

알칼리와 효소처리에 의한 멸치 추출액의 수율 및 관능적 성질의 향상

김우정 · 박주영
세종대학교 식품과학과

Improvement of Yields and Organoleptic Quality of Anchovy Extract by Alkali-Protease Hydrolysis

Joo-Young Park and Woo-Jung Kim
Department of Food Science, King Sejong University, Seoul

Abstract

Dried anchovy (*Engraulis japonica*) was ground and treated with 0.3N NaOH solution and then hydrolyzed with proteolytic enzymes. Extracts obtained by centrifugation of alkali-enzyme treated anchovy slurry was compared with water extract for the yields of soluble solid, protein and ashes and organoleptic characteristics. The data for the yields of the soluble solids, protein and ash showed that a 2-3 folds increase in those yields was resulted by combined alkali-enzyme treatments when it was compared to water only extract. The organoleptic evaluation on the alkali-enzyme treated anchovy extracts also showed a 2-3 folds in flavor strength of all descriptions in odor and taste and a significant improvement in total odor or taste acceptability. Key words: anchovy extract, alkali and protease treatments, solids and protein yield, sensory properties

서 론

생멸치를 염수로 끓여 지방을 일부 제거한 뒤 건조시켜 제조한 마른 멸치는 우리나라와 일본에서 오랫동안 국이나 찌개에 첨가하여 맛을 향상시켜주는 조미 원료로 사용되어 왔다. 멸치의 첨가는 끓인후 잔유물이 그대로 남을 뿐만 아니라 건멸치의 제조방법에 따라 맛에 큰 차이가 있어 조리시 간편하게 사용될 수 있으며 맛의 향상과 함께 멸치가 갖고 있는 단백질과 무기물의 효율적인 섭취를 위하여, 멸치의 추출방법 개선을 통한 멸치 조미료의 개발이 요구되고 있다.

이제까지의 멸치에 대한 연구로는 향미성분⁽¹⁾과 산화방지를 위한 항산화제의 효과⁽²⁾와 마른 멸치의 핵산관련물질⁽³⁾에 대한 연구가 있으며 멸치 조미료를 위한 연구로서는 이⁽⁴⁾등의 멸치분말 스프 제조보고와 김⁽⁵⁾의 알칼리 처리에 의한 멸치 추출액의 물리화학적 및 관능적 품

질의 변화연구가 있다. 어류에 알칼리 분해 또는 효소를 처리한 연구는 주로 추출 고형분과 단백질의 수율 향상을 시키고자 한 것으로 가자미뼈에 붙어 있는 잔유 어육의 단백질을 알칼리로 처리한것⁽⁶⁾과 어육농축 단백질을 제조할때 0.2N NaOH 로 처리하여 단백질 수율을 향상시킨 보고가 있다⁽⁷⁾. 또한 이⁽⁸⁾는 크릴을 단백질 분해효소를 분해시켜 제조된 크릴 어간장의 품질을 연구한 보고가 있다. 그러나 마른 멸치에 알칼리와 단백질 분해효소를 함께 처리하면서 추출된 단백질, 무기물의 수율 변화와 관능적 성질에 관한 연구는 보고된 바 없다.

그리하여 본 연구에서는 멸치를 원료로 하여 천연 조미료를 제조하고자 멸치를 NaOH 용액으로 처리한 뒤 중화하여, 중성 및 알칼리 단백질분해 효소로 분해시켜 얻어진 멸치 추출액의 고형분 및 단백질의 수율 변화와 관능적 향미의 변화를 조사하여 수율과 관능적 특성이 향상된 천연 조미료를 제조하는 데 기초적인 자료를 마련하고자 하였다.

