

정어리 粉末 蛋白質의 酵素的 修飾

金 世 權 · 李 應 昊*

釜山水產大學 應用化學科, *食品工學科

(1987년 7월 30일 수리)

Enzymatic Modification of Sardine Protein Concentrate

Se Kwon Kim and *Eung Ho Lee

Department of Applied Chemistry, *Department of Food Science and Technology,
National Fisheries University of Pusan, Pusan, Korea

Abstract

Conditions necessary for optimal plastein productivity from sardine protein hydrolysate using papain and pepsin were established. Sardine protein concentrate was hydrolyzed with pepsin yielding an approximate degree of hydrolysis of 77.2%. Enzyme induced plastein was optimized at: pH 6 for papain and pH 4 for pepsin; substrate concentrate, 50%(w/v) for papain and 40%(w/v) for pepsin; time of incubation, 24hr; enzyme/substrate ratio, 1 : 100(w/w). Plastein yields of 49.5% and 45.3% were found for papain and pepsin, respectively, when 10% trichloroacetic acid (TCA) was used as the precipitating agent. However, when plastein was precipitated by 50% ethanol, the yield was found to be 43.6% and 41.0% for papain and pepsin, respectively. Ethanol-precipitated plastein did not contain lipid and contained approximately 1.3% ash and 91.0% protein. In comparison, the TCA-precipitated plastein contained 74.2% protein, 0.5% lipid and 15.3% ash.

緒 論

濃縮魚類蛋白質(fish protein concentrate, FPC)은 魚肉磨碎物을 有機溶劑로 煮沸하여 脫脂·脫水하는 方法으로 製造하여 蛋白質이 80% 정도까지 濃縮되어 營養的으로 우수하고 貯藏性도 좋으나 蛋白質이 熱에 의해 現저한 變性을 받아 親水性이나 凝形成能과 같은 機能성이 좋지 않은 缺點을 가지고 있다.¹⁾

따라서 最近에는 이러한 機能性 改善을 위한 改良 FPC의 製造에 관한 研究가 활발히 進行되고 있다.²⁻⁶⁾ 이들 研究중 代表的인 것이 魚類蛋白質을 蛋白質分解酵素로 처리한 加水分解物을 食糧素材로서 利用하려는 試圖이다. 酵素에 의한 蛋白質 加水分解物은 食品素材로서의 物性은 우수하지만 酵素分解過程에서 생긴 低分子펩티드에 의한 쓴맛

때문에 利用에 制約을 받고 있다.⁷⁾

Fujimaki 등⁸⁾은 大豆 蛋白質의 펩신 加水分解物에서 쓴맛 펩티드를 分離·同定하였으며, Matoba 등⁹⁾은 카제인의 酵素分解物로부터 쓴맛 펩티드를 分離하여 그 構造를 밝혔다.

Umetsu와 Ichishima¹⁰⁾는 FPC의 펩신 加水分解物을 wheat carboxypeptidase로 加水分解시킴으로써 쓴맛이 낮아졌다고 하였다. 또 Arai 등¹¹⁾은 蛋白質 加水分解物의 再加水分解에 의한 쓴맛 除去의 反對 概念으로 plastein 反應을 着眼하였다. Fujimaki 등¹²⁾은 大豆 蛋白質의 펩신 加水分解物로부터 α -chymotrypsin으로 plastein을 合成한 결과 쓴맛이 상당히 減少하였다고 報告한 바 있다.

現在 世界 全體漁獲高중 約 1/3 程度가 加工適性에 問題가 있어 非食用原料로 利用되고 있다.¹³⁾ 따라서 非食用 魚類 蛋白質을 보다 効率的으로 利用할 수 있는 方法을 檢討하는 일은 蛋白質資源이

不足한 우리나라에서는 시급히 解決해야 할 重要한 問題중의 하나라고 생각된다.

本 研究에서는 魚肉蛋白質의 酵素 加水分解物의 쓴맛 除去는 물론 機能性を 改善하기 위한 方法으로 정어리 粉末蛋白質의 펩신 加水分解物을 利用하여 plastein을 合成하기 위한 反應條件을 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 材料

體長 18.0~21.5cm, 體重 92~112g의 정어리 (*Sardinops melanosticta*)를 釜山共同魚市場에서 購入하여 -30°C의 凍結庫에 貯藏하여 두고 實驗에 使用하였다.

2. 粉末 蛋白質의 調製

原料 정어리를 水道水로 解凍하고 초퍼로써 磨碎하였다. 磨碎한 試料肉의 10倍量의 이소프로필 알콜을 三口플라스크에 담아 水槽에서 80°C로 加熱하고, 여기에 磨碎한 試料를 넣어 攪拌하면서 處理하였다. 李 등¹⁴⁾의 方法에 따라 5分間씩의 回分式抽出을 4回 反復한 후 東洋濾紙 No. 2를 攔 büchner funnel 上에서 減壓濾過하고 殘渣를 乾燥粉砕하여 粉末蛋白質 試料로 하였다.

