

어피의 효소적 가수분해물을 이용한 천연조미료의 개발

김 세 권 · 양 현 필 · *이 응 호

부산수산대학교 화학과

*부산수산대학교 식품공학과

The Development of a Natural Seasoning Using the Enzymatic Hydrolysate of Fish Skin

Se-Kwon Kim, Hyun-Pil Yang and Eung-Ho Lee*

Dept. of Chemistry, National Fisheries University of Pusan

*Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan

ABSTRACT

A study on the optimum hydrolysis conditions of fish skin through the aid of enzymes and the development of a natural seasoning using the hydrolysate has been carried out for the effective utilization of fish skin. Using the "pH-drop" techniques the collagenase and pronase were identified as most suitable for this purpose. The K_m and V_{max} values of pronase were 1.82 mgN/ml and 0.06 mgN/ml/min, respectively. The hydrolysis conditions of the cod skin for the pronase were as follows: reaction temperature, 50°C; reaction time, 3hrs; pH 6; enzyme concentration, 0.03%. The degree of hydrolysis at these conditions was 76.8%. But after hydrolyzing cod skin with collagenase for 1hr, when the pronase was treated, the degree of hydrolysis was 83.13%. The molecular weight of the hydrolysate was 8,000 daltons. Among the amino acids in the hydrolysate, glycine(27.95%), glutamic acid(10.94%), proline(7.39%), aspartic acid(9.47%) and serine(7.39%) were responsible for 64.23% of the total amino acids. But valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine and histidine having a bitter taste were only 13.05%. From the results of the sensory evaluation, the imitation sauce which was made of 20% fermented soy sauce prepared from the hydrolysate was at least similar to the traditional soybean sauce in product quality. The complex seasoning containing 31.7% of the hydrolysate was nearly equal to complex seasonings on the market, too).

서 론

우리나라 수산물의 총생산량(1989년도)은 331만 9천톤이고 여기에 수입량을 합치면 총공급량은 392만 2천톤이었다. 이 중 가공원료로 이용된 것은 총공급량의 85.1%, 선어(鮮魚)로 이용된 것은 14.9%로 가공율이 매년 현저하게 높아가고 있다(1).

일반적으로 수산가공 공장에서 원료를 처리할 때 육을 채취한 다음 부산물로 얻어지는 어체의 두부, 어피, 내장, 뼈 등의 잔사가 전어체의 절반이상을 차지한다. 그리고 가식부(可食部)라도 수세 등의 공정에 의해 많은 수용성 단백질, scum(부상분리물) 및 어유 등이 폐기액과 함께 씻겨져 나간다. 그래서 이러한 수산부산물 중 수산 폐기액에 대해서는 이를 효율적으로 이용하기

위한 방안으로 수산가공폐기물 중 BOD 및 COD 상승의 직접적인 원인이 되어 환경문제를 야기시키는 수용성 단백질을 천연응집제나 산, 알칼리 응집제에 의한 회수와 식용화(2)는 실용규모의 scum 회수와 사료로서의 이용 및 어유의 회수 이용이 강구되고 있고(3), 또한 이들 폐액을 효모로써 처리하여 BOD를 낮추면서 이때 대량 생산되는 효모를 다시 회수하여 SCP(single cell protein)로서 식량이나 사료로서 이용하려는 연구(4)등이 활발히 진행되고 있다.

Onoue와 Riddle(5)은 어류폐기물의 펩신 가수분해물을 기질로 하여 합성효소로 pH 5에서 plastein의 합성에 대하여 보고하였으며, Raksakulthai 등(6)은 방어(Male capelin)로 부터 효소를 이용하여 fish sauce 제조에 대하여 연구한 바 있다.

우리나라 수산가공 공장에서 어피는 연간 약 30만톤 이상이 폐기되고 있는 실정(7)이나 이에 대한 효율적인 이용에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다.

어피에는 콜라겐 단백질이 80%이상 함유되고 있으며, 그 아미노산 조성 중 glutamic acid, glycine, proline 등 3종의 아미노산 함량이 매우 높다(8). 이들 아미노산은 감칠맛과 단맛을 나타내는 주요 아미노산이다. 일반적으로 단백질을 효소로 가수분해시킨 가수분해물은 쓴맛으로 인하여 이용에 많은 제약과 받고 있다(9).

본 연구에서는 어피분해에 효소를 이용하여 가능한 단시간에 분해시킬 수 있는 조건을 구명하였으며 아울러 그 가수분해물을 이용한 천연조미료의 개발도 검토하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용한 재료는 부산시 사하구 장림동 소재 삼호물산(주)에서 구입한 대구피를 이물질(異物質)을 제거하기 위해 차가운 물로 5회 수세한 후 일정크기(100×50×10cm)의 상자에 담아 -60℃에서 동결시킨 다음 세절기로 가로 세로 1cm정도 크기로 잘라 실험에 사용하였다.

pH-drop법에 의한 효소의 선별

대구피에 대한 각종 단백질 분해효소의 활성을 비교 검토하기 위해 Hsu 등(10)의 pH-drop법을 이용하였다. 먼저 1%(w/v) 대구피 용액 50ml를 만들어 각각의 효소용액 (S/E=21.3, w/w) 5ml를 만들어 기질용액에 가하여 감소되는 pH를 pH메터에 연결된 자동기록계로 10분간 연속적으로 측정하여 pH의 감소가 가장 큰 것을

분해효소로 선정하였다.