Corresponding author: Woo-Jung Kim, Department of Food Science, King Sejong University, Kunja-dong, Sungdong-gu, Seoul 133-150

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 멸치 (*Engraulis japonica*)는 길이가 5.5-7.0cm 이고, 무게가 2.0-3.0g 인 마른 중멸치를 구입하여 사용하였다. 시료 조제시 사용된 시약은 모두 일급 시약이었으며, 단백질분해 효소는 alkaline protease(Alkalase)와 neutral protease(Neutrase)로서 Novo Industri-Ltd. (Denmark)에서 공급받아 사용하였다. 효소처리를 위한 pH와 온도는 효소활성도가 80% 이상인 범위에서 행하였는데 Alkalase는 pH6.0~10.7 및 50°C~65°C였으며, Neutrase는 pH5.5~8.0 및 35°C~50°C 범위를 가졌다.

멸치 추출액의 조제

본 실험을 위한 멸치 추출액은 조제는 Fig. 1과 같은 방법으로 조제하였다. 건조한 멸치 30g에 60°C의 증류수 210ml를 넣고, blender로 30초간 2회 마쇄하여 10,000×g에서 20분간 원심분리 하였다. 이때 얻어진 상등액을 대조구로 하였으며, 알칼리 처리의 추출액 조제는 같은 양의 멸치를 증류수 대신 210ml의 0.3N NaOH 용액과 함께 마쇄한 후 60°C의 항온기 내에서 1시간, 3시간 및 5시간 동안 알칼리 처리를 한뒤 단백질분해 효소의 최적 pH가 되도록 4N-HCl로 중화시켰다. 효소반응을 위한 pH와 온도는 이들 두 효소의 활성이 80% 이상이 되는 pH6.5와 50°C였으며, 각각의 효소로 4시간 반응시키면서 반응시간별로 멸치 마쇄액을 꺼내어 2분간 끓여 효소를 불활성화시켰다. 가열한 멸치 마쇄액은 상온으로 냉각시킨뒤 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 그 상등액을 취하였고, 그 상등액들은 -20°C의 냉동고에 저장하였다가 물리화학적 측정과 관능적 품질을 평가하였으며 모든 측정과 평가는 2회 이상 반복하여 산술 평균치를 구하였다.

일반성분의 측정 및 수율계산

멸치 추출액의 일반성분 분석은 AOAC법⁽⁹⁾에 의하여 측정하였다. 수분은 80°C의 열탕에서 예비건조한 후 105°C에서 5시간 건조시키는 상압건조법을 사용하였고, 조단백질은 Micro-Kjeldahl법으로 정량하였으며, 회분은 수분정량과 같이 80°C에서 예비 건조시킨후 550°C 직접 회분법으로 정량하였다. 사용된 멸치에 함유된 각 성분 중량과 추출액중 회수된 각 성분양의 비율에서 고형분, 단백질 및 회분의 수율들을 구하였으며 0.3N NaOH로 처리한 시료의 회분수율은 중화시 생성된 NaCl을 계산하여 그 양(1.75g/100ml)을 전체 회분에

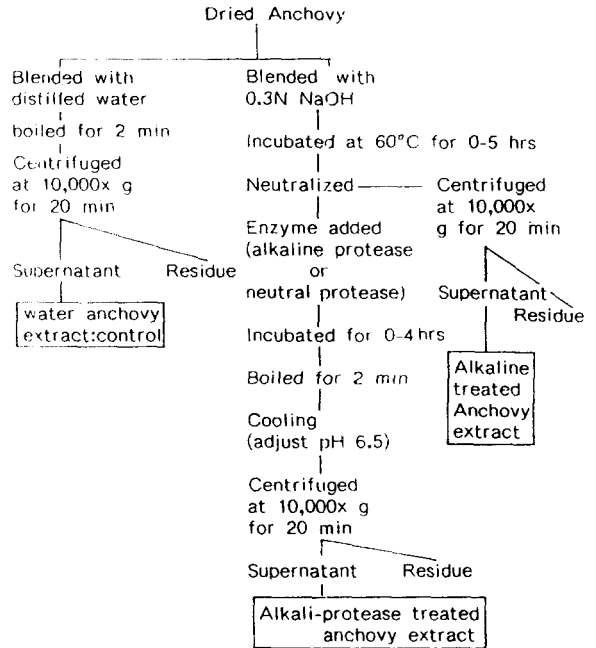


Fig 1 Schematic diagram for experimental design.

