

효소를 이용한 어육기수분해물 제조

김 상 무
강릉대학교 해양생명공학부

Manufacture of Fish Hydrolyzate by Enzyme

Sang Moo Kim
Faculty of Marine Bioscience & Technology,
Kangnung National University

Abstract

Endo- and exoproteases were used to hydrolyze *Alaska pollack* processing scrap. In 2 stage hydrolysis, the optimal conditions by Protamex were: temperature, 45.8°C; pH, 6.73; enzyme concentration, 0.11%; time, 105.5 min, whereas those by Flavourzyme were: temperature, 42.0°C; pH, 6.54; enzyme concentration, 0.28%; time, 20.4 hrs. But, the optimal conditions of 1 stage hydrolysis by equal proportion of Protamex and Flavourzyme were: temperature, 52.9°C; pH, 6.3; enzyme concentration, 0.46%; time 10.9 hrs. The contents of carbohydrate and ash were higher in the 2 stage hydrolyzate than the 1 stage, while that of crude lipid was in the reverse order. There were no significant differences in the contents of moisture and crude protein between both methods. The contents of total creatine and IMP, and viable cell counts were higher in the 1 stage hydrolyzate than the 2 stage, while the contents of TMAO, TMA, and Hx was in the reverse order. But, there were no significant differences in the contents of amino-N and color between both methods. The free amino acid contents of the 1 and 2 stage hydrolyzate were 2,741.77 and 3,529.47 mg/100 mL, respectively.

Key words: Fish hydrolyzate, enzyme, *Alaska pollack*

서 론

어간장(액젓)은 어패류를 원료로한 전통적인 수산 발효 조미료로서, 주로 동남아시아 및 지중해 연안에서 널리 이용되고 있는 천연 조미료이다. 우리나라에서는 남해안 일대에서 굴젓 간장, 멸치젓 간장 등이 가정에서 만들어 이용되고 있으며, 최근들어 상품화되고 있는 발효식품이다. 화학조미료를 기피하고 천연조미료를 선호하는 요즈음의 소비자들의 기호도를 고려할 때 어간장은 아주 훌륭한 대체 조미료의 하나이다. 그러나, 어간장을 제조할 때 가장 큰 문제점 중의 하나로 인지되고 있는 것은 이의 제조(숙성) 기간이 길다는 것이다. 예를 들면, 일본의 *shottsuru*의 경우 1년 이상의 숙성이 요구되고 있다.

어간장에 대한 최근 연구로는 *Shottsuru*의 미생물상

에 대한 연구⁽¹⁾, 정어리 어간장 제조공정 개선에 관한 연구⁽²⁾가 있으며, 어간장 원료를 달리한 연구로는 정어리 잔사⁽³⁾, 크릴⁽⁴⁾, 말취치 잔사⁽⁵⁾, 대구피 젤라틴⁽⁶⁾, 가다랑어 잔사⁽⁷⁾, 고등어 가공잔사⁽⁸⁾ 등을 원료로 이용한 연구가 보고되어 있다. 그리고, 어간장의 제조 공정을 단축하기 위한 연구로는 *koji*를 첨가한 숙성멸치간장제조^(9,10) 및 숙성 정어리 간장 제조⁽²⁾가 있으며, 효소를 첨가한 연구로는 *capelin* 어간장⁽¹¹⁾, *horse mackerel* 어간장⁽¹²⁾, *Ikanbilis* 어간장⁽¹³⁾, *herring* 어간장⁽¹⁴⁾ 등이 있으나 여러 가지 문제점(특히, 쓴맛 등 어취성분)이 남아있어 상품화하지는 못하고 있는 실정이다.

강원도 삼척지방을 중심으로 제조되는 명태꼬리 건조품(히메다라)의 부산물 및 폐기물은 일부 사료로서 이용하는 것을 제외하고는 대부분 폐기되고 있어 많은 환경 및 사회문제를 야기하고 있다. 그러므로, 이들 부산물 및 폐기물을 효과적으로 이용하는 방안이 절실히 요구되고 있으나, 원료가 동결육이기 때문에 다른 가공품으로는 이용가능성이 희박하다. 그러므로,

Corresponding author: Sang Moo Kim, Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University

화학 조미료를 기피하고 천연 조미료를 선호하는 요즈음의 소비자들의 기호도에 호응하는 면에 있어서도 수산발효조미료 개발이 시급한 실정이며 어간장 제조는 지역 특산품 개발의 일환으로도 시급히 해결해야 할 사항 중의 하나이다.