실험에 사용된 효소는 collagenase(400units/mg solid, from *Clostridium histolyticum* type 1A, Sigma Co.), trypsin (9,900 BAEE units/mg solid, from Bovine pancreas type I, Sigma Co.), pronase (5.2 units/mg solid, from *Streptomyces griseus* type X IV, Sigma Co.)였다.

Kinetics상수 측정

Pronase로 대구피 가수분해시 km, V_{max} 측정은 기질농도 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 및 1%(w/v)인 기질용액 100ml를 반응기에 넣고 50℃로 가열한 다음 0.1N NaOH로 pH 8로 조절하였다. 반응기질에 대해 효소용액 0.02 mg/ml를 가한 다음 10분 간격으로 1시간 동안 계속 자동피펫으로 가수분해물 2ml를 취하여 20% 삼염화아세트산(TCA) 용액 2ml가 들어있는 시험관에 넣고 vortex mixer상에서 1분간 교반한 후 원심분리(1,500×g, 10 min)하였다. 상층액 3ml를 취하여 질소량을 Kjeldahl법으로 측정하였다.

가수분해 조건

효소에 의한 대구피의 가수분해조건(온도, 시간, pH, 효소농도)은 김 등(11)의 방법을 수정하여 다음과 같이 하였다.

Fig. 1에 나타낸 pH 자동조절기(Coleparmer Instrumental Co., pH controller Model 5652-50)가 연결된 반응기에 4%의 기질용액을 넣고 효소를 가하여 pH 자동조절기로 pH를 일정하게 유지하면서 반응온도, 반응시간, pH 및 효소농도를 각각 변화시키면서 가수분해하였다. 분해 완료후 분해액 3ml를 취한 다음 20% 삼염화아

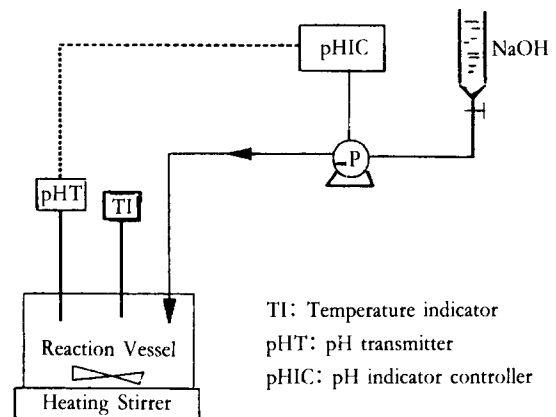


Fig. 1. Batch reactor.

세트산(TCA) 3ml와 혼합하여 원심분리(1,500×g, 10 min)한 후 Kjeldahl법으로 상층액의 가용성 질소를 정량하였다. 가수분해도는 다음과 같이 나타내었다.

$$\text{가수분해도}(\%) = \frac{\text{가용성 질소}}{\text{총 질소}} \times 100$$

이때 가용성 질소는 10% TCA 용액에 침전되지 않은 질소로 하였다.

가수분해물의 제조

반응기에 기질 0.4kg을 넣고 증류수 9.6l를 가하여 교반하면서 50℃로 가열한 다음 2N NaOH로 pH8로 조절하였다. 여기에 collagenase를 기질과의 비가 0.03 : 100(w/w)이 되도록 기질용액에 가하고 pH 자동조절기를 이용하여 pH를 일정하게 조절하면서 1시간 동안 분해시킨 다음 2N HCl로 pH를 6으로 조절한 후 다시 동량의 pronase로 3시간 분해시킨 후 100℃에서 10분간 가열하여 효소를 불활성화 시켰다.

가수분해물을 원심분리(10,000×g, 10min)한 후 상층액을 동결건조(DURA-DRY corrosion resistant freezer-dryer, F. T. S. System Inc.)하여 5℃에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

분자량 측정

SDS-PAGE 전기영동법: Weber와 Osborn(12)의 방법에 따라 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)로 다음과 같이 측정하였다. Polyacrylamide gel 농도를 15%로 하여 sample당 8mA의 전류를 통전시킨 후 고정액(매탄용: 빙초산: 물=400 ml: 70ml: 530ml)에 4시간 동안 고정시킨 다음 염색액(고정액: coomassie brilliant blue-R=500ml: 1.25g)에 담구어 2시간 동안 염색시키고, 탈색액(매탄용: 빙초산: 물=50ml: 75ml: 875ml)에 넣어 band가 선명해 질때 까지 탈색시켜 mark protein과 비교하여 분자량을 측정하였다. Mark protein은 carbonic anhydrase(M.W. = 29,000), cytochrome C(M.W. = 12,400), aprotinin(M.W. = 6,500), insulin(M.W. = 5,700)을 사용하였다.

Gel 여과법: Gel 여과는 Heck(13) 및 Vega(14)의 방법에 따라 동결건조한 가수분해물 0.1g을 1ml의 0.02M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해시킨 후 동일한 buffer로 평형화된 sephadex G-50 column(0.9×60 cm)으로 여과하였으며, 용리액의 단백질 흡광도는 분광광도계(Pyecunicon pH 8600 UV/VIS Model 8610)를 사용하여 280nm에서 흡광도를 측정하였다. 분자량 측정에 사용된 표준물질은 cytochrome C(M.W. = 12,400), aprotinin (M.W. = 6,500), insulin(M.W. = 5,700)이었

며, 각 표준물질 0.01g씩을 각각 1ml의 0.02M potassium phosphate buffer에 용해시킨 후 gel 여과하여 용리된 용리액은 위와같은 방법으로 측정하였다. 분자량 측정용 표준곡선은 Andrew(15)의 방법에 따라 작성하였다.