3. 加水分解物의 調製

Edward와 Shipe¹⁵⁾의 方法에 따라 정어리 粉末蛋白質 60g을 蒸溜水 5.75l에 分散시켜 溶解시킨 후 2M HCl 용액 230ml를 加하여 pH를 1.60으로 調節하였다. 이 때 pepsin(1:10,000 Nakarai Chemicals LTD) 600mg을 蒸溜水 20ml에 溶解하여 酵素:基質의 比가 1:100이 되도록 基質溶液에 서서히 加한 후, 振盪恒溫水槽(60 strokes/min, Philip Harris Limited, Model SS40) 상에서 37°C에서 24時間 동안 加水分解시킨 다음, 2M NaOH로써 pH 7로 調節하여 酵素를 不活性化시켰으며, 또한 殘存해 있는 pepsin 活性을 不活性化하기 위해 2時間 동안 室溫에서 攪拌하였다. 加水分解物은 5,000rpm에서 10分間 遠心分離하였으며, 그 上層液의 遊離脂肪을 除去하기 위해 Whatman No. 1 濾紙로 濾過한 후 凍結乾燥(DURA-DRY corrosion resistant freezer-dryer, F.T.S System Inc) 하였다. 凍結乾燥加水分解物은 容器에 넣어 密閉하여 5°C에 貯藏하여 두고 實驗에 使用하였다.

4. 加水分解度의 定量

金과 李¹⁶⁾의 方法에 따라 加水分解過程중 1, 2, 4, 8, 12, 24 및 48 時間 동안에 各各 50ml씩을 分取하여, 여기에 20% TCA 溶液 50ml를 加하여 遠心分離(5,000rpm, 15min)한 후 上層液의 可溶性 窒素를 Kjeldahl 法으로 定量하였다. 加水分解度는 다음과 같이 나타내었다.

$$\text{加水分解度} = \frac{\text{可溶性 窒素}}{\text{總窒素}} \times 100$$

이 때 可溶性 窒素는 10% TCA 溶液에 沈澱되지 않은 窒素로 하였다.

5. 펩티드 사슬길이 測定

Kang과 Rice¹⁷⁾의 方法에 따라 加水分解時間別로 加水分解物 20ml씩 分取하여 遠心分離 (5,000 rpm, 10min)하였다. 이 때 上層液을 濾紙(Whatman No. 1)로 濾過하여 蒸溜水로 100ml로 하였다. 이중 1ml씩 分取하여 總可溶性 窒素와 α-아미노態窒素를 定量하였다. 펩티드 사슬길이는 다음과 같이 測定하였다.

$$\frac{\mu\text{g } \alpha\text{-Amino N}}{\mu\text{g Soluble N}} = \frac{1}{\text{Average peptide chain length}}$$

여기서 α-아미노態窒素는 Spies 등¹⁸⁾의 銅鹽法에 따라 比色定量하였다.

6. Plastein 合成 反應條件

1) Plastein 定量

Montcalvo 등¹⁹⁾의 方法에 따라 凍結乾燥한 加水分解物 8g에 蒸溜水 19.2ml를 加한 후 2N HCl 溶液 0.6ml를 加하여 pH 5로 調節하였다. 여기에 pepsin 80mg을 加하여 서서히 혼합하였으며, 이 때 酵素를 넣지 않은 對照區도 만들었다. 이들 試料는 37°C에서 24時間 동안 振盪恒溫水槽에서 反應시킨 후 20% TCA 溶液 20ml를 加하였다. Plastein을 沈澱시키기 위해 유리봉으로 攪拌한 후 遠心分離(5,000rpm, 15min)하였다.

TCA 不溶分을 取하여 凍結乾燥시킨 plastein은 比濁法에 의해 plastein 生成量을 檢討하기 위한 標準曲線을 作成하는데 利用하였다.

plastein 定量은 Yamashita 등²⁰⁾의 方法에 따라다. 즉 plastein 合成反應중 生成된 10% TCA 沈澱物의 增加量을 求하여 條件을 決定하였다.

