타내는 물질이 생성된다는 점 (김, 1985)을 고려할 때 가열향기의 생성에 환원당이 관여함에도 불구하고 환원당 함량에 변화가 없었던 것으로 생각된다. 휘발성염기질소량의 경우는 가열처리에 의해 상당량 증가하였는데, 이것은 저분자 펩티드나 아미노산 등에서 생성된 것으로 보이며, 이에 따라 pH 값 역시 약간의 증가를 나타내었다.

가열처리 전후의 유리아미노산 조성을 Table 7에 나타내었다. 가열에 따른 유리아미노산 총량의 변화는 약간 감소하는 경향을 보였고, 주요 유리아미노산으로는 Tau, Glu, Pro, Gly, Ala 및 Arg 등의 함량이 비교적 많았다. 대부분의 중성아미노산류는 가열처리에 의해서 거의 함량 변화가 없었으나, 함황아미노산인 Tau, Met 및 cystathionine과 염기성아미노산인 ornithine 등이 약간씩 감소

Table 6. Changes in total-N, amino-N, reducing sugar, VBN, acidity and pH of sample fresh extracts before and after cooking

	Raw	Cooked*
Total-N (g/100 g-sample)	2.10	2.08
NH ₂ -N (mg/100 g-sample)	51.37	48.27
Reducing sugar (mg/100 g-sample, as glucose)	59.6	59.9
VBN (mg/100 g-sample)	4.2	6.2
pH	8.1	8.4

*Cooking condition: 100°C, 30 min.

Table 7. Changes in free amino acid contents (mg/100 g) of shore sample fresh extracts before and after cooking

Amino acids	Raw	Cooked*
Phosphoserine	2.0	1.5
Taurine	88.1	74.4
Phosphoethanolamine	-	-
Urea	6.1	5.8
Aspartic acid	2.0	1.6
Hydroxyproline	-	-
Threonine	13.8	13.1
Serine	10.1	10.6
Asparagine	13.2	14.1
Glutamic acid	10.4	10.7
Glutamine	21.7	22.4
Sarcosine*	0.7	0.8
α -amino adipic acid	1.5	1.6
Proline	57.9	57.8
Glycine	55.9	55.2
Alanine	47.3	46.9
Citrulline	-	-
α -aminoisobutyric acid	0.6	0.6
Valine	12.4	12.4
Cysteine	0.5	0.4
Methionine	11.8	10.0
Cystathionine	1.3	0.3
Isoleucine	7.5	7.5
Leucine	13.7	13.7
Tyrosine	10.4	9.9
β -Alanine	2.6	2.4
Phenylalanine	7.6	7.1
β -aminoisobutyric acid	-	0.1
γ -aminoisobutyric acid	2.9	1.8
NH ₃	1.1	1.6
DL-Allohydroxylysine	0.1	0.1
Ornithine	6.2	5.7
Lysine	10.6	10.5
1-methylhistidine	-	-
Histidine	5.3	5.5
3-methylhistidine	1.1	0.7
Anserine	7.9	7.9
Carnosine	-	-
Arginine	132.5	130.9
Total	566.8	545.6

*Cooking condition: 100°C, 30 min.

하였는데, 이는 가열 중 Maillard 반응에 관여하여 약간씩 감소한 것으로 추정되었다. 그러나 Maillard 반응에 주로 관여하는 염기성 아미노산인 Lys이나 Arg은 거의 변화가 없었는데, 이 중 Arg의 경우는, 본 실험에 있어서 분석방법상의 차이로 인해 검출되지 않았으나 연체류나 갑각류 등에 많이 분포한 것으로 알려진 octopine의 일부가 가열처리 중 분해되어 Arg을 생성하였기 때문에 변화가 없었던 것으로 생각되었다.

가열처리 전후의 ATP 관련물질, TMA(O), total creatinine 및 betaine 함량을 Table 8에 나타내었다. ATP 관련물질로는 AMP,

Table 8. Changes in ATP related compounds, TMA (O), total creatinine and betaine contents (mg/100 g) of sample fresh extracts before and after cooking

	Raw	Cooked*
AMP	40.0	36.6
IMP	15.2	13.0
Hypoxanthine	24.8	23.9
TMAO	80.8	58.6
TMA	12.8	24.6
Total creatinine	20.2	19.7
Betaine	833.3	773.9

*Cooking condition: 100°C, 30 min.

