

## Plastein반응을 이용한 정어리 단백질의 기능성 개선에 관한 연구

### 1. 정어리 분말단백질의 pepsin가수분해물을 이용한 plastein의 합성조건

김세권 · 광동채 · 조덕제\* · 이응호\*\*

부산수산대학 응용화학과 · \*경남전문대학 · 식품영양학과 · \*\*부산수산대학 식품공학과

## Studies on the Improvements of Functional Properties of Sardine Protein by Plastein Reaction

### 1. Synthetic Conditions of Plasteins from the Enzymatic Hydrolysate of Sardine Protein

Se-Kwon Kim, Dong-Chae Kwak, Duck-Jae Cho\* and Eung-Ho Lee\*\*

Dept. of Applied Chemistry, National Fisheries University of Pusan, Pusan, 608-023, Korea

\*Dept. of Food & Nutrition, Kyung Nam Junior College, Pusan, 616-012, Korea

\*\*Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan, 608-023, Korea

### Abstract

In order to develop a new type of food source for the effective utilization of fish protein, plastein reaction was applied to improve the functional properties of sardine protein.

Conditions necessary for optimal plastein productivity from sardine protein using pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, protease(from *Aspergillus saitoi*) and papain were established.

Sardine protein concentrate was hydrolyzed with pepsin yielding an approximate degree of hydrolysis of 78.4%. Enzyme induced plastein was optimized at : pH 4 for pepsin, pH 7 for  $\alpha$ -chymotrypsin, pH 5 for protease and pH 6 for papain : Substrate concentrate 40% for pepsin and  $\alpha$ -chymotrypsin, 50% for protease and papain : the time of incubation, 24hr : enzyme/substrate ratio, 1 : 100(w/v) incubation temperature, 50°C.

### 서 론

우리나라 연근해에서 많이 어획되고 있는 정어리는 일시 다획성 어류로서 영양가나 맛은 좋으나 선도가 대단히 빨리 떨어지므로 선어로서 대량 소비하기에는 많은 문제점이 있다.<sup>1)</sup>

정어리를 보다 효율적으로 이용하기 위한 방안으로 정어리 분말단백질(FPC) 제조를 들 수 있으나 FPC는 일반적으로 어육마쇄물을 유기용제로 자בל하여 탈지·탈수하는 방법으로 제조하기 때문에 단백질이 열에 의해 현저한 변성을 받아 친수성이나 겔형성능과 같은 기능성이 좋지 않은 결점을 가지

고 있다.<sup>2)</sup> 따라서 최근에는 이러한 기능성 개선을 위한 개량 FPC의 제조에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>3-7)</sup> 이들 연구중 대표적인 것이 어류단백질을 단백질 분해효소로 처리한 가수분해물을 식량 소재로서 이용하려는 시도이다. 효소에 의한 단백질 가수분해물은 식품소재로서의 물성은 우수하지만 효소분해과정에서 생긴 저분자펩티드에 의한 쓴맛 때문에 이용에 제약을 받고 있다.<sup>8)</sup>

Umetsu와 Ichishima<sup>9)</sup>는 FPC의 펩신가수분해물을 wheat carboxypeptidase로 가수분해시킴으로서 쓴맛이 낮아졌다고 보고하였으며, Arai 등<sup>10)</sup>은 단백질 가수분해물의 재가수분해에 의한 쓴맛 제거의 반대개념으로 plastein반응을 착안하였다. Fujimaki

등<sup>11)</sup>은 대두단백질의 펩신가수분해물로 부터  $\alpha$ -chymotrypsin 으로 plastein을 합성한 결과, 쓴맛이 상당히 감소하였다고 보고한 바 있다.

현재 세계 총어획고중 기능성에 문제가 있어 약 1/3정도가 비식용 원료로 이용되고 있는 실정이다.<sup>12)</sup>

따라서 비식용 어류나 가공폐기물을 효율적으로 이용하기 위한 방안으로 plastein반응을 이용하여 이들의 물성을 개량하여 식량화하는 것이 바람직 할 것으로 사료된다.

본 연구는 정어리를 보다 효율적으로 이용할 수 있는 식품소재를 개발할 목적으로 정어리 단백질의 펩신가수분해물을 이용한 plastein을 합성하기 위한 반응조건을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

정어리(*Sardinops melanosticta*, 체중 51.3-63.6 g, 체장 19.0-22.0cm)는 부산시-충무동 소재 대림수산(株)에서 구입하여 -30℃ 동결고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

### 분말단백질의 제조

마쇄한 시료육에 대하여 10배량의 isopropyl alcohol 을 삼구플라스크에 담아 수조상에서 미리 80℃로 가열하고, 여기에 마쇄한 시료육을 넣어 교반하면서 처리하였다. 이 등<sup>1)</sup>의 방법에 따라 5분간씩의 회분식 추출을 5회 반복한 후 동양여지 No. 2를 사용한 buchner funnel상에서 감압여과하고 잔사를 건조분쇄하여 분말단백질 시료로 하였다.

