

등의 필수아미노산의 손실을 가져오는 단점이 있다<sup>3)</sup>. 또한 산분해형의 경우, 중화공정과정에서 생기는 식염을 조절할 필요가 있지만 효소분해형에서는 이러한 공정이 필요없기 때문에 제품화 단계에서 식염의 조절이 쉽다. 또, 산에 의한 단백질 분해는 보통 아미노산 말단까지 분해되지만 효소분해는 단백질을 한정분해시키므로 그 분해물 중에는 아미노산과 저분자 펩티드가 혼합된 경우가 많다. 효소분해의 경우 그 가수분해물은 분해과정에서 생긴 저분자 펩티드와 쓴맛을 내는 아미노산 때문에 쓴맛이 강한 단점이 있다<sup>4)</sup>. 한편, 엑기스형은 사용원료가 많고, 제품의 종류가 많으며 특징이 명확한 조미료이다. 분해형에 비해 지미(旨味, umami)가 떨어지나 향기나 감칠맛은 우수한 것이 많다. 추출용매로는 열수, 알콜 및 유지가 이용되고 있다. 이렇게 해서 얻은 엑기스원액은 액상 그 자체, 농축된 페이스트상, 분무건조나 드럼(drum)건조한 분말상 또는 제립기를 이용한 과립상의 형태로 제품화되고 있다.

이미 언급한 바와 같이 단백질을 산이나 알칼리로 가수분해할 경우, 독성있는 부산물의 생성 및 필수아미노산의 손실을 가져오기 때문에 최근 단백질의 효소적 가수분해에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>5-8)</sup>. 단백질의 효소적 가수분해에 있어서 회분식 공정은 장치가 간단하고 조작이 단순하여 고농도의 기질을 사용할 수 있지만 많은 양의 효소가 필요하며, 높은 에너지와 노동력이 요구되고 최종생성물의 저해작용으로 인해 수율이 적고 최종생성물의 기능적인 성질을 조절할 수 없는 단점이 있다<sup>9)</sup>. 그리고 효소를 물리화학적으로 고정화시켜 고정화시켜 단백질을 연속적으로 가수분해할 수 있으나 고정화 방법이 까다롭고 고정화시 입체장해로 인한 활성저하가 일어난다<sup>10)</sup>. 이러한 단점을 해결하기 위하여 효소반응기와 막장치를 조합시킨 소위 한외여과막 반응기를 사용하게 되면 효소를 고정화시키지 않고도 생성물과의 분리가 용이하며, 또한 제품을 연속적으로 대량 생산할 수 있다. 따라서 본 연구자들은 한외여과막 반응기를 이용하여 대구피에서 추출한 젤라틴을 연속적으로 가수분해하여 가수분해물을 제조하였고 이때의 회분식과 연속식에 있어서의 젤라틴에 대한 효소의 kinetics를 측정, 비교하였으며 한외여과막 반응기 장치에서의 효소활성 및 안정성에 미치는 인자에 대해 이미 전보<sup>11)</sup>에 보고하였다.

본 연구에서는 전보<sup>11)</sup>에서 구명된 최적조건하에서 대구피 젤라틴 및 그 가수분해물을 제조하여 분자량 분포 및 아미노산 조성을 살펴보고 생성된 가수분해물

을 주원료로 조미간장을 제조하여 시판 간장과 관능적인 평가에 의하여 그 품질을 비교, 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 대구피는 부산 사하구 장림동 소재 삼호물산(주)에서 구입하여 이물질들을 제거하기 위해 찬물로 5회 수세한 후  $-60^{\circ}\text{C}$ 에서 동결시킨 다음 세절기로 가로 세로 1cm 크기로 잘라 사용하였다. 세절한 대구피에 5배량의 물을 가하고 pH 8.0, 온도  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 3시간 열수추출한 후 원심분리(10,000×g, 20min)하여 상층액을 여과한 다음, 열풍( $37^{\circ}\text{C}$ )으로 건조하여 마쇄한 후  $-10^{\circ}\text{C}$  동결고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

### 가수분해물의 제조

추출한 대구피 젤라틴을 연속식 한외여과막 반응기(continuous stirred tank membrane reactor, CSTMR)를 이용해 전보<sup>11)</sup>에서 구명된 최적조건하에서 alcalase로 가수분해하였다. 구명된 최적조건은 기질농도 10%, 온도  $50^{\circ}\text{C}$ , pH 8.0, 유출속도 7.31ml/min, 부피 600ml이었고 기질대 효소비(S/E)는 50(w/w)이었다. 얻어진 가수분해물을  $100^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 가열하여 효소를 불활성화시키고 원심분리(10,000×g, 10min)한 후, 상층액을 동결건조(Dura-Dry corrosion resistant freezer-dryer, F. T. S. System Inc.)하여  $5^{\circ}\text{C}$ 에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

### 분자량 측정

대구피 젤라틴 가수분해물의 겔여과는 Yuen<sup>12)</sup> 및 Zerwekh<sup>13)</sup>의 방법에 따라 동결건조한 가수분해물 0.1g을 1ml의 0.02M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 용해시킨 후 동일한 buffer로 평형화된 Sephadex G-25 column (2×95cm)상에서 여과하였으며, 용리액의 단백질 흡광도는 분광광도계(Pye Unicomp PH 8600 UV/VIS Model 8610)를 사용하여 280nm에서 측정하였다.

분자량 측정에 사용된 표준물질은 histidine (MW 155Da), penta alanine (MW 445Da), glamicidin D (MW 2,000Da), insulin (MW 5,700Da), aprotinin (MW 6,500Da)이며 각 표준 물질 1mg을 각각 1ml의 0.02M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 용해시킨 후 위와 같은 방법으로 측정하였다. 분자량 측정용 표준곡선은 Andrew<sup>14)</sup>의 방법에 따라 작성하였다.

### 아미노산 분석

동결건조한 젤라틴 가수분해물 50mg을 ampoule에 넣고 6N HCl 2ml을 가하여 봉한 후 110°C의 sand bath에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압, 진공하여 HCl을 제거한 다음 물 10ml을 가하여 다시 감압, 진공하여 구연산 완충액(pH 2.2)으로 25ml로 정용 하였다. 이중 일부를 취하여 아미노산 자동분석기(LKB 4150- $\alpha$ )로 분석하였다.

### 조미간장의 제조

조미간장을 제조하기 위해 먼저 동결건조된 젤라틴 가수분해물 10.0g, 식염 10.0g, 설탕 3.0g, MSG(monosodium glutamate) 0.5g, 카라멜분말(명신화성(주) 제품) 0.1g, 양조식초(오뚜기 식품(주) 제품, 총산도; 6.7~7.0%) 3.0ml, 마늘분말(명신화성(주) 제품) 0.05g, 검은 후추분말(명신화성(주) 제품) 0.1g 및 감초분말(보락(주) 제품) 0.2g 모두를 물 100ml에 녹였다. 이를 열처리(끓기 시작한 후 5분)하여 식힌 후 여과포로 여과 하여 얻어진 여액을 조미간장 제조용 원액으로 하였다.

이 원액과 시판되고 있는 100% 양조간장을 8:2(v:v)의 비율로 혼합한 것을 조미간장 제품(A)로 하였고, 9:1(v:v)의 비율로 혼합한 것을 조미간장제품(B)로 하였다.

