

## 참치 가공부산물로 부터 단백질 분해효소를 이용한 기능성 천연조미료 제재의 개발

### 1. 참치 가공부산물로 부터 단백질 가수분해물의 제조

김은정 · 차용준<sup>†</sup>

창원대학교 식품영양학과

## Development of Functional Seasoning Agents from Skipjack Preparation By-product with Commercial Proteases

### 1. Processing of Hydrolysate from Skipjack Processing By-product with Protease Treatment

Eun-Jeong Kim and Yong-Jun Cha<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

#### Abstract

To propose the use of skipjack processing by-product (SPB) as a food material, the optimal condition for the production of the SPB hydrolysate through enzyme treatment was obtained using RSM (Response Surface Methodology). Among eight proteases test, Protease P<sup>TM</sup> was screened primarily on the aspect of production cost and taste of the product. The extent of autolysis accompanied by endogenous enzyme in the SPB was almost negligible as compared with that of Protease P<sup>TM</sup> treatment. The derived model equation was within the satisfiable range as indicated by coefficient of determination ( $R^2=0.9460$ ) and lack of fit ( $p>0.1$ ) values. From the results of RSM and ridge analysis, the conditions favoring the highest degree of hydrolysis were: pH 7.2, 51°C, reaction time of 3.94 hr, substrate concentration of 33.3%, and enzyme/substrate ratio of 0.48%.

**Key words:** skipjack processing by-product, hydrolysate, response surface methodology

#### 서 론

우리나라 수산가공품 중 통조림은 48,561M/T(1993년)이 생산되었는데 이 중에서 참치통조림이 33,321M/T으로 전체의 68.6%를 차지하고 있다(1). 참치통조림의 경우 가공 중에 생성되는 부산물(머리, 혈합육, 껍질 및 꼬리 부분)의 함량은 다른 통조림 제품과는 달리 무시하지 못할 양으로 간주되고 있다. 일례로 우리나라 수산물 가공업체(D사, S사)의 참치 가공 공정 중 발생하는 부산물의 양은 전체 원료의 30~34%를 차지한다고 하며, 이 중에서 혈합육은 이취 및 쓴맛(2,3)이 있어 식품용 소재로 전환되지 못하고 일부분만이 가공되어 pet food용으로 이용되고 있다. 이러한 부산물의 양을 참치통조림에 국한하여 환산하더라도 일년에 16,000

M/T이나 된다.

따라서 본 연구에서는 사료로 전환되어지는 참치 가공 부산물 중 혈합육을 중간공정에서 재회수하여 단백질 분해효소를 이용한 엑스분을 제조하고자 하며, 이러한 제조방법에 반응표면분석법(Response Surface Methodology, RSM)을 적용하여 최적화 조건을 찾아 내어 사료업체나 부산물 가공업체에 산업적 응용성을 가지는 기초자료를 제시하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

참치(*Katsuwonus pelamis*) 통조림 가공 도중에 생성되는 부산물 중 혈합육(boiled)만을 동원산업(주) 창

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

원공장에서 제공받아 폴리에틸렌 필름에 포장한 채로 30분 이내에 실험실로 운반하여 냉동고(-20°C)에 저장하여 두고 실험에 사용하였다. 상업용 효소로는 중성 단백질분해효소 4종(Neutrase 0.5L<sup>TM</sup>, Complex enzyme 2000<sup>TM</sup>, Alcalase 0.6L<sup>TM</sup> 및 Protease A<sup>TM</sup>), 알카리성 단백질분해효소 3종(Protease S<sup>TM</sup>, Protease P<sup>TM</sup> 및 Optimase APL<sup>TM</sup>), 그리고 산성 단백질분해효소 1종(Protease M) 등 총 8종의 효소를 구입하여 실험에 사용하였다.

가수분해 실험 및 가수분해도 결정

Baek의 방법(4)에 따라 일정량의 참치 가공 부산물을 Waring blender(Waring Product Co., USA)로 균질화한 다음 100ml용 이중 자켓으로 된 반응조(Wheaton Co., USA)에 시료 40g과 증류수 60ml를 넣고 각 상업용 효소의 최적 활성 조건(pH, 온도)으로 조정된 다음 효소를 넣고 반응시켰다. 반응 후 가수분해물은 Folin & Ciocalteu's phenol용액에서 반응시킨 후 578nm에서 흡광도를 측정(Varian No. 634 Spectrometer)하여 대조구와의 차를 표준곡선에서 tyrosine(µg/ml, 30°C) 함량으로 환산하였다. 그리고 Baek의 방법(4)에 따라 가수분해도를 계산하였다.

최적 효소 선정 실험

최적 단백질 분해효소의 선정은 먼저 Hale(5)의 방법에 기초한 Baek의 방법(4)에 의하여 기질 30% 가수분해율을 나타내는데 필요한 효소량과 가수분해율을 상호 비교하였으며 동시에 기질(참치 혈합육)에 대한 각 효소반응 후의 가수분해물을 관능점사에 의하여 제품의 품질을 비교하여 최적 효소를 선정하였다.