比濁法에 의한 plastein 定量은 凍結乾燥한 pla-

stein 100mg에 10% TCA 溶液 50ml를 넣어 均質化하여 懸濁液을 만들었다. 標準 plastein 溶液은 10% TCA 溶液으로 연속적으로 稀釋하여 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1.0mg/ml로 만들었다. 各 標準液을 vortex mixer上에서 2分間씩 混合하여 UV/VIS spectrometer(Pye Unicon model 8610)를 사용하여 660nm에서 吸光度를 測定하여 標準曲線 (Fig. 1)을 만들었다. 이 때 plastein 試料에 대한 吸光값은 다음과 같이 計算하였다.

$$\text{Plastein productivity} = \text{Plastein absorbance (660nm)} - \text{Substrate absorbance (660nm)}$$

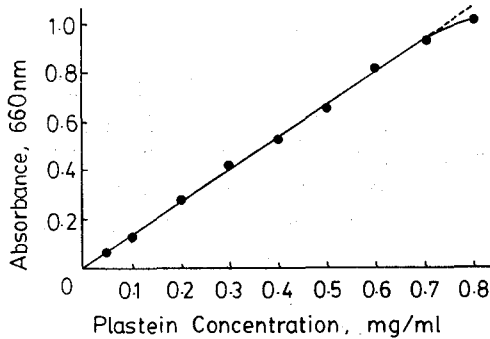


Fig. 1. Standard curve on absorbance vs. plastein concentration for turbidometric plastein assay

2) Plastein 反應에 미치는 因子

pH: 凍結乾燥한 加水分解 試料 2g에 蒸溜水과 pH 調節을 위해 加한 HCl 및 NaOH 添加量을 5ml를 加하여 基質濃度가 40%(w/v)가 되도록 溶解시켰다. 基質濃度の pH 調節을 위해 使用된 0.5N HCl 및 0.5N NaOH 量은 基質濃도에 影響을 주지 않도록 豫備實驗을 통하여 決定하였다.

各 酵素 20mg을 基質溶液에 서서히 加하여 混合한 후 37°C에서 6時間 동안 振盪恒溫水槽에서 反應시켰다. 反應完了후 反應液에 20% TCA 溶液 5ml를 加하여 均一하게 混合한 후 遠心分離(5,000 rpm, 10min)하였다. 沈澱物에 10% TCA 溶液을 10ml 加하여 均質機(Ace homogenizer AM 8)로 1,000rpm에서 3分 동안 均質化한 후 0.2ml를 分取하여 10% TCA 溶液 20ml에 混合된 溶液을 660nm에서 吸光度를 測定하였다.

基質濃度: 加水分解物 1g, 1.5g, 2g, 2.5g 및 3.0g을 50ml beaker에 取하여 一定量의 蒸溜水를 加한 다음 基質液의 pH를 0.5N HCl으로 pepsin의 경우 pH 4, papain은 pH 6으로 調節하면서,

基質濃度가 20%, 30%, 40%, 50%, 60%가 되도록 蒸溜水로 調節한 후 酵素를 基質濃度와의 比가 1:100이 되도록 加한 다음 37°C에서 6時間 동안 反應시켰다. 吸光度의 測定은 pH 條件에서와 같은 方法으로 하였다.

時間: 加水分解物 2.0g과 2.5g을 各各 50ml beaker에 取하여 基質濃度 條件에서와 같이 pH를 調節하면서 pepsin 基質濃度 40%, papain 基質濃度 50%가 되도록 蒸溜水를 加한 다음 各 酵素를 基質과의 濃度比가 1:100이 되도록 加하여 서서히 混合한 후 37°C에서 反應時間을 달리하여 反應시켰다. 吸光度는 pH 條件에서와 같은 方法으로 測定하였다.

酵素濃度: 時間條件에서와 같은 方法으로 基質溶液을 만든 다음 여기에 酵素를 各各 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 및 1.5%가 되도록 加하여 混合한 후 37°C에서 24時間 동안 反應시킨 후 plastein 生成量을 pH 條件과 같은 方法으로 吸光度를 測定하였다.

溫度: 時間條件에서와 같은 方法으로 基質溶液을 만들어 여기에 酵素를 1%씩 加하여 混合한 후 反應溫度를 달리하여 24時間 동안 反應시켰을 때의 plastein 生成量을 pH 條件에서와 같은 方法으로 吸光度를 測定하였다.

加水分解度: 加水分解도가 各各 다른 試料를 時間條件과 같은 方法으로 基質液을 만들어 여기에 酵素를 1%가 되도록 加하여 50°C에서 24時間 동안 反應시킨 후 plastein 生成量을 pH 條件과 같은 方法으로 吸光度를 測定하였다.

7. 一般成分 및 收率 測定

一般成分 分析은 常法에 따랐다. 收率測定은 加水分解物 20g 및 25g에 蒸溜水를 加하여 基質濃度가 40% 및 50%가 되도록 하였다. 基質液의 pH를 pepsin의 경우 4, papain은 6으로 調節한 후 酵素 200mg을 各各 加하여 50°C에서 24時間 동안 反應시켰다. 反應液에 冷無水알코올 50ml 및 20% TCA 溶液 50ml를 各各 加한 후 遠心分離 (5,000 rpm, 15min)한 후 沈澱物을 凍結乾燥하여 무게를 測定하였다. 加水分解物중의 蛋白質 含量에 대한 plastein 中の 蛋白質含量의 比(%)는 다음 式으로 計算하였다.

