

## 새우젓의 육류단백질 분해 특성

오세욱 · 김영명 · 남은정 · 조진호  
한국식품개발연구원

### Proteolytic Properties of *Saewoojeot* (Salted and Fermented Shrimp) on Meat Proteins

Se-Wook Oh, Young-Myoung Kim, Eun-Jung Nam and Jin-Ho Jo  
Korea Food Research Institute

#### Abstract

This study was conducted to investigate the proteolytic properties of *saewoojeot* (salted and fermented shrimp) on various meat proteins. NaCl content was decreased less than 2% by electro dialysis. As electro dialysis time was passed, the protease activity was increased. The proteolytic activity of crude protease on muscle proteins of beef, pork, chicken was analyzed by SDS-PAGE. Crude enzyme easily degraded both heat-denatured and native meat proteins. Protein degradation was rapidly occurred within 5 min and most all myofibrillar protein was disappeared. Heat-denatured chicken meat (100%) was most easily degraded than heat-denatured pork meat (47%) and beef meat (31%).

Key words: *saewoojeot* (salted and fermented shrimp), proteolytic properties, protease, SDS-PAGE

## 서 론

젓갈(salted and fermented seafoods)은 어패류의 육, 내장, 생식소 등에 식염을 가하여 부패를 억제하면서 어체내에 존재하는 단백질 분해효소에 의한 단백질, 펩타이드 등의 분해와 숙성 중 관여하는 미생물에 의한 풍미 생성 등에 의해 제조되는 우리나라 전통수산물 발효 식품이다<sup>(1)</sup>. 1995년 현재 우리나라의 젓갈류의 생산량은 16,613톤으로 이 중 새우젓이 4,958톤으로 약 30%를 차지하고 있어<sup>(2)</sup> 대표적인 젓갈중 한가지임을 알 수 있다.

새우젓은 미반 또는 편육등의 육류 단백질 섭취시 직접 식용하거나 한국의 대표적인 발효식품인 김치 제조시 풍미를 향상시키기 위하여 주로 첨가하기도 한다.

새우젓은 예로부터 유아용죽에 간을 하거나 감이나 육류를 먹고 체했을때 소화제로 이용될 만큼 민간요법으로도 사용되기도 하였다. 특히 삶은 돼지고기 섭취시 거의 필수적으로 먹어왔던 식품으로 이는 새우젓의 풍미가 돼지고기와 어울리며 새우젓내의 단백질

분해효소, 지방분해효소 등이 존재하여 소화에 도움을 주기 때문이라고 생각된다.

기존의 새우젓에 관한 연구로는 새우젓의 amine 함량<sup>(3)</sup>, 무기질<sup>(4)</sup>, 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub><sup>(5)</sup>, 질소화합물<sup>(6)</sup>, 정미 성분<sup>(7)</sup>, 저식염새우젓 제조 및 풍미성분<sup>(8)</sup>, 새우젓의 종류별 성분 및 품질평가<sup>(9)</sup>, 새우젓의 향기성분<sup>(10)</sup>, 젓새우의 함질소 엑스성분<sup>(11)</sup>, 시판 새우젓의 함질소 엑스 성분<sup>(12)</sup>, 새우젓을 첨가한 우육, 돈육 젓갈 발효에 대한 단백질 분해 효소의 영향에 대한 연구<sup>(13)</sup>, 새우젓 숙성 중의 단백질 특성변화에 관한 연구<sup>(14)</sup> 등으로 젓갈내의 단백질 분해 효소에 의한 육류 단백질 분해 및 이에 대한 전기영동 분해패턴 연구는 미비한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 우리나라 대표적 전통수산물 발효식품인 새우젓에 존재하는 단백질분해효소의 육류 단백질 분해 특성 등을 조사하여 전통식품의 과학적 재조명 및 새우젓 숙성 메카니즘 등을 파악하기 위한 기초실험을 실시하였으며 그 결과를 이에 보고한다.

## 재료 및 방법

### 조효소액 및 기질의 조제

본 실험에 사용한 새우젓은 전라남도 신안군 일대

Corresponding author: Se-Wook Oh, Korea Food Research Institute, 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Kyunggi-do 463-420, Korea

에서 어획되어 선상에서 제조된 새우젓으로서 15°C 항온조에서 저장하면서 숙성정기에 도달한 새우젓을 homogenizer로 균질화 시켜 6,000×g에서 원심분리한 후 상층액을 전기투석기(selemion electro dialyzer, TYPE DS-0, Asahi Glass Company)를 이용하여 염도가 2% 이하가 되도록 탈염시킨 것을 조효소액으로 하여 실험에 사용하였다.

사용된 육류단백질 기질로는 가능한한 도살직후의 우육, 돈육, 계육 등으로 지방과 결체조직을 가능한한 제거하였으며 가열변성기질은 100°C의 끓는 물에서 20분간 처리하였다.

### 일반성분 분석

새우젓의 일반성분은 AOAC법<sup>(15)</sup>에 따라 측정하였다.

### 염도 측정

염도는 Mohr법<sup>(16)</sup>에 의하여 측정하였다.

### 효소활성 측정

탈염 새우젓의 효소활성은 Anson의 방법<sup>(17)</sup>과 萩原의 방법<sup>(18)</sup>을 변형하여 측정하였다. 즉, 효소반응액은 0.1 M phosphate buffer 1 mL, 1.5% hammersten casein 1 mL, 효소액 1 mL를 넣고 37°C에서 30분간 shaking water bath에서 반응시키고 5% TCA 2.5 mL을 넣어 효소반응을 정지시켰다. 효소활성의 측정은 12,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액 1 mL에 0.55 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2.5 mL, 증류수로 3배 희석한 Folin-ciocalteu 시약 0.5 mL을 섞어 37°C에서 30분 방치한 후 660 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 반응액 및 대조구의 흡광도 차이를 표준 곡선에서 tyrosine 함량(μg/mL·min)으로 환산하여 표시하였다. 활성단위는 효소액 1 mL이 1분간 1 μg에 상당하는 tyrosine을 생성하는 양을 1 unit로 정의하였다.

### 단백질 정량

Biuret법<sup>(19)</sup>에 의하여 Bovine serum albumin을 표준 단백질로 사용하여 단백질 함량을 측정하였다.

### SDS-PAGE에 의한 육류 단백질의 분해력 측정

전기투석기를 이용하여 탈염시킨 새우젓의 가열 처리한 우육, 돈육, 계육 등에 대한 근육 단백질 분해 양상을 전기영동(SDS-PAGE)법으로 분석, 비교하였다. 즉 전근육 10 g에 효소 100 unit를 첨가하여 37°C에서 일정시간동안 조효소액과 반응시킨 우육, 돈육, 계육 등의 근육 단백질을 0.4 g씩 취하여 7.5 mL의 8 M

urea-2% mercaptoethanol-2% SDS-20 mM Tris-HCl (pH 8.0)의 용액을 첨가하여 100°C에서 2분간 가열한 후 실온에서 20시간 교반하면서 가용화 시켜 전기영동 시료로 하였다. 이때 전기영동 시료는 well당 20 μg에 상당하는 단백질 양을 전기영동에 사용하였다<sup>(20)</sup>.

전기영동은 Laemmli법<sup>(21)</sup>에 의한 10% polyacrylamide gel을 조제하여 사용하였으며 분리된 단백질 band는 Coomassie brilliant blue R-250을 사용하여 염색하였으며, 탈색은 50% methanol-7% acetic acid 용액으로 30분간 탈색 후 7% acetic acid로 gel의 배경이 투명화 될 때까지 행하였다.

## 결과 및 고찰

### 새우젓의 일반성분 분석

본 실험에 사용한 새우젓의 일반성분은 Table 1과 같다. 즉, 수분이 60.1%, 조단백질 10.6%, 조지방 0.1%, 조회분 26.2%, 염도가 25.5%로 비교적 높은 것은 새우가 쉽게 변질되는 특성으로 식염을 충분히 첨가하여 제조하였음을 알 수 있었고 젓갈의 숙성지표인 AN/TN<sup>(22)</sup>의 비율은 64.4%로 나타나 본 실험에서 사용한 재료는 숙성정기의 새우젓이라 판단되었다.

### 전기투석 시간에 따른 새우젓의 염도 및 protease activity의 변화

전기투석 시간에 따른 새우젓의 염도 및 protease activity의 변화를 측정한 결과는 Fig. 1과 같이 염도가 2% 이하가 되기까지 7시간이 소요되었으며 염농도가 낮아질수록 protease activity는 증가하는 경향이였다. 이는 전기투석기를 이용하였을 경우 식염 뿐 아니라 수분도 함께 제거되는 효과가 있으므로 protease가 농축되는 효과가 있었기 때문으로 사료되었다.

### 우육, 돈육, 계육 단백질의 분해 특성

새우젓으로 조제한 조효소액에 우육, 돈육, 계육을

**Table 1. Proximate composition of saewoojeot used in this study**

Component	Composition (%)
Moisture	60.1
Ash	26.2
Crude protein	10.6
Crude fat	0.1
Salt	25.5
AN/TN <sup>1)</sup>	64.4

<sup>1)</sup>AN: amino-nitrogen (NH<sub>2</sub>-N), TN: total nitrogen.

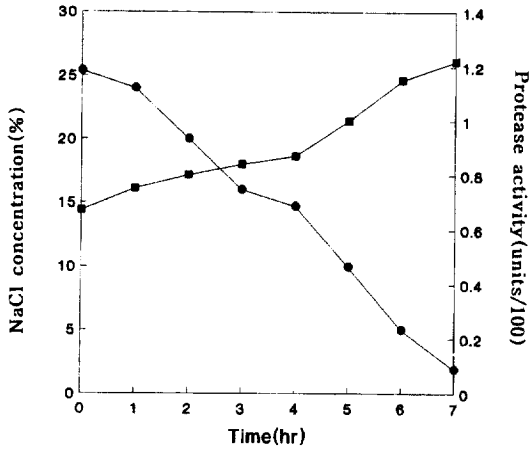


Fig. 1. Changes in protease activity during electrodia-lysis. Desalting was carried out at the flow rate 150 mL/hr under 7A. NaCl concentration (●—●), protease activity (■—■).

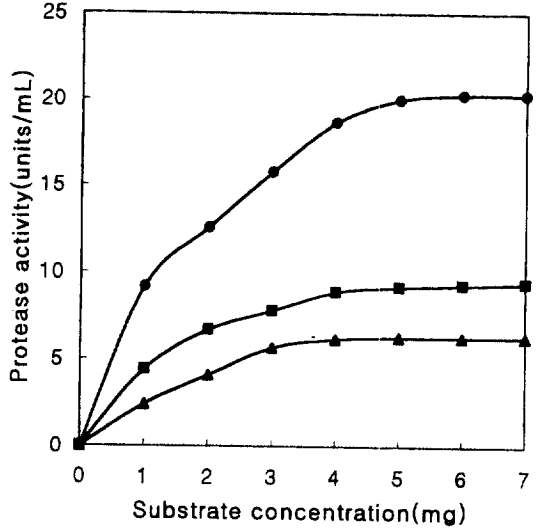


Fig. 3. Effect of substrate concentration on the protease activity. Substrate concentration curves were drawn on a plot of substrate concentration (mg of protein) versus initial rate (enzyme activity). The substrate used for comparison were heat-denatured beef (▲—▲), heat-denatured pork (■—■) and heat-denatured chicken (●—●).

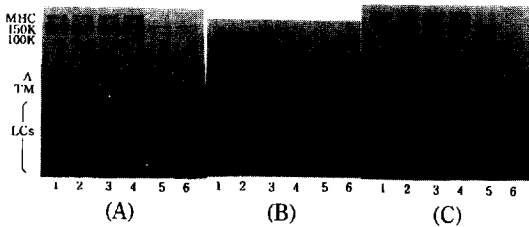
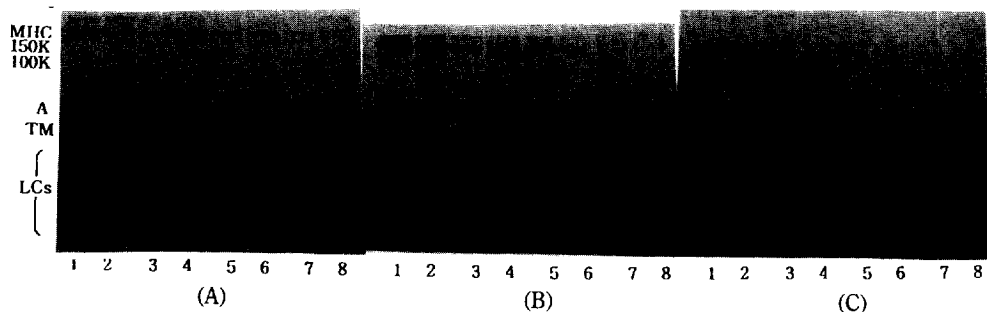


Fig. 2. SDS-PAGE patterns of solubilized protein from various meat muscle incubated with crude protease at 37°C for 1 hr. (A) beef (B) pork (C) chicken meat. Lane 1: control (raw meat), 2: heat-denatured meat at 100°C for 20 min, 3: raw meat incubated with water for 1 hr, 4: heat-denatured meat incubated with water for 1 hr, 5: raw meat incubated with crude protease from *saewoojeot* for 1 hr, 6: heat-denatured meat incubated with crude protease from *saewoojeot* for 1 hr. MHC: myosine heavy chain, A: actin, TM: tropomyosin, LCs: myosine light chains.

기질로 하여 37°C에서 1시간 반응시켜 SDS-PAGE에 공시한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 가열변성한 처리구(lane 2)의 경우 대조구로 사용된 원료육(lane 1)에 비하여 myosin heavy chain (MHC), actin (A), tropomyosin (TM), 150 K, 100 K 등이 약간 분해되는 경향을 나타내었다. 조효소액 대신에 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨(lane 3, 4) 처리구의 경우 원료육이나 가열변성육에 비하여 각 단백질의 subunit 조성이 거의 비슷한 양상으로 나타나 단백질분해가 거의 이루어지지 않은 것으로 판단되었다. 기질 종류에 따른 단백질 분해 양상을 살펴보면 (A)에 나타난 우육의 경우 비교적 가열변성이 완만히 일어나 MHC의 소량 분해만 일

어났으나 actin의 함량은 변화가 없었다. 조효소액에 1시간 반응시켰을 때 가열변성하지 않은 기질(lane 5)의 경우 MHC가 완전히 분해되었으며 actin도 상당량 분해된 결과였으며 가열변성한 기질(lane 6)의 경우도 비슷한 양상을 나타내었으나 actin의 분해가 더욱 더 진행된 것으로 나타났다. 돈육(B)을 기질로 사용하였을 경우 우육에 비하여 가열변성시 MHC의 분해 및 actin의 분해가 약간 더 진행되는 것으로 나타났으며 새우젓 조효소액에 반응하였을 때 가열변성하지 않은 돈육(lane 5)의 경우 actin에 상당하는 band가 약간 존재할 뿐 다른 근원섬유 단백질 band는 보이지 않고 있다. 가열 변성한 기질을 사용하였을 경우 actin에 상당하는 band 까지도 거의 완전히 분해 되었다. 계육(C)을 기질로 사용하였을 경우 가열변성 특성은 돈육과 유사하였으나 조효소액에 반응하였을 때 가열변성한 계육(lane 6)의 경우 actin을 비롯한 거의 모든 단백질이 거의 완전히 분해되었으나 가열변성하지 않은 처리구(lane 5)의 경우 MHC가 소량 검출되었으며 actin은 거의 분해되지 않은 것으로 나타나 우육, 돈육과는 매우 다른 분해 특성이 있음을 알 수 있었다. 따라서 계육의 경우 가열 변성하지 않았을 경우 새우젓에 존재하는 단백질 분해효소에 의해 쉽게 분해가 일어나지 않음을 알 수 있었다. 가열변성을 받지 않은 기질보다 가열변성된 기질이 더욱 더 원활히 분해되었으



**Fig. 4. SDS-PAGE patterns of solubilized protein from various meat muscle incubated with crude protease at 37°C (time course). (A) beef (B) pork (C) chicken meat. Lane 1: control (raw meat), 2: heat-denatured meat at 100°C for 20 min, 3, 4, 5, 6, 7 and 8: heat-denatured meat incubated with crude protease from saewoojeot for 1, 2, 3, 4, 5 min and 1 hr, respectively.**

며 돈육과 계육의 경우 열변성을 받은 기질은 거의 모든 근원섬유 단백질이 완전히 분해되어 전기영동상 매우 희미한 band로 검출되어 매우 강력하게 단백질 분해가 진행되었음을 알 수 있었다.

따라서 새우젓내에 존재하는 단백질 분해효소는 육류 단백질에 대하여 강력한 분해 작용을 나타내었으며 이러한 분해는 가열변성된 기질을 사용하였을 경우 더욱 더 현저하게 진행되었으며 비가열 기질일 경우에도 매우 원활히 단백질을 분해하였다.

기질에 따른 새우젓 조효소액의 분해력을 측정하기 위하여 기질농도에 대한 protease activity를 측정하여 Fig. 3에 나타내었다. 기질은 100°C에서 20분간 처리한 가열변성육을 사용하였다. 기질의 농도가 증가할수록 protease activity는 완만히 증가하였으며 그 이후 평형에 도달하였다. 계육이 가장 원활하게 분해되었으며 돈육, 우육의 순으로 분해가 원활히 진행되었다. 계육에 대한 분해능을 100%로 설정하였을 때 돈육이 47%, 우육이 31%에 상당하였다. 따라서 가열변성한 기질의 경우 계육이 가장 원활히 분해됨을 알 수 있었다.

**우육, 돈육, 계육 단백질의 시간별 단백질 분해 패턴**

새우젓 조효소액을 가열변성 시킨 육류 단백질에 반응시켜 시간 경과에 따른 단백질 분해 양상을 측정하기 위해 1분 단위로 실험구를 취하여 SDS-PAGE한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. (A)에 나타난 가열변성한 우육의 분해 패턴을 살펴보면 1분 반응시 MHC, A, TM 및 150 K, 100 K에 상당하는 성분들이 분해된 양상을 나타내었으며 1분 이후 시간의 경과에 따라 급격한 단백질 분해가 일어나지 않았다. 가열변성한 돈육을 기질로 사용하여 조효소액과 반응시켰을 때의 단백질 분해 패턴을 (B)에 나타내었다. 1분 반응후 MHC, A, TM 및 150 K, 100 K에 상당하는 subunit의

원활한 분해가 진행되었다. 비교적 안정하다고 알려져 있는 actin의 경우도 MHC의 분해와 동시에 분해가 진행되었으며 4분 이상 반응시 거의 모든 근원섬유 단백질이 분해되었으며 전기영동시 front line에 해당하는 위치에 분해된 저분자의 단백질이 검출되어 매우 급격한 단백질 분해가 일어났음을 알 수 있었다. 계육을 가열변성하여 새우젓 조효소액에 반응시켰을 때의 단백질 분해 결과를 (C)에 나타내었다. 계육의 경우 1분 반응후의 결과는 대조구와 별반 차이를 나타내지 않아 MHC 만 약간 분해된 결과로 원활한 분해가 이루어지지 않은 것으로 나타났으나 2분 반응후부터 거의 모든 MHC가 분해되었으며 이와 동시에 actin 및 TM 등이 급격히 분해되는 양상을 나타내었다.

## 요 약

새우젓의 육류단백질 분해 특성을 파악하기 위하여 전기투석기를 이용하여 탈염하여 조효소액을 조제하였다. 새우젓의 염도는 전기투석 후 2% 이하로 낮아졌으며 투석 시간이 경과할수록 조효소액의 protease activity는 증가하였다. 새우젓 조효소액에 우육, 돈육, 계육 등의 육류 전근육단백질을 기질로 하여 37°C에서 반응시켜 SDS-PAGE로 근원섬유 단백질의 분해 양상을 측정하였다. 새우젓 조효소액은 매우 강력하게 육류단백질을 분해하였으며 가열 처리 및 비가열 처리 기질 모두 원활히 분해하는 특성이 있었다. 이러한 육류 단백질 분해는 특히 가열 처리한 육류에서 더 크게 나타나 5분 이내에 거의 모든 근육 단백질의 분해가 일어났다. 가열변성된 기질을 사용하여 조효소액의 분해능을 측정하였을 때 계육의 분해가 가장 원활히 일어났으며 그 다음이 돈육, 우육의 순이었다.