IMP 및 hypoxanthine 등이 검출되었고, 이중 AMP와 IMP는 가열처리를 통해 약간 감소하였다. 4급 암모니움염기 중 TMAO와 betaine의 경우 모두 가열처리를 통해 상당량 감소하였고, 반면 TMA는 증가하는 경향을 나타내었다. Total creatinine은 가열처리를 통해 약간 감소하였으나 대체로 가열에 대해 안정하였다.

가열처리 전후의 무기성분 조성을 분석한 결과는 Table 9와 같다. 다량 원소인 Na와 P는 가열처리를 통해 모두 상당량 감소하였으나, K 등 그 외의 성분들은 거의 함량 변화가 없었다. 한편, Cl⁻ 및 PO₄³⁻과 같은 음이온 무기성분도 가열처리를 통해 모두 상당량 감소하는 것으로 나타났다. 여기서 Na⁺, K⁺, Cl⁻ 및 PO₄³⁻ 등과 같은 무기염류는 수산물의 특징적인 풍미의 발현에 상당한 영향을 미치는 taste active component로 알려져 있다 (Hayashi, 1981).

합성 향기성분의 관능검사 및 GC pattern의 분석

게육 특유의 냄새를 발현시킬 목적으로, 민꽃게 육의 80% methanol 추출성분의 조성을 근거로 하여 조제한 합성 게육 엑스분의 조성은 Table 10과 같다. 이 합성 엑스분을 100°C에서 30분간 열처리하여 발생하는 냄새를 천연 게의 자숙취와 비교하여 관능 검사한 결과, 냄새의 조화성면에서는 다소 떨어지나, 양 시험구 사이에 현저한 차이는 없었으며, 게육 냄새임을 확인할 수 있었다.

양 시험구의 전취발성성분을 추출하여 capillary GC로써 분석하여 얻은 GC chromatogram pattern을 비교한 결과는 Fig. 2와

Table 9. Changes in inorganic ion contents (mg/100 g) of sample fresh extracts before and after cooking

	Raw	Cooked*
Na	205.5	115.2
K	43.4	42.2
Ca	1.9	1.4
P	53.5	30.0
Cu	tr	tr
Mg	1.3	1.5
Fe	0.6	0.6
Zn	tr	tr
Cl	255.5	217.2
PO ₄	238.1	130.9

*Cooking condition: 100°C, 30 min.

Table 10. Composition (mg/100 mL) of complete artificial extract for reappearance of cooked shore swimming crab flavor

Components	Amounts
Taurine	176
Aspartic acid	4
Threonine	28
Serine	20
Glutamic acid	21
Glutamine	44
Proline	116
Glycine	112
Alanine	95
Valine	26
Cystine	1
Methionine	24
Isoleucine	15
Leucine	27
Tyrosine	21
Phenylalanine	15
Ornithine	12
Lysine	21
Anserine	16
Histidine	11
Arginine	265
NH ₄ OH	2
AMP	80
IMP	30
Hx	50
Betaine	1,667
TMAO	162
TMA	26
Creatinine	40
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	185
Ribose	138

Except glycine, all amino acids used are L-form.

All the reagents were analytical grade and purchased from Sigma Chemical Co.

같다. Fig. 2에서와 같이 합성 및 천연 게육 엑스분의 자숙취는 고비점 물질부는 서로 달랐으나, 주로 관능적으로 감지되는 저·중비점 물질부의 경우는 양자가 서로 유사한 것으로 나타났으며, 이를 양자 간의 관능검사 결과와 비교해 볼 때 서로 상관성이 있는 것으로 나타났다.

민꽃게 자숙취의 발현에 미치는 전구물질부의 영향

게육의 80% methanol 추출성 엑스분의 각 구성성분이 게육 자숙취의 발현에 관여하는 정도를 평가하기 위해, 구성성분 중 군(Group)별 또는 한 성분씩을 빼고 합성엑스분을 조제하여 가열한 후 대조 게육의 냄새와 관능적 특징을 비교한 결과를 Table 11에 나타내었다. 합성엑스분에서 중성아미노산군을 제거하였을 경우에는 황화수소취가 나는 무덤덤한 냄새가 약하게 발생하였으며, 산성아미노산, 합황아미노산을 제거하였을 때에도 Table 11과 같이