$$\text{收率(\%)} = \frac{\text{Plastein중의 蛋白質量(g)}}{\text{基質중의 蛋白質量(g)}} \times 100$$

結果 및 考 察

1. 정 어 리 粉 末 蛋 白 質 의 加 水 分 解

정 어 리 粉 末 蛋 白 質 60g을 蒸 溜 水 5.78l에 分 散 시켜 溶 解 시킨 후 2M HCl 용액 을 加 하여 pH를 1.60으로 調 節 하고 pepsin 1%를 加 하여 時 間 變 化 에 따른 加 水 分 解 度 를 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Approximate degree of hydrolysis of sardine protein concentrate by pepsin

Time of incubation (hr)	Degree of hydrolysis (%)*
1	30.8
2	38.2
4	50.9
8	60.2
12	66.0
18	72.8
24	77.2
48	80.7

*Degree of hydrolysis

$$= \frac{10\% \text{ TCA soluble N}}{\text{Total N}} \times 100$$

Table 1에서와 같이 加 水 分 解 時 間 이 길어짐에 따라 加 水 分 解 度 가 增 加 하였으며, 18時 間 以 後 에 는 서서히 增 加 하여 24時 間 中 間 加 水 分 解 시켰을

때 77.2%로 48時 間 加 水 分 解 시킨 것보다 3% 程 度 增 加 되었을 뿐이다. 金 과 李¹⁰⁾는 말리치의 磨 碎 肉 과 물 을 1:1로 混 合 하고, 여기 에 pepsin을 1% 加 하여 24時 間 中 間 加 水 分 解 시켰을 때 73.2%가 加 水 分 解 되었으며, 48時 間 加 水 分 解 시킨 것 은 76.6%였다고 하였다. Montecalvo 등¹¹⁾은 가자미 粉 末 蛋 白 質 을 1%의 pepsin으로 加 水 分 解 하였을 때 18時 間 加 水 分 解 後 에 는 加 水 分 解 度 의 差 異 가 크지 않았다고 報 告 한 바 있다.

Table 2는 정 어 리 粉 末 蛋 白 質 의 pepsin 加 水 分 解 過 程 中 平 均 펩티드 사슬길이에 대한 加 水 分 解 時 間 의 效 果 를 나타낸 것이다. Table 2에서와 같이 펩티드 사슬길이는 遊離 아미노 窒 素 와 는 反 比 例 하였으며, 1時 間 加 水 分 解 한 加 水 分 解 物 의 平 均 펩티드 사슬길이는 15.2 아미노 酸 殘 基 였으나 24 時 間 後 에 는 5.4 아미노 酸 殘 基 를 나타내었다.

Hale¹²⁾은 pepsin(酵 素 : 基 質 = 1 : 100)으로 FPC 를 24時 間 加 水 分 解 한 후 平 均 펩티드 사슬길이는 3.5 아미노 酸 殘 基 였다고 하였고, 金 과 李¹⁰⁾는 말 리 치 肉 蛋 白 質 을 pepsin으로 24時 間 加 水 分 解 한 것 은 아미노 酸 殘 基 數 는 6.2였다고 하였으며, Montecalvo 등¹¹⁾은 가자미 粉 末 蛋 白 質 을 pepsin 으로 24時 間 加 水 分 解 시켰을 때 peptide 사슬길이가 5.7 아미노 酸 殘 基 였다고 報 告 한 바 있다. 이 와 같이 酵 素 에 의 한 平 均 펩티드 사슬길이의 差 異 는 蛋 白 質 의 成 分 組 成 및 變 性 度 가 酵 素 에 의 한 蛋 白 質 分 解 速 度 및 分 解 程 度 에 影 響 을 미칠 것 으 로 考 察 된 다.

Table 2. Effect of time of incubation on the average peptide size chain length during pepsin hydrolysis of sardine protein concentrate

Incubation time (hr)	Soluble nitrogen (μg/ml)	Alpha-amino nitrogen(μg/ml)	$\frac{\text{Free amino N}}{\text{Soluble N}} \times 100$	Est. peptide chain length*
1	563	37.5	6.7	15.2
2	694	57.4	8.3	12.1
4	789	78.1	9.9	10.1
8	796	90.5	11.4	8.8
12	818	110.5	13.5	7.4
18	942	136.5	14.5	6.9
24	966	178.9	18.5	5.4
48	1,113	265.0	23.8	4.2

*Estimated from the equation :
$$\frac{\alpha\text{-Amino N}}{\text{Total soluble N}} = \frac{1}{\text{Avg. peptide chain length}}$$

2. Plastein 合成反應의 最適條件

pH의 影響: 酵素濃度 1%, 基質濃度 40%(w/v), 反應溫度 37°C에서 pH만을 變化시켜 6時間 동안 反應시켰을 때 pH 變化에 따른 plastein 生成量의 吸光度를 Fig. 2에 나타내었다. Papain 및 pepsin을 이용한 plastein 合成反應의 最適 pH는 各各 6 및 4였다. 金과 李¹⁶⁾는 말퀴치肉 加水分解物로부터 plastein 合成時 pepsin 및 α -chymotrypsin의 最適 pH는 各各 4 및 7이었고, papain과 protease는 pH 6에서 plastein 生成量이 가장 높았다고 하였으며, Yamashita 등²⁰⁾은 大豆를 利用한 plastein 合成時 加水分解의 最適 pH와 plastein 合成反應의 最適 pH는 서로 달랐다고 報告한 바 있다.