### 관능검사

10인의 관능검사 요원을 구성하여 5단계 평점법(5점; 매우 좋다, 4점; 좋다, 3점; 보통이다, 2점; 나쁘다, 1점; 매우 나쁘다)으로 제조된 조미간장제품(A), (B)와 3종류의 시판간장(C), (D), (E)를 관능평가한 후

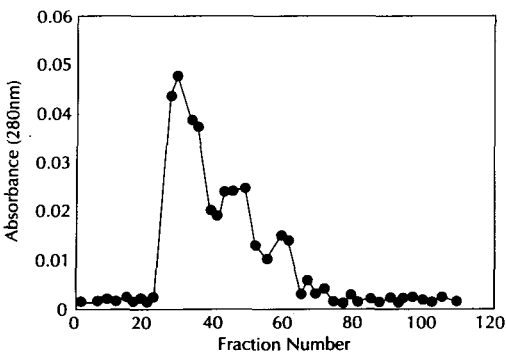


Fig. 1. Gel filtration chromatogram of the hydrolysate of cod skin gelatin on a Sephadex G-25 column (2×95cm). Eluent; 0.02M potassium phosphate buffer(pH 7.5), Flow rate; 40ml/hr, Fraction volume; 5ml.

최소유의차 검정하였다<sup>15)</sup>. 여기서 시판간장(C), (D)는 산분해간장 80%와 양조간장 20%로 구성되어 있고, 시판간장(E)는 산분해간장 50%와 양조간장 50%로 구성되어 있는 혼합간장이었다.

## 결과 및 고찰

### 겔여과에 의한 분자량 측정

Sephadex G-25 column으로 대구피 젤라틴 가수분해물을 겔여과한 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. Marker protein의 분자량 분포를 나타낸 Fig. 2와 비교하여 분자량을 측정된 결과 분자량 5,800영역에서 주종을 이루고 있었으며, 이외에도 1,100Da, 1,500Da 및 2,700Da의 펩티드성 분자는 존재하였지만 유리아미노산은 거의 존재하지 않았다. 김과 이<sup>16)</sup>는 말쥐치육 단백질을 pepsin으로 가수분해시켰을 때 분자량 2,000Da 및 310Da의 펩티드성 분자가 대부분이었으며 유리아미노산이 소량 존재한다고 보고한 바 있으나 젤라틴의 경우에는 glycine-proline, glycine-glycine 사슬이 많고 이들 사슬의 절단이 곤란하기 때문에 casein이나 gluten정도 만큼은 분해율이 향상되지 않는다는 보고<sup>17)</sup>가 있다.

### 아미노산 분석

대구피 젤라틴 가수분해물의 아미노산 조성은 Table 1과 같다. 양적으로 많은 아미노산은 glycine, glutamic acid, proline 및 arginine이었으며 이들 4종류의 아미노산이 전체의 약 절반을 차지하고 있는 것이 특징적이었다. 그리고 단맛을 내는 glycine, proline, serine, alanine 및 hydroxyproline이 전체의 45.92%였고 감칠맛 및

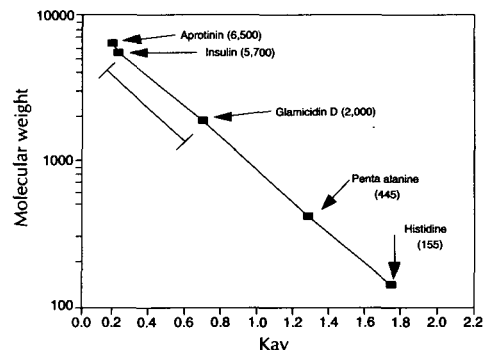


Fig. 2. The molecular weight determination of the hydrolysate of cod skin gelatin by Sephadex G-25 gel filtration. Eluent; 0.02M potassium phosphate buffer(pH 7.5), Flow rate; 40ml/hr, Fraction volume; 5ml.