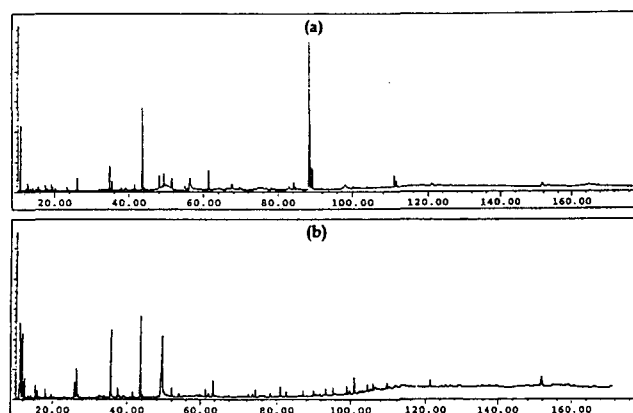


Fig. 2. GC chromatograms of whole volatile flavor components of cooked natural and artificial shore swimming crab extracts.

(a) Natural extract (b) Artificial extract

Table 11. Descriptions of odors evolved from cooked artificial extracts of crab flesh when certain components were omitted

Treatments	Odor description
None (Control)*	Cooked crab odor
Omitted neutral amino acids	Water-like and sulfur compounds-like different from control
Omitted acidic amino acids	Sulfur compounds-like, different from control
Omitted sulfur-containing amino acids	Different from control
Omitted basic amino acids	Completely different from control
Omitted quarternary ammonium salts	Sulfur compounds-like (strong), cooked crab odor (weak)
Omitted ATP-related compounds	Sulfur compounds-like (moderate), cooked crab odor (weak)
Omitted ribose	Different from control
Omitted sodium phosphate	Cooked crab odor (weak)
Omitted taurine	Cooked crab odor (moderate)

*Composition are shown in Table 10.

대조구와는 다른 냄새가 발생하였다. 특히, 염기성아미노산을 제거하였을 경우는 대조구와는 완전히 다른 냄새가 발생하였다. 4급 암모니움염기와 ATP 관련물질을 제거하였을 때에는 황화수소취가 나는 자숙한 게육 냄새가 약하게 발생하여, 이들 성분은 아미노산류에 비해 냄새 발현에의 기여도는 다소 떨어진다고 추정되었다. 그러나 수산물의 냄새에는 염기성 물질들이 어취의 주성분을 이루는 점으로 볼 때, 이들 물질의 기여도를 간과할 수는 없다고 생각된다. 일반적으로 자숙한 게육의 냄새 발현에는 감미를 띠는 아민취가 큰 역할을 한다고 알려져 있는데 (Hayashi et al., 1990; Chung, 1999), 그 전구물질은 주로 TMA와 같은 4급 암모니움염기일 것으로 생각된다.

한편, ribose를 제거한 경우에는 대조구와는 완전히 다른 냄새가 발생하였는데, 이로 미루어 볼 때 ribose와 염기성아미노산 간에

일어나는 Maillard 반응에 의해 생성되는 휘발성화합물이 자숙 계육 냄새의 주요 요소가 될 것으로 생각된다. NaH_2PO_4 를 제거한 경우에는 약한 자숙한 계육 냄새가 발생하여 인산염은 냄새의 강도와 관련이 있을 것으로 보아지며, 함황아미노산의 일종인 Tau를 제거하였을 때에도 역시 대조구와 별 차이가 없어 Tau는 게 자숙취의 발현에 그다지 큰 역할을 하지 않는 것으로 나타났다.