본 연구의 목적은 명태가공 잔사를 이용하여 어간장을 개발하기 위한 전단계로, 효소를 사용한 어육가수분해물의 제조 조건을 표면반응분석방법으로 설정하였다.

재료 및 방법

원료

어간장 제조의 원료는 히메다라 제조시 발생하는 명태 부산물(두부 및 몸통)을 사용하였다. 즉, 20 cm 정도 크기의 동결 명태를 꼬리 부분으로부터 약 7 cm 절단한 나머지 두부 및 몸통 부위를 어간장 원료로 사용하였다.

어간장 제조

어간장의 일반적인 제조 공정은 Fig. 1에 나타내었다. 본 실험에서는 명태가공 부산물을 chopper로 마쇄하여 마개가있는 2 L 플라스크에 넣은 다음 원료 중량 50%의 물을 가하였다. 여기에 단백분해효소를 가하여 최적 가수분해 조건에서 가수분해하여 시료로 사용하였다. 최적 가수분해 조건 설정은 단백분해효소별(endo- 및 exoprotease), pH, 온도, 시간 및 효소 농도를 변수로 하여 반응표면분석(Response Surface Methodology)⁽¹⁵⁾에

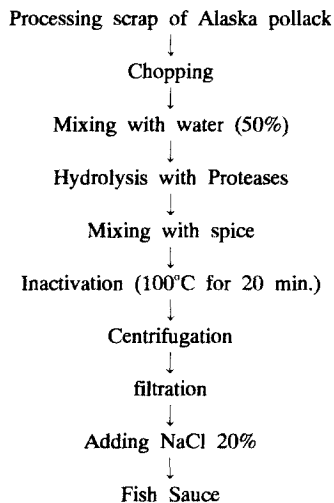


Fig. 1. Flow sheet for the manufacture of fish sauce.

의해 결정하였다. 각 변수들의 실험 범위는 사전 실험에서 결정하였다. Endoprotease류의 효소로는 Novo Nordisk (Denmark) 회사의 Flavourzyme (*Aspergillus oryzae* origin)을 사용하였으며, exoprotease 효소로는 같은 회사의 Protamex (*Bacillus* origin)을 사용하였다. 가수분해정도(Degree of Hydrolysis)는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{가수분해정도 (Degree of Hydrolysis)} = \frac{h}{h_{\text{tot}}} \times 100$$

h: 가수분해물의 단백질량, h_{tot} : 원료의 단백질량

일반성분 분석

상법으로 분석하였다.

단백질 함량

Lowry 법⁽¹⁶⁾으로 측정하였다. 즉, 가수분해가 끝난 시료를 5,000×g에서 원심분리를 한 다음 상등액을 시료로 사용하였다.

pH 측정

시료 10 mL를 취하여 pH meter (동우 메디칼센터, 서울)로 pH를 측정하였다.

아미노태질소(NH₂-N)량

Spies 및 Chamber⁽¹⁷⁾의 동염법으로 측정하였다. 즉, 시료 5 mL에 75% ethanol 50 mL을 가한 다음 5,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 5 mL 상등액에 Cu₃(PO₄)₂용액 5 mL을 가하여 5분간 혼합시킨 후, 다시 3,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취한 뒤 alanine 200 mg을 가하여 상온에서 방치한 후 620 nm에서 흡광도를 측정한 다음 표준곡선에서 아미노태 질소량을 계산하였다.

Trimethylamine (TMA) 및 trimethylamine oxide (TMAO)량

Bystedt 등⁽¹⁸⁾의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 시료용액 1 mL를 30 mL 공전시험관에 넣고 10% formalin 1 mL, toluene 10 mL, 25% KOH 3 mL를 가하여 격렬하게 80회 진탕하였다. 5분간 실온에서 방치한 다음 분리된 상층부 용액 7 mL를 취하여 무수망초를 넣어 수분을 제거하였다. 탈수 toluene층 5 mL을 다른 공전시험관 A에 취하여 0.02% picric acid-toluene 용액 2 mL와 혼합하여 10분간 방치한 다음 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. TMAO 측정은 시료용액 1 mL를 시험관 B에 취하여 1% TiCl₃ 용액 1 mL를 가하여 80°C

수조에서 1분간 방치한 후 잔여 $TiCl_3$ 을 없애기 위하여 포화 KNO_3 용액을 적하하여 분홍색이 소실되면 흐르는 물로 냉각하였다. 이것을 상기와 같은 방법으로 TMA량을 측정하고 환원전의 TMA량을 빼어 TMAO량으로 하였다.