Table 1. Amino acid composition in the hydrolysate of cod skin gelatin

Amino acid	g-AA/100g
Hydroxyproline	3.82
Aspartic acid	7.89
Threonine	2.28
Serine	6.69
Glutamic acid	12.09
Proline	9.94
Glycine	20.30
Alanine	5.17
Methionine	1.73
Valine	2.61
Isoleucine	1.28
Leucine	2.46
Tyrosine	5.41
Phenylalanine	3.82
Histidine	1.48
Lysine	4.58
Arginine	9.14
Total	100.00

신맛을 내는 glutamic acid, aspartic acid가 전체의 19.98%로 결국 바람직한 맛과 관련이 있는 아미노산은 전체의 65.90%에 달하는 셈이다. 반면 쓴맛과 관련이 있는 아미노산인 arginine, tyrosine, phenylalanine, valine, leucine, methionine 및 histidine은 전체의 26.65%에 불과했다. 특히 쓴맛 아미노산 중 양적으로 가장 많은 arginine은 감칠맛 아미노산 : 단맛 아미노산 : 쓴맛 아미노산의 비가 2 : 2 : 1로 될 때 오히려 좋은 맛의 느낌을 갖게 해준다고 한다<sup>18)</sup>. 佐佰<sup>19)</sup>은 젤라틴을 아미노산 수준까지 분해시킨 가수분해물은 단맛을 내는 아미노산들이 전체 아미노산의 50% 이상 차지하고 있어 단맛이 있고, 변질되기 쉬운 쓴맛을 내는 아미노산, 악취를 생성하기 쉬운 methionine과 cysteine이 매우 적다고 보고하였다. Alder-Nissen<sup>20)</sup>은 단백질 가수분해물의 쓴맛은 사용한 효소보다는 단백질을 구성하는 소수성 아미노산의 함량과 관계있다고 보고한 바 있다.

#### 대구피 젤라틴 가수분해물을 이용한 조미간장의 제조

조미간장 제조에 필요한 각 첨가물의 첨가량을 수차례의 예비실험을 통해 결정한 후 최종적으로 동결건조된 대구피 젤라틴 가수분해물의 첨가량을 결정하기 위해 첨가농도를 달리했을 때의 관능검사 결과를 Table 2에 나타내었다. 물 100.0ml에 다른 원료와 같이 첨가하는 가수분해물의 양을 5.0, 10.0, 15.0g씩 첨가했을 경우 1.0% 유의수준내에서 관능적으로 유의차가 없었

Table 2. Sensory evaluation of the imitation sauce containing different contents of the hydrolysate of cod skin gelatin

Content** (g)	Mean score*		
	Taste	Color	Odor
0	3.1 <sup>b</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.3 <sup>a</sup>
5.0	3.9 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	3.2 <sup>j</sup>
10.0	4.1 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>	3.4 <sup>a</sup>
15.0	4.0 <sup>a</sup>	4.0 <sup>a</sup>	3.4 <sup>a</sup>

\*Means within each column followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.01$ )

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

\*\*The hydrolysate contents of cod skin gelatin dissolved with other ingredients in 100.0ml water

Table 3. Sensory evaluation of various sauces

Sauce**	Mean score*			
	Taste	Color	Odor	Overall acceptance
A	3.8 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>	3.3 <sup>b</sup>	3.8 <sup>a</sup>
B	2.0 <sup>c</sup>	2.3 <sup>b</sup>	2.1 <sup>c</sup>	2.0 <sup>c</sup>
C	4.3 <sup>a</sup>	4.1 <sup>a</sup>	4.3 <sup>a</sup>	4.3 <sup>a</sup>
D	2.7 <sup>bc</sup>	2.1 <sup>bc</sup>	2.8 <sup>bc</sup>	2.7 <sup>bc</sup>
E	3.6 <sup>ab</sup>	3.8 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>

\*Means within each column followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.01$ )

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

\*\*A : the imitation sauce (liquor : fermented sauce = 8 : 2, v : v)  
B : the imitation sauce (liquor : fermented sauce = 9 : 1, v : v)  
The liquor was prepared from 10.0g gelatin hydrolysate by dissolving with 10.0g NaCl, 3.0g sucrose, 0.5g monosodium glutamate, 0.1g caramel power, 3.0ml fermented vinegar, 0.05g garlic powder, 0.1g black pepper powder, and 0.2g licorice powder in 100.0ml water, boiling for 5min and filtrating with cheesecloth

C, D, E : three kinds of soy sauce on the market (C, D : chemical soy sauce : fermented soy sauce = 8 : 2 (v : v), E ; chemical soy sauce : fermented soy sauce = 5 : 5 (v : v))

고 무첨가구와는 맛면에서 유의차가 있었다. 이처럼 첨가구들 사이에는 관능적으로 서로 유의차가 없었기 때문에 경제적 및 영양적인 면을 고려하여 첨가량을 10.0g으로 결정하였다.