아미노산 정량

동결건조한 대구피 가수분해물 50mg을 ampoule에 넣고 6N HCl 2ml를 가하여 봉한 후 110℃의 sand bath에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압건조하여 HCl를 제거한 다음 물 10ml를 가하여 다시 감압건조하여 구연산 완충액(pH 2.2)으로써 25ml로 하였다. 이중 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기(LKB 4150-α)로써 분석하였다. Hydroxyproline 정량은 Fein-stein 과 Buck(16) 방법에 따라 측정하였다.

대구피 가수분해물을 이용한 모조간장 및 복합조미료의 제조

모조간장의 제조: 모조간장을 제조하기 위해 먼저 진공동결건조된 대구피 가수분해물 10.0g, 식염 10.0g, 설탕 3.0g, MSG(monosodium glutamate) 0.5g, 카라멜분말(명신화성 Co.) 0.1g, 사과식초(미원 Co., 총산도: 6.5~7.0%) 3.0ml, 마늘분말(명신화성 Co.) 0.05g, 검은후추분말(명신화성 Co.) 0.1g, 및 감초분말(보락 Co.) 0.2g 모두를 물 100.0ml에 녹였다. 이를 열처리(끓기 시작한 후 5분간) 하여 식힌 후 여과포(cheesecloth)로 여과하여 얻어진 여액을 모조간장 제조용 원액으로 하였다. 이 원액과 시판되고 있는 100% 양조간장을 8:2(v/v)의 비율로 혼합하여 모조간장으로 하였다.

복합조미료의 제조: 진공동결건조된 대구피 가수분해물 35.0g, 볶음소금(태경농산 Co.) 30.0g, 설탕 15.0g, MSG(monosodium glutamate) 15.0g, 글루코오스(태경농산 Co.) 6.0g, 마늘분말(명신화성 Co.) 0.5g, 양파분말(명신화성 Co.) 0.5g, 검은후추분말(명신화성 Co.) 0.5g, 생강분말(동도산업 Co.) 1.0g, 고추장분말(태경농산 Co.) 5.0g, 된장분말(태경농산 Co.) 2.0g을 혼합, 마쇄하여 대구피 가수분해물 복합조미료로 하였다.

관능검사

10인의 관능검사요원을 구성하여 5단계평정법(5점: 매우좋다, 4점: 좋다, 3점: 보통이다, 2점: 나쁘다, 1점: 매우 나쁘다)으로 제조된 모조간장제품(imitation sauce, IS)과 3종류의 시판간장 S₁, S₂, 및 S₃를 맛, 냄새, 색 및 종합평가면에서 관능평가한 후 최소유의차검정(17) 하였다. 여기서 시판간장 S₁, S₂는 산분해간장 80%와 양조간

장 20%로, 시판간장 S₃는 산분해간장 50%와 양조간장 50%로 구성되어 있는 간장이었다. 그리고 제조된 대구 피 가수분해물 복합조미료(cod skin hydrolysate complex seasoning, CCS)는 시판 복합조미료 즉, 멸치 복합조미료 (anchovy complex seasoning, ACS), 조개복합조미료 (shellfish complex seasoning, SCS) 및 쇠고기 복합조미료 (beef complex seasoning, BCS)와 함께 관능평가 하였다. 이때 관능평가용 각 시료는 물 100ml을 가열하여 끓기 시작한 후 복합조미료 6.0ml을 가하고 계속 3분간 끓여서 제조하였으며 관능검사 방법은 간장의 경우와 동일하게 하였다.

결과 및 고찰

효소 선별(Enzyme selection)

pH-drop법을 이용한 1% 대구피 용액에 대한 collagenase, trypsin, pronase, collagenase/trypsin, collagenase/pronase, collagenase/pronase(collagenase 가한 5분후 pronase 첨가)의 활성을 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에서와 같이 모든 효소들이 반응시간이 길어짐에 따라 pH가 감소하는 경향을 보였다. Collagenase를 가하고 5분후에 pronase를 가하였을 때 pH 6.52로 가장 낮았으나 이들을 동시에 가한 경우는 pH가 6.69였다. Pronase 만을 단독으로 가했을 때도 pH는 6.60였으므로 효소로 어피를 가수분해할 경우 collagenase로 1차 처리한 후 pronase로 2차 처리하는 것이 좋다고 판단된다.

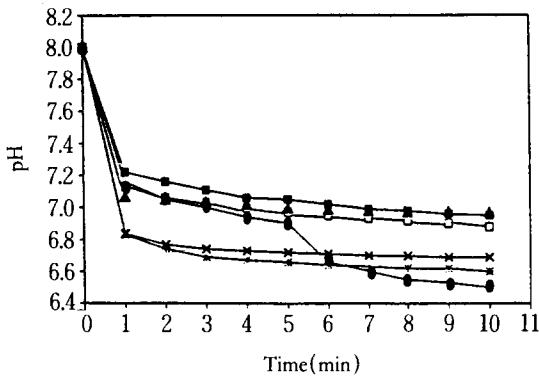


Fig. 2. Comparison of the proteolytic activity of collagenase [■], trypsin [▲], pronase [×], Coll+Tryp[□], Coll+Pro [×] and Coll+Pro⁰ [○] on 1%(w/v) cod skin at 50°C and S/E = 21.3(w/w).