基質濃度の 影響: pH를 最適條件에 맞추고 酵素濃度 1%, 溫度 37°C에서 基質濃度만을 變化시켜 6時間 反應시킨 후 基質濃度 變化에 따른 plastein 生成量의 吸光度를 測定한 結果는 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 볼 수 있는 바와 같이 plastein 合成을 위한 最適 基質濃度は papain의 경우 50% 였으나 pepsin은 40%가 plastein 合成을 위한 最適 基質條件이었다. 이와 같은 結果는 金과 李¹⁶⁾ 및 Hofstein과 Lalasidis²³⁾의 研究結果와 一致하였다.

時間의 影響: pH와 基質濃度を 앞의 結果에 따

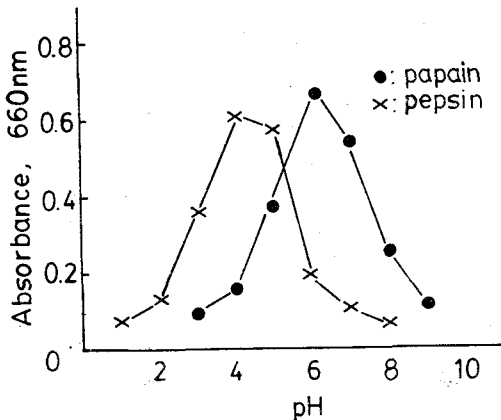


Fig. 2. Effect of pH on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme/substrate=1 : 100, substrate concentration=40%, and temperature=37°C

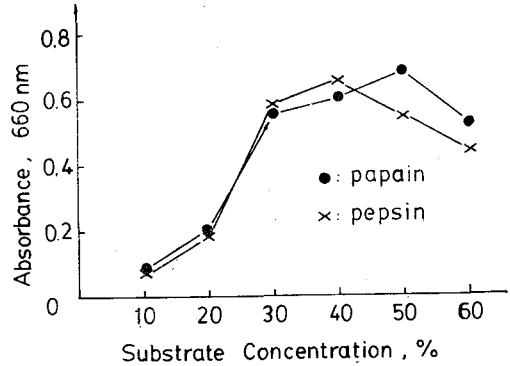


Fig. 3. Effect of substrate concentration on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme/substrate=1 : 100, pH 4 for pepsin and pH 6 for papain, and temperature=37°C

라 最適條件에 맞추고, 酵素濃度 1%, 37°C에서 反應時間 變化에 따른 plastein 生成量의 吸光度를 Fig. 4에 나타내었다. Papain 및 pepsin 모두가 反應時間 4時間까지는 Plastein 生成量이 급격히 增加하였고, 그 以後부터 24時間까지 서서히 增加하였으나 48時間에는 오히려 減少하는 傾向을 보였다. 이와 같은 結果는 plastein 複合體의 解離 또는 酵素的 加水分解에 基因한 것으로 생각된다. Yamashita 등²⁰⁾ 및 Fujimaki 등²⁴⁾은 plastein이 완전히 會合하기 위해서는 恒溫處理時間이 24時間 程度되어야 한다고 報告한 바 있다. 本 研究에서도 24時間 동안 恒溫處理하는 것이 적당하다고 判

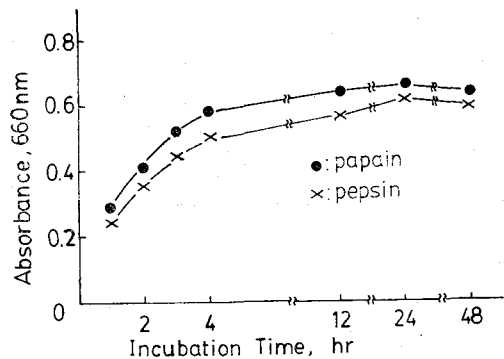


Fig. 4. Effect of incubation time on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme/substrate=1 : 100, pH 4 for pepsin and pH 6 for papain, substrate concentration=40% for pepsin and 50% for papain, and temperature=37°C