### 가수분해물의 조제

Edward와 Ship<sup>13)</sup>의 방법에 따라 정어리 분말단백질 60g 을 증류수 2.85 l 에 분산시킨 후 2M HCl 용액 100ml를 가하여 pH 1.6으로 조절하였다. 이 때 pepsin(1:10,000 Nakari Chemicals LTD) 600 mg을 증류수 50ml에 용해하여 효소:기질의 비가 1:100이 되도록 기질용액에 서서히 가한 후, 진탕항온수조(60 strokes/min, Philip Harris Limited, Model SS40) 상에서 37℃에서 24시간 동안 가수분

해시킨 다음, 2M NaOH로서 pH 7로 조절하여 효소를 불활성화 시켰으며, 또한 잔존해 있는 pepsin 활성을 불활성화하기 위해 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 가수분해물은 10,000rpm에서 10분간 원심 분리하였으며, 그 상층액의 유리지방을 제거하기 위해 Whatman No.1 여지로 여과한 후 동결건조(DURA-DRY corrosion resistant freezer dryer, F.T.S. System Inc.)하였다. 동결건조 가수분해물은 용기에 넣어 밀폐하여 5℃에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

### 가수분해도의 정량

Yamashita 등<sup>14)</sup>의 방법에 따라 가수분해과정중 1, 2, 4, 8, 12, 24 및 48시간 동안에 각각 50ml씩을 분취하여, 여기에 20% TCA용액 50ml를 가하여 원심분리(5,000rpm, 15min) 한 후 상층액의 가용성 질소를 kjeldahl법으로 정량하였다. 가수분해도는 다음과 같이 나타내었다.

$$\text{가수분해도} = \frac{\text{가용성 질소}}{\text{총질소}} \times 100$$

이 때 가용성 질소는 10% TCA용액에 침전되지 않는 질소로 하였다.

### 펩티드 사슬길이 측정

Kang과 Rice<sup>15)</sup>의 방법에 따라 가수분해시간별로 가수분해물 20ml씩 분취하여 원심분리(5,000rpm, 10min) 하였다. 이 때 상층액을 여지(whatman No.1)로 여과하여 증류수로 100ml로 하였다. 이중 1ml씩 분취하여 총가용성 질소와  $\alpha$ -아미노질소를 정량하였다. 펩티드 사슬길이는 다음과 같이 측정하였다.

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

여기서  $\alpha$ -아미노태 질소는 Spies 등<sup>16)</sup>의 동염법에 따라 비색정량하였다.

### Plastein 합성 반응조건

#### Plastein 정량

Montecalvo 등<sup>17)</sup>의 방법에 따라 조제한 plastein 은 비탁법에 의해 plastein생성량을 검토하기 위한

표준곡선을 작성하는데 이용하였다.

Plastein정량은 Yamashita 등<sup>14)</sup>의 방법에 따랐다. 즉 plastein합성반응중 10% TCA침전물의 증가량을 구하여 조건을 결정하였다.

비탁법에 의한 plastein정량은 동결건조한 plastein 100mg에 10% TCA용액 50ml를 넣어 균질화하여 현탁액을 만들었다. 표준 plastein용액은 10% TCA 용액으로 연속적으로 희석하여 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1.0 mg/ml로 만들었다. 각 표준액을 vortex mixer 상에서 2분간 씩 혼합하여 UV/VIS spectrometer (Pye Unicof model 8610)를 사용하여 660nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선(Fig. 1)을 만들었다. 이 때 plastein 시료에 대한 흡광값은 다음과 같이 계산하였다.

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

본 실험에 사용된 효소는 pepsin(1 : 10,000 Nakari Chemicals Co),  $\alpha$ -chymotrypsin(51 Unit / mg Solid, from Bovine pancreas type II, Sigma Co.), papain(19 Unit / mg Solid, from papaya latex, Sigma Co.), protease (0.6 Unit / mg Solid, from *Aspergillus Saitoi*, Sigma Co.)였다.