총 creatine량

Sato와 Fukuyama⁽¹⁹⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료 10 mL에 증류수 50 mL를 가하여 5,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상등액 10 mL에 20분간 121°C에서 autoclave하였다. 냉각 후 2 N NaOH 10 mL를 가한 후 증류수로 100 mL로 정용하였다. 이 용액 5 mL에 증류수 15 mL, 1% picric acid 20 mL, 2 N NaOH 25 mL를 가하여 15분간 혼합한 다음 증류수로 100 mL로 정용하여 여과한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 총 creatine량을 계산하였다.

유리아미노산(free amino acids) 분석

시료 10 mL에 70% ethanol 50 mL를 넣고 24시간 방치한 후 6000×g에서 20분간 원심분리한 후 상등액을 취하였다. 상등액에 sulfo-salicylic acid 500 mg을 첨가하여 3시간 방치한 다음 원심분리하여 상등액을 rotary evaporator에서 농축하였다. 농축된 시료는 탈이온수로 25 mL로 정용한 다음 Ultracac II (Ø 0.6 cm) column을 부착한 아미노산 자동분석기(LKB 4150α, NY, USA)로서 분석하였다.

핵산관련물질

이 등⁽²⁰⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료 10 mL에 10% 냉과염소산용액 25 mL를 가하여 잘 혼합한 다음 5,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 분리하고 잔사를 같은 방법으로 재처리하였다. 상등액을 5 N KOH 용액으로 pH 6.5~6.8로 조정한 다음 10,000×g에서 10분간 원심분리한 후 냉과염소산용액으로 100 mL로 정용하였다. 이 용액 일부를 취하여 millipore filter (0.45 μm)로 여과하여 HPLC (Bechman, USA)로 분석하였다.

생균수

시료중의 총균수는 표준배지를 사용하여 32°C에서 48시간 배양한 다음 집락수를 계산하였다.

색깔 측정

시료 10 mL를 취하여 Hunter Y, x, y 값을 Chromameter CR-300 (Minolta, Japan)로 측정하였다.

자료 분석

실험 자료의 통계분석은 최소유의차(5% 수준)법에 의하여 분석하였으며, RSM은 Box and Benhnken⁽¹⁵⁾ 방법에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

2단계 가수분해에 의한 최적 가수분해 조건 설정

Protamex와 Flavourzyme 효소를 각각 첨가한 2단계 가수분해방법의 제 1차 가수분해에는 endoprotease 효능이 강한 Protamex를, 2차 가수분해에는 endo- 및 exoproteases 양 효능을 지닌 Flavourzyme를 사용하여 반응표면분석방법(Response Surface Methodology)에 의한 최적 가수분해 조건 설정 실험을 하여, Protamex에 의한 1차 가수분해 결과의 일부를 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에서 가수분해정도(Degree of Hydrolysis)는 온도가 증가할수록 증가하였으나 시간의 증가에 따른 변화는 거의 없었다. 본 논문에서는 제시하지는 않았지만 온도 및 효소 농도를 변수로 하였을 때는 DH는 온도가 증가할수록 감소하였으며, 효소 농도를 증가했을 경우에는 거의 일정한 값을 나타내었다. 온도 및 pH를 변수로 하였을 때, 온도와 pH가 증가할수록 증가하였으며, pH는 5.5에서 대략 6.0까지 증가하였을 때, DH는 어느 정도 급격하게 증가하였으나 그 후로는 거의 일정한 값을 나타내었다. 반면에 효소 농도를 증가하였을 경우, DH는 현저하게 증가하였다. pH와 가수분해 시간을 변수로 하였을 경우에는 pH가 증가할수록 DH는 거의 일정하게 증가하였으나, 가수분해 시간이 증가될수록 DH는 오히려 감소하였다. 효소농도와 가수분해시간을 변수로 하였을 경우에는 효소 농도가 증가할수록 DH는 현저하게 증가하였으나, 시간의 증가에 따른 DH 변화는 거의 없었다.

