

효소법에 의한 액젓중의 ATP관련물질 측정

조영제 · 임영선 · 김상무* · 최영준**

부경대학교 식품생명공학부, *강릉대학교 해양생명공학부, **경상대학교 해양생물이용학부

Enzymatic Method for Measuring ATP Related Compounds in Fish Sauces

Young Je CHO, Yeong Sun IM, Sang Moo KIM* and Yeung Joon CHOI**

Faculty of Food Science and Biotechnology, Food Science and Technology major, Pukyong National University, Pusan, 608-737, Korea

*Faculty of Marine Bioscience and Technology, Marine Food Science and Technology major, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

**Division of Marine Bioscience, Marine Food Manufacturing major, Gyeongsang National University, Tongyong, 650-160, Korea

HPLC method usually has been used for the determination of ATP and its related compounds in fish muscle and fish sauce. But, total amount of ATP related compounds in fish sauce is determined less than that of fish muscle. In order to establish the extract analysis method for ATP related compounds in fish sauce, a new enzymatic method was developed and compared with existing HPLC method. Fish sauce was extracted with chilled perchloric acid and neutralized to pH 7.0 with potassium hydroxide solution, the extract was used as sample analyzed by HPLC as usual. On the other hand, for sample analyzed by enzymatic method, 1 ml extract solution was pipetted into test tube. To the tube, 0.5 ml of mixed suspension adenosinedeaminase (4U), nucleosidephosphorylase (0.02U) and xanthineoxidase (0.03U) suspended in 2.0 ml of 1/15 M sodium phosphate buffer solution pH 7.6 and 1.5 ml deionized water were added for the decomposition of IMP, HxR and Hx to uric acid at 37°C for 40 minutes. Total uric acid was determined by measuring optical density at 290 nm. In HPLC method, salt decreased the total amount of ATP related compounds by 13.6~16.2% at 2.5% concentration, but no effect in enzymatic method. IMP, HxR and Hx were detected at 254 nm, while uric acid at only 290 nm. The ratio of the total amount of ATP related compounds by HPLC method was about 45% of that by enzymatic method in fish sauce. From these results, enzymatic method is more accurate and simple than HPLC method for analysis of ATP related compounds in fish sauce.

Key words: HPLC method, enzymatic method, adenosinedeaminase, nucleosidephosphorylase, xanthineoxidase, ATP related compounds, uric acid

서 론

액젓은 우리고유의 수산발효식품으로 옛부터 김장용 부재료로 사용되어 왔으며, 남부지방을 중심으로 하는 멸치액젓과 중부지방의 까나리액젓이 대부분을 차지한다. 전통적인 액젓의 제조방법은 어체에 다량의 식염(25% 이상)을 넣고서 잘 혼합한 후에 15~20°C 정도의 상온에서 1년~1년반 이상 장기간에 걸쳐서 숙성·액화시키며, 동물성 단백질에서 유래되는 아미노산을 많이 함유하고 있기 때문에 김치양념, 간장대용, 무침이나 절임용 등 다양한 용도로 이용되고 있다.

액젓제조시 숙성기간 동안 어육단백질이 체내에 있는 단백질 분해효소에 의하여 분해·액화되어 펩티드 및 아미노산이 생성될 뿐만 아니라, 총질소 및 아미노산성질소 그리고 휘발성 염기질소 등이 증가한다. 숙성된 젓갈과 액젓중에는 합질소 엑스성분중의 하나인 ATP관련물질도 함유되어 있으며, 이들 성분들의 분석은 주로 μ -Bondapack C₁₈ (3.9×300 mm)의 역상분배 column을 사용하여 HPLC법으로 254 nm에서 분석하였다 (Park et al., 1995, 1996a, 1996b, 1997 ; Baek et al., 1996 ; Oh, 1995, 1996 ; Lee et al., 1989, 1996 ; Kim et al., 1995 ; Koo et al., 1990 ; Han et al., 1990).

그러나, 액젓중에는 25% 전후의 식염이 있으므로, ATP관련물질의 정확한 정량이 어려울 것으로 판단되나, 식염의 영향에 대한 검토는 전무한 상태이다.