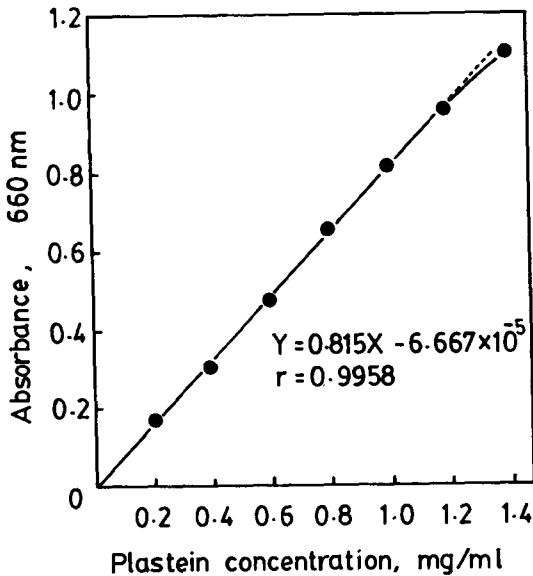


Fig. 1. Standard curve of absorbance vs plastein concentration for turbidometric plastein assay.

### plastein 반응에 미치는 인자

#### pH

동결건조한 가수분해 시료 2g에 증류수와 pH조절을 위해 가한 HCl 및 NaOH 첨가량을 합한 5ml를 가하여 기질농도가 40%(w/v)가 되도록 용해시켰다. 기질농도의 pH조절을 위해 사용된 0.5N HCl 및 0.5N NaOH양은 기질농도에 영향을 주지 않도록 예비실험을 통하여 결정하였다.

각 효소 20mg을 기질용액에 서서히 가하여 혼합한 후 37°C에서 6시간 동안 진탕항온수조에서 반응시켰다. 반응완료 후 반응액에 20% TCA용액 5ml를 가하여 균일하게 혼합한 후 원심분리(5,000rpm, 10min)하였다. 침전물에 10% TCA용액을 10ml가하여 균질기(Ace homogenizer AM 8)로 1,000rpm에서 3분간 균질화한 후 0.2ml를 분취하여 10% TCA용액 20ml에 혼합된 용액을 660nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 기질농도

가수분해물 1, 1.5, 2, 2.5, 3.0g을 50ml beaker에 취하여 일정량의 증류수를 가한 다음 기질액의 pH를 0.5N HCl으로 pepsin의 경우 pH 4,  $\alpha$ -chymotrypsin pH 7, protease pH 5 및 papain은 pH 6으로 조절하면서, 기질농도가 20, 30, 40, 50 및 60%가 되도록 증류수로 조절한 후 효소를 기질농도와의 비가 1 : 100이 되도록 각각 가한 다음 37°C에서 6시간 동안 반응시켰다. 흡광도의 측정에는 pH 조건에서와 같은 방법으로 하였다.

#### 반응시간

가수분해물 2.0g와 2.5g 각각 50ml beaker에 취하여 기질농도 조건에서와 같이 pH를 조절하면서 pepsin 및  $\alpha$ -chymotrypsin의 기질농도는 40%, protease 및 pepsin의 기질농도 50%가 되도록 증류수를 가한 다음 각 효소를 기질과의 농도비가 1 : 100이 되도록 가하여 서서히 혼합한 후 37°C에서 반응시간을 달리하여 반응시켰다. 흡광도는 pH조건에서와 같은 방법으로 측정하였다.

### 효소농도

시간조건에서와 같은 방법으로 기질용액을 만든 다음 여기에 효소를 각각 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 및 1.5%가 되도록 가하여 혼합한 후 37°C에서 24시간 동안 반응시킨 후 plastein 생성량을 pH조건과 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다.

### 온도

시간조절에서와 같은 방법으로 기질용액을 만들어 여기에 효소를 1%씩 가하여 혼합한 후, 진탕항온수조에서 온도를 30, 35, 40, 45, 55 및 60°C에서 각 시료를 24시간 반응시킨 후 plastein 생성량을 pH조건에서와 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다.

### 가수분해도

가수분해도가 각각 다른 가수분해물 시료를 시간조건과 같은 방법으로 기질용액을 만들어 여기에 각 효소를 1%씩 가하여 50°C에서 24시간 반응시킨 후 plastein 생성량을 pH조건과 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 정어리 분말단백질의 가수분해

정어리 분말단백질 60 g을 증류수 2.90 l에 분산시킨 후 2M HCl 용액 100ml를 가하여 pH를 1.6으로 조절하고 pepsin 1%를 가하여 시간변화에 따른 가수분해도를 Table 1에 나타내었다. Table 1에서

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

Time of incubation (hr)	Degree of hydrolysis(%)*
1	32.2
2	39.7
4	48.8
8	56.0
12	65.7
24	78.4
48	79.6

$$* : \text{Degree of hydrolysis} = \frac{10\% \text{ TCA soluble N}}{\text{Total N}} \times 100$$