제조된 2종류의 조미간장과 3종류의 시판간장을 관능검사한 결과는 Table 3과 같다. 모든 관능평가 항목에서 가장 좋은 점수를 얻은 제품은 시판간장 (C)였으며 가장 낮은 점수를 얻은 제품은 조미간장 (B)였다. 조미간장 (A)는 시판간장 (C)보다는 낮은 점수였지만 시판간장 (D)보다는 훨씬 높은 점수를 얻었고 시판간장 (E)에 비해서는 냄새면에서는 약간 낮은 점수를 얻었으나 다른 관능검사 항목에서는 같거나 오히려 높은 점

수를 얻었다. 그러나 조미간장(A)와 시판간장(C), (E)는 최소유의차검정 결과 맛, 색 및 종합평가면에서는 1.0% 유의수준내에서 유의차가 없었다. 이와 같은 관능검사 결과로 미루어 보아 조미간장(B)는 시판되고 있는 3종류의 간장에 비해 관능적으로 좋지 않았지만 조미간장(A)는 손색이 없는 간장임을 알 수 있었다.

단백질 가수분해물은 각종 가공식품이나 삼푸, 화장품 등 기타 여러 분야에 필수적으로 이용되고 있고, 국내에서는 거의 단백질 산가수분해물을 이용하고 있는 실정이다. 그러나 단백질을 산이나 알칼리로 가수분해할 경우 lysinoalanine과 같은 독성이 있는 부산물이 생성되거나 tryptophan과 같은 필수 아미노산의 손실을 가져온다<sup>21)</sup>. 이같은 이유로 최근 구미 선진국에서는 단백질 산가수분해물의 안전성 문제가 대두되고 있다. 특히 미국에서는 단백질 산가수분해물을 사용하지 않겠다는 표시를 한 제품도 나오고 있다. 국내 장류업체에서는 단백질을 산분해하여 제조되는 화학간장의 수명을 향후 5년 정도로 내다보고 대체간장의 개발에 노력을 기울이고 있다. 이런 면에서 볼 때 본 연구에서 제조된 대구피 젤라틴 가수분해물은 효소적으로 가수분해된 것이기 때문에 안전성면에서 문제가 없을 뿐만 아니라 효소 가수분해시 문제가 되는 쓴맛이 없는 분해물이므로 앞으로 그 이용가치가 높을 것으로 본다.

## 요 약

대구피 젤라틴을 효소적으로 가수분해하여 얻어진 가수분해물의 분자량 분포 및 아미노산 조성을 살펴보고 이 가수분해물을 이용해 조미간장을 제조하였고 그 품질을 시판 간장과 관능적으로 비교, 검토하였다.

가수분해물의 분자량은 5,800Da영역이 주종이었으며 분자량 1,100Da, 1,500Da 및 2,700Da 정도의 펩티드성 분자도 존재하였다. 아미노산은 단맛을 내는 아미노산(glycine, proline, serine, alanine 및 hydroxyproline)과 감칠맛, 신맛을 내는 아미노산(glutamic acid, aspartic acid)이 전체의 65.9%를 차지하고 있었다. 반면 쓴맛을 내는 아미노산(arginine, tyrosine, phenylalanine, valine, leucine, methionine 및 histidine)은 전체의 26.65%에 불과하였다. 가수분해물 10.0g, 식염 10.0g, 설탕 3.0g, MSG 0.5g, 카라멜분말 0.1g, 양조식초 3.0ml, 마늘분말 0.05g, 검은 후추분말 0.1g 및 감초분말 0.2g을 물 100.0ml에 용해하여 열처리한 다음 여과하여 얻어진 원액과 시판 양조간장을 8 : 2(v:v)의 비율로 혼합하여 제조한 조미간장은 시판 3종류의 화학간

장과 비교해 관능적으로 손색이 없었다.