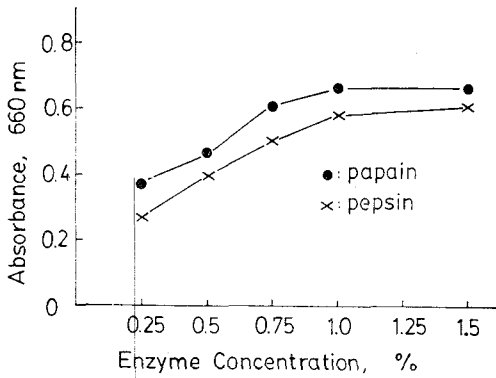


Fig. 5. Effect of enzyme concentration on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

pH 4 for pepsin and pH 6 for papain, substrate concentration=40% for pepsin and 50% for papain, temperature=37°C, and incubation time=24hrs

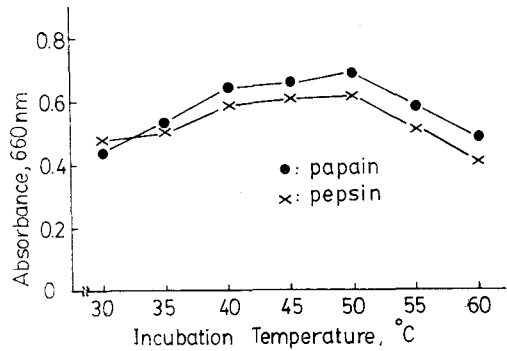


Fig. 6. Effect of incubation temperature on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate using 1% enzyme.

pH 4 for pepsin and pH 6 for papain, substrate concentration=40% for pepsin and 50% for papain, and incubation time=24hr

斷 되 었 다.

酵 素 濃 度 의 影 響 : pH, 基 質 濃 度 및 反 應 時 間 을 앞 의 結 果 에 따 라 맞 추 고, 酵 素 濃 度 만 을 달 리 하 여 37°C 에 서 24 時 間 동 안 反 應 시 켜 을 때 의 plastein 生 成 量 에 대 한 酵 素 濃 度 의 影 響 을 Fig. 5 에 나 타 내 었 다. Papain 및 pepsin 모 두 添 加 酵 素 濃 度 가 1% 까 지 는 plastein 生 成 量 이 增 가 하 였 으 나 그 이 상 의 濃 度 에 서 는 거 의 一 定 한 값 을 나 타 내 었 다. 따 라 서 plastein 生 成 速 度 는 添 加 한 酵 素 量 에 依 存 하 는 것 으 로 볼 수 있 다. Fujimaki 등²⁴⁾ 은 plastein 合 成 時 經 濟 的 인 面 에 서 酵 素 와 基 質 의 比 가 1 : 100 이 좋 다 고 提 議 한 바 있 다. 本 實 驗 에 서 도 1% 의 酵 素 濃 度 에 서 24 時 間 恒 溫 處 理 하 는 것 이 가 장 適 合 하 다 고 判 斷 되 었 다.

溫 度 의 影 響 : pH, 基 質 濃 度, 時 間 및 酵 素 濃 度 를 앞 의 條 件 에 맞 추 고 溫 度 만 을 變 化 시 켜 合 成 시 켜 을 때 plastein 生 成 量 에 대 한 溫 度 의 影 響 을 Fig. 6 에 나 타 내 었 다. Papain 및 pepsin 모 두 가 溫 度 40°C 까 지 는 plastein 生 成 量 이 增 가 하 였 으 나 그 이 後 부 터 50°C 까 지 는 완 전 히 增 가 하 다 가 그 이 상 에 서 는 현 저 히 減 소 하 는 傾 向 을 보 였 다.

Plastein 合 成 反 應 은 37°C 에 서 行 하 는 것 이 一 般 化 되 어 있 으 나 本 實 驗 結 果, 50°C 가 plastein 合 成 에 最 適 溫 度 임 을 알 수 있 었 다.

Sukan 과 Andrew²⁵⁾ 는 카 제 인 및 skim milk 의 加 水 分 解 物 로 부 터 plastein 合 成 反 應 時 最 適 溫 度 는 37°C 에 서 24 時 間, 또 는 50°C 에 서 4~6 時 間 이 었 으

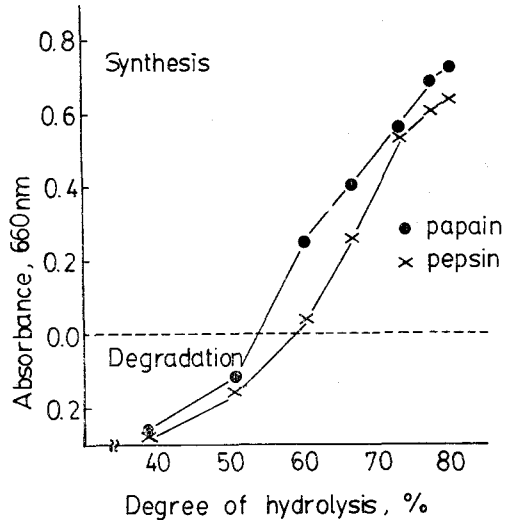


Fig. 7. Effect of the approximate degree of hydrolysis on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme/substrate=1 : 100 (w/w), pH 4 for pepsin and pH 6 for papain, temperature=50°C, and incubation time=24hrs

며 70°C 에 서 도 급 속 히 plastein 은 生 成 되 었 으 나 收 率 이 좋 지 않 았 으 며 20°C 에 서 와 비 슴 한 收 率 이 었 다 고 報 告 한 바 있 다.