(1) After reacting collagenase, add pronase

Kinetics상수 측정

반응기에서의 기질농도 변화에 따른 효소 활성을 측정하여 Lineweaver-Burk 방법에 따라 plot한 결과는 Fig. 3과 같다. 낮은 기질농도에서 계산된 pronase의 대구피에 대한 K_m 및 V_{max}값은 각각 1.824mgN/ml(1.012%), 0.057mgN/ml/min였다. Bliss와 Hultin(18)은 pronase에 의한 casein 가수분해에 있어서 K_m값은 1.67%였다고 보고하였고, Deeslie(19)는 pronase로 대두단백질을 가수분해시 K_m 및 V_{max}값은 각각 1.15%, 0.303mgN/ml/min였으나 가열(98-100°C, 30min)한 시료에서는 각각 0.75%(w/v), 0.125mgN/ml/min였다고 보고한 바 있다. Mallya 등(20)은 collagenase에 의한 collagen의 가수분해시 V_{max} 및 K_m값은 각각 130μg/min/mg protein, 1.0μM였다고 보고한 바 있다.

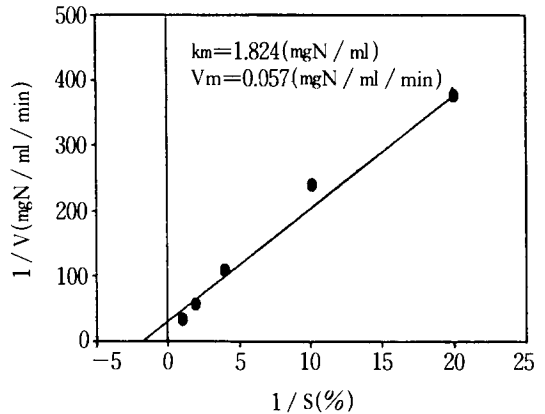


Fig. 3. Lineweaver-Burk plots for Pronase-cod skin hydrolysis in a batch reactor. (pH 8, T=50°C, E=0.02mg/ml)

가수분해 조건

반응온도: 예비실험 결과에 따라 기질농도를 4%로 하여 pH를 8로 조절하고 pronase를 0.03% 가하여 각 온도별로 1시간 가수분해시킨 결과는 Fig. 4와 같다. Fig. 4에서와 같이 50°C에서 가장 높은 가수분해도를 나타내었으며 55°C이상에서는 가수분해도가 현저히 감소하였다. 三擇 등(21)은 닭피(皮)를 40°C에서 collagenase로 3시간 분해시킨 후 pronase로 다시 3시간 분해시켰을 때 분해율은 94%였다고 보고하였으며, 金 등(11)은 정어리 배육(背肉)과 물의 혼합물에 육중량에 대하여 0.05%의 pronase, bromelain, protease 및 ficin을 첨가하여 4시간 가수분해시킨 결과 모든 효소가 55°C 부근에서 가장 높았다고 하였다.

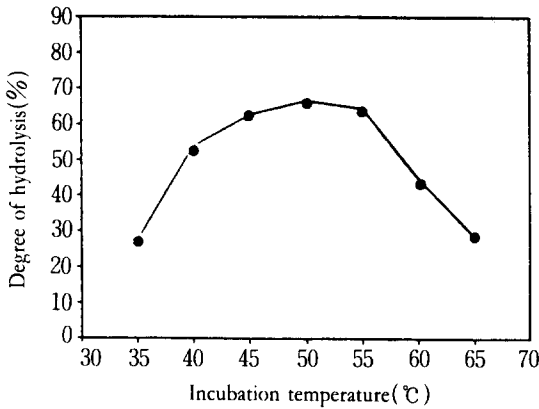


Fig. 4. Effect of incubation temperature on the hydrolysis of cod skin with 0.03% of pronase for 1hr at pH 8.

반응시간: 4% 기질용액에 0.03%의 효소를 가하고 50°C에서 반응시간을 변화시켜 가수분해도를 측정 한 결과는 Fig. 5와 같다. Fig. 5에서와 같이 반응시간 1시간 까지는 가수분해도가 비교적 급격히 증가하다가 반응시간 3시간까지 약간 증가하였으며 그 이후에는 거의 일정 하였다. Cheftel 등(22)은 pronase로 FPC(fish protein concentrate)를 가용화 할 때 반응시간 2시간까지 가수분해도가 증가하였으나 그 이후 40°C이상에서는 큰 차이가 없었는데 그 이유는 고온(40-55°C)에서 pronase의 급속한 분해에 기인된다고 보고한 바 있다.

