

## 황게육의 Alcalase효소반응의 최적화

오상철, 정은혜, 남민희\*, 김진홍\*\*, 이양봉, 김선봉  
 부경대학교, \*부산대학교, \*\*백경식품

### 서론

황게는 남해안에서 많이 잡히는 데 꽃게보다 껍질이 부드럽고 양념계장으로 많이 사용되고 있고 국과 탕에도 이용되고 있다. 황게는 고단백질과 다른 영양소 성분이 많이 함유하고 있으나 크기가 작아 소비자로부터 떨어지고 실정이다. 이에 황게를 이용한 고부가가치 소재개발을 위해 상업적으로 많이 사용하는 alcalase 2.4L™를 이용하였다. Alcalase 2.4L™은 다른 단백질가수분해효소에 비해 반응시간이 짧으면서 가수분해율(degree of hydrolysis)이 좋으며 경제적인 면에서도 효율성이 크다고 알려져 있으며(김 등, 1996), 그 예로 fish protein hydrolysate (FPH)의 제조함에 있어서 다른 효소에 비해 많이 사용되어지고 있다(Benjakul *et al.*, 1997). 반응표면분석법(RSM, response surface methodology)은 제품개발, 공정개발, 원가절감, 분석방법개발에 있어서 주로 사용되는 방법으로 식품분야에 있어서도 널리 사용되고 있다, 예를 들면, 효소가수분해 최적화, 물리학적 특성연구, 반응향의 개발(김 등, 1996) 등에 사용되어지고 있다. 따라서 본 연구에서는 황게육을 alcalase로 효소가수분해하여 반응 최적화 조건을 당도와 단백질 함량에 대한 반응표면분석법을 이용하여 조사하였다.

### 재료 및 방법

황게는 경남 김해에 소재한 (주)백경식품으로부터 제공받아서 심온동결한 후 실험을 수행하였다. 본 연구에 사용되어진 Alcalase 2.4L™은 Novo Nordisk Bioindustrials Inc. (Danbury, CT, USA)에서 제공받아 5℃에서 저장하여 사용하였다. Alcalase에 의한 효소 반응은 삼각플라스크에 황게 30g과 150 mL의 완충용액, 그리고 0.3g의 alcalase 2.4L™을 넣은 후 온도, 시간 및 pH의 조건을 변화시키면서 가수분해시킨다. 가수분해에 사용되어진 alcalase를 불활성시키기 위하여 95℃에서 10분간 가열하여 실온에서 냉각시키고 refractometer N-1E (ATAGO Co., LTD., Tokyo, Japan)로 당도를 측정하였다. 단백질 함량은 Lowry *et al.*, (1951)의 방법으로 650 nm에서 흡광도(O.D., optical density)를 통해 단백질의 함량을 측정하였다. Alcalase 가수분해의 최적화를 위해 실험계

획법 중 직교중심합성계획법을 사용하였다. 가수분해에 영향을 미치는 중요한 독립변수를 예비실험을 통해 온도, 시간, pH로 정하였고, 각 구간을 -1.4, -1, 0, 1, 1.4의 5구간으로 하여 18회 실험을 3회 반복하여 실험을 수행하였다. 반응표면분석을 위한 2차방정식의 model형을 사용하였고, 실험의 결과를 SAS software (Version 8.01, SAS Institute Inc., USA)를 사용하여 통계처리 하여 실험에 대한 2차 회귀방정식을 얻을 수 있다. 실험에 관여하는 세 가지 반응조건 중 하나의 반응조건을 최적조건으로 하여 나머지 두 반응조건의 관계를 알아보기 위하여 maple software (Maple 6, Waterloo Maple Inc., Canada)를 사용하여 3차원 그래프로 나타내었다.

## 결과 및 요약

Alcalase에 의한 참치 혈합육의 가수분해물 제조의 최적 조건에 대한 2차회귀방정식의 적합도에 대한 결정계수 (R-square)와 적합결여검증을 살펴보았는데 반응표면분석법으로 계획한 결과 값은 단백질의 함량 (OD)과 당도 (brix)의 결정계수가 각각 0.73와 0.9262로 본 실험이 만족할만한 디자인으로 설계되었음을 알 수 있었다. 각 독립변수들의 실험에 대한 영향과 변수간의 상관관계에 대해서는 O.D.의 경우와 당도에 의한 결과에서는 1차항, 2차항 중에서 실험에 대해 영향이 있는 것은 나타났으며 2차항 중에서 영향이 없는 항은 삭제하여 얻어진 결과를 토대로 나타낸 2차 회귀방정식은 다음과 같다.

$$\text{O.D.} = -0.6474 + 0.1760 \text{ pH} + 0.03113 \text{ Temp.} + 0.08102 \text{ Time} - 0.005347 \text{ pH}^2 - 0.000221 \text{ Temp.}^2 - 0.016187 \text{ pH} \times \text{Time}$$

$$\text{Brix(\%)} = 0.9336 + 0.3856 \text{ pH} + 0.000376 \text{ Temp.} + 0.1769 \text{ Time} - 0.03135 \text{ pH}^2 - 0.003025 \text{ Time} \times \text{Temp.} + 0.001687 \text{ pH} \times \text{Temp.}$$

가수분해에 영향을 미치는 두 독립변수 상호간의 상관관계를 알아보기 위해 나머지 하나의 조건을 중심 level에 두고 2차 회귀방정식을 maple software를 이용하여 3차원 그래프(three dimensional graph)로 나타내었다. 종속변수를 하나 고정한 후의 두 종속변수에 대한 OD와 당도의 경향을 잘 나타내 주고 있다.

## 참고문헌

- 김은정, 차용준. 1996. 참치 가공부산물로부터 단백질 가수분해물의 제조. 한국식품영양과학지. 25(4), 608-616.
- Benjakul S. and M.T. Morrissey. 1997. Protein hydrolysates from pacific whiting solid wastes. *J. Agric. Food Chem.*, 45(9), 3423-3430.
- Lowry O. H., Rosebrough H. J., Farr A. L. Randall R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.