서 제외시킨뒤 수율을 계산하였다.

관능적 품질평가

일정량의 멸치를 알칼리와 효소처리한 추출액들을 물로만 추출한 추출액과 비교하여 맛과 냄새의 강도에 대해 평가하였다. 과일의 구성은 본 대학 식품과학과의 대학원생 중에서 본 실험에 대해 흥미를 갖고 있으며 시료들간의 차이를 지속적으로 판별할 수 있는 7명을 선발하였다. 심사원의 훈련은 멸치 추출액 제조방법에서 건멸치 30g 대신 60g을 증류수 210ml를 넣고 만든 추출액을 희석하여 희석법⁽¹⁰⁾으로 맛과 냄새의 강도에 대하여 훈련시킨 뒤 다시료 비교법(multiple comparisons test)⁽¹¹⁾에 의해 대조구(R)를 포함한 6개의 시료들간의 맛과 냄새의 강도배수를 평가케 하였다. 멸치 추출액의 묘사는 김⁽⁵⁾이 사용한 묘사와 같이 맛은 전체강도(total flavor intensity), 생선비린(fishy), 쓴맛(bitter), 조개맛(clam-like), 마른멸치(dried-anchovy)로 하였고, 냄새는 전체강도(total odor intensity), 바닷물(sea complex), 마른멸치(dried anchovy), 해조류 냄새(seaweed-like), 조개냄새(clam-like)로 하였으며 전체기호도(total acceptability)도 함께 평가하였다. 제

향상이 있었으나 그후 완만하여 졌으며 특히 5시간 알칼리 처리한 시료에서는 Alkalase 2시간 이후에는 오히려 감소함을 보여 주었다. 한편 중성단백질 분해효소인 Neutralse는 고흡분 수율이 최고 60% 내외로서 70% 이상 향상되었던 Alkalase보다 고흡분 수율향상에 덜 효과적임을 알 수 있었다. 고흡분의 최고 수율은 알칼리 용액에서 5시간 처리한뒤 Alkalase로서 1-2시간 반응시켰을때 76.36%로 가장 높았다.

조단백질의 수율변화(Table 3)에서도 고흡분 수율변화와 비슷한 경향을 보여 주어 효소처리 시간이 진행될수록 단백질 수율 증가속도가 현저히 감소되었으며 Alkalase의 사용이 Neutralse보다 단백질 수율 향상을 위하여 더 효과적이었다. 이와같이 효소처리 1-2시간에서 최대의 수율을 보인 것은 정어리의 잔사를 단백질 분해효소로 처리하였을때 최대의 단백질 수율인 65%에 도달하는데 4시간이 걸렸던 것⁽¹²⁾과 크릴을 효소로 가수분해시킬때 3시간에서 최대의 단백질 수율을 보였다는 보고⁽¹³⁾에서 보다 빠르게 나타났는데 이와같은 차이는 멸치 단백질이 알칼리 처리로 인해 일차적인 단백질 가수분해와 함께 단백질 입자의 구조가 열려졌기 때문이라 생각된다. 또한 단백질 분해효소로 4시간까지 증가시킨 반응 후반기에 고흡분과 단백질의 수율향상에 효과가 없었음은 잔류한

불용성 단백질의 입자구조에 효소가 침투하여 작용할 수 없을 만큼 단단한 형태로 존재하거나 용해된 단백질들이 효소처리 기간중 재결합하여 불용성 단백질화하기 때문이라 추측되나 본 실험 결과에서는 이를 증명할 수 없었다.