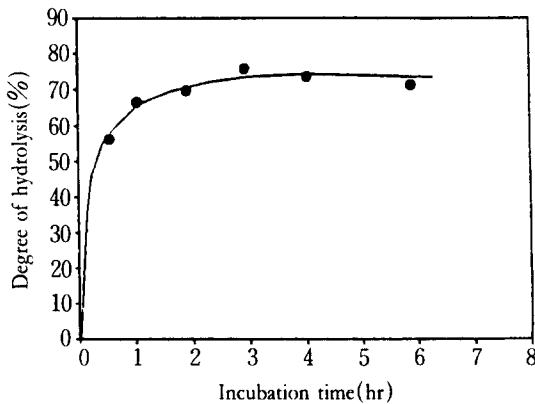


Fig. 5. Effect of incubation time on the hydrolysis of cod skin with 0.03% of pronase at 50°C and pH 8.

pH: 4% 기질용액에 pronase 0.03%를 가하고 앞의 결과에 따라 온도 50°C, 반응시간 3시간으로 하고 pH만을 변화시켜 가수분해도를 측정 한 결과는 Fig. 6과 같다. Fig. 6에 나타난 바와 같이 pH 6에서 가수분해도가 가장 높았으나 pH 9 이상에서는 가수분해도가 현저히 감소하였다. 이 같은 결과는 Fujii와 Kobayashi(23)가 hide collagen을 pronase로 가용화 할 때 pH 6에서 가장 높은 수율을 나타냈다는 결과와 일치하였다. Burleigh 등(24)은 pronase에 의한 collagen의 가용화는 pH 8보다 pH 5-6에서 효과적이었으며 그 이유는 산성 pH에서 collagen 섬유유 'opening up'에 기인된다고 보고한 바 있다.

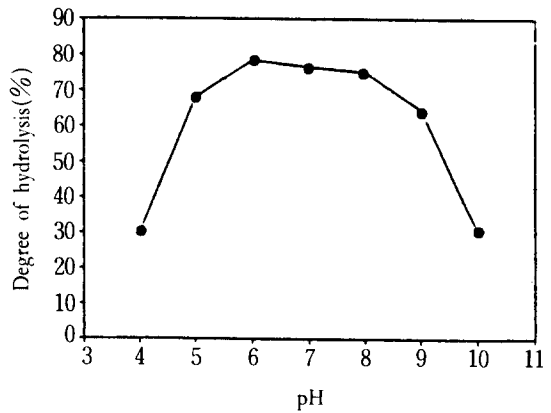


Fig. 6. Effect of pH on the hydrolysis of cod skin with 0.03% of pronase for 3hrs at 50°C.

효소농도: 대구피 가수분해시 온도, 시간 및 pH를 앞의 결과에 따라 최적조건으로 하고 첨가효소농도만을 달리하였을 때의 가수분해도를 Fig. 7에 나타내었다. 효소농도가 0.01%까지는 효소농도가 증가함에 따라 가수분해도가 급격히 증가하였으나 0.05%까지는 매우 완만히 증가하는 경향을 나타내었다. 효소농도 0.03%에서의 가수분해도는 78.8%였다. 그러나 대구피를 collagenase로 1시간 가수분해후 pronase로 처리한 경우 가수분해율은 90.83%였다. Fujii와 Kobayashi(23)는 2% pronase로 hide collagen을 40시간 가수분해한 결과 88%가 분해되었다고 하였고, Drake 등(25)은 1% pronase로 calf skin-insoluble collagen을 pH 5.2 및 pH 7.3에서 12시간 분해한 결과 분해율이 각각 99% 및 87%였다고 보고하였다.

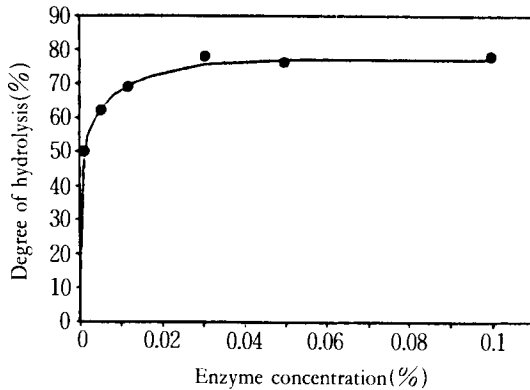


Fig. 7. Effect of enzyme concentration on the hydrolysis of cod skin with pronase for 3hrs at 50°C and pH 6.

분자량

대구피 가수분해물의 분자량을 추정하기 위하여 carbonic anhydrase(M.W. = 29,000), cytochrome C(M.W. = 12,400), aprotinin(M.W. = 6,500), insulin (M.W. = 5,700) 등의 mark protein을 대조구로 하여 SDS-PAGE 전기영동법으로 분석한 결과는 Fig. 8과 같다. Fig. 8에서 보는 바와 같이 collagenase로 가수분해시킨 것은 10,000~20,000까지의 범위에 분포되어 있고 pronase로 처리한 것은 15,000정도가 주종을 이루고 있으나 collagenase로 1시간 분해 후 pronase로 다시 3시간 반응시킨 가수분해물의 분자량은 7,000~10,000 사이에 분포되어 있는 것을 알 수 있었다. 이를 보다 정확한 분자량 분포를 알기 위해 Gel 여과법으로 분자량을 측정한 결과(Fig. 9), 분자량 8,000 영역에서 주종을 이루고 있었고 유리아미노산은 존재하지 않았다. 콜라겐중에는 glycine-glycine, glycine-proline 사슬의 절단이 곤란하기 때문에 casein 단백질이나 gluten 단백질처럼 분해율을 높일 수 없다 (26).