볼 수 있는 바와 같이 가수분해시간이 길어짐에 따라 가수분해도가 증가하는 것을 볼 수 있으며, 24시간 동안 가수분해시켰을 때 78.4%였으며, 48시간 가수분해시켜도 24시간 분해시킨 것 보다 1.2%정도 증가되었을 뿐이다. 김과 이<sup>16)</sup>는 말쥐치의 마쇄육과 물을 1:1로 혼합하고, 여기에 pepsin 1%를 가하여 24시간 동안 가수분해시켰을 때 가수분해도가 73.2%였으며, 48시간 가수분해시킨 것은 76.6%였다고 하였다. Montecalvo 등<sup>17)</sup>은 가자미 분말단백질을 1%의 pepsin으로 가수분해하였을 때 18시간 가수분해 후에는 가수분해도의 차이가 크지 않았다고 보고한 바 있다.

Table 2는 정어리 분말단백질의 pepsin 가수분해 과정중 평균펩티드 사슬길이에 대한 가수분해시간의 효과를 나타낸 것이다. Table 2에서와 같이 펩티드 사슬길이는 유리아미노 질소와는 반비례하였으며,

**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 ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )	$\alpha$ -amino notrogen ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )	$\frac{\text{Free amino N}}{\text{Soluble N}} \times 100$	Est. peptide chain length*
1	552	36.6	6.5	15.1
2	683	56.7	8.3	12.0
4	772	76.8	9.9	10.1
8	790	88.8	11.2	8.9
12	812	109.2	13.4	7.4
24	959	179.8	18.7	5.3
48	1094	256.4	23.4	4.3

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

1시간 가수분해한 가수분해물의 평균펩티드 사슬길이는 15.1 아미노산 잔기였으나 24시간 후에는 5.3 아미노산 잔기를 나타내었다. Determann 등<sup>19)</sup>은 사슬길이가 서로 다른 합성 oligopeptide를 사용하여 plastein을 합성한 결과, peptide길이가 5~6아미노산 잔기일 때 가장 plastein합성율이 높았다고 보고하였다.

본 연구에서 합성기질로 사용한 정어리 단백질 가수분해물의 제조에 24시간 가수분해하는 것이 적합할 것으로 판단되었다.

Hale<sup>20)</sup>은 pepsin(효소:기질=1:100)으로 FPC를 24시간 가수분해한 후 평균펩티드 사슬길이는 3.5아미노산 잔기였다고 하였고, 김과 이<sup>18)</sup>는 말쥐치육 단백질을 pepsin으로 24시간 가수분해한 것은 아미노산 잔기는 6.2였다고 하였으며, Montecalve 등<sup>17)</sup>은 가자미 분말단백질을 pepsin으로 24시간 가수분해시켰을 때 펩티드 사슬길이가 5.7아미노산 잔기였다고 보고 한 바 있다. 이와 같이 효소에 의한 평균펩티드 사슬길이의 차이는 단백질의 성분조성 및 변성도가 효소에 의한 단백질 분해속도 및 분해정도에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

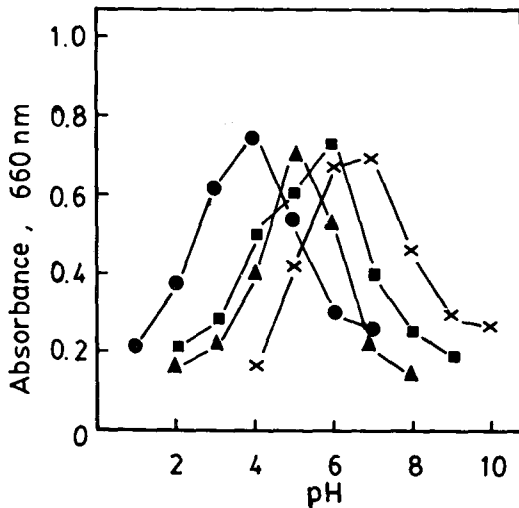


Fig. 2. Effect of pH on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate using pepsin(●) α-chymotrypsin(×), protease(▲) and papain(■). Enzyme/Substrate=1:100; substrate=40%; temperature=37°C. Incubation time=6hr.