Table 4는 회분수율이 알칼리과 단백질분해 효소의 처리로 변화한 결과이다. 물로만 추출했던 추출액의 회분수율은 13.0%였던 것이 알칼리 처리를 한 경우 급격히 증가하여 80-90%의 회분수율을 보여 주었다. 그러나 이들은 Alkalase나 Neutralse로 반응시켰을때 어떤 뚜렷한 변화의 경향없이 약간의 증가와 감소의 변화가 있었다. 한편 알칼리 처리를 하지 않은 물추출액의 경우 효소반응을 시켰을 때 효소반응 30분에서 현저한 증가가 있었다. 30분 이후에는 큰 차이가 없었다. 그러므로 본 결과의 현저한 회분수율의 향상은 효소보다 NaOH의 알칼리가 주 원인이었음을 알 수 있었다. 본 결과를 증명치를 들일때 회분이 20.8%까지 추출되었다는 보고⁽¹⁴⁾와 6.8%이었다는 보고⁽¹⁵⁾의 것과 비교할때 물추출액 시료의 13.0% 회분수율은 이들 결과의 범위에 있었으나 32-45%의 회분수율을 보인 알칼리-효소의 처리는 멸치에 있는 무기물을 효율적으로 추출하는데 크게 도움을 주는 결과라 믿어진다. 이러한 결과는 마른멸치 제조중 무

Table 2. Effect of proteolytic enzyme hydrolysis of alkali-treated anchovy slurry on solid yield in the anchovy extract

Hydrolysis	Control	Alkaline treatment		
		1 hrs	3 hrs	5 hrs
Alkaline protease				
0 hrs	17.9	40.4	49.6	59.0
0.5 hrs	29.4	54.1	55.9	70.8
1 hrs	33.4	57.0	58.8	76.3
2 hrs	36.1	56.7	59.8	75.4
3 hrs	37.1	59.7	61.0	69.2
4 hrs	41.6	60.9	63.3	67.6
Neutral protease				
0 hrs	17.7	40.5	49.6	59.0
0.5 hrs	28.3	49.0	55.0	58.5
1 hrs	31.3	48.4	57.6	59.9
2 hrs	32.8	52.8	58.3	58.4
3 hrs	34.7	53.5	60.9	63.0
4 hrs	35.3	55.0	59.5	63.2

Table 3. Effect of proteolytic enzyme hydrolysis of alkali-treated anchovy slurry on protein yield in the anchovy extract

Hydrolysis	Control	Alkaline treatment		
		1 hrs	3 hrs	5 hrs
Alkaline protease				
0 hrs	19.9	27.0	35.9	45.5
0.5 hrs	32.7	38.4	41.9	63.2
1 hrs	35.6	42.6	45.4	65.3
2 hrs	36.6	43.3	46.3	61.8
3 hrs	39.8	43.3	46.9	58.5
4 hrs	44.8	45.4	50.4	61.1
Neutral protease				
0 hrs	19.9	27.7	34.8	45.5
0.5 hrs	27.7	30.6	36.9	44.1
1 hrs	29.9	32.7	36.4	45.4
2 hrs	35.6	36.9	41.5	47.6
3 hrs	36.9	37.6	39.8	45.4
4 hrs	37.6	38.4	40.4	44.8

Table 4. Effect of proteolytic enzyme hydrolysis of alkali-treated anchovy slurry on ash yield* in the anchovy extract

Hydrolysis	Control	Alkaline treatment		
		1 hrs	3 hrs	5 hrs
Alkaline protease				
0 hrs	13.0	31.3	32.5	37.1
0.5 hrs	23.2	32.9	33.8	35.2
1 hrs	22.3	32.0	30.6	39.8
2 hrs	23.3	33.4	34.3	38.0
3 hrs	24.6	30.1	38.0	38.4
4 hrs	22.7	39.9	38.9	34.3
Neutral protease				
0 hrs	13.0	32.3	32.5	37.1
0.5 hrs	21.3	32.3	45.9	44.0
1 hrs	18.5	33.5	44.5	41.7
2 hrs	19.5	36.6	40.3	41.7
3 hrs	18.7	37.6	38.0	46.8
4 hrs	18.1	38.9	37.1	47.8

* %ash yield was calculated by subtraction of amount on NaCl formed during neutralization from the ash determined for alkali treated anchovy extracts

기물들이 마른멸치 조직내에 갇혀 있다가 알칼리 용액에 의해 조직이 이완되면서 추출액에 확산되어 나오게 되며 또한 조직과 결합되어 있던 무기물의 일부가 해리되어 나오기 때문으로 사료된다.