Protamex 효소에 의한 1차 가수분해의 이차방정식

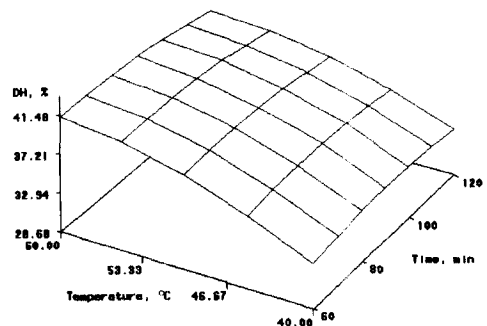


Fig. 2. Degree of fish sauce hydrolysis by Protamex as a function of temperature and time.

모델(Quadratic Model)은 다음과 같다.

$$DH = -42.23021 + 1.08375X + 14.2625Y - 157.91667Z + 0.26292W - 0.01558X^2 + 0.0375XY - 1.27083Y^2 + 2.2750XZ + 9.0000YZ + 42.91667Z^2 - 0.00158XW + 0.00083YW - 0.15833ZW - 0.00084W^2$$

(R²=0.89994 P<0.0006)

Where, DH=Degree of hydrolysis, %

X=Temperature, °C Y=pH

Z=Enzyme concentration, % W=Time, min

반응표면분석방법에 의하여 얻어진 Protamex에 의한 최적 가수분해(1차 가수분해) 조건은, 온도는 45.8 °C, pH는 6.73, 효소 농도는 0.11%, 가수분해시간은 105.5분이었다.

1차 가수분해의 최적 조건에서 처리한 가수분해물에 Flavourzyme을 첨가하여 반응표면분석방법에 의하여 2차 가수분해한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에서 가수분해정도(Degree of Hydrolysis)는 온도는 증가할수록 DH는 현저하게 감소하였으며, 가수분해 시간이 증가함에 따라 DH는 약간 증가하였다. 본 논문에서는 나타내지는 않았지만 온도와 pH를 변수로 하였을 때는 온도와 pH의 증가에 따른 뚜렷한 차이는 없었다. 가수분해 온도 및 효소 농도를 변수로 하였을 때는 DH는 온도가 증가할수록 감소하였으며, 효소 농도를 증가하였을 경우에는 뚜렷한 변화는 없었다. 또한 pH 및 효소 농도를 변수로 하였을 경우에는 pH가 증가함에 따른 DH 변화는 거의 없었으며, 반면에 효소 농도를 증가하였을 경우에는 DH는 거의 일정하게 증가하였다. pH와 가수분해 시간을 변수로 하였을 경우, pH는 증가할수록 DH는 현저하게 감소하였으며, 가수분해 시간이 증가함에 따라 DH는 약간 증가하였다. 효소농도 및 가수분해 시간의 증가함에 따른 DH 변화는 효소 농도인 경우 완만하게 증가하였으나 가수분해 시간인 경우 현저하게 증가하였다.

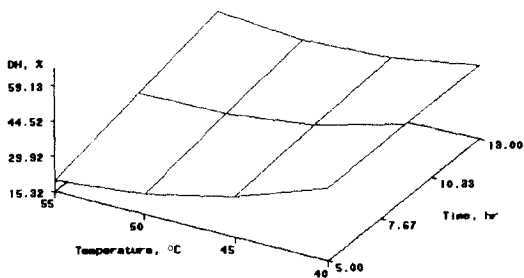


Fig. 3. Degree of fish sauce hydrolysis by Flavozyyme as a function of temperature and time.

Flavourzyme 효소에 의한 2차 가수분해의 이차방정식 모델(Quadratic Model)은 다음과 같다.

$$DH = 349.27229 - 11.47833X + 9.03750Y + 42.56667Z - 9.35521W + 0.09097X^2 - 0.03000XY - 0.99833Y^2 + 1.02500XZ - 10.85000YZ - 17.45833Z^2 + 0.18375XW + 0.40625YW - 0.25000ZW - 0.0234984W^2$$

(R²=0.8306 P<0.0152)

Where, DH=Degree of hydrolysis, %

X=Temperature, °C Y=pH

Z=Enzyme concentration, % W=Time, min

반응표면분석방법에 의하여 얻어진 Flavourzyme에 의한 최적 가수분해(2차 가수분해) 조건은, 온도는 42.0 °C, pH는 6.54, 효소 농도는 0.28%, 가수분해시간은 20.4시간이었다.

1단계 가수분해에 의한 최적 가수분해 조건 설정

Endo- 및 exoproteases 효소의 최적 가수분해조건을 설정하기 위하여 Protamex와 Flavourzyme 효소를 같은 농도로 하여 반응표면분석방법에 따른 1 단계 가수분해 결과의 대표적인 것을 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 가수분해정도(Degree of Hydrolysis)는 온도가 약 56°C까지는 어느정도 현저하게 증가하였다가 그 후로는 거의 일정한 값을 나타내었으며, DH는 효소농도가 0.38% 될 때까지 증가하였으며, 그 후로는 감소하였다. 본 논문에서는 나타내지 않았지만 온도 및 pH를 변수로 하였을 경우에는 온도가 증가할수록 대략 55°C까지는 약간 증가하였다가 그 후로는 거의 일정한 값을 나타내었으며, pH가 증가함에 따라 DH는 현저하게 감소하였다. 온도 및 가수분해 시간을 변수로 하였을 경우, 온도가 약 50°C까지는 DH는 증가하였으며 그 후로는 서서히 감소하였으며, 가수분해 시간이 증가함에 따라 DH는 감소하였다. pH 및 효소 농

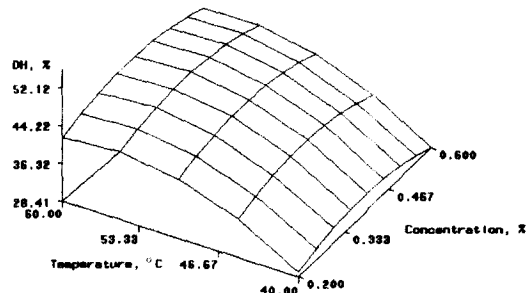


Fig. 4. Degree of fish sauce hydrolysis by Protamex and Flavozyyme as a function of temperature and concentration.

도를 변수로 하였을 경우에는 pH 증가에 따른 DH 변화는 거의 없었으나, 효소 농도 증가에 따라 DH는 약간 증가하였다. pH와 가수분해 시간을 변수로 하였을 경우, pH가 증가할수록 DH 변화는 거의 없었으며, 가수분해 시간이 증가할수록 DH는 약간 증가하였다. 또한 효소농도와 가수분해시간을 변수로 하였을 때, 효소 농도가 대략 0.39 %까지는 DH가 증가하였다가 그 후 서서히 감소하였으며, 가수분해 시간이 증가함에 따라 DH는 약간 증가하였다.

Protamex 및 Flavourzyme 효소를 같은 농도로 하여 1 단계 가수분해에 의한 이차방정식 모델(Quadratic Model)은 다음과 같다.

$$DH = -148.82975 + 3.53208X + 27.97500Y + 81.18750Z + 0.23148W - 0.05021X^2 + 0.12500XY - 2.27083Y^2 + 0.46250XZ - 6.37500YZ - 78.95833Z^2 + 0.071667XW - 0.28333YW + 0.58333ZW - 0.11482W^2$$

(R²=0.7479 P<0.0565)

Where, DH=Degree of hydrolysis, %
 X=Temperature, °C Y=pH
 Z=Enzyme concentration, % W=Time, min

Protamex : Flavourzyme 효소 농도를 1:1로 하여 1단계 가수분해에 의하여 얻어진 최적 가수분해 조건은 다음과 같다. 즉, 가수분해 온도는 52.9°C, pH는 6.3, 효소 농도는 0.46%, 가수분해시간은 10.9시간이었다. Beddows 및 Ardeshir⁽¹³⁾는 식물성 효소를 첨가하여 어간장을 제조하였을 경우, 가수분해율은 본 실험의 경우와 비슷하게 최고 65%까지 도달하였다고 하였다.

일반성분 분석

어간장 원료로 사용한 동결 명태 잔사 및 효소 처리한 가수분해물의 일반성분의 분석 결과는 Table 1에 나타내었다. 원료 명태 가공잔사의 수분함량은 81.47, 조단백은 11.28, 탄수화물은 0.125, 조지방은 3.157, 회분은 3.209%이었다. 2 단계 가수분해에 의한 가수분해물의 수분함량은 93.6%인데 반해, 1단계 가수분해물의 수분함량은 94.07%로 2단계 가수분해물의 수분함량보다 약간 높은 값을 나타내었지만 현저한 차이는 없었으며, 조단백함량도 2단계 가수분해물이 3.94%로 1단계 가수분해물의 3.86%보다 약간 높았지만 역시 현저한 차이는 없었다. 탄수화물 함량 및 회분 함량도 2단계 가수분해물이 1단계 가수분해물 보다 약간 높게 나온 것은 2단계 가수분해물이 오랜 가수분해 시간 및 효소의 작용으로 단백질 분해 및 수용성 단백질의 침출이 더 많았기 때문이라고 생각된다. 반면에, 조지방

Table 1. Proximate composition of Alaska pollack processing scrap and its hydrolyzate (unit: %)

Contents	Alaska pollack processing scrap	Hydrolyzates	
		2 stage hydrolysis	1 stage hydrolysis
Moisture	81.47	93.60 ^{a1)}	94.07 ^a
Crude protein	11.28	3.94 ^a	3.86 ^a
Carbohydrate	0.125	0.403 ^a	0.376 ^b
Crude lipid	3.157	2.433 ^a	2.908 ^b
Ash	3.299	0.405 ^a	0.324 ^b

¹⁾Means in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

함량은 1단계 가수분해물이 2단계 가수분해물보다 약간 높은 값을 나타내었는데, 이는 1단계 가수분해가 2단계 가수분해보다 가수분해시간이 더 짧았기 때문에 지방의 분해가 적게 일어났기 때문이라고 보여진다.

2단계 및 1단계 가수분해물의 품질

2단계 및 1단계 가수분해물의 일반적인 품질의 분석 결과는 Table 2에 나타내었다. 총 creatine 함량은 2단계 가수분해물이 1단계 가수분해물 보다 약간 높은 값을 나타내었으나, TMAO 및 TMA 함량은 2단계 가수분해물이 1단계 가수분해물보다 현저하게 낮은 값을 나타내었는데, 이는 1단계 가수분해 시간이 2단계 가수분해 시간보다 훨씬 더 길었고 사용되는 효소 조건도 달랐기 때문에 TMAO 분해가 촉진되었으며 TMAO의 분해로 생성된 TMA도 DMA 또는 amine 으 로 분해가 진행되어 휘발하였기 때문으로 보여진다. 두 가수분해 방법 사이에 아미노태 질소량 변화의 차

Table 2. Qualities of Alaska pollack processing scrap hydrolyzates

Contents	2 stage hydrolyzate	1 stage hydrolyzate
Total creatine (mg%)	195.20 ^{a1)}	189.10 ^b
TMAO (µg/mL)	34.76 ^a	121.23 ^b
TMA (µg/mL)	100.88 ^a	227.20 ^b
NH ₂ -N (mg%)	130.54 ^a	131.85 ^a
Viable cell (CFU/mL)	9.9 × 10 ^{2a}	<10 ^b
Color		
Y	23.73 ^a	24.53 ^a
x	0.3472 ^a	0.3486 ^a
y	0.3557 ^a	0.3523 ^a
Nucleotides and their related compounds (µmol/mL)		
IMP	9.57 ^a	1.77 ^b
Hx	18.39 ^a	26.14 ^b

¹⁾Means in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

이는 없었으며, 이는 일반성분 중 조단백 함량의 차이가 없는 것과 같은 결과라고 보여진다. 생균수는 2단계 가수분해물인 경우 9.9×10^2 인 데 비해 1단계 가수분해물에는 10마리 이하로 나타났다. 2단계 가수분해물의 생균수가 1단계 가수분해물의 생균수보다 높게 나온 것은, 2 단계 가수분해 온도인 경우 1차 45.8°C 및 2차 42.0°C로 어느정도 고온성 세균의 성장이 가능한 온도이며 가수분해 시간도 약 22시간 정도이었기 때문에 세균의 오염의 가능성도 높았기 때문이라고 보여진다. 1단계 가수분해 온도는 52.9°C로 이 온도에서는 특별한 내열성 세균 이외에는 세균의 성장이 어려운 온도이기 때문에 생균수의 값이 10이하로 나타났다. 2단계 및 1단계 가수분해물의 색깔 차이를 측정하기 위하여 colorimeter로 색깔을 측정한 결과 두 방법에 의한 가수분해물의 색깔 차이는 없는 것으로 나타났다. 핵산관련물질 함량을 비교하면, 두 방법 모두 ATP, ADP, AMP 및 Inosine 등이 검출되지 않았으며, IMP 함량은 2단계 가수분해물이 9.57 $\mu\text{mol/mL}$ 로 1단계 가수분해물의 1.77 $\mu\text{mol/mL}$ 보다 현저하게 높은 값을 나타내었지만, Hypoxanthine (Hx) 함량은 1단계 가수분해물이 26.14 $\mu\text{mol/mL}$ 로 2단계 가수분해물의 18.39 $\mu\text{mol/mL}$ 보다 훨씬 높은 값을 나타내었다. 이는 1단계 가수분해 방법이 훨씬 더 효과적으로 핵산관련 물질을 분해시킨다고 볼 수 있겠다. Chaveesuk 등⁽¹⁴⁾은 단백분해효소를 첨가하여 herring 어간장을 제조하였을 때, 전 질소량, 수용성단백질 및 유리아미노산 함량은 크게 증가하였으며 효소 무첨가 어간장과 품질상의 뚜렷한 차이는 없었다고 하였다.