아미노산 분석

대구피 가수분해물의 아미노산 조성을 분석한 결과는 Table. 1과 같다. 단맛을 갖는 아미노산인 glycine(27.95%)과 alanine(6.32%)이 전체아미노산의 34.27%를 차지하고 있으며, 이외에 proline(10.48%), hydroxyproline(3.52%), serine(7.39%), lysine(3.62%)도 단맛을 나타내는 아미노산들이다. 새우류의 단맛을 기조로한 맛과 glycine, alanine, proline, serine 등의 단맛 아미노산의 함량과의 사이에는 상관관계가 있고 맛이 좋은 새우일수록

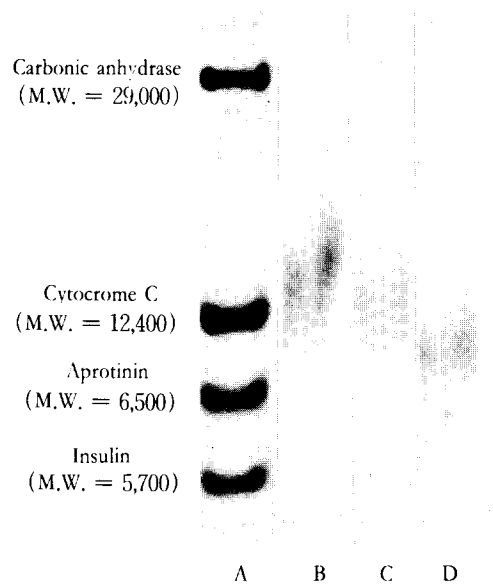


Fig. 8. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) for hydrolysate of cod skin. (pH 7, 8mA per sample for 12hrs, 15% polyacrylamide gel)

- A: Mark protein,
B: Collagenase hydrolysate,
C: Pronase hydrolysate,
D: Coll+Pro hydrolysate

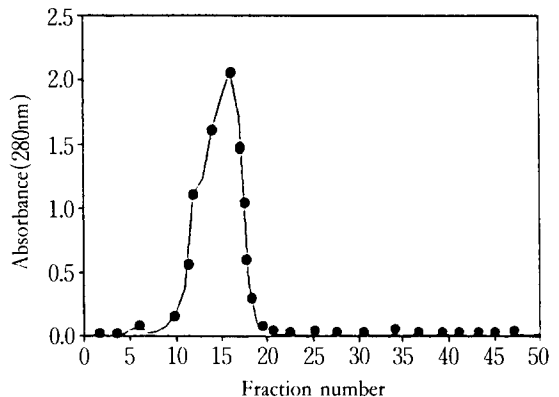


Fig. 9. Gel filtration of hydrolysate of cod skin on a sephadex G-50 column (0.9×60cm). (eluent: 0.02M potassium phosphate buffer(pH 7.5), flow rate: 20ml / hr, fraction volume: 3ml)

Table 1. Amino acid composition of cod fish hydrolysate

Amino acid	Content(%)
Hydroxyproline	3.52
Aspartic acid	7.47
Threonine	3.28
Serine	7.39
Glutamic acid	10.94
Proline	10.48
Glycine	27.95
Alanine	6.32
Methionine	2.48
Valine	1.90
Isoleucine	1.83
Leucine	3.43
Tyrosine	1.14
Phenylalanine	1.85
Histidine	1.56
Lysine	3.62
Arginine	4.83

이들 아미노산이 많이 함유되어 있다고 보고되어 있다 (27). Glutamic acid(10.94%), aspartic acid(7.47%)는 감칠맛과 신맛을 갖는 아미노산이며, 쓴맛을 나타내는 valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, arginine 등의 함량은 전체아미노산에 대해 17.88%에 불과하였다. 특히, 쓴맛을 나타내는 arginine은 감칠맛 아미노산: 단맛 아미노산: 쓴맛 아미노산의 비가 2:2:1로 될 때 오히려 좋은 맛의 느낌을 갖게 해준다고 한다(28). Adler-Nissen(29)은 단백질의 가수분해물의

쓴맛은 사용한 효소보다는 단백질에 들어 있는 소수성 아미노산의 함량과 관계가 있다고 보고한 바 있다.

대구피 가수분해물을 이용한 모조간장 및 복합조미료의 제조

모조간장 제조시 첨가하는 대구피 가수분해물의 양을 결정하기 위해 첨가농도에 따라 모조간장의 관능검사 결과는 Table. 2와 같다. 물 100.0ml에 다른 원료와 같이 첨가하는 대구피 가수분해물의 양을 5.0g, 10.0g 및 15.0g씩 첨가했을 경우 1.0% 유의 수준내에서 관능적으로 유의차가 없었고 무첨가구와는 유의차가 있었다. 이처럼 첨가구들끼리는 관능적으로 서로 유의차가 없었기 때문에 경제적 및 영양적인 면만을 고려하여 첨가량을 10.0g으로 결정하였다. 첨가량을 10.0g으로 하였을 때 모조간상원액 중의 총질소량은 약 1.2%이다. 왜냐하면 대구피 가수분해물의 총질소량이 15.1%이고 모조간상원액 중 가수분해물이 차지하는 비율이 7.9%(w/w)이기 때문이다. 그리고 우리나라 간장 규정에 의하면 총질소 함량이 0.6% 이상이어야 한다고 하는데 제조된 모조간상원액의 총질소 함량은 이에 비하면 2배가 되는 셈이다.