최적 가수분해조건 설정 및 통계분석

예비실험을 통하여 가수분해에 영향을 미치는 5가지 변수, 즉 pH, 온도, 가수분해시간, 기질의 농도 및

기질에 대한 효소의 농도에 대하여 실험영역을 설계하여 Table 1과 같이 code화(-2에서 +2까지)하였다. 그리고 이러한 변수와 code를 이용하여 반응표면 실험계획을 중심합성계획(central composite design)인 2차 모형으로 작성하였으며(6), 이들 2차 회귀방정식의 모형은 다음과 같다.

$$DH(\text{degree of hydrolysis, \%}) = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + \sum_{j=1}^k \beta_{jj'} X_j X_{j'} + \epsilon \quad (j \neq j')$$

그리고 Table 2에서와 같이 각 변수에 있어 5개의 code unit(-2에서 +2까지)에 의한 fractional 2<sup>k</sup> factorial design 16점, star points 10점 및 central points 10점의 총 36개 실험구간을 설정하여 무작위로 수행하였으며, 모든 자료는 Statistical Analysis System(SAS) (7) Version 6.03의 RSREG를 이용하여 t-test 및 유의차 검정에 의한 통계분석을 하였다. 또한 2개의 독립변수에 대한 상관관계는 다른 변수들을 zero level에 두고 PS-PLOT(Polysoft, Salt Lake City, UT)을 이용하여 response surface 및 contour plots을 그려 보았다.

참치 가수분해물의 제조

RSM에 의하여 얻어진 최적 조건으로 실험실에서 제작한 발효조(30L 용량)에서 가수분해물을 제조하였다. 그리고 가수분해물의 고형분량에 대해 0.5%의 glucose 첨가 후 autoclave(121°C)에서 10분간 효소 불활성화 및 Maillard reaction을 유도하였다. 다음으로 maltodextrin을 총 고형분의 2배량 넣고 입구온도 115°C, 출구온도 75°C로 조정된 spray dryer(고려식료(주))에서 참치 가수분해물의 분말 제품을 얻었다.

일반성분 및 아미노질소 실험

일반성분은 A.O.A.C.(8)에 따라 분석하였으며 염도

Table 1. Boundaries of the experimental domain and spacing of levels expressed in coded and natural units

Code units	Independent variables				
	pH	Temp.(°C)	Time(hr)	S(%) <sup>1)</sup>	E/S(% <sup>2)</sup>
-2	6.0	35	1.0	20	0.2
-1	7.0	40	2.0	30	0.3
0	8.0	45	3.0	40	0.4
+1	9.0	50	4.0	50	0.5
+2	10.0	55	5.0	60	0.6

<sup>1)</sup>Concentration(w/v) of skipjack processing by-product(dark muscle)

<sup>2)</sup>Ratio(w/w) of Protease P<sup>TM</sup>(Amano International Enzyme Co.) to skipjack processing by-product(dark muscle)

Table 2. Responses of dependent variables to the hydrolysis conditions for Protease P

Run No.	Independent variables <sup>1)</sup>					Dependent variable
	pH	T	t	S	E/S	DH(%)
1	-1	-1	-1	-1	-1	28.2
2	0	-1	-1	-1	1	40.7
3	-1	1	-1	-1	1	53.7
4	1	1	-1	-1	-1	38.5
5	1	-1	1	-1	1	50.4
6	1	-1	1	-1	-1	43.1
7	-1	1	1	-1	-1	53.9
8	1	1	1	-1	1	56.1
9	-1	-1	-1	1	1	28.4
10	1	-1	-1	1	-1	25.3
11	-1	1	-1	1	-1	31.1
12	1	1	-1	1	1	41.2
13	-1	-1	1	1	-1	31.4
14	1	-1	1	1	1	36.7
15	-1	1	1	1	1	59.8
16	1	1	1	1	-1	49.9
17	-2	0	0	0	0	46.4
18	2	0	0	0	0	41.0
19	0	-2	0	0	0	37.8
20	0	2	0	0	0	51.7
21	0	0	-2	0	0	29.5
22	0	0	2	0	0	54.3
23	0	0	0	-2	0	58.6
24	0	0	0	2	0	32.6
25	0	0	0	0	-2	36.7
26	0	0	0	0	2	48.3
27	0	0	0	0	0	49.2
28	0	0	0	0	0	46.5
29	0	0	0	0	0	50.8
30	0	0	0	0	0	44.9
31	0	0	0	0	0	43.9
32	0	0	0	0	0	45.7
33	0	0	0	0	0	45.1
34	0	0	0	0	0	50.5
35	0	0	0	0	0	49.3
36	0	0	0	0	0	45.1

<sup>1)</sup>The codes of independent variables were the same as represented in Table 1

DH: Degree of hydrolysis, T: Temperature, t: Time, S: Substrate, E/S: Enzyme/substrate

는 Mohr법(9)으로 측정하였다. 그리고 아미노질소는 Formol법(10)으로 정량하였고, 색도는 분말화한 시료를 standard plate(L: 91.6, a: 0.28, b: 2.69)를 이용하여 직시색차계(Yasuda Seiki Co. 600-1-R, Japan)에서 L 값, a 값, b 값 및 ΔE 값을 측정하였다.