한편, 근육중에 들어있는 ATP 및 그 관련물질들은 체내에 있는 각종 효소에 의하여 ATP[Ⓐ]→ADP[Ⓑ]→AMP[Ⓒ]→IMP[Ⓓ]→HxR[Ⓔ]→Hx (여기서, ATP는 adenosinetriphosphate, ADP는 adenosinediphosphate, AMP는 adenosinemonophosphate, IMP는 inosinemonophosphate, HxR은 inosine, Hx는 hypoxanthine이고, 각 단계에 작용하는 효소는 Ⓐ ATPase, Ⓑ myokinase, Ⓒ deaminase, Ⓓ phosphatase, Ⓔ nucleosidephosphorylase)로 분해되며, 이들 성분들의 분해정도를 나타내는 K값은어육의 신선도 지표로 사용되고 있으며, 이들 성분들은 254 nm에서 최대흡광도를 나타낸다. 그러나, 액젓과 같이 장기간 숙성중에는 xanthineoxidase에 의해서 hypoxanthine이 290 nm에서 최대흡광도를 나타내는 요산으로 분해되는데 (Uda et al., 1983), 지금까지 연구들은 액젓중 요산이 전혀 검출되지 않는 결과들을 제시하고 있으며 (Oh, 1995, 1996 ; Park, 1995 ; Koo, 1990), 액젓중 요산량에 관한 보고는 전무하다.

본 연구에서는 전통적인 방법으로 숙성시킨 멸치액젓 및 까

나리액젓 그리고 ATP관련물질의 표준품을 사용하여 HPLC법과 각종 분해효소를 사용하여 인위적으로 요산으로 전부 분해시켜 측정하는 효소법을 비교·실험하여, 액젓중의 ATP관련물질들의 정확한 분석법을 확립하였다.

재료 및 방법

1. 재료

멸치액젓은 2년간 숙성시킨 것을 추자도수협에서, 가나리액젓은 1년반 숙성시킨 것을 웅진수협에서 제공받아 실험에 사용하였다. ATP관련물질은 Sigma사 표준품, 효소법에 사용한 ATP관련물질의 각종 분해효소는 독일 Boehringer사 제품, 그 외의 시약은 특급을 사용하였다.

2. 액젓의 일반성분, 염분함량, pH

수분은 상압가열건조법 (AOAC, 1990B), 회분은 건식회화법 (AOAC, 1990B), 조단백질과 총질소함량은 semi-micro kjeldahl법 (AOAC, 1990A), 아미노산성질소함량은 銅鹽法 (Spies and Chamber, 1951), 휘발성 염기질소함량은 conway unit를 이용하는 미량확산법 (日本厚生省, 1974)으로 각각 측정하였으며, 염분함량은 Mohr법 (日本醬油研究所, 1985), pH는 pH meter (Orion model 410A, USA)를 사용하여 측정하였다.

3. ATP관련물질 추출

Iwamoto et al. (1987)의 방법을 다소 수정하여 ATP관련물질을 추출하였다. 즉, 액젓 5 ml에 10% 냉과염소산 용액 20 ml를 첨가하여 제단백시키고, 수산화칼륨 용액으로 pH를 7.0 부근으로 조정 후 원심분리하고 여과하여 상층액을 취하였다. 남은 침전물은 중화 냉과염소산 용액을 첨가하여 잘 섞어 다시 원심분리한 후 여과하여 상층액을 취하였다. 상층액을 모두 합하고 중화 냉과염소산 용액으로 정용한 후에 -25°C 에 동결보관하면서 분석용 시료로 사용하였다.

4. HPLC에 의한 액젓중의 ATP관련물질 분석

액젓의 ATP관련물질 추출액을 탈이온수로 10배 희석하여 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 탈기하여 HPLC에 20 μl 를 주입하였다. HPLC는 미국 Waters사의 600 controller, TM-600 intelligent pump, 2487 dual λ absorbance detector, 410 column oven 및 differential refractometer, column은 μ -Bondapak C₁₈ (3.9 \times 300 mm)의 역상분배 column을 사용하였다. 이동상 용액은 2% triethylamine-phosphoric acid buffer (pH 7.0)를 사용하였고, 유속은 0.8 ml/min, column 온도는 40 $^{\circ}\text{C}$, 검출파장은 IMP, HxR, Hx는 254 nm, 요산는 290 nm, 분석시간은 30분 그리고 peak 면적은 Auto chromatography data system을 통해 적분하여 계산하였다.

5. 식염농도에 따른 HPLC 분석

액젓중에 함유되어 있는 ATP관련물질인 IMP, HxR, Hx의 표

준품을 Sigma사에서 구입하여 식염농도가 0%, 1%, 2.5%, 5%로 되게 조정된 후, 2% triethylamine-phosphoric acid buffer (pