

RESEARCH ARTICLE

마이야르반응 기반 TTI 개발을 위한 색변화의 특성 분석 및 반응도구 개발

이정현

충북대학교 바이오시스템공학과

Analysis of color variation and development of a reaction tool for the development of time-temperature indicator based on Maillard reaction

Jung-Hyun Lee

Department of Biosystems Engineering, Chungbuk National University, Cheongju, Republic of Korea

Corresponding Author: leejh2007@chungbuk.ac.kr

Abstract

The time-temperature indicator (TTI) has been attracted attention as a technology that can visualize the changes in the characteristics of growth, quality, storage, and food processing for agricultural products. Therefore, in this study, color change characteristics were analyzed and a reaction tool was developed as basic data for producing a time-temperature indicator based on the Maillard reaction. The color of the Maillard reaction solution was changed colorless through, light blue, and brown to black and showed a very pronounced color change. And the rate of change in the reaction solution was increased in higher concentrations. Moreover, the time for the optical density to reach the highest point was shortened in the high concentration condition, and the slope of the change curve increased. Therefore, it was determined that the color change characteristics of the reaction solution by reaction concentration control could show a similar trend to the quality characteristics of agricultural products. In this result, the color change of the Maillard reaction-based time-temperature indicator would provide a lot of information about agricultural products such as ripen quality, rate of change, and storage deadline, etc. In addition, the prepared reaction tool was easy to manufacture, and the Maillard reaction solution was efficiently protected and the color change was clearly confirmed with high transparency. Therefore, it was determined that the developed reaction tool could be used as a time temperature indicator based on the Maillard reaction.

Keywords: Time-temperature indicator, Maillard reaction, Agricultural products

 **OPEN ACCESS****DOI:** <https://doi.org/10.12972/jame.20210001>**Received:** December 13, 2021**Revised:** December 22, 2021**Accepted:** December 22, 2021**Copyright:** © 2021 Journal of Agricultural Machinery Engineering

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Introduction

농산물의 재배, 수확, 저장, 가공 등 다양한 과정에 있어 온도는 매우 중요한 요소이다. 적산온도의 확인은 농산물의 수확 후 품질이나 수확시기를 예측하는 정보로서 확인될 수 있고, 농산물의 저장 중에 있어서는 눈에 보이지 않는 품질 변화 상태나 저장한계에 대해 확인 및 예측이 가능하다(Maciel et al., 2012). 이와 같은 적산온도의 확인을 위한 도구의 하나로 시간-온도 인디케이터가 연구되어 오고 있다. 시간-온도 인디케이터(time-temperature indicator, TTI)는 시간 및 온도의 적산에 따라 색상이 변화하여 온도이력의 가시화가 가능한 도구로서 화학적, 생물학적인 다양한 소재가 활용되고 있다(Pavelkova, 2013; Wang et al., 2015). 그러나 색변화 속도의 조절이 제한적이거나 안정성, 비용 등의 문제가 있다. 그러므로 시간-온도 인디케이터에 적용하기 위한 소재로서 식품의 갈변반응에서 볼 수 있는 마이야르 반응(Maillard reaction)을 이용하였다(Maillard, 1912). 마이야르 반응은 식품에서 나타날 정도로 안정성에 있어서는 내용물의 유출에도 위험이 없으며, 반응용액의 농도, 적산온도, pH 등에 의해 반응 시간의 조절이 가능하여 종류 및 특성에 따라 차이를 가진 다양한 농산물의 적산온도의 가시화에 마이야르 반응 기반의 시간-온도 인디케이터를 적용할 수 있을 것으로 판단하였다. 따라서 본 연구에서는 마이야르 반응기반의 시간-온도 인디케이터를 개발하기 위한 기초자료로서 마이야르 반응 용액의 색변화 특성을 분석하고 인디케이터로서 사용될 반응도구의 개발을 목표로 하였다.