요 약

민꽃게를 시료로 하여 바람직한 갑각류 향기성분의 전구물질부가 되는 character impact compounds의 검색 및 게 자숙향기의 발현에 대하여 검토하였다. Methanol이 냄새성분의 전구물질 추출에 가장 적합한 것으로 나타났고, 추출횟수는 3회 정도로 완전 추출이 가능했으며, 이때 methanol의 농도는 80%일 때가 냄새의 강도가 가장 강한 것으로 나타났다. 시료 계의 냄새성분의 전구물질부를 구명하기 위해 투석 및 이온 교환수지 방법 등을 이용해 냄새성분 전구물질부를 분획하고 관능검사한 결과, 게 자숙취의 전구물질은 수용성이고 투석성의 저분자 성분으로, 산성 및 양성 성분의 물질을 주체로 하여 여러 가지 성분이 동시에 가열될 때 발생하는 것이라고 생각되었다. 계육 특유의 자숙취를 발현시킬 목적으로, 민꽃게 육의 80% methanol 추출성분의 조성에 근거한 합성 계육 엑스분의 조제하여 100°C에서 30분간 열처리하여 발생하는 냄새를 천연 계육의 자숙취와 비교하여 볼 때, 냄새의 조화성 면에서는 다소 떨어지나 양시료 사이에는 거의 차이가 없었다. 한편, 천연 및 합성 계육의 자숙취를 GC로 분석하여 chromatogram의 pattern을 비교한 결과 저·중비점 물질의 경우 양자가 서로 유사한 것으로 나타났다. 게 자숙취의 발현에는 염기성아미노산을 비롯한 아미노산류의 역할이 컸으며, ribose와 염기성아미노산 간에 일어나는 Maillard 반응에 의해 생성되는 휘발성화합물, 그리고 4급 암모니움염기가 민꽃게 자숙취의 주요 요소가 될 것으로 추정되었다.

감사의 글

이 논문은 1996~97년도 농림수산특정연구사업의 연구비 지원으로 수행된 연구의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Batzer, O.F., A.T. Santoro and W.A. Landoman. 1962. Identification of some beef flavor precursors. *J. Agri. Food Chem.*, 10, 96~96.

- Bligh, E.G. and W.G. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911~917.
- Chung, H.Y. 1999. Volatile components in crab meat of *Charybdis feriatus*. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 2280~2287.
- Fiske, C.H. and Y. Subbarow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375~377.
- Hashimoto, Y. and T. Okaichi. 1957. On the determination of TMA and TMAO. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 23, 269~272 (in Japanese).
- Hayashi, T., K. Yamaguchi and S. Konosu. 1981. Sensory analysis of taste-active components in the extract of boiled snow crab meat. *J. Food Sci.*, 46, 479~483.
- Hayashi, T., H. Ishi and A. Shinohara. 1990. Novel model experiment for cooking flavor research on crab leg meat. *Food Rev. International*, 6, 521~536.
- Ho, C.T., L.J. Bruechert, Y. Zhang and E.M. Chiu. 1989. *Thermal generation of aromas*. American Chemical Society, Washington, D.C., p. 105.
- Konosu, S. and E. Kaisai. 1961. Muscle extracts of aquatic animals-3. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 27, 194~198.
- Oh, K.S. and E.H. Lee. 1988. Processing conditions of powdered Katsuo-bushi and its taste compounds. *J. Korean Fish. Soc.*, 21, 21~29 (in Korean).
- Oh, K.S., S.T. Kang and C.T. Ho. 2001. Flavor constituents in enzyme hydrolysates from shore swimming crab and spotted shrimp. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30, 787~795 (in Korean).
- Ryder, J.M. 1985. Determination of ATP and its breakdown products in fish muscle by HPLC. *J. Agric. Food Chem.*, 33, 678~680.
- Wasserman, A.E. and N. Gray. 1965. Meat flavour. 1. Fractionation of water-soluble flavor precursors of beef. *J. Food Sci.*, 30, 801~807.
- 김동훈. 1985. 식품화학. 탐구당, 서울, p. 307.
- 佐藤徳郎, 福山副太郎. 1958. 生化学領域における電光比色法. 南江堂, 東京, pp. 102~108.
- 日本厚生省. 1960. 食品衛生指針-I. 揮発性鹽基窒素. 日本厚生省, 東京, p. 30.
- 桂 敬. 1976. 分析化学 I. 新實驗化学講座 9. 丸善, 東京, p. 240. 徳永俊夫. 1981. 魚臭 畜育臭. 恒星社厚生閣, 東京.
- 小原哲二郎. 1982-a. 食品分析ハンドブック. 建帛社, 東京, pp. 206~209.
- 小原哲二郎. 1982-b. 食品分析ハンドブック. 建帛社, 東京, pp. 51~55.
- 小原哲二郎. 1982-c. 食品分析ハンドブック. 建帛社, 東京, pp. 264~267.
- 板口守彦. 1988. 魚介類のエキス成分. 恒星社厚生閣, 東京.

2002년 1월 2일 접수

2002년 3월 9일 수리