



STUDY ON THE MAILLARD REACTION IN THAI SOY SAUCE

ROUNGDAO MAUNGMA

อธิษฐานทาการ
จาก
มือของภักทิตี ฆ.ม.ม.ค.

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2000

ISBN 974-664-164-6

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
R8593
2000
c.2

44661 c.2

4036482 SCBT/M : MAJOR : BIOTECHNOLOGY ; M.Sc. (BIOTECHNOLOGY)
KEY WORDS : MAILLARD REACTION / NONENZYMATIC BROWNING / SOY SAUCE

ROUNGDAO MAUNGMA : STUDY ON THE MAILLARD REACTION IN THAI SOY SAUCE. THESIS ADVISORS : SITTIWAT LERTSIRI, Ph.D., AMARET BHUMIRATANA, Ph.D., APINYA ASSAVANIG, Ph.D., 158 P. ISBN 974-664-164-6

It is well known that the Maillard reaction, or nonenzymatic browning reaction in foods and biological systems is a very complex reaction which stems from the interaction between amino compounds and reducing sugars. In soy sauce, the Maillard reaction is known as the main cause of the dark brown color and the characteristic flavor formation. Despite many studies, which have tried to explain the mechanism of the Maillard reaction in Japanese soy sauce, the results did not represent soy sauce manufactured in other regions due to the variation in ingredients and processing conditions.

The Maillard reaction occurring during processing and storage of two conventional Thai soy sauces were investigated for the chemical changes of browning, reducing sugar (RS), reactive amino group (RAG), 5% TCA-precipitated protein (PP), Amadori products (ARP), and 5-hydroxymethyl furfuraldehyde (HMF). The development of the Maillard reaction during moromi fermentation was a 2-stage consecutive mechanism. During the first stage (i.e., the first 3 days of fermentation), browning, RS, RAG, and ARP increased rapidly while pH decreased. In the second stage, these changes occurred slowly. During fermentation, the increase of HMF was the index of the progress of the Maillard reaction. After the moromi fermentation, raw soy sauce, pasteurized soy sauce (without seasoning), and cooked soy sauce (seasoned and pasteurized) were studied for the duration of the Maillard reaction during storage at 37°C for 3 months. The Maillard reaction in raw soy sauce continued progress in a similar pattern as in moromi fermentation, while HMF and PP highly accumulated in cooked soy sauce during storage. This suggested that seasoning and heat treatment of the soy sauce product enhanced the progress of the Maillard reaction.

The effects of brine concentration and aeration on the progress of the Maillard reaction were investigated during moromi fermentation (20 days). Koji was fermented in brine at 18, 20, 22, and 24% (w/v) salt. The Maillard reaction occurred in the same pattern as previously reported. Brine concentration did not affect on the progress of the Maillard reaction during fermentation, except the 24% brine gave higher amounts of PP. To investigate the involvement of oxidative browning during moromi fermentation, the moromi in 20% brine was aerated at 20 ml/min for 20 days and then compared with the non-aerated system. Although the aeration did not affect brown color development, it influenced the low RS, RAG, PP, total soluble protein (SP), and pH and caused the turbidity of the system. Thus, the oxidative browning was not apparently involved with the Maillard reaction to develop the brown characteristic of Thai soy sauce.

When compared with Japanese soy sauce during storage test, both of the Thai soy sauces had an excess of RS, while the Japanese soy sauce had an excess of RAG and the accumulation of HMF was the important index for the progress of the Maillard reaction. The increase of RS in Thai soy sauce during the storage test was confirmed by the sugar analysis by HPLC. Arabinose, xylose, glucose, and sucrose were present in all samples of soy sauce. The arabinose and xylose types of 5C sugar were involved in the progress of the Maillard reaction in Thai soy sauce and Japanese soy sauce, respectively.

The presence of metal ions (Fe^{2+} , Fe^{3+} , and Cu^{2+}) and potassium iodide (KI) in soy sauce at various concentrations did not directly affect the Maillard reaction during storage. However, Fe^{2+} caused a high accumulation of PP and a high loss of ARP while KI caused less PP. Hence, KI could be added as an iodine supplement in soy sauce without enhancing the Maillard reaction.

4036482 SCBT/M : สาขาวิชา: เทคโนโลยีชีวภาพ ; วท. ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

รุ่งดาว เมืองมา : การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบ Maillard ในซีอิ๊วของไทย (STUDY ON THE MAILLARD REACTION IN THAI SOY SAUCE) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สิทธิวัฒน์ เลิศศิริ, Ph.D., อมเรศ ภูมิรัตน, Ph.D., อภิญญา อัครานิก, Ph.D., 158 หน้า. ISBN 974-664-164-6

ปฏิกิริยาแบบ Maillard หรือปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ในอาหารและสิ่งมีชีวิตเป็นปฏิกิริยาที่ซับซ้อน ซึ่งเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ ปฏิกิริยา Maillard นี้เป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดสีน้ำตาลเข้มและกลิ่นหอมของซีอิ๊ว แม้ว่าจะมีงานวิจัยหลายชิ้นพยายามอธิบายถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยานี้ในซีอิ๊วของญี่ปุ่น ทว่าผลที่ได้อาจไม่สามารถนำมาใช้อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงของซีอิ๊วที่ผลิตในพื้นที่อื่นๆได้ เนื่องจากความแตกต่างของส่วนประกอบและสภาวะในการผลิต