plastein 합성반응의 최적조건

pH의 영향

효소농도 1%, 기질농도 40%(W/V), 반응온도 37°C에서 pH만을 변화시켜 6시간 동안 반응시켰을 때 pH변화에 따른 plastein 생성량의 흡광도를 Fig. 2에 나타내었다. 정어리 단백질의 가수분해물을 이용한 plastein합성반응을 위한 최적 pH는 pepsin, α-chymotrypsin, protease 및 papain의 경우 각각 4, 7, 5 및 6이었다. 김과 이<sup>18)</sup>는 말쥐치육 가수분해물로 부터 plastein 합성시 pepsin 및 α-chymotrypsin의 최적 pH는 각각 4 및 7이었고, papain과 protease는 pH 6에서 plastein 생성량이 가장 높았고, papain을 제외한 효소들의 가수분해 최적 pH와 plastein합성반응의 최적 pH는 서로 달랐다고 보고 하였고, Yamashita 등<sup>21)</sup>도 대두를 이용한 plastein 합성시 가수분해의 최적 pH와 plastein합성반응의 최적 pH는 서로 달랐다고 보고한 바 있다. Tauber<sup>22)</sup>는 α-chymotrypsin에 대한 plastein합성의 최적 pH는 7이었다고 하였으며, Yamashita 등<sup>21)</sup>은 α-chymotrypsin과 pepsin의 경우 각각 최적 pH가 5.5 및

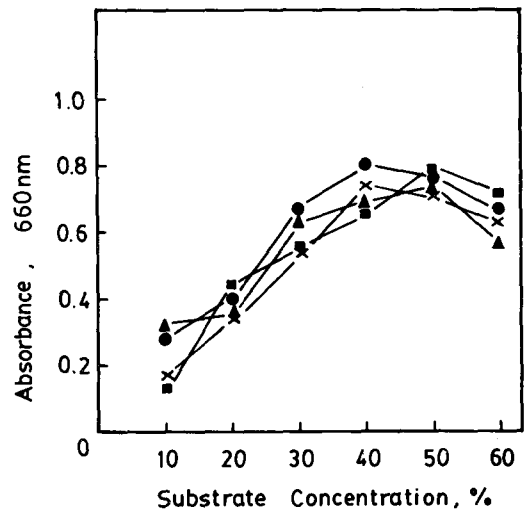


Fig. 3. Effect of substrate concentration on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme/Substrate=1:100, pH 4 for pepsin(●) pH 7 for α-chymotrypsin(×), pH 5 for protease(▲) and pH 6 for papain(■) temperature=37°C, Incubation time=6hr.

5.0였다고 보고한 바 있는데,  $\alpha$ -chymotrypsin의 경우 본 실험의 결과와 Tauber<sup>22)</sup>의 결과와는 일치하였으나 Yamashita 등<sup>21)</sup>의 결과와는 일치하지 않았다.

**기질농도의 영향**

pH를 최적조건에 맞추고 효소농도 1%, 온도 37°C에서 기질농도만을 변화시켜 6시간 반응시킨 후 기질농도 변화에 따른 plastein 생성량의 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 볼 수 있는 바와 같이 plastein 합성을 위한 최적기질 농도는 pepsin과  $\alpha$ -chymotrypsin의 경우 40%였으나 protease와 papain은 50%가 plastein 합성을 위한 최적조건이었다. 이와 같은 결과는 Fujimaki 등<sup>11)</sup> 및 Hofstein과 Lalasidis<sup>23)</sup>의 연구결과와 일치하였다.

**시간의 영향**

pH 및 기질농도를 앞의결과에 따라 최적조건에 맞추고, 효소농도 1%, 37°C에서 반응시간 변화에 따른 plastein 생성량의 흡광도를 Fig. 4에 나타내었다. 4종의 효소 전부가 반응시간 4시간까지 plastein

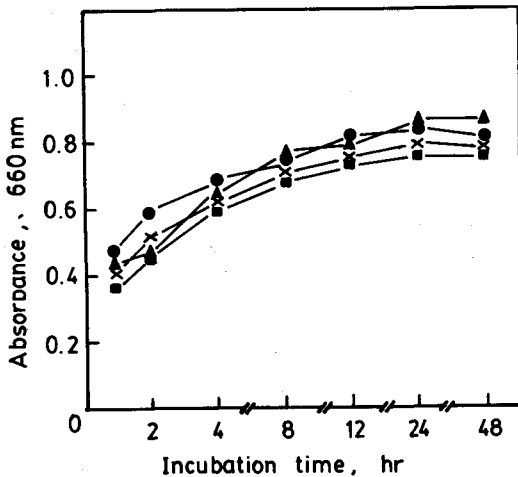


Fig. 4. Effect of incubation time on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme / Substrate=1 : 100 ; pH 4 for pepsin(●), pH 7 for  $\alpha$ -chymotrypsin(×), pH 5 for protease(▲) and pH 6 for papain(■), Substrate concentration=40% for pepsin and  $\alpha$ -chymotrypsin. 50% for protease and papain.

생성량이 비교적 급격히 증가하였으나 4시간 이후부터 24시간까지는 서서히 증가하였으며, 24시간 이후는 증가하지 않았거나 오히려 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 plastein 복합체의 해리 또는 효소적 가수분해에 기인한 것으로 생각된다. Yamashita 등<sup>24)</sup> 및 Fujimaki 등<sup>25)</sup>은 plastein이 완전히 회합하기 위해서는 항온처리 시간이 24시간 정도 되어야 한다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서도 24시간 항온처리를 최적조건으로 하였다.

**효소농도의 영향**

pH, 기질농도 및 반응시간을 앞의 결과에 따라 최적조건에 맞추고 효소농도만을 달리하여 37°C에서 24시간 동안 반응시켰을 때의 plastein 생성량에 대한 효소농도의 영향을 Fig. 5에 나타내었다. 4종류 효소 모두가 효소농도 1%까지는 plastein 생성량이 증가하였으나 그 이상의 효소농도에서는 거의 일정한 값을 나타내었다. 따라서 plastein 형성속도는 가한 효소량에 의존하는 것으로 볼 수 있다. Fujimaki 등<sup>25)</sup>은 plastein 합성시 경제적인 면에서 효소와 기질이 비가 1 : 100이 좋다고 제의한 바 있다.

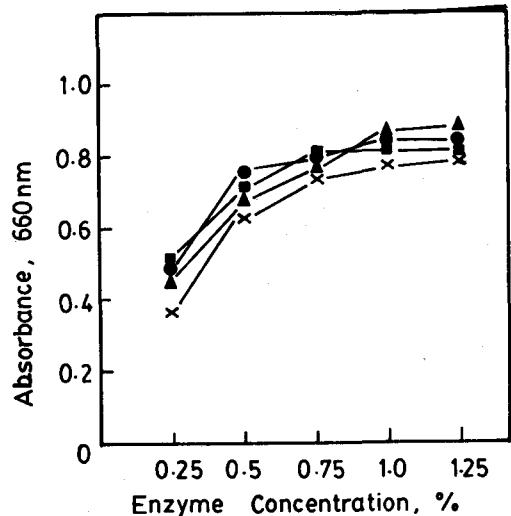


Fig. 5. Effect of enzyme concentration on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme / Substrate=1 - : 100 ; pH 4 for pepsin(●), pH 7 for  $\alpha$ -chymotrypsin(×), pH 5 for protease(▲) and pH 6 for papain(■), Substrate concentration=40% for pepsin and  $\alpha$ -chymotrypsin, 50% for protease and papain, temperature=37°C, and Incubation time=24hr.

본 실험에서도 1%의 효소 농도에서 24시간 항온 처리하는 것이 가장 적합하다고 판단되었다.

온도의 영향

pH, 기질농도, 시간 및 효소농도를 앞의 최적 조건에 맞추고, 온도만을 변화시켜 plastein을 합성시켰을 때 plastein 생성량에 대한 온도의 영향을 Fig. 6에 나타내었다. pepsin을 제외한 3종류의 효소는 50℃까지는 plastein 생성량이 증가하였으나 그 이상의 온도에서는 차차 감소하는 경향을 보였다. 그러나 pepsin의 경우는 37℃에서 비교적 plastein 생성량이 높았으나 50℃까지는 큰 차이는 볼 수 없었다. 대부분의 연구보고가 37℃에서 plastein을 합성하였으나 본 실험 결과가 plastein 합성온도는 50℃가 최적온도임을 알 수 있었다. 그러나 온도는 plastein 합성에 미치는 pH, 기질농도, 시간 등의 인자보다 크게 영향을 미치지 않았다.

Sukan과 Andrew<sup>26)</sup>는 카제인 및 skim-milk의 가수분해물로 부터 plastein 합성반응시 최적온도는 37℃, 24시간, 또는 50℃에서 4~6시간이었으며, 70℃에서도 plastein은 급속히 생성되었으나 수율이 좋지 않았으며, 20℃에서와 비슷한 수율이었다고 보고한

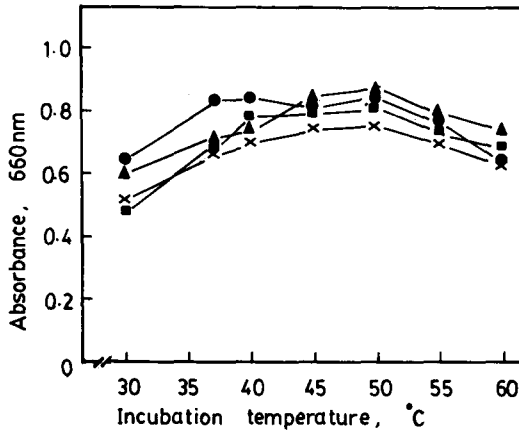


Fig. 6. Effect of incubation temperature on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme / Substrate=1 : 100 ; pH 4 for pepsin(●), pH 7 for α-chymotrypsin(×), pH 5 for protease(▲) and pH 6 for papain(■), Substrate concentration=40% for pepsin and α-chymotrypsin, 50% for protease and papain and Incubation time=24hr.