## 감사의 글

본 연구는 1990년도 산학협동재단의 학술연구비 지원으로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

## 문 헌

1. 石田賢吾 : 天然調味料の性質と利用. 日本食品工業學會誌, 25, 167(1978)
2. 香東惠一 : 天然調味料の新傾向の利用技術. ジャパンフードサイエンス, 10, 25(1984)
3. Kinsella, J. E. and Shetty, K. J. : Chemical modification for improving functional properties of plant and yeast proteins. *A Survey CRC Critical Food Sci. Nutr.*, 7, 219(1979)
4. 김세권, 이용호 : 정어리 분말 단백질의 효소적 수식. 한국농화학회지, 30, 234(1987)
5. Mackie, I. M. : General review of fish protein hydrolysates. *Animal Feed Sci. Technol.*, 7, 113(1982)
6. Qrskov, E. R., Soliman, H. S. and Clark, C. F. S. : Use of fish protein hydrolysate in milk replaces. *Animal Feed Sci. Technol.*, 7, 135(1982)
7. Nielsen, S. S. : Degradation of bean protein by endogenous and exogenous protease. *Association of Cereal Chemists*, p.65(1988)
8. Hardwick, J. E. and Glatz, C. E. : Enzymatic hydrolysis of corn gluten meal. *J. Agric. Food Sci.*, 37, 1188(1989)
9. Deeslie, W. D. and Cheryan, M. : Continuous enzymatic modification of proteins in an ultrafiltration reactor. *J. Food Sci.*, 46, 1035(1981)
10. Mannheim, A. : Continuous hydrolysis of milk protein in a membrane reactor. *MS Thesis*, Dept. of Food Sci., Univ. of Illinois, Urbana-Champaign USA(1988)
11. 김세권, 변희국, Cheryan, M. : 한외여과막 반응기를 이용한 어피젤라틴의 연속적 가수분해. 한국생물공학회지, 6, 309(1991)
12. Yuen, P. : Studies on removal characterization of bitter compounds in pepsin-hydrolyzed fish protein. *MS Thesis*. University of Washington, Washington, USA, p. 18(1978)
13. Zerwekh, M. A. : Molecular weight distribution of peptides from proteolytic hydrolysate of fish waste. *MS Thesis*. University of Washington, Washington, USA, p.65(1976)
14. Andrew, P. : Estimation of the molecular weight of proteins by Sephadex gel filtration. *Biochem. J.*, 91, 222(1964)
15. 中山照雄 : 食品の味と香りの尺度. 化學と生物, 17, 131(1979)
16. 김세권, 이용호 : 말취치육 단백질의 효소적 가수분해물을 이용한 plastein의 합성 및 그 물성-2. Plastein의 일반적 성상과 IR spectrum. 한국수산학회지, 20, 431(1987)

17. 丹尺秀昭, 福田降, 西田洋子: 콜라겐蛋白質および素材とした美味な天然調味料の開発について. *New Food Industry*, **18**, 26(1984)
18. 大一止, 武恒子: 各種アミノ酸混合類による旨味液作成. *營養と食糧*, **26**, 146(1973)
19. 佐伯邦臣: 콜라겐ポリ펩타이드への食品への新規利用. *フードケミカル*, **2**, 44(1985)
20. Alder-Nissen, J.: Enzymatic hydrolysis of proteins for increased solubility. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1090(1976)
21. Deng, Q. Y., Barefoot, R. R., Divasady, L. L., Rubin, L. J. and Tzeng, Y. M.: Lysinoalanine concentrations in rape seed protein meals and isolates. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **23**, 140(1990)

(1992년 12월 31일 접수)