관능적 품질평가

마른멸치를 물 또는 0.3N NaOH 용액과 함께 마쇄한 후 시간별로 반응시켰다가 단백질 분해효소로 가수분해시켜 얻어진 멸치 추출액을 관능적으로 맛과 냄새를 평가한 뒤 QDA 로 도시한 결과는 Fig. 3-Fig. 5와 같다. 각 묘사들의 강도는 R을 10으로 하여 강도배수를 비교한 것이며 기호도는 9점 채점법에 의한 것이다. Fig. 3은 멸치를 물로만 다쇄한 뒤 Alkalase 및 Neutrase 로 1시간 및 3시간 반응시킨 결과로서 효소반응이 전체적인 맛이나 냄새 묘사들의 강도 향상에 큰 효과가 없음을 보여 주고 있다. 1시간 반응후 Alkalase 경우는 향미가 오히려 감소되었으며 특히 마른멸치 맛이나 소라맛등이 대조구에 비하여 약 반이하로 감소되었다가 효소반응이 3시간으로 연장되면서 회복하는 경향을 보였다. 이러한 감소현상은 Neutrase 에서는 현저하지 않았으나 생선비린 맛과 쓴맛외에는 약간 감소함을 보였고, 3시간 후에는 대조

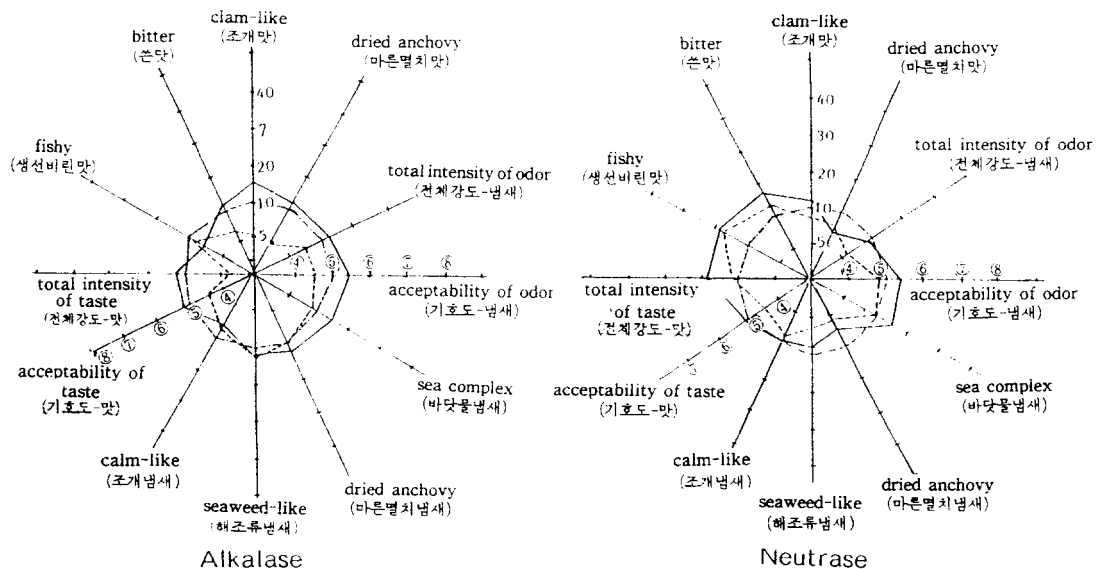


Fig. 3. QDA profiles of anchovy extracts prepared by water only extraction with or without protease treatment. water only extraction: (---), 1 hours of protease: (....), 3 hours of protease hydrolysis: (-.-.-), 5 hours of protease hydrolysis: (—). The numbers of ①-⑨ are the scores in preference test where ① is extremely inferior to R, ⑤ is no difference ⑨ is extremely better than R.