Materials and Methods

반응물질

마이야르 반응기반 TTI의 제작을 위한 환원당으로는 D-Xylose, 아미노산으로서 Glycine를 사용하였다. 환원당은 Glucose, Fructose, D-ribose, D-xylose 등 다양한 종류가 존재하고 있으나, D-xylose는 목당, 목재당으로 불리우는 오탄당으로 높은 반응성, 많은 멜라노이드 생성량을 보이므로 마이야르반응의 환원당 물질로 이용하였다(Laroque et al., 2008). 아미노산에서도 Glycine, Glutamine, Lysine 등 다양한 종류가 있으나, 가장 높은 반응성을 가지는 Glycine를 선정하여 마이야르 반응을 위한 기반물질로서 활용하였다(Kwak and Lim, 2004; Laroque et al., 2008). 한편, D-xylose 및 Glycine에 의한 마이야르 반응은 상온에서도 수십 일이 걸릴 수 있고 저온에서는 그 반응속도가 더욱 느리나, 실제 시간-온도 인디케이터를 활용하기 위한 분야인 농산물의 저장, 가공 등에서는 빠르게는 몇시간에서 며칠수준의 기간이 소요된다. 따라서 색변화의 속도를 증진할 필요가 존재하므로 반응성을 높이기 위해 반응촉진제로서 반응액의 pH를 조절하여 반응 속도를 높이며, 식품첨가물로 많이 사용되는 Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4)를 이용하였다.

마이야르 반응의 색변화 특성 분석

색변화 특성을 관찰하기 위한 반응용액은 D-xylose과 Glycine의 1 mol/L의 용액을 제조하여 체적비 1:1로 혼합하고, Disodium hydrogen phosphate을 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mol/L로 나누어 반응용액에 투입하였다. 제조된 반응용액은 96-Well 마이크로 플레이트에 투입하여 25°C에서 색변화 특성을 측정하였다. 색변화는 육안을 통해 가시적인 색상의 변화를 확인하고, 분광분석계(168-1130, Bio-Rad, USA)를 이용하여 흡광도 415 nm 및 620 nm 조건에서의 흡광도 변화를 측정하였다.

측정된 흡광도 변화에 대해 수식화하고, 예측식의 개발을 위한 기초자료로서 활용하기 위해 측정된 흡광도의 시간별 변화를 다음 식 (1)을 사용하여 모델링을 실시하였다.

$$\text{Optical density} = \frac{a}{b + \exp(t+c)} \quad (1)$$

여기서, a, b, c는 계수, t는 시간을 의미한다. 식 (1)은 시그모이드 함수로서 S자형 곡선을 나타낸다. 또한 시그모이드 함수의 곡선은 시간의 변화에 따라 가속화하였다가 절정에 도달하였을 때 감속하는 형태를 나타내어 인공신경의 구현, 식물 성장곡선의 표현, 화학 물질에 대한 용량 반응 관계도 등에 사용된다(Fadipe-Joseph, 2013; Yin et al., 2003). 즉, 마이야르 반응 용액에서도 시간의 변화에 따라 멜라노이딘 용액이 생성되는 속도가 가속화되고, 반응이 종료될 시점에는 그 속도가 감속하므로 시그모이드 함수의 형태와 유사할 것으로 판단되어 식 (1)을 이용하였다.

마이야르 반응기반 시간-온도 인디케이터를 위한 반응도구 개발

마이야르 반응은 두 종류의 액체를 이용해야 하고, 수분의 흡수에 따라 용액의 농도가 달라질 수 있으므로 정확한 반응을 위해서는 내부의 용액이 외부로 유출되거나 흡수되지 않는 소재를 사용해야 한다. 또한 두 액체가 혼합됨과 동시에 반응이 시작되므로 이용하기 전에는 두 액체가 분리되어 있다가, 사용할 때 두 용액이 혼합되도록 제작되어야 하며, 색상의 변화를 확인해야 하므로 투명성이 높아야 한다. 따라서 마이야르 반응 기반 온도 인디케이터는 두 가지의 액체를 혼합하여 반응시키는 방식으로 낮은 액체 투과성, 높은 투명성, 식품 안정성 등이 요구된다. 이와 같은 조건을 기반으로 반응도구를 개발하였다.