#### 관능검사

수산물 가공 조미액에 6개월간 훈련된 12인의 관능 검사요원이 색, 쓴맛, 냄새, overall acceptance에 대하여 5점 평점법으로 평가하였으며, 평가결과는 쓴맛에 대하여는 감지 불가능하다 - 5, 약하게 감지할 수 있다 - 4, 보통 감지할 수 있다 - 3, 강하게 감지할 수 있다

- 2, 극도로 강하게 감지할 수 있다 - 1로, 나머지 항목에 대해서는 아주 좋다 - 5, 좋다 - 4, 보통이다 - 3, 나쁘다 - 2, 아주 나쁘다 - 1로 표시하게 하였다. 이렇게 얻어진 자료를 SPSS(Statistical Packages for Social Science)를 이용하여 Duncan's multiple comparison test로 유의차를 검증하였으며, 신뢰도는 95%였다(11).

#### 결과 및 고찰

##### 참치 가수분해물 제조를 위한 최적효소의 선정

8종의 상업용 단백질 분해효소 중에서 참치 가수분해물 제조를 위한 최적 가수분해효소를 선정하기 위하

여 한시간 동안에 참치 가공 부산물을 30% 가수분해 시키는데 필요한 효소량을 구하였으며, 이 효소량의 역수를 효소활성값(A)으로 산출하였다. 그리고 효소 활성을 다시 판매가격(C)으로 나눈 값(A/C)이 가장 높은 것을 우선 최적 효소로 선정하기로 하였다. 왜냐하면 이것은 산업적으로 응용될적에 기업의 측면에서 가장 경제성이 있으며 생산량을 극대화할 수 있기 때문이다.

Table 3에 나타난 바와 같이 중성 프로테아제 중에서는 Alcalase 0.6L<sup>TM</sup>의 효소활성이 7.96으로 가장 높았으며 다음으로 Protease A<sup>TM</sup>, Complex enzyme 2000<sup>TM</sup>, Neutrase 0.5L<sup>TM</sup> 순으로 활성이 높았다. 그리고 판매가격에 대한 효소활성(A/C)면에서도 Alcalase 0.6L<sup>TM</sup>이 7.96으로서 가장 높았다. 알카리성 프로테아제 중에서는 Optimase APL<sup>TM</sup>이 116.25로서 가장 활성이 높았으며 다음으로 Protease P<sup>TM</sup>, Protease S<sup>TM</sup> 순이었고, A/C에서도 Optimase APL<sup>TM</sup>이 29.06으로서 가장 우수한 것으로 나타났다. 산성 프로테아제인 Protease M<sup>TM</sup>은 활성이 12.83으로서 비교적 높았으나 A/C면에서는 낮았다. 전체적으로 볼적에는 Optimase APL<sup>TM</sup>, Alcalase 0.6L<sup>TM</sup>, Protease P<sup>TM</sup> 순으로 A/C면에서 효과가 좋았다.

본 실험에서는 산업적 응용을 전제로 할적에 무엇보다도 경제성이 가장 우선적으로 고려되어야 할 것으로 생각되며, 효소활성면만 고려한 기존의 연구보고(12,13)와 비교하여 볼 때 A/C값이 높은 효소를 우선적으로 선택하는 것이 타당하다고 생각되었다. 그리고

이들 효소의 최적 조건(pH, 온도)에서 참치 가공 부산물로부터 제조된 가수분해물의 품질을 색, 냄새, 쓴맛 정도 및 overall acceptance에 대하여 관능검사를 실시하였다. 이는 경제적으로 A/C면에서 산업적으로 효율이 높다하더라도 혈합육으로부터 생성되는 고미성분이 제품의 품질에 나쁜 영향을 미치므로 이러한 쓴맛 성분을 생성하지 않는 효소를 선정하는 것이 중요하다고 생각되었기 때문이다.

참치 가수분해물의 관능검사 결과는 Table 4에 표시하였다. 색깔의 경우 Alcalase 0.6L<sup>TM</sup>과 Protease P<sup>TM</sup>는 각각 3.6, 3.5점으로서 양호하게 나타났고, 이들에 있어서 유의적 차이는 없었다. 쓴맛에 있어서도 Alcalase 0.6L<sup>TM</sup>과 Protease P<sup>TM</sup>가 각각 3.2, 3.1점으로서 양호하게 나타났는데 반해 효소활성면에서 가장 높은 활성도를 가졌던 APL 440<sup>TM</sup>은 쓴맛이 0.5로서 강하게 감지되어 조미료 제재나 향미제로서는 부적합한 것으로 생각되었다. 냄새에서는 Protease P<sup>TM</sup>와 Protease M<sup>TM</sup>이 양호한 것으로 나타났고 전체적인 만족도에 있어서 Protease P<sup>TM</sup>는 4.5점으로서 다른 단백질 분해효소에 비하여 월등히 높았으며 Protease A<sup>TM</sup>가 3.4점, Complex enzyme 2000<sup>TM</sup>, Alcalase 0.6L<sup>TM</sup>, Protease S<sup>TM</sup>가 모두 2.8점으로 나타났다. Visser(14), Quaglia와 Orban(15)은 치즈 제조시 효소에 의한 가수분해도가 낮을수록 쓴맛을 줄인다고 보고하였고, Nana와 John(16)은 청어에 있어서 더 높은 가수분해도를 나타낸 Alcalase에 의해 분해된 것이 Papain에 의한 것보다 쓴맛이 적다고 보고하였으며, 가수분해된 소수성