유리아미노산 함량

2단계 및 1단계 가수분해물의 유리아미노산 함량은 Table 3에 나타내었다. 2단계 가수분해물의 총 유리아미노산함량은 3,529.47 mg/100 mL로 1단계 가수분해물의 2,741.77 mg/100 mL보다 훨씬 높은 값을 나타내었다. 두 방법 모두 Asp, Thr, Glu, Val, Ile, Leu, Lys, Arg가 주요 유리아미노산 성분이었으며, Proline은 양 가수분해물 모두에서 검출되지 않았다. Raksakulthai 등⁽¹¹⁾ 및 Chaveesuk 등⁽¹⁴⁾은 효소를 첨가하여 제조한 어간장은 무첨가 어간장보다 아미노산 함량이 크게 증가하였다고 하였다.

결 론

어간장 제조의 숙성기간을 단축하기 위하여 단백질 분해능이 강한 endo- 및 exoproteases를 사용하여 반응

Table 3. Free amino acid composition of Alaska pollack processing scrap hydrolyzates

Amino acids	2 stage hydrolyzate		1 stage hydrolyzate	
	mg/100 mL	A/T (%)	mg/100 mL	A/T (%)
Tau	92.43	2.63	87.07	3.17
Asp	361.80	10.23	253.33	9.23
Thr	250.07	7.10	166.36	6.07
Ser	192.80	5.43	132.73	4.83
Glu	411.37	11.67	284.37	10.37
Gly	121.93	3.47	69.30	2.50
Ala+Cys	131.83	3.73	92.47	3.37
Val	219.60	6.27	169.60	6.20
Met	130.97	3.70	127.67	4.67
Ile	206.23	5.83	150.83	5.50
Leu	329.13	9.30	297.30	10.87
Tyr	170.47	4.87	157.00	5.73
Phe	186.57	5.30	171.97	6.27
Lys	355.87	10.07	282.07	10.27
NH ₃	39.70	1.10	29.53	1.07
His	70.53	2.00	56.37	2.11
Arg	258.17	7.37	213.77	7.77
Pro	0.00	0.00	0.00	0.00
E.A.A.	1,678.48	47.55	1,365.77	49.82
Total	3,529.47	100.0	2,741.77	100.0

표면분석방법(RSM)에 의한 최적가수분해조건 설정 및 성분 분석의 결과는 다음과 같다. 2단계 최적가수분해조건은, Protamex를 이용한 1차 가수분해인 경우 온도 45.8°C, pH 6.73, 효소 농도 0.11%, 가수분해시간 105.5분이었으며, Flavourzyme를 이용한 2차 가수분해인 경우 온도 42.0°C, pH 6.54, 효소 농도 0.28%, 가수분해시간 20.4시간이었다. 같은 농도의 Protamex와 Flavourzyme 사용하여 1단계 가수분해에 의하여 얻어진 최적 가수분해 조건은 온도 52.9°C, pH 6.3, 효소 농도 0.46%, 가수분해시간 10.9시간이었다. 탄수화물 및 회분 함량은 2단계 가수분해물이 1단계 가수분해물보다 높은 값을 나타낸 것에 비해 조지방 함량은 1단계 가수분해물이 높은 값을 나타내었다. 그러나, 수분 및 조단백 함량은 양 방법 사이에 뚜렷한 차이는 없었다. 총 creatine 함량, 생균수 및 IMP는 2단계 가수분해물이 1단계 가수분해물보다 높은 값을 나타내었지만 TMAO, TMA 및 Hx는 1단계 가수분해물이 높은 값을 나타내었다. 그러나, 아미노태질소 함량 및 색깔은 양 방법 사이에 현저한 차이는 없었다. 2단계 가수분해물의 총 유리아미노산함량은 3,529.47 mg/100 mL로 1단계 가수분해물의 2,741.77 mg/100 mL보다 훨씬 높은 값을 나타내었다. 두 방법 모두 Asp, Thr,

Glu, Val, Ile, Leu, Lys, Arg가 주요 유리아미노산 성분이었으며, Proline은 양 가수분해물 모두에서 검출되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 96년도 강릉대학교 학술진흥재단의 지원으로 수행된 연구의 결과의 일부로 이에 감사드립니다. 또한 효소를 제공해 주신 NOVD Nordisk 회사에게도 감사를 드립니다.