Results and Discussion

제조된 마이야르 반응용액의 색변화 특성

마이야르 반응용액의 색변화는 육안으로도 확인가능한 명확한 색상변화를 나타내었다. Table 1에 D-xylose 1.0 mol/L,

Table 1. Color change of Maillard reaction solutions

Concentration of Disodium hydrogen phosphate (mol/L)	Reaction time (hours)				
	0	24	48	72	96
0.1					
0.2					
0.3					
0.4					

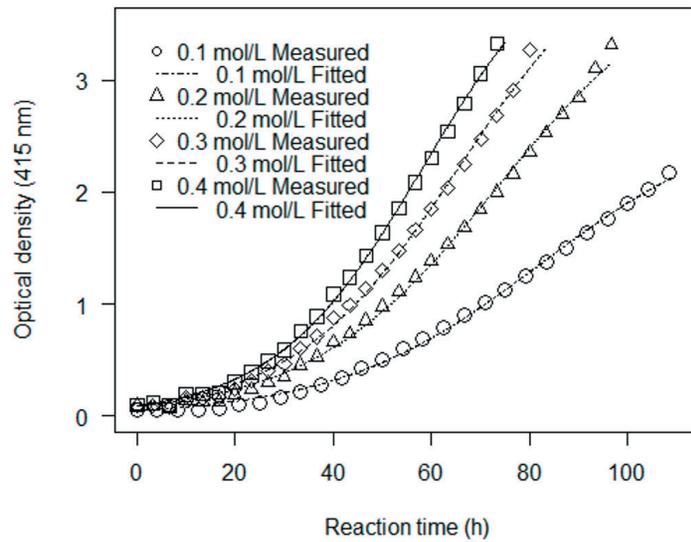
Glycine 1.0 mol/L의 농도로 제조된 마이야르 반응용액의 Disodium hydrogen phosphate의 농도에 따른 변화를 보였다.

Table 1에 나타낸 바와 같이 제조된 마이야르 반응용액의 색상변화는 최초 무색에서 시간이 경과됨에 따라 옅은 녹색 또는 청색의 색상이 나타났으며, 이후 갈색에 이어 반응 막바지에는 검은색이 나타났다. 이와 같은 색상변화는 육안으로도 확인이 가능하였으며, Disodium hydrogen phosphate 0.1 mol/L의 농도를 사용한 용액을 제외하고, 같은 색상이 나타났으며, Disodium hydrogen phosphate의 농도가 높을수록 검은색이 나타나는 시간이 단축되었다. Disodium hydrogen phosphate

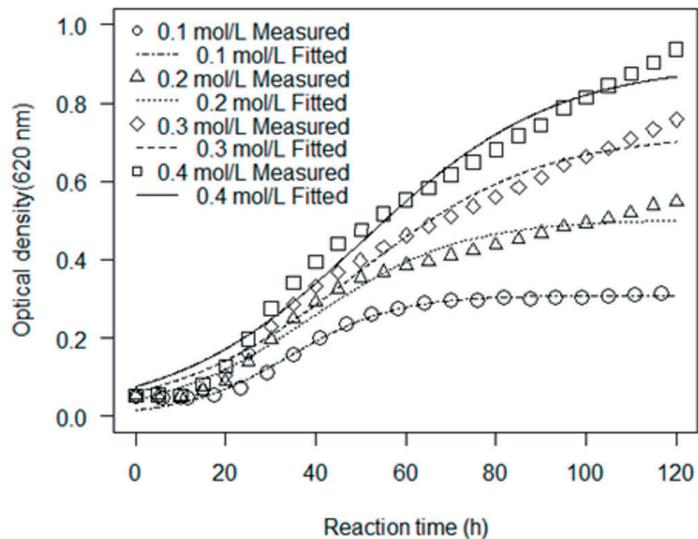
0.1 mol/L를 이용한 용액의 경우 다른 농도의 용액의 변화속도를 보아 아직 충분한 시간이 경과되지 않아 검은색까지 나타나지 않은 것으로 판단된다.