Table 3. Evaluation of eight commercial proteases for the hydrolysis of skipjack processing by-product(dark muscle)

Protease <sup>1)</sup>	Opt. Temp.(°C) <sup>2)</sup>	Opt. pH <sup>2)</sup>	Activity(A) <sup>3)</sup>	Cost(C) <sup>4)</sup>	A/C <sup>5)</sup>
Neutral					
Neutrase 0.5L <sup>TM</sup>	50	6.0	0.02	1.25	0.02
Complex enzyme 2000 <sup>TM</sup>	50	7.0	0.61	1.75	0.35
Alcalase 0.6L <sup>TM</sup>	60	7.0	7.96	1.00	7.96
Protease A <sup>TM</sup>	50	7.0	6.36	8.75	0.73
Alkaline					
Protease S <sup>TM</sup>	70	8.0	8.37	8.75	0.96
Protease P <sup>TM</sup>	45	8.0	15.72	8.75	1.80
Optimase APL <sup>TM</sup>	60	10.0	116.25	4.00	29.06
Acidic					
Protease M <sup>TM</sup>	50	5.0	12.83	8.75	1.47

<sup>1)</sup>Neutrase 0.5L<sup>TM</sup> and Alcalase 0.6L<sup>TM</sup>, Novo Nordisk(Denmark), Protease A<sup>TM</sup>, Protease S<sup>TM</sup>, Protease P<sup>TM</sup> and Protease M<sup>TM</sup> were Amano International Enzyme Co.(Japan) ; Optimase APL<sup>TM</sup> 8 were produced by Solvay Enzyme, Inc.(USA) and Complex enzyme 2000<sup>TM</sup> Pacific Chemical Co. LTD(Korea)

<sup>2)</sup>Optimal temperature and pH of each protease were suggested from the producing company

<sup>3)</sup>Inverse of the amount of protease required for 30% hydrolysis in 1hr

<sup>4)</sup>Least expensive enzyme was given a value of 1.0

<sup>5)</sup>Enzyme activity per cost

Table 4. Sensory evaluation of eight protease-treated hydrolysate from skipjack processing by-product (dark muscle)<sup>1)</sup>

Protease	Color	Bitter taste	Odor	Overall acceptance	Characteristics <sup>2)</sup>
Neutral					
Neutrase™ 0.5L	2.5 <sup>ab</sup>	2.7 <sup>e</sup>	3.0 <sup>b</sup>	2.7 <sup>ab</sup>	fishy odor
Complex enzyme™ 2000	2.8 <sup>b</sup>	2.5 <sup>d</sup>	2.2 <sup>a</sup>	2.8 <sup>b</sup>	anchovy odor
Alcalase™ 0.6L	3.6 <sup>c</sup>	3.2 <sup>f</sup>	2.8 <sup>ab</sup>	2.8 <sup>b</sup>	stale, stinking
Protease™ A	2.6 <sup>ab</sup>	2.7 <sup>de</sup>	3.0 <sup>b</sup>	3.4 <sup>c</sup>	fermented soybean
Alkaline					
Protease™ S	3.1 <sup>bc</sup>	2.2 <sup>d</sup>	2.4 <sup>ab</sup>	2.8 <sup>b</sup>	astringent
Protease™ P	3.5 <sup>c</sup>	3.1 <sup>ef</sup>	3.3 <sup>ab</sup>	4.5 <sup>b</sup>	aromatic
Optimase APL™	1.8 <sup>a</sup>	0.5 <sup>a</sup>	2.6 <sup>ab</sup>	2.1 <sup>a</sup>	bitter taste
Acidic					
Protease™ M	2.8 <sup>bc</sup>	1.7 <sup>b</sup>	3.2 <sup>bc</sup>	2.7 <sup>ab</sup>	bitter taste

<sup>a-f</sup>Values are means of 12 scores. Means with the same letter in a column are not significantly different ( $p > 0.05$ )

<sup>1)</sup>Interpretation of scores in color, odor and overall acceptance: 1-very poor, 2-poor, 3-acceptable, 4-good, 5-excellent, score in bitter taste: 1-very strong: 2-strong: 3-moderate strong: 4-weak: 5-very weak

<sup>2)</sup>Description of hydrolysates from skipjack processing by-product (dark muscle)

그룹의 함량에 의해서도 쓴맛 성분이 좌우된다고 보고하고 있다(17). 그리고 지방 함량이 어육 단백질 가수분해물의 냄새에 많은 영향을 미친다고 보고되고 있다(18). 따라서 어패류를 이용한 가수분해물 제조시 나타나는 전형적인 쓴맛은 시료의 종류와 효소에 의해 영향을 받는다고 추정되며 가수분해물 제조시 관능검사가 필수적인 것으로 생각되었다.

본 실험에서는 가격에 대한 효소활성도와 관능검사 결과치를 상호 비교함으로써 A/C값이 비교적 높고 관능검사의 색, 쓴맛, 냄새, 전체적 수용도에서 높은 점수를 받았던 Protease P를 최적 효소로 선정하여 다음 실험을 수행하였다.