## 감사의 글

본 연구는 1994년 농림부에서 시행한 농림수산물 특  
정 연구 사업에 의해 수행된 결과중의 일부이며 연구  
비 지원에 감사드립니다.

## 문헌

1. 김영명, 김동수 : 한국의 젓갈-그 원료와 제품. 창조사, 서울, p.9 (1990)
2. 농수산 통계연보 : 농림수산물부 (1996)
3. 노영재 : 젓성분에 관한 연구(제3보) 아미노산 정량법에 관한 연구와 젓즙 속의 amine 및 trimethylamine oxide 함량에 관하여. 부산수산대학논문집, **8**, 309 (1967)
4. 윤혜정 : 한국산 젓갈에 대한 연구(제1보)-젓갈의 trace elements에 대하여. 한국생활과학연구원 논총, **2**, 103 (1969)
5. 윤혜정 : 한국산 젓갈에 대한 연구(제2보)-젓갈의 비타민 B1, B2, B12에 대하여. 한국생활과학연구원 논총, **6**, 265 (1971)
6. 윤혜정 : 한국산 젓갈에 대한 연구(제3보)-젓갈의 합질 소화합물에 대하여. 한국생활과학연구원 논총, **11**, 59 (1973)
7. 정승용, 이응호 : 새우젓의 정미성분에 관한 연구. 한국수산학회지, **9**, 79 (1976)
8. 이응호, 안창범, 오광수, 이태훈, 차용준, 이근우 : 저식염 수산발효식품의 가공에 관한 연구-9. 저식염 새우젓의 제조 및 풍미성분. 한국수산학회지, **19**, 459 (1986)
9. 김영택, 이철호 : 새우젓의 종류별 성분 및 품질평가. 고려대논문집, **27**, 151 (1987)
10. 차용준 : 전통 수산 발효 제품의 향기성분에 관한 연구. 한국음식문화연구원논문집, **6**, 271 (1995)
11. 박춘규, 박정임 : 토하 및 젓새우의 합질소 엑스성분에 관한 연구. 한국식품과학회지, **28**, 1111 (1996)
12. 박춘규, 김우준, 김귀식, 박정임 : 시판 새우젓의 합질소 엑스성분에 관한 연구. 한국식품과학회지, **28**, 1135 (1996)
13. 김운지, 성기승, 한찬규, 정재홍, 강통삼 : 새우젓을 첨가한 우, 돈육 젓갈 발효에 대한 단백질 분해효소의 영향. 한국축산학회지, **38**, 275 (1996)
14. 박길홍, 주진순 : 새우젓 중의 단백질분해효소에 대한 연구. 한국영양학회지, **19**, 363 (1986)
15. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis.*, 15th Edition, Edited by Kenneth Helrich., Association of Official Analytical Chemists, Virginia, U.S.A. (1990)
16. 日本藥學會編 : 衛生試驗法註解, 金原出版株式會社, 東京, p.62 (1980)
17. Anson, M.L.: The estimation of pepsin, papain, cathepsin with hemoglobin. *J. Physiol.*, **22**, 79 (1939)
18. 萩原四郎 : 酵素研究法. Vol. II. 朝倉書店. 日本. p.237 (1956)
19. Gornall, A.G., Bradawill, C.J. and David, M.M.: Determination of serum proteins by means of the buret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751 (1949)
20. 이남혁, 오세옥, 김영명 : 오징어식해 숙성중 단백질 화학적 변화. 한국식품과학회지, **28**, 292 (1996)
21. Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680 (1970)
22. Mizutani, T., Kimizuka, A., Ruddle, K. and Ishige, N.: A Chemical analysis of fermented fish products and discussion offermented flavors in asian cuisines. *Bulletin of the National Museum of Ethnology*, **12**, 801 (1987)

(1997년 8월 26일 접수)