加 水 分 解 度 의 影 響 : pH 를 papain 의 경 우 6, pepsin 은 4 로 調 節 하 고, 基 質 濃 度 는 papain 50%,

pepsin 40%, 酵素濃도를 1%로 하여 50°C에서 24 시간 동안 恒溫處理하였을 때 plastein 合成에 미치는 基質의 加水分解도를 Fig. 7에 나타내었다. 基質인 加水分解물의 加水分解도가 60% 以下일 때는 基質對照區로부터 나타나는 10% TCA 不溶分の 濁도가 plastein 試料에서 나타나는 濁도를 훨씬 凌駕하였다. 이와 같은 結果는 合成試料에 있어서 合成反應보다는 加水分解가 더욱 進行된 것으로 생각되었다. 그러나 加水分解도가 60% 以上인 경우는 反應의 方向이 plastein 合成쪽으로 變化된 것을 볼 수 있었다. 加水分解도가 77.2%인 24時間 동안 加水分解시킨 加水分解물의 plastein 生成량은 48時間 동안 加水分解시킨 加水分解물의 그것과 큰 差異는 없었다.

Yamashita 등²⁰⁾은 大豆 蛋白質의 plastein 生成에 미치는 加水分解도의 影響을 評價하였는데 本實驗의 結果와 비슷한 樣相을 나타내었으며, 加水分解도 및 pH가 plastein 合成反應에 가장 크게 影響을 미치는 因子가 된다고 報告한 바 있다.

3. Plastein의 一般成分 및 收率

Plastein 製品의 一般成分은 Table 3과 같다. Ethanol 침전 plastein은 蛋白質 含量이 pepsin plastein의 경우 91.0%, papain plastein은 92.4%로 TCA 침전 plastein의 74.2% 및 75.0%보다 높은 含量이었으나 灰分含量은 pepsin 및 papain의 TCA 沈澱 plastein이 15.3% 및 14.4%로 ethanol 沈澱 plastein의 1.2% 및 1.4%보다 월등히 높았다. 脂肪含量은 ethanol 沈澱 plastein의 경우는 存在하지 않았으나 TCA 沈澱 plastein에는 0.5% 程度가 存在하였다. 金과 李¹⁹⁾는 pepsin, papain, α-chymotrypsin 및 protease를 이용하여 말취치肉 蛋白質의 加水分解物로 合成한 plastein은 蛋白質 含量에 있어서 큰 差異는 없었으나 protease plastein의 蛋白質 含量이 72.4%로 가장 낮았으며, 脂肪 含量은 거의 비슷하였고, 灰分 含量은 7.4~11.8%로 比較的 높은 含量이었다고 報告한 바 있다. 이와 같이 TCA 沈澱 plastein에 灰分 含量이 높은 것은 三鹽化아세트酸 또는 그 以外の 複合鹽에 基因된 것으로 생각된다.

收率は Table 4에 나타낸 바와 같이 papain plastein의 경우 TCA 沈澱 plastein과 ethanol 沈澱 plastein이 各各 49.5%, 43.3%로서 pepsin의 45.3%, 41.0%보다 약간 높았다.

金과 李¹⁹⁾는 말취치肉 加水分解物로 合成한 pla-

Table 3. Proximate analysis of freeze-dried peptic hydrolysate and plastein(%)

	Moisture	Protein	Lipid	Ash
Peptic hydrolysate	8.9	67.4	1.8	19.1
Pepsin plastein (50% ethanol)	6.8	91.0	0.0	1.2
Papain plastein (50% ethanol)	6.2	92.4	0.0	1.4
Pepsin plastein (10% TCA)	9.2	74.2	0.5	15.3
Papain plastein (10% TCA)	9.0	75.0	0.6	14.4

Table 4. Yield of plastein reaction products using 10% TCA and 50% ethanol as precipitating agents

Products	Amount(g)	Yield(%)*
Pepsin plastein(TCA)	18.1	45.3
Pepsin plastein(Ethanol)	16.4	41.0
Papain plastein(TCA)	19.8	49.5
Papain plastein(Ethanol)	17.4	43.6

*Yields(%) were calculated from a starting quantity of 40g hydrolysate.

steine에 있어서는 papain plastein이 55.0%로 가장 높았고 다음이 pepsin plastein이 47.6%, α-chymotrypsin 38.6%였고 protease plastein 23.6%로 가장 낮았다고 하였으며, Onoue와 Riddle²⁶⁾은 魚類 廢棄物의 pepsin 加水分解物을 基質로 하여 合成한 plastein의 收率は 35%였다고 報告하였고, Edward와 Ship¹⁵⁾는 商業的 egg albumin의 pepsin 加水分解物로부터 α-chymotrypsin 및 pepsin을 合成酵素로 使用하여 얻어진 plastein의 收率は 30%였다고 報告한 바 있다.