한편 마이야르 반응의 경우 갈변반응으로서 노란색, 갈색, 짙은 갈색(검은색) 등의 색상변화가 나타나는 것이 일반적이거나 반응초기 옅은 파란색 또는 옅은 녹색의 색상이 나타났다. Miura and Gomyo (1982)는 D-xylose와 Glycine의 반응에서 중탄산나트륨의 영향으로 반응초기에 Blue-M1, Blue-M2 및 Blue-M3의 파란색 색소가 발현될 수 있다고 하였다. 따라서 본 실험의 반응에서 반응촉진제로 사용된 Disodium hydrogen phosphate의 나트륨에 의한 영향으로 반응초기에 옅은 파란색 또는 옅은 녹색을 보이는 용액이 나타난 것으로 판단된다.

제조된 마이야르 반응용액의 흡광도 변화



(a) Optical density 415nm



(b) Optical density 620 nm

Fig. 1. Optical density variations and comparison of the measured values and the fitted values according to solution concentrations

마이야르 반응의 시간경과에 따른 흡광도는 Disodium hydrogen phosphate의 농도증가에 따라 흡광도 값의 증가속도도 빨라지는 것으로 나타났으며, 시그모이드 식에 의한 흡광도 변화의 모델링은 높은 정확도로 일치하였다. 반응시간 경과에 따른 흡광도의 변화와 모델링 결과를 Fig. 1에 나타내었으며, 각 농도조건에서의 식(1)에 대한 계수값 및 일치정도를 확인하기 위한 RMSE (Root Mean Square Error) 값을 Table 2에 나타내었으며, 이때 RMSE 값은 낮을수록 정밀도가 높은 것을 의미한다.

Fig. 1에 보이는 바와 같이 Disodium hydrogen phosphate 농도가 높은 용액이 색변화의 속도가 빨라져 무색에서 짙은 색(검은색)을 나타내는 시간이 단축됨에 따라 흡광도의 증가 속도가 빠른 것으로 나타나 반응촉진제의 농도가 높을수록 반응속도가 증가하는 것으로 나타났다.

또한 Fig. 1에서 점선은 측정된 값을 나타내고 직선으로 예측된 값을 표시한 결과, 유사한 곡선의 형태를 보였다. Table 2

Table 2. The coefficients and root mean square error (RMSE) values according to concentration conditions

Optical density (nm)	Concentration of Disodium hydrogen phosphate (mol/L)	Coefficient			RMSE
		a	b	c	
415	0.1	2.7183	0.0479	82.2392	0.0269
	0.2	4.0939	0.0520	73.4686	0.0417
	0.3	4.4271	0.0589	65.4479	0.0413
	0.4	4.4383	0.0661	58.2373	0.0370
620	0.1	0.3092	0.0856	34.2843	0.0093
	0.2	0.5033	0.0611	38.9181	0.0230
	0.3	0.7222	0.0489	48.6872	0.0307
	0.4	0.9006	0.0472	50.5634	0.0382