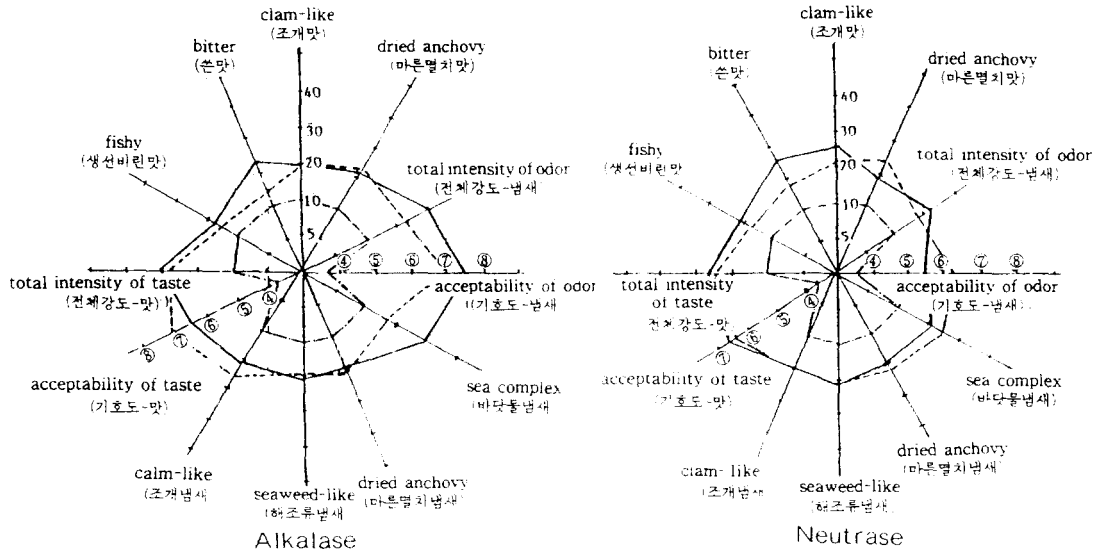


Fig. 4. QDA profiles of anchovy extracts prepared by 0.3N NaOH extraction for 3hour followed by protease hydrolysis. water only extraction: (---), 1hour of protease hydrolysis: (- - -), 3hours of proteolysis: (—). The numbers of ①-⑨ are the scores in preference test of odor and taste where ① is extremely inferior to R, ⑤ is no difference, ⑨ is extremely better than R.

시료보다 향상됨을 보여 주었다.

한편 단백질분해 효소처리전 알칼리로 처리했던 멸치 추출액은 모든 맛과 냄새의 강도에 현저한 향상효과를 보였다. Fig 4는 멸치를 0.3N NaOH 알칼리 마쇄한 후 60°C에서 3시간 방치하였다가 효소반응시킨 결과로서 전체적인 맛이나 냄새의 강도가 20-30의 범위를 보여 주어 이들의 강도가 2-3배 상승되었음을 알 수 있었다. Alkalase 처리 추출액에서는 바닷물 냄새 마른멸치맛 등에 2배 이상 강도가 높아졌고 Neutrase에서는 해조류 냄새와 쓴맛의 증가가 현저하였으며 Neutrase에 비하여 Alkalase의 처리시간 증가가 전체적인 향미의 강도를 높여주는데 크게 기여하였다. 이러한 향미강도의 향상 효과는 알칼리 처리시간을 5시간으로 연장시켰을 때에도 비슷하게 나타났으며, Fig 5를 Fig 3이나 Fig 4와 비교할때 QDA의 면적이 전반적으로 크게 넓어졌음을 알 수 있다. 즉 알칼리의 5시간 처리와 3시간의 효소처리는 전체적인 맛과 냄새의 강도뿐만 아니라, 소라냄새, 해조류 냄새, 소라맛등이 3배이상 진하게 되어 멸치 추출액의 향미개선이 뚜렷하였으나, 쓴맛의 증가가 이들의 증가보다 더 높았다. 각 묘사들의 구성비율은 전체적인 향미에 큰 영향을 주는 것으로서 이들의 변화는 향미성분의 분해 및