要 約

魚肉 蛋白質의 機能性을 改善하기 위해 정어리 粉末蛋白質의 pepsin 加水分解物을 利用하여 plastein을 合成하기 위한 反應條件을 檢討하였다. Plastein의 合成條件은 papain 및 pepsin의 경우 pH는 各各 6, 4, 基質濃도는 各各 50%, 40%, 反應時間 및 酵素濃도는 各各 24時間, 1%였으며 反應溫度는 papain 및 pepsin 모두 50°C였다. 基質의 加水分解도가 60% 以上에서 plastein 合成反應

이 이루어졌으며 加水分解도가 77.2% 以上이었을 때 plastein 生成량이 높았다. 蛋白質 含量은 50% ethanol 沈澱 plastein이 90% 程度로 10% TCA 沈澱 plastein의 74%에 비해 높았으나 灰分 含量은 10% TCA 沈澱 plastein이 14.4%로 50% ethanol 沈澱 plastein의 1.2%보다 월등히 높았다. 收率은 papain의 경우 10% TCA 沈澱 plastein 및 50% ethanol 沈澱 plastein이 各各 49.5%, 43.6%로서 pepsin plastein의 45.3%, 41.0%보다 약간 높았다.

參 考 文 獻

1. 金世權 : 食品工業, 第56號 : 41 (1980)
2. Heviã, P., J.R. Whitaker and H.S. Olcott: J. Agric. Food Chem., 24(2) : 383 (1976)
3. Chen, L., T. Richardson and C.H. Amundson: J. Milk Food Technol., 38(2) : 89 (1975)
4. Miller, R. and H.S. Groninger: J. Food Sci., 41(1) : 286 (1976)
5. 李應昊, 金世權 : 韓國水產學會誌, 12(2) : 103 (1979)
6. 金世權 : 食品工業, 第58號 : 25 (1981)
7. Arai, S., M. Yamashita, M. Noguchi and M. Fujimaki: J. Agr. Food Chem., 23(1) : 49 (1979)
8. Fujimaki, M. Yamashita, Y. Okazawa and S. Arai: J. Food Sci., 35(2) : 215 (1970)
9. Matoba, T., R. Hayashi and T. Hata: Agr. Biol. Chem., 34 : 1235 (1970)
10. Umetsu, H. and E. Ichishima: Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish., 32(2) : 281 (1985)
11. Arai, S., M. Noguchi, S. Kurosawa, H. Kato and M. Fujimaki: J. Food Sci., 35(4) : 392 (1970)
12. Fujimaki, M., M. Yamashita, S. Arai and H. Kato: Agr. Food Chem., 34(9) : 1325 (1970)
13. Suzuki, T.: Refregeneration, 54(615) : 19 (1987)
14. 李應昊, 朴榮浩, 卞存亨, 金世權, 梁升澤 : 韓國水產學會誌, 11(1) : 25 (1978)
15. Edwards, J.H., and W.F. Shipe: J. Food Sci., 43 : 1215 (1987)
16. 金世權, 李應昊 : 韓國水產學會誌, 20(4) : 282 (1987)
17. Kang, C.K. and E.E. Rice: J. Food Sci., 35(2) : 563 (1970)
18. Spies, T.R. and D.C. Chamber: J. Biol. Chem., 196(3) : 787 (1951)
19. Montecalvo, J. JR., S.M. Constantinidies and C.S.T. Yang: J. Food Sci., 49(5) : 1305 (1984)
20. Yamashita, M., S. Arai, J. Matsuyama, M. Gonda, H. Kato and M. Fujimaki: Agr. Biol. Chem., 34 : 1484 (1970)
21. Hale, M.B.: NOAA Technical Report, NMFS SSRP-657 : 6 (1972)
22. Yamashita, M., S.J. Tsai, S. Arai, H. Kato and M. Fujimaki: Agr. Biol. Chem., 35(1) : 86 (1971)
23. Hofsten, B. and G. Lalasidis: J. Agr. Food Chem., 24(2) : 460 (1976)
24. Fujimaki, M., S. Arai and M. Yamashita: In "Food Protein" R.E. Feeny and J.R. Whitaker(ed) Chap. 6, Advance in Chemistry Series 160. ASC. Washington D.C., p. 151 (1977)
25. Sukan, G. and A.T. Andrew: J. Dairy Res., 49(2) : 265 (1982)
26. Onoue, Y. and V.M. Riddle: J. Fish. Res. Board of Canada, 30(11) : 1745 (1973)