바 있다.

가수분해도의 영향

pH 및 기질농도를 앞의 최적조건에 맞추고, 효소 농도 1%로 하여 50℃에서 24시간 동안 항온 처리하였을 때 기질의 가수분해도가 plastein합성에 미치는 영향을 Fig. 7에 나타내었다. 기질인 가수분해물의 가수분해도가 60%이하일 때는 기질대조군으로 부터 나타나는 10% TCA 불용분의 탁도가 plastein시료에서 나타나는 탁도를 훨씬 능가하였다. 이와 같은 결과는 합성시료에 있어서 합성반응보다는 가수분해가 더욱 진행된 것으로 생각되었다. 그러나 가수분해도가 60%이상인 경우는 반응의 방향이 plastein 합성쪽으로 변화된 것을 볼 수 있었다. 가수분해도가 78.4%인 경우에는 24시간 동안 가수분해시킨 가수분해물의 plastein 생성량은 48시간 동안 가수분해시킨 가수분해물의 그것과 큰 차이는 없었다. 이와 같은 경향은 김과 이<sup>18)</sup>의 연구결과와 거의 일치하였

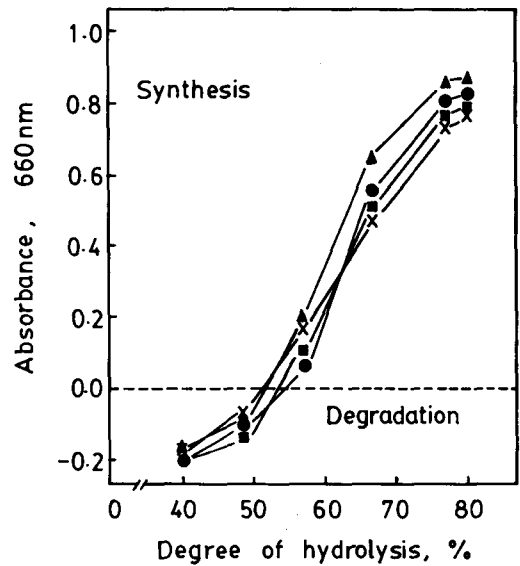


Fig. 7. Effect of the approximate degree of hydrolysis on plastein production from peptic hydrolysate of sardine protein concentrate.

Enzyme / Substrate=1 : 100(w / w) ; pH 4 for pepsin (●), pH 7 for α-chymotrypsin(×), pH 5 for protease (▲) and pH 6 for papain(■), temperature=50℃, Incubation time=24hrs.

다.

Yamashita 등<sup>24)</sup>은 대두 단백질의 plastein생성에 미치는 가수분해도의 영향을 평가하였는데 본 실험의 결과와 비슷한 양상을 나타내었으며, 가수분해도 및 pH가 plastein 합성반응에 가장 크게 영향을 미치는 인자가 된다고 보고한 바 있다.

### 요 약

어육 단백질의 가능성을 개선하기 위해 정어리 분말단백질의 pepsin가수분해물을 이용하여 plastein을 합성하기 위한 반응조건을 검토하였다.

plastein합성반응 최적조건으로서는 pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, protease(*Aspergillus saitoi*) 및 papain의 경우 pH는 각각 4, 7, 5 및 6, 기질농도는 pepsin과  $\alpha$ -chymotrypsin의 경우 40%였으나 protease와 papain은 50%였다. 온도는 4종의 효소 모두가 50℃였다. 기질의 가수분해도가 60%이상에서 plastein합성반응이 이루어졌으며, 가수분해도가 78.4% 이상이었을 때 plastein 생성량은 높았다.

(본 연구는 1987년도 산학협동재단의 학술연구비와 백양식품(주)의 matching fund의 지원으로 수행되었으며 이에 대하여 깊이 감사드립니다.)