ในการศึกษาถึงกลไกการเกิดปฏิกิริยา Maillard ในซีอิ๊วของไทยในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษานั้น ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสีน้ำตาล, น้ำตาลรีดิวซ์, หมู่อะมิโน, โปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 5% TCA, สารประกอบ Amadori และ 5-hydroxymethylfuraldehyde (HMF) จากการทดลองพบว่าปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลนั้นเริ่มต้นตั้งแต่กระบวนการหมักโมโรมิ ซึ่งการเกิดขึ้นนี้เป็นกลไกสองขั้นที่ต่อเนื่องกัน ขั้นแรกเกิดในช่วงสามวันแรกของการหมักโดยสีน้ำตาล น้ำตาลรีดิวซ์ หมู่อะมิโนและสารประกอบ Amadori เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ค่าที่เอชลดลง ส่วนขั้นที่สองมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยการเพิ่มขึ้นของ HMF ตลอดระยะเวลาของการหมัก เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิดขึ้นของปฏิกิริยา Maillard หลังจากการหมักโมโรมิแล้วนำซีอิ๊วดิบ ซีอิ๊วพาสเจอร์ไรซ์ (ไม่มีการปรุงรส) และ ซีอิ๊ว (ผ่านการปรุงรสและพาสเจอร์ไรซ์) มาศึกษาถึงการดำเนินไปของปฏิกิริยาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาสามเดือน ปฏิกิริยา Maillard ในซีอิ๊วดิบเกิดขึ้นต่อเนื่องมาจากขั้นการหมักโมโรมิในลักษณะเดียวกัน แต่ในซีอิ๊วที่ผ่านการปรุงรสและพาสเจอร์ไรซ์นั้น HMF และ โปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 5% TCA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในซีอิ๊วตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าการปรุงรสและการให้ความร้อนกับซีอิ๊วนั้น เป็นการเร่งปฏิกิริยา Maillard

ในการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำเกลือและอากาศต่อการเกิดปฏิกิริยา Maillard ในระหว่างการหมักโมโรมิ (20 วัน) นั้น พบว่าปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบ Maillard ในโคจิที่หมักด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 18, 20, 22 และ 24% เกิดขึ้นลักษณะเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา โดยที่ความเข้มข้นของน้ำเกลือไม่มีผลต่อการเกิดขึ้นของปฏิกิริยาในระหว่างการหมัก ยกเว้นที่ความเข้มข้นของน้ำเกลือ 24% ซึ่งทำให้เกิดโปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 5% TCA มากขึ้น ในระหว่างการหมักโมโรมิ พบว่าเมื่อเติมอากาศให้โมโรมิในน้ำเกลือเข้มข้น 20% ที่อัตราเร็ว 20 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นเวลา 20 วันเปรียบเทียบกับโมโรมิที่ไม่เติมอากาศแล้วการเกิดสีน้ำตาลไม่แตกต่างกัน แต่มีผลให้น้ำตาลรีดิวซ์ หมู่อะมิโน โปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 5% TCA และ โปรตีนที่ละลายอยู่ในซีอิ๊วเกิดขึ้นน้อยลง รวมทั้งมีค่าที่เอชลดลงและทำให้ระบบขุ่น ดังนั้นออกซิเจนไม่มีส่วนร่วมอย่างเด่นชัดกับปฏิกิริยา Maillard ในซีอิ๊ว

เมื่อเปรียบเทียบปฏิกิริยา Maillard ในซีอิ๊วไทยและซีอิ๊วญี่ปุ่นในระหว่างการเก็บรักษาแล้ว พบว่าซีอิ๊วไทยทั้งสองมีน้ำตาลรีดิวซ์ที่มากเกินพอ ส่วนซีอิ๊วญี่ปุ่นมีหมู่อะมิโนมาก การเพิ่มขึ้นของ HMF เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญในการเกิดปฏิกิริยา Maillard ซึ่งการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์ในซีอิ๊วไทยนี้สามารถยืนยันได้จากผลการวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยน้ำตาลในซีอิ๊วประกอบไปด้วย อาราบิโนส ไซโลส กลูโคสและซูโครส สำหรับน้ำตาล SC ที่มีส่วนร่วมในการเกิดปฏิกิริยา Maillard ในซีอิ๊วไทยคืออาราบิโนส ส่วนในซีอิ๊วญี่ปุ่นคือไซโลส

อิออนของโลหะ (Fe^{2+} , Fe^{3+} , และ Cu^{2+}) และโปแตสเซียมไอโอไดด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งมีอยู่ในซีอิ๊วในระหว่างการเก็บรักษาไม่มีผลโดยตรงต่อการเกิดปฏิกิริยา Maillard อย่างไรก็ตาม Fe^{2+} ทำให้โปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 5% TCA เพิ่มขึ้นและปริมาณสารประกอบ Amadori ลดลง ในขณะที่โปแตสเซียมไอโอไดด์มีผลทำให้โปรตีนที่ตกตะกอนด้วย 5% TCA ลดลง ดังนั้นโปแตสเซียมไอโอไดด์สามารถเติมในซีอิ๊วเพื่อเพิ่มปริมาณไอโอดีนได้ โดยไม่เร่งให้เกิดปฏิกิริยา Maillard