개결합 반응에 의한 것이라 믿어진다. 그리하여 전체적인 기호도를 비교하기 위하여 본 실험에 참가한 판넬원들에게 물만으로 추출한 것을 기호도 평점5로 하고 시료들의 맛과 냄새에 대한 기호도(acceptability)를 평가하게 한 결과(Fig. 3-5) protease에 의하여 기호도가 현저하게 향상되었음을 알 수 있었다. 특히 두가지의 단백질분해 효소중 Alkalase 처리 시료의 맛은 1-3시간 처리시켰을 때 물로만 추출한 것보다 '많이 더 좋은' 평가를 받았으며 냄새에서도 비슷한 좋은 효과가 있었음을 확인할 수 있었다. 반면 Neutrase는 냄새에서 평점 15-25의 범위를 갖었으며, 맛에서도 25정도의 평가를 받아 기호도의 증가가 Alkalase 보다는 현저하지 않았으나 뚜렷한 기호도의 향상을 보여 주었다. 그러므로 본 연구결과는 멸치를 추출하여 천연 멸치조미료를 제조할때 알칼리와 단백질분해 효소를 함께 처리함이 고품분, 단백질 및 회분의 수율 향상과 함께 관능적 품질인 맛과 냄새의 강도를 2-3배 높여줄 뿐만 아니라 기호도의 향상에도 크게 기여함을 보여 주었다.

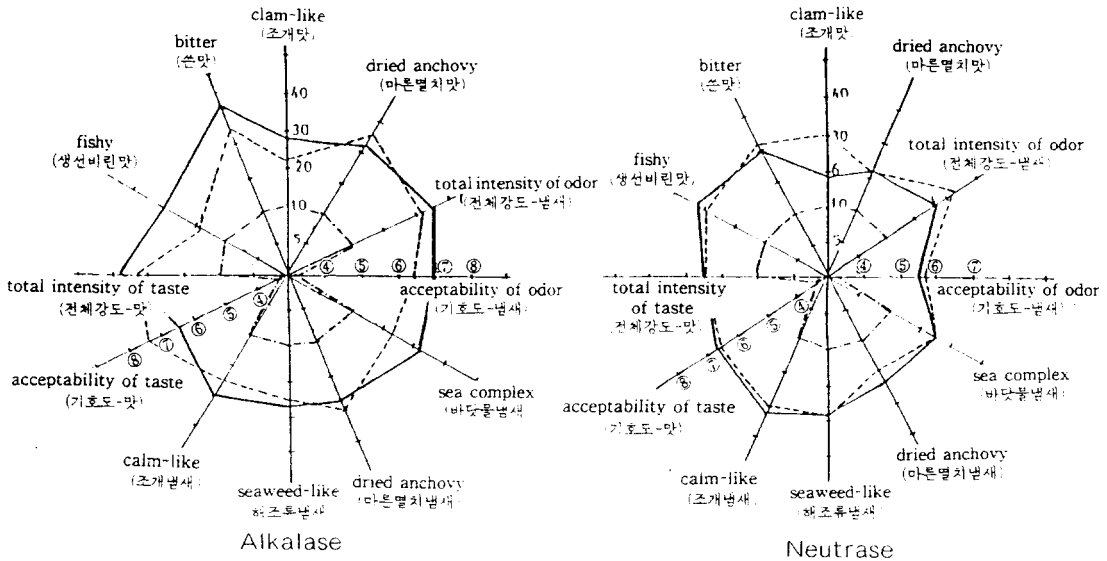


Fig. 5. QDA profiles of anchovy extracts prepared by 0.3N NaOH extraction for 5hours followed by protease hydrolysis water only extraction: (---), 1hour of protease hydrolysis: (.....), 3hours of protease hydrolysis: (—). The numbers of ①-⑨ are the scores in preference test of odor and taste where ① is extremely inferior to R, ⑤ is no difference ⑨ is extremely better than R.