문헌

1. Yoshinaka, R., Sato, M., Tsuchiya, N. and Ikeda, S.: Production of fish sauce from sardine by utilization of its visceral enzymes (in Japanese). *Bull. Japanese Soc. Scien. Fish.*, **49**(3), 463-469 (1983)
2. Lee, E., Jee, S., Ahn, C. and Kim, J.: Studies on the processing conditions and the taste compounds of the sardine sauce extracts (in Korean). *Bull. Korean Fish Soc.*, **21**(1), 57-66 (1988)
3. Lee, E., Cho, S., Ha, J., Oh, K. and Kim, C.: Processing of sardine sauce from sardine scrap (in Korean). *Bull. Korean Fish. Soc.*, **17**(2), 117-124 (1984)
4. Lee, E., Cho, S., Cha, Y., Park, H. and Kwon, C.: Studies on the processing of krill sauce (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **13**(1), 97-106 (1984)
5. Lee, E., Ahn, C., Kim, J., Lim, C., Lee, S. and Choi, Y.: Processing and taste compounds of the fish sauce from filefish scrap (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **17**(4), 326-335 (1988)
6. Kim, S., Ahn, C. and Kang, O.: Manufacture of fish sauce from the enzymatic hydrolysate of cod gelatin (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**(4), 470-477 (1993)
7. Lee, E., Lee, T., Kim, J. and Ahn, C.: Processing and taste compounds of the fish sauce from skijack scrap (in Korean). *Bull. Korean Fish. Soc.*, **22**(1), 25-35 (1989)
8. Lee, E., Park, H., Ahn, C. and Hwang, G.: Preparation of fish sauce from mackerel scrap (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **15**(3), 201-206 (1986)
9. Lee, E., Kim, J., Ahn, C., Lee, K., Kim, M., Chung, B. and Park, H.: Processing conditions of accrelated anchovy sauce extracts (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **18**(2), 167-173 (1989a)
10. Lee, E., Kim, J., Ahn, C., Lee, K., Kim, M., Chung, B. and Park, H.: Processing conditions of accrelated anchovy sauce extracts (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **18**(2), 131-139 (1989b)
11. Raksakulthai, N., Lee, Y.Z. and Haard, N.F.: Effect of enzyme supplements on the production of fish sauce from Male Capelin (*Mallotus villosus*). *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **19**(1), 28-33 (1986)
12. Chae, S.K., Itoh, H. and Nikkuni, S.: Effects of soy sauce koji and commercial proteolytic enzyme of the acceleration of fish sauce production (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**(5), 639-648 (1989)
13. Beddows, C.G. and Ardeshir, A.G.: The production of soluble fish protein solution for use in fish sauce manufacture. *J. Food Technol.*, **14**, 603-612 (1979)
14. Chaveesul, R., Smith, J.P. and Simpson, B.K.: Production of fish sauce and acceleration of sauce fermentation using proteolytic enzymes. *J. Aqua. Food Prod. Technol.*, **2**(3), 59-77 (1993)
15. Box, G.E.P. and Benhnken, D.W.: Some new three level designs for the study of quantitative variables. *Technometrics*, **2**, 455-461 (1960)
16. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, K.J.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951)
17. Spies, T.R. and Chamber, D.C.: Spectrophotometric analysis of amino acids and peptides with their copper salt. *J. Biol. Chem.*, **191**, 789-794 (1951)
18. Bystedt, J., Swenne, L. and Ass, H.W.: Determination of trimethylamine oxide in fish muscle. *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 301-308 (1959)
19. Sato, T. and Fukuyama, F.: Electrophotometry. *Kagaku-No Ryoei Jiokan*, **34**, pp. 269-272 (1957)
20. Lee, E., Ahn, C., Oh, K., Lee, T., Cha, Y. and Lee, K.: Studies on the processing of low-salted fermented seafoods (in Korean). *Bull. Korean Fish. Soc.*, **19**(5), 459-464 (1986)

(1997년 12월 9일 접수)