모조간장과 세 종류의 시판간장을 관능검사한 결과는 Table. 3과 같다. 모든 관능평가 항목에서 가장 좋은 점수를 얻은 제품은 시판간장 S₁이었으며 가장 낮은 점수를 얻은 제품은 시판간장 S₃였다. 모조간장 IS와 시판간장 S₁, S₂를 비교해 보면 냄새면에서는 시판간장 S₁이 가장 좋았으나 맛, 색 및 종합평가에서는 5% 유의 수준내에서 서로 유의차가 없었다. 한편, 대구피 가수분해물을 원료로 제조한 복합조미료(CCS)와 시판 멸치복합조미료(ACS), 조개복합조미료(SCS) 및 쇠고기복합조미료(BCS)의 관능검사 결과는 Table. 4와 같다. 색과 냄새에 있어서는 전제품이 1.0% 유의수준내에서 유의차

Table 2. Sensory evaluations of imitation sauces containing different contents of cod skin hydrolysate

Content** (g)	Mean score*		
	Taste	Color	Odor
0	2.5 ^b	3.7 ^a	3.1 ^a
5	3.8 ^a	3.8 ^a	3.3 ^a
10	3.7 ^a	3.8 ^a	3.2 ^a
15	3.8 ^a	3.7 ^a	3.3 ^a

* Means within each column followed by the same letter are not statistically different (P<0.01).

1-5 scale : 5 : very good, 4 : good, 3 : acceptable, 2 : poor, 1 : very poor

** The content of cod skin hydrolysate dissolved with other raw materials in 100.0ml water.

Table 3. Sensory evaluations of the various sauces

Product**	Mean score*			
	Taste	Color	Odor	Overall acceptance
IS	3.8 ^a	3.7 ^a	3.5 ^b	3.8 ^a
S ₁	4.0 ^a	3.9 ^a	4.1 ^a	4.0 ^a
S ₂	3.8 ^a	3.7 ^a	3.4 ^b	3.7 ^a
S ₃	2.8 ^b	2.5 ^b	2.6 ^c	2.6 ^b

* Means within each column followed by the same letter are not statistically different ($P < 0.05$).

1-5 scale : 5 : very good, 4 : good, 3 : acceptable, 2 : poor, 1 : very poor

**IS: imitation sauce(liquor: fermented soy sauce=8:2, v:v)

The liquor was prepared from 10.0 g cod skin hydrolysate by dissolving with 10.0 g NaCl, 3.0 g sucrose, 0.5 g monosodium glutamate, 0.1 g caramel powder, 3.0ml fermented vinegar, 0.05 g garlic powder, 0.1 g black pepper powder, and 0.2 g licorice powder in water 100.0ml, boiling for 5min and filtering with cheesecloth.

S₁, S₂, S₃: three kinds of soy sauce on the market (S₁, S₂: 80% chemical soy sauce + 20% fermented soy sauce, S₃: 50% chemical soy sauce + 50% fermented soy sauce).

Table 4. Sensory evaluations of various complex seasonings

Product**	Mean score*			
	Taste	Color	Odor	Overall acceptance
CCS	3.7 ^b	2.8 ^a	3.5 ^a	3.6 ^b
ACS	3.6 ^b	2.6 ^a	3.4 ^a	3.5 ^b
SCS	3.7 ^b	2.6 ^a	3.5 ^a	3.5 ^b
BCS	4.5 ^a	2.7 ^a	3.9 ^a	4.3 ^a

* Means within each column followed by the same letter are not statistically different ($P < 0.01$).

1-5 scale : 5 : very good, 4 : good, 3 : acceptable, 2 : poor, 1 : very poor

**CCS: the cod skin hydrolysate complex seasoning prepared from 35.0 g cod skin hydrolysate by mixing and grinding with 30.0 parching salt, 15.0 g sugar, 15.0 g monosodium glutamate, 6.0 g glucose, 0.5 g garlic powder, 0.5 g onion powder, 0.5 g black pepper powder, 1.0 g ginger powder, 5.0 g kochujang(fermented hot pepper~soybean paste) powder, 2.0 g soybean paste and 2.0 g soybean sauce powder.

가 없었고, 맛과 종합평가면에서 살펴보면 CCS는 BCS 보다는 못하였지만 ACS 및 SCS와는 1.0% 유의수준내에서 유의차가 없었다. 이와같은 결과들을 종합해 볼 때 대구피 가수분해물을 이용해 제조된 모조간장 IS와 복합조미료 CCS는 시판간장제품이나 복합조미료에 비해 손색이 없는 제품임을 알 수 있다.

단백질 가수분해물은 각종 가공식품이나 삼푸, 화장품 등 기타 여러 분야에 필수적으로 이용되고 있고 국내에서는 거의 단백질산가수분해물을 이용하고 있는 실정이다. 그러나 단백질을 산이나 알칼리로 가수분해할 경우 lysinoalanine과 같은 독성이 있는 부산물이 생성되거나

tryptophan과 같은 필수아미노산의 손실을 가져온다(30). 이같은 이유로 최근 구미선진국에서는 단백질산가수분해물의 안정성 문제가 대두되고 있다. 특히 미국에서는 단백질산가수분해물을 사용하지 않았다는 표시를 한 제품도 나오고 있다. 국내 장류 업체에서는 단백질을 산분해하여 제조되는 화학간장의 수명을 향후 5년정도로 내다보고 대체간장의 개발에 노력을 기울이고 있다.

이런 면에서 볼 때 본 연구에서 제조된 대구피 가수분해물은 효소적으로 가수분해된 것이기 때문에 안정성면에서 문제가 없을 뿐만 아니라 효소가수분해시 문제가 되는 쓴맛이 없는 분해물이기 때문에 앞으로 그 이용가

치가 높을 것으로 본다.