#### 참치 가공 부산물의 자가소화 효소에 의한 효과

관능검사 및 A/C에 의해 선정된 Protease P를 이용하여 최적 가수분해조건을 결정하기 전에 참치 가공 부산물 자체가 가지고 있는 자가소화효소의 활성 정도를 검토하기 위하여 Fig. 1에 나타낸 것처럼 Protease P 첨가구와 무첨가구를 반응시간에 따라 최적 pH(8.0)와 온도(45°C)에서 가수분해 정도를 측정하였다. 5시간 동안 반응시킨 결과 대조구(효소 무첨가구)에서는 2% 미만의 가수분해율을 보인 반면에, Protease P를 첨가한 경우는 한시간 후에 30%의 가수분해율을 보였고 그 후 계속해서 증가하여 5시간 후에는 48%의 가수분해율을 보였다. 따라서 참치 가공 부산물 자체의 가수분해 효과는 없는 것으로 사료되었다.

#### 반응표면분석법에 의한 최적 가수분해조건 결정

Table 2에 표시한 바와 같이 반복적 예비실험을 통

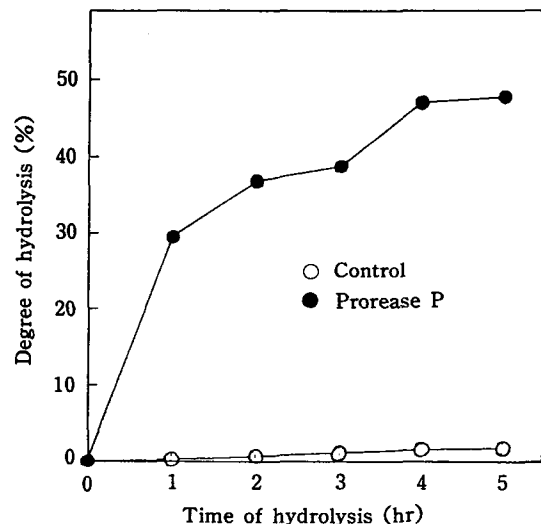


Fig. 1. Hydrolysis of skipjack by-product treated with Protease P at 45°C, pH 8.0.

하여 가수분해에 영향을 미치는 각각의 독립변수에 대하여 최적으로 판단되는 조건 값을 각 변수의 중심영역 0으로 두고 1.0 간격으로 -2에서 +2까지 영역을 설계하였으며, 이를 중심합성계획법(Table 2)에 의하여 무작위로 실험을 수행하여 얻어진 36개의 실험값을 Table 3에 표시하였으며 반응표면식은 처리간 유의차 검증을 위하여 RSREG/SAS를 이용하여 얻었다. 다중회귀분석 결과(Table 5), 이러한 5개의 독립변수들(pH, T, t, S, E/S)을 조합한 2차 방정식 모델의 적합도에 대해 결정계수(R-square)와 적합결여검증(lack of fit)을 살펴 보았는데 반응표면분석법으로 계획한 결과값은 결정계수(R-square)가 0.9460이므로 본 실험이 만

Table 5. Model coefficients estimated by multiple linear regression for producing hydrolysate of skipjack processing by-product(dark muscle)

Factor	Coefficient
Constant	47.210
pH	-0.675
T	5.325*
t	5.992*
S	-4.700*
[E/S]	3.708*
pH <sup>2</sup>	-1.027
T <sup>2</sup>	-0.765
t <sup>2</sup>	-1.477**
S <sup>2</sup>	0.650
[E/S] <sup>2</sup>	-0.552**
pH×T	-1.250
pH×t	-0.888
pH×S	0.650
pH×[E/S]	-1.863**
T×t	1.025
T×S	1.263
T×[E/S]	0.575
t×S	0.600
t×[E/S]	-1.013
S×[E/S]	-0.550
R <sup>2</sup>	0.946
F-ratio	2.495
Probability>F	0.105

Superscript letters are significantly different : \*p<0.001, \*\*p<0.05

축할만한 디자인으로 설계되었음을 알 수 있었고, 적합결여검증(p>0.1)에 있어서도 본 실험의 2차식으로의 설계가 유의함을 나타내었다. 그리고 1차항은 p<0.01 수준에서, 2차항은 p<0.05 수준에서 유의하였으나 변수 상호간의 교차항에 있어서는 pH와 기질에 대한 효소 농도비(E/S)를 제외한 나머지 다른 변수들간에는 유의성이 없었다. 그러나 전체적인 모형에서는 유의(p<0.01)하였으므로 각 변수간의 상관관계도 인정할 수 있었다. 이러한 RSM 결과로부터 얻어진 가수분해율의 식은 다음과 같다.

$$DH(\%)=47.210+5.325T+5.992t-4.700S+3.708E/S-1.477t^2-1.327E/S^2-1.863pH \times E/S$$

가수분해에 영향을 미치는 두 독립변수 상호간의 상관관계를 알아보기 위해 나머지 다른 변수들을 zero level에 둔 상태로 두 변수간의 3차원 및 등고선을 도식화하였다.