에 나타난 바와 같이 RMSE 값은 0.02~0.04의 매우 낮은 값을 나타내 시그모이드 곡선에 대한 식 (1)을 이용하는 것으로 시간-온도 인디케이터의 소재로 사용하기 위한 마이야르 반응용액의 흡광도 변화를 나타낼 수 있을 것으로 판단되었다. 이와 같은 결과는 제작된 인디케이터의 흡광도 측정을 통해 색상변화의 특성을 높은 정확도로 확인 가능하며, 예측식의 개발을 통해 색의 변화를 예측하고 나아가 같이 저장 또는 가공되고 있는 농식품의 변화도 예측 가능하다는 것을 시사한다. 이러한 결과는 기존의 시간-온도 인디케이터에 관한 연구에서도 확인할 수 있다. Vaikousi et. al. (2009)은 미생물 TTI의 색상변화를 모델링하여 포장된 다진 소고기의 부패를 모니터링 및 예측하였다. 또한 Giannoglou et al. (2014)는 효소 및 광변색성 TTI의 색상변화를 모델링하여 해산물의 품질 및 유통기한을 모니터링 및 예측할 수 있다는 결과를 보였다.

마이야르 반응 기반 시간-온도 인디케이터를 위한 반응도구 개발

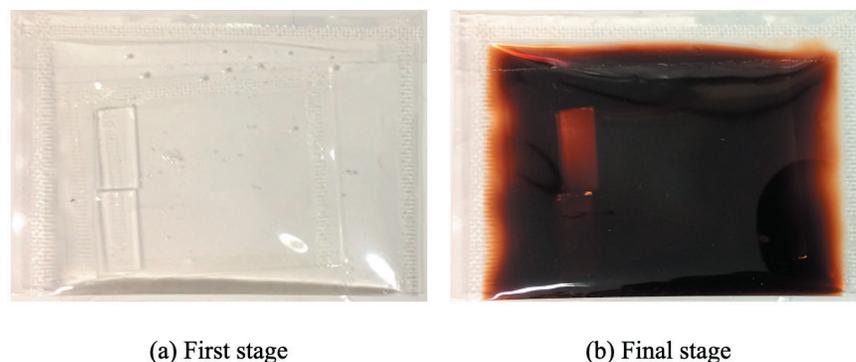


Fig. 2. Color change in a reaction tool for time-temperature indicator by Maillard reaction.

인디케이터로서 사용될 반응도구의 제작을 위한 소재는 기존에 식품포장에 이용되어 안정성이 널리 알려진 PET소재를 이용하였다. PET소재는 기체 및 액체의 투과성이 매우 낮고, 투명성이 매우 높으므로 인디케이터의 재료로서 최적의 특성을 갖는 것으로 판단되었다(Thomas, 2011). 또한, 너무 얇은 PET 필름의 경우는 내구성이 약해 쉽게 내부의 용액이 유출될 수 있으며 반면 너무 두꺼운 필름은 가공성이 나빠므로 50 μm 의 필름을 이용하여 반응도구를 제작하였다.

반응도구는 35 × 25 mm 및 50 × 25 mm의 봉투형태로 제작하고, 작은 봉투에 10 mm 정도의 작은 절개선을 만든 후 절개선 위에 1 mm 두께의 아크릴판을 부착하였다. 그리고 각 봉투에 서로 다른 용액을 투입하고 큰 봉투에 작은 봉투를 넣어 봉인하였다. 필름의 봉인은 실링장치(PC-200, FUJIMPULSE, Japan)을 이용하여 실시하였으며, 용액의 양은 1:1의 체적비로 혼합되도록 같은 양을 투입하였다. 제작된 반응도구를 Fig. 2에 나타내었다.

인디케이터의 사용 개시는 작은 봉투 내의 아크릴판을 부수는 것으로 절개선이 노출되거나 작은 봉투 표면이 찢어져 내부의 용액이 유출 및 혼합되어 시작된다. Fig. 2에 보이는 바와 같이 반응 막바지의 반응도구의 색상은 명확한 갈색을 나타내었으며, 반응용액의 색을 육안으로 확인하는 것에도 문제없는 투명성을 보였다. 이와 같이 제작된 반응도구는 마이야르 반응 용액을 효율적으로 혼합시키고, 색상변화에 대한 확인이 용이하며, 반응에 대한 영향이 없으므로 마이야르 반응 기반의 인디케이터를 위한 효과적인 반응도구로서 활용될 것으로 시사되었다.

Conclusion

시간-온도 인디케이터는 농산물의 생육 및 품질변화 특성, 농식품의 저장 및 가공 변화 등을 가시화할 수 있는 기술로서 주목되고 있다. 따라서 본 연구에서는 식품의 갈변반응으로 쉽게 볼 수 있는 마이야르 반응을 이용하여 시간-온도 인디케이터를 제작하기 위한 기초자료로서 색상변화 특성을 분석하고 반응도구를 개발하였다. 마이야르 반응 용액의 색은 무색에서 옅은 청색, 갈색, 검은색으로 육안으로 확인이 가능한 명확한 반응을 보였으며 농도가 짙어짐에 따라 변화속도가 증가하였다. 이에 따라 흡광도의 값도 농도가 높은 조건에서 최대점까지 도달하는 시간이 단축되었으며, 곡선의 기울기가 증가하였다. 이와 같은 결과는 농산물의 품질특성에 대한 변화 곡선과 유사한 색변화 특성을 보이는 마이야르 반응 기반의 시간-온도 인디케이터를 적용하는 것을 통해 농산물의 품질을 마이야르 반응 용액의 색상변화를 통해 변화 정도를 확인하고, 변화의 속도 및 품질한계를 예측할 수 있을 것으로 판단된다. 한편, 제작된 반응도구는 제작이 간단하고, 마이야르 반응 용액을 효율적으로 보호 및 높은 투명성으로 명확하게 색상 변화를 확인할 수 있도록 하였다. 따라서 개발된 반응도구를 마이야르 반응 기반의 시간-온도 인디케이터로서 활용 가능할 것으로 판단되었다.

References

- Fadipe-Joseph OA, Oladipo AT, Ezeafulukwe UA. 2013. Modified sigmoid function in univalent function theory. *Int. J. Math. Sci. Eng. Appl*, 7(7): 313-317.
- Giannoglou M, Touli A, Platakou E, Tsironi T, Taoukis PS. 2014. Predictive modeling and selection of TTI smart labels for monitoring the quality and shelf-life of frozen seafood. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26: 294-301.
- 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.
- Laroque D, Inisan C, Berger C, Vouland E, Dufossé L, Guérard F. 2008. Kinetic study on the Maillard reaction. consideration of sugar reactivity. *Food Chemistry*, 111(4): 1032-1042.
- Maciela VBV, Yoshida CBP, Franco TT. 2012. Development of a prototype of a colourimetric temperature

- indicator for monitoring food quality. *Journal of Food Engineering* 111(1): 21-27.
- Maillard LC. 1912. Comptes rendus de l'académie des sciences action des acides aminés sur les sucres; formation des Mélanoidines par voie méthodique. Faculté de médecine de Paris. Paris, France.
- Miura M. and Gomyo T. 1982. Formation of blue pigment in the earlier stage of browning a system composed of D-Xylose and Glycine. *Nippon Nōgeikagaku Kaishi*, 56(6): 417–425.
- Pavelková A. 2013. Time temperature indicators as devices intelligent packaging. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis*, 61(1): 245–251.
- Thomas S. 2011. Handbook of engineering and specialty thermoplastics, Volume 3. Polyethers and Polyesters. Loeben, Austria.
- Vaikousi H, Biliaderis CG, Koutsoumanis KP. 2009. Applicability of a microbial Time Temperature Indicator (TTI) for monitoring spoilage of modified atmosphere packed minced meat. *International Journal of Food Microbiology*, 133(3): 272-278.
- Wang S., Liu, X., Yang, M., Zhang, Y., Xiang, K., Tang, R. 2015. Review of time temperature indicators as quality monitors in food packaging. *packaging technology and science*, 28(10): 839–867.
- Yin X, Goudriaan J, Lantinga EA, Vos J, Spiertz HJ. 2003. A flexible sigmoid function of determinate growth. *Annals of Botany*, 91:361-371.