요 약

수산물 가공시 부산물로 얻어지는 어피(魚皮)를 보다 효율적으로 이용하기 위하여 효소로 대구피를 가수분해할 때 가수분해조건을 구명하였으며 그 가수분해물을 이용한 천연조미료(모조간장 및 복합조미료)의 개발을 시도하였다.

pH-drop법으로 대구피분해에 있어서의 collagenase, trypsin 및 pronase의 활성을 비교해 본 결과 pronase가 가장 활성이 높았으며 이 pronase의 K_m 및 V_{max} 값은 각각 1.82mgN/ml, 0.06mgN/ml/min였다. Pronase에 의한 대구피 가수분해조건은 반응온도 50°C, 반응시간 3시간, pH 6, 효소농도 0.03%였으며, 이 조건하에서의 가수분해도는 78.8%였다. 그러나 대구피를 collagenase로 1시간 분해시킨 후 pronase로 처리할 경우 가수분해도는 90.83%였다. 이때 가수분해물의 분자량은 8,000 dalton이었다. 아미노산 조성은 glycine(27.95%), glutamic acid(10.94%), proline(10.48%), aspartic acid (7.47%), serine(7.39)이 전체 아미노산의 64.23%였으나 쓴맛을 내는 valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine 등은 13.05%에 불과하였다. 가수분해물과 기타 부원료로 제조한 모조간장원액과 시판100% 양조간장을 8:2(v/v)로 혼합한 모조간장은 시판대두간장에 비해 최소유의차검정 결과 맛, 색 및 중합평가면에서 5% 유의수준내에서 유의차가 없었다. 가수분해물 31.7% 함유한 복합조미료도 시판 복합조미료와 관능적으로 비교해 본 결과 복합조미료로서의 손색이 없는 제품이었다.

감 사

본 연구는 1990년도 문교부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구 조성비에 의하여 연구되었기에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 박영호(1991), 세계의 수산업 현황과 전망에 관한 국제학술 심포지움: 한국수산업의 현황과 전망, p. 26.
2. 松本重一郎(1980), 昭和 54年度 多獲性 赤身魚の 高度 利用技術開發研究成果の概要, p.393, 水産廳研究部研究果.
3. 藤井豊(1980), 昭和 54年度 水産加工廢棄物等 利用技

- 術開發研究成果の概要, p.451, 水産廳研究部研究果.
4. 吉澤淑(1981), 日本農藝化學會紙, **55**(8), 705.
5. M. Onoue, and L. M. Riddle(1973), *J. Fish. Res Board* (Canada), **30**, 1745.
6. N. Raksakulthai, Y. Z. Lee and N. F. Haard(1986), *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **19**, 26.
7. 韓國水産學會(1990), 水産年鑑, p.188.
8. 김세권, 이응호, 권철성(1986), 냉동공조공학, **5**(1), 5.
9. 김세권, 이응호(1987), 한국수산학회지, **20**(4), 282.
10. H. W. Hsu, D. L. Vavak, L. D. Satterlee and G. A. Miller(1977), *J. Food Sci.* **42**, 1269.
11. C. Y. Kim, B. H. Han, K. T. Lee, D. J. Cho and S. K. Kim(1979), *Bull Korean Fish Soc.*, **12**(3), 143.
12. K. Weber and M. Osborn(1969), *J. Biol. Chem.* **244**, 4406.
13. N. E. Heck (1983), *Doctor's Thesis*, University of Washington, p. 84.
14. R. Vega(1987), *Doctor's Thesis*, University of Reading, p. 44.
15. P. Andrews(1964), *Biochem. J.*, **91**, 222.
16. G. R. Feinstein and E. M. Buck(1984), *J. Food Sci.*, **49**, 289.
17. 中山昭雄(1979), 化學と生物, **17**, 131.
18. F. M. Bliss and H. O. Hultin(1977), *J. Food Sci.* **42**(2), 425.
19. W. D. Deeslic(1980), *Doctor's Thesis*, University of Illinois.
20. S. K. Mallya, A. M. Kasim and E. Harold(1986), *Analytical Biochemistry* **158**, 334.
21. 三泥, 寺島 經男, 八壽一豊, 務台 方彦(1989), 日本特許 平 1-120294.
22. C. M. Cheftel, D. I. Ahern, C. Wang and S. R. Tannenbaum (1971), *J. Agr. Food Chem.*, **19**(1), 155.
23. T. Fujii and K. Kobayashi(1973), *J. Biochem.*, **74**, 307.
24. M. C. Burleigh, A. J. Barrett and G. S. Lazarus(1974), *Biochem. J.*, **137**, 387.
25. M. P. Drake, P. E. Davison, S. Bump and F. O. Shimitt(1976), *Biochemistry*, **15**(1), 301.
26. 丹戸 秀昭 福田 西田 洋子(1984), *New Food Industry*, **18**, 12.
27. 小尻清, 日本食品工業學會 第 16回 特別 講演 講演集

- (1969), p.9.
28. 大坂止, 武恒子(1973), 營養と 食品, **26**(7), p.146.
29. Adler-Nissen (1976), *J. Agric. Food Chem.*, **24**(6), 1090.
30. J. E. Kinsella(1979), *CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, **7**, 219.
- (Received; October 8, 1991, Revised; October 21, 1991, Accepted; November 10, 1991)**