pH와 반응시간(t)에 대한 반응표면과 등고선은 Fig. 2와 같다. pH 6.3~7.0 부근에서 t가 증가할수록 최대

58%의 가수분해율을 나타내었으며, 기질 농도(S)와 pH와의 관계(Fig. 3)에서는 pH 7.0~8.0 부근에서 S가 작을수록 가수분해율이 증가하였는데 이러한 결과는 참

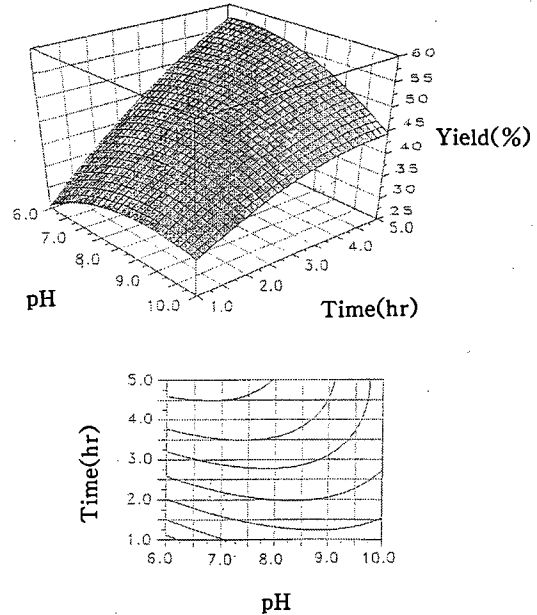


Fig. 2. Response surface and contour plots for the effect of pH and time to determine the optimal conditions for hydrolysate of skipjack by-product.

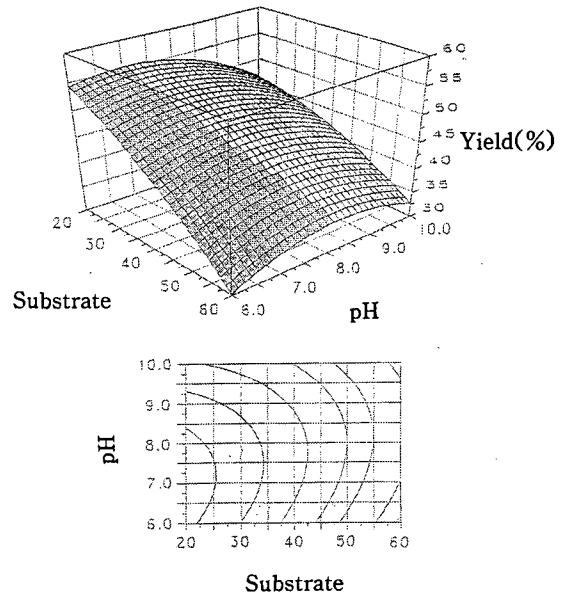


Fig. 3. Response surface and contour plots for the effect of substrate and pH to determine the optimal conditions for hydrolysate of skipjack by-product.

치 부산물이 가지는 단백질 특성과 깊은 관계가 있다고 추정된다. S와 온도(T)와의 관계(Fig. 4)에서는 S가 적을수록 T가 높을수록 높은 가수분해도를 나타내었는데, 이는 Table 5 및 가수분해율에서처럼 변수 상호간의 교차항의 상관성이 없음을 보여주고 있다. S와 기질에 대한 효소 농도비(E/S)에 대한 상관관계(Fig. 5)에서도 S와 T의 관계와 같이, S가 적을수록 E/S가 높을수록 가수분해도가 높았다. E/S와 t와의 관계(Fig. 6)에서는 E/S가 0.45~0.5% 구간에서 4.5~5.0시간 반응시켰을 때 52%의 가수분해도를 나타내었다. 이러한 두 변수간의 상관관계(Regression of Cross Product)는 다중회귀분석 결과( $p > 0.1$ )와 같았으며 본 실험에서 디자인한 식은 1차식에서 T, t, S 및 E/S에 의해 영향을 받으며, 2차식에서는 t 및 E/S에 의해 지배받는다는 것을 알 수 있었다. 그리고 정상점(stationary point)에서의 가수분해율은 47.21%를 나타내었는데 정상점은 안장점을 나타내고 있어 최고점이라고 할 수 없었다. 따라서 가수분해율의 최대점을 얻기 위한 능선분석(ridge analysis, coded radius 1.0) 결과, Protease P 효소 사용시 pH 7.2, 반응온도 51°C, 반응시간 3.94hr, 기질 농도 33.3% 및 효소 농도 0.48%에서 최대 64.88%의 가수분해율(예측치)을 나타내었다. 따라서 이러한 조건으로 참치 가공부산물로부터 단백질 가수분해물을 제조한다면 기존의 가수분해 조건에서 보다

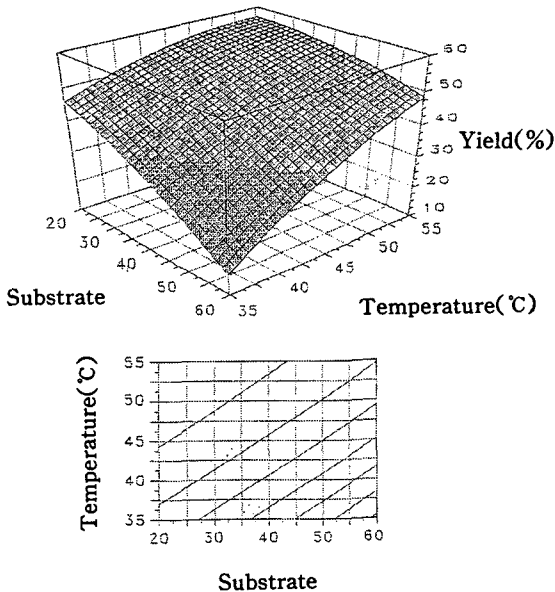


Fig. 4. Response surface and contour plots for the effect of substrate and temperature to determine the optimal conditions for hydrolysate of skipjack by-product.

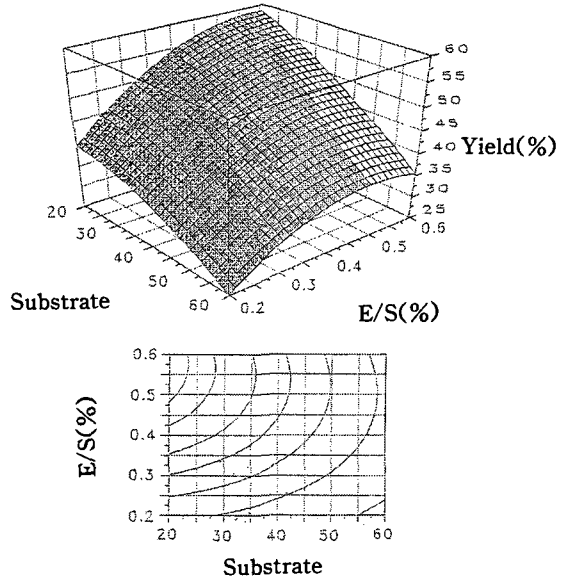


Fig. 5. Response surface and contour plots for the effect of substrate and E/S to determine the optimal conditions for hydrolysate of skipjack by-product.

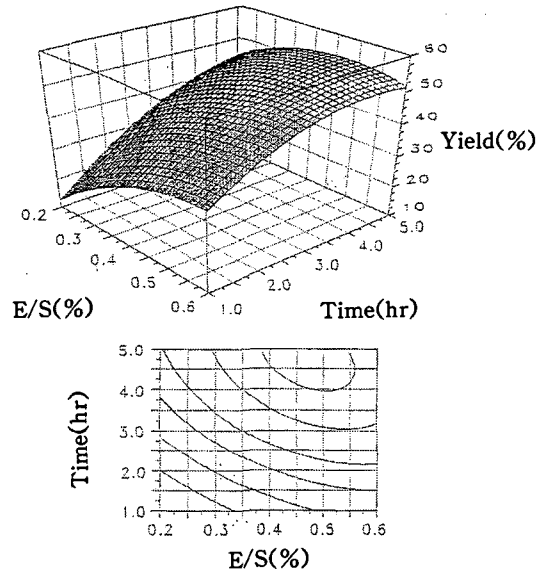


Fig. 6. Response surface and contour plots for the effect of E/S and time to determine the optimal conditions for hydrolysate of skipjack by-product.

높은 효율을 얻을 수 있으며 아울러 산업적 경쟁력도 높을 것으로 사료되었다.

#### 분말 참치 가수분해물의 제조 및 품질

참치 가공 부산물은 반응표면분석에서 얻어진 최적

**Table 6. Proximate composition and salinity of raw and hydrolysate from skipjack processing by-product (g/100g)**

	Moisture	Protein	Lipid	Ash	Salinity
Raw	66.23±0.01 <sup>1)</sup>	26.72±0.03	2.93±0.05	2.04±0.02	1.24±0.00
Hydrolysate	2.59±0.02	23.82±0.01	0.88±0.06	3.26±0.04	2.59±0.00

<sup>1)</sup>Average±standard deviation(n=3)

가수분해 조건에서 가수분해물을 제조하였으며, 이 가수분해물을 원료육 중량에 대해 0.5% 포도당을 첨가하여 121°C에서 10분간 효소 불활성화 및 Maillard 반응을 유도하였다. 그리고 분말화를 위해 가수분해물(Brix, 11°)을 진공증발기로 Brix, 13.2°까지 농축하였으며 고형물 중량에 대해 2배량의 maltodextrin을 첨가하여 분무건조하였다. 이때 수율은 참치 가수분해물로부터 166g/L였다. 분말 가수분해물의 일반성분을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 수분 함량은 2.59%, 지방은 0.88%, 단백질은 23.82%, 회분은 3.26%였다. 그리고 염도는 2.59%로서 원료 1.24%에 비하여 건물량 기준으로 환산하여 볼 때 약간의 감소가 있었다. 이것은 분말화할 때 향미 포집제로 첨가하였던 maltodextrin에 의해 상대적으로 감소한 것이다.

아미노질소 및 제품의 색도 분석 결과는 Table 7에 나타내었다. 아미노질소는 150mg%이던 것이 가수분해물에서는 660mg%로 약 4.4배 정도 증가되었다. 그리고 표면 색도에 대해서는 대조구로서 시판 참치 조미료를 선정하여 비교해 보았다. 명도는 42.7로서 대조구에 비해 약간 어두웠고, 적색도는 18.9로서 약간의 적색을, 황색도는 20.3으로서 약간의 노란색을 띄었다. 전체적인 갈변도 ΔE값은 50.9로서 시판 참치 조미료와 비교할 때 혈합육으로부터 기인한 적색도가 높게 나타났으며, 상대적으로 명도가 감소하였지만 ΔE값

**Table 7. Color value and amino nitrogen(amino-N content) of powdered-hydrolysates from skipjack processing by-product(dark muscle)**

	Raw	Hydrolysate	Reference <sup>1)</sup>
Color value			
L		42.7	43.5
a		18.9	7.9
b		20.3	18.5
ΔE		50.9	51.2
Amino-N(% , w/w)	0.15±0.01	0.66±0.02	

L: Measures lightness and varies from 100 for perfect white to zero black

a: Measures redness when plus, gray when zero, and greenness when minus

b: Measures yellowness when plus, gray when zero, and blueness when minus

$$\Delta E: \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

<sup>1)</sup>Commercially available Powdered Kasuobushi product

에서는 큰 차이가 없었다.

## 요 약

참치 가공 부산물로 부터 유용한 식량소재를 찾기 위한 목적으로 상업용 단백질 분해효소를 이용하여 반응표면분석법에 의한 최적화한 조건에서 참치 가수분해물을 제조한 결과를 요약하면 다음과 같다. 8종의 상업용 단백질 분해효소에서 가격에 대한 효소활성도와 관능검사 결과치로부터 Pretease P가 최적 효소로 선정되었으며, 참치 가공 부산물 가수분해 과정에서 원료 자체의 가수분해효과는 없었다. 반응표면분석결과 결정계수(0.9460) 및 적합결여검증(p>0.1)을 통해, 본 실험의 디자인이 만족하게 설계되었음을 알 수 있었고 일차식 및 이차식에서는 p<0.05% 수준에서 유의하였다. 다중회귀분석 및 능선분석 결과, 가수분해물 제조를 위한 최적 조건은 pH 7.2, 반응온도 51°C, 기질 농도 33.3%, 기질에 대한 효소 농도 0.48%에서 3.94시간 가수분해시킬 때이며, 이때의 가수분해율은 64.88%였다.

## 감사의 글

이 논문은 1995년도 한국학술진흥재단의 자유공모 과제 연구비 지원에 의한 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. 한국수산회 : 수산연감. p.550(1994)
2. 배태진 : 효소분해법에 의한 속성어장유의 제조 및 품질개선에 관한 연구. 부산수산대학교 대학원 박사학위논문(1980)
3. 오광수, 김정균, 김인수, 이응호, 김복규 : 통조림용 가다랑어육의 식품성분. 한국수산학회지, 23, 178(1990)
4. Baek, H. H. : Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products for bioflavor production. Ph. D. Dissertation, Louisiana State University, Baton Rouge, LA(1994)
5. Hale, M. B. : Relative activities of commercially available enzymes in the hydrolysis of fish protein.



- Food Technol.*, **32**, 107(1969)
6. Box, G. E. P., Hunter, W. G. and Hunter, J. S. : Statistics for experiments. John Wiley and Sons, Inc., New York(1978)
  7. Statistical Analysis System : SAS/STAT User's Guide, Version 6 4th ed., SAS Institute, Inc., Cary, NC.(1989)
  8. A.O.A.C. : *Official methods of analysis*. 13th ed., Association of official analytical chemists. Washington, D.C., p.285(1980)
  9. 日本藥學會編 : 衛生試驗法注解. 金原出版, p.62(1980)
  10. 日本醬油研究所 : しょうゆ試験法. 三雄舎印, p.9(1985)
  11. 강병서, 석기석, 오윤조 : 통계분석을 위한 SPSS/PC\*. 무역경영사, p.102(1993)
  12. 이영철, 김동수, 김영동, 김영명 : 단백질 분해효소를 이용한 글과 혼합 가수분해물의 제조. 한국식품과학회지, **22**, 234(1990)
  13. 최인재, 남희섭, 신재익, 이병훈 : 단백질 분해효소에 의한 혼합단백질의 분해에 관한 연구. 한국식품과학회지, **24**, 519(1992)
  14. Visser, F. M. W. : Contribution of enzymes from rennet starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 5. Some observations on bitter cheeses. *Neth. J. Milk Dairy*, **31**, 265(1977)
  15. Quaglia, G. B. and Orban, E. : Enzymic solubilization of proteins of sardine(*Sardina pilchardus*) by commercial proteases. *J. Sci. Food Agric.*, **38**, 263(1987)
  16. Nana, T. H. and John, H. M. : Quality of fish protein hydrolysates from Herring(*Clupea harengus*). *J. Food Sci.*, **59**, 76(1994)
  17. Ney, K. H. : Aminosäure. Zusammensetzung von proteinen und die bitterkeit ihrer peptide. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **149**, 321(1972)
  18. Sikorski, E. Z. and Naczka, M. : Modification of technological properties of fish protein concentrates. *CRC Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.*, **4**, 201(1981)

(1996년 2월 21일 접수)