### 문 헌

1. 이용호, 박영호, 변재형, 김세권, 양승택, 송영욱 : 정어리 분말 단백질 가공 및 이용에 관한 연구, 한국수산학회지, 71, 25(1978)
2. 이용호, 김세권 : 명태 및 고등어의 축육과 유사한 어육 단백질 농축물의 가공조건, 한국수산학회지, 12, 103(1979)
3. Hevia, P., Whitaker J.R. and Olcott H.S. : Solubilization of fish protein concentrate with proteolytic enzyme. *J. Agric. Food Chem.*, 24, 383 (1976)
4. Chen, L., Richardson T. and Amundson C.H. : Some functional properties of succinylated proteins from fish protein concentrate. *J. Milk Food Technol.*, 38, 89(1975)
5. Bhumiratana S., Hill Jr C.G. and Amundson C.H. : Enzymatic solubilization of fish protein concentrate in membrane reaction. *J. Food Sci.*, 42(4), 1016(1977)
6. Lee, K.H., Groninger H.S. and Spinilli J. : Acylation of fish protein : Effect of reaction conditions on products. *Marine Fisheries Review*, 43, 14(1981)
7. Quaglia, G.B. and Orban E. : Enzymatic Solubilization of proteins of Sardine by Commercial protease. *J. Sci., Food Agric.*, 38, 263(1987)
8. Arai, S., Yamashita M., Noguchi M. and Fujimaki M. : Isolation and Identification of Acidic Dipeptides Occurring in a Flavor potentiating Fraction from a fish protein Hydrolysate. *J. Agric., Food Chem.*, 23, 49(1975)
9. Umetsu, H. and Ichishima E. : Mechanism of digestion of bitter peptide from fish protein concentration by wheat carboxypeptidase. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 32, 281(1985)
10. Arai, S., Noguchi M., Kurosawa S. Kato H. and M. Fujimaki : Applying proteolytic enzyme on soybean. *J. Food Sci.*, 35, 392(1970)
11. Fujimaki, M., Yamashita M., Arai S. and Kato H. : Enzymatic modification of protein in food stuffs. I. Enzymatic proteolysis and plastein synthesis application for preparing bland protein-like substance. *Agric. Food Chem.*, 34, 1325 (1970)
12. Suzuki, T. : Manufacture of marine beef from fish protein. *Refregeneration*, 54, 19(1978)
13. Edwards, J. H. and Ship W.F. : Characterization of plastein reactor products formed by pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin and papain treatment of egg albumin hydrolysates. *J. Food Sci.*, 43, 1215 (1978)
14. Yamashita, M., Arai S., Matsuyama J., Gonda, M., Kato H. and Fujimaki M. : Enzymatic modification of proteins in food stuffs. 2. Phenomenal survey on  $\alpha$ -chymotrypsin plastein synthesis from peptic hydrolysate of soy protein. *Agric. Bio. Chem.*, 34, '84(1970)
15. Kang, C, K. and Ric E.E. : Degradation of various meat fractions by tenderizing enzyme. *J. Food Sci.*, 35, 563(1970)
16. Spies, T. R. and Chamber D.C. : Spectrophotometric analysis of amino acid and peptides with their copper salt. *J. Biol. Chem.*, 191, 787 (1951)
17. Montecalvo, J. JR., Constatinides S.M. and Yang C.S.T. : Enzymatic modification of fish from protein isolate : *J. Food Sci.*, 49, 1305(1984)
18. 김세권, 이용호 : 말취치육 단백질의 효소적 가수분해물을 이용한 plastein의 합성 및 그 물성 1. 말취치육 단백질의 가수분해조건 및 plastein의 합성조건. 한국수산학회지. 20(4), 282(1987)



19. Determann H., Bonhard K., Koehler R. and Wieland T. : Enzymatic degradation and resynthesis for protein improvement. In "Food proteins" (Ed) R. E. Feeny and J. R. Whitaker, Advances in Chemistry Series. 160, Washington, D. C. p.157.
20. Hale, M.D. : Making fish protein concentrate by enzymatic hydrolysis. *NOAA Technical Report*. NMFS SSRP-657, 1-32(1972)
21. Yamashita, M., Tsai S.J. Arai S. Kato H. and Fujimaki M. : Enzymatic modification of their pH dependence. *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 86(1971)
22. Tauber, H. : Synthesis of protein-like substance by  $\alpha$ -chymotrypsin. *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 1288(1951)
23. Hofsten, B. and G. Lalasidis : Protease catalyzed formation of plastein products and some of their properties. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 460 (1976)
24. Yamashita, M., Arai S., Matsuyama J., Gonda M., Kato H. and Fujimaki M. : Phenomenal survey on  $\alpha$ -chymotrypsin plastein synthesis from peptic hydrolysate of soy protein. *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1484(1970)
25. Fujimaki, M., Arai S. and Yamashita M. : Enzymatic degradation and resynthesis for protein improvement. In "Food proteins Improvement through chemical and enzymatic modification"(Ed) R. E. Feeny and J. R. Whitaker, Advances in Chemistry Series 160, Washington, D.C. 151(1977)
26. Sukan, G. and Andrew A.T. : Application of the plastein reaction to casein and to skim-milk powder. I. Protein hydrolysis and plastein formation. *J. Dairy Res.*, **49**, 265(1982)

(Received August 8, 1988)