요 약

천연 멸치추출액의 수율과 관능적 품질의 향상을 위하여 마른 중멸치를 0.3N NaOH 알칼리 용액으로 마쇄하고 60°C에서 1시간, 3시간, 5시간 처리한 뒤 중화시켜 알칼리성 및 중성단백질 분해효소로 4시간 동안 가수분해시켰다. 알칼리 처리한 시료를 효소반응 시간별로 멸치 마쇄용액을 취하여 원심분리시킨 상등액에 함유된 가용성 고형분, 단백질, 무기질 그리고 맛과 냄새에 대한 관능적 품질을 평가하였다. 그 결과 고형분의 수율은 0.3N NaOH로 5시간 처리한 시료에 alkaline protease로 1시간 반응시켰을때, 최고 76.4%가 회수되어 물로만 추출한 대조구보다 약 4배의 수율이 향상되었고, 조단백질의 수율은 최고 65.3%로 약 3.2배 였으며, 회분의 수율은 30-47%의 회분 수율범위를 보여 12.9%였던 대조구에 비하여 현저하게 증가하였다. 또한 맛이나 냄새와 같은 관능적 품질에서도 그 강도가 2-3배의 향상효과가 있었으며 효소를 처리한 시료의 기호도가 현저히 향상됨이 밝혀졌다. 이상의 결과에서 고형분, 단백질 및 회분수율과 관능적 품질을 고려할때 알칼리처리 3시간후 단백질

분해 효소로 1-3시간 처리함이 멸치 추출액의 수율과 관능적 품질에 가장 좋은 것으로 평가되었다.

문 헌

1. 이응호, 김세련, 전중균, 차용준, 정숙현 : 시판 마른멸치의 향미성분, 한국수산학회지, 14(4), 194(1981)
2. 이응호, 장희운, 진규업 : BHA 처리가 마른멸치의 산화방지에 미치는 효과에 대하여, 한국농화학회지, 6, 25(1965)
3. 이응호, 박영호 : 수산식품의 가공 및 포장중의 핵산관련물질의 변화에 관한 연구, (1) 마른멸치 제조과정중의 핵산관련물질의 변화, 한국수산학회지, 4(1), 31(1971)
4. 이응호, 하재호, 차용준, 오광수, 권칠성 : 진주담치 및 마른멸치의 분말스프의 제조, 한국수산학회지, 17(14), 229(1984)
5. 김혜경 : 알칼리처리가 멸치 추출액의 품질에 미치는 영향, 세종대학 대학원 석사학위 논문, 1986
6. Montecalvo, J.Jr., Constantinides, S.M. and Yang, C. S.T. : Optimization of processing parameters of the preparation of flounder frame protein product. *J. Food Sci.*, 49, 172(1984)
7. Tannenbaum, S.R., Ahern, M. and Bates, R.P. :

- Solubilization of fish protein concentrate, *Food Technol.*, **24**(5), 604(1970)
8. 이응호, 박향숙, 안창범, 황규철 : 크릴간장 제조에 관한 연구, *한국영양식량회지*, **13**(1), 97(1984)
 9. A.O.A.C. : *Official methods of analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists (1984)
 10. 장건형 : 식품의 기호성과 관능검사, *한연사*, p.180(1975)
 11. Elizabeth Larmond : *Methods for Sensory Evaluation of Food*, Canada Department of Agriculture, p. 19(1973)
 12. 이응호, 조인영, 하재호, 오광수, 김장상 : 정어리 잔사물 이용한 정어리 간장의 제조, *한국수산학회지*, **17**(2), 117(1984)
 13. 이응호, 박향숙, 안창범, 황규철 : 크릴간장 제조에 관한 연구, **13**(1), 97 (1986)
 14. 유병호 : 자건멸치 자숙액중의 유리아미노산 조성과 칼슘과 철분의 함량, *한국식량영양학회지*, **11**(4), 1(1982)
 15. 조창숙 : 식품중의 칼슘에 대하여, *전국학술지* 제 8집, p. 337(1967)
-
- (1988년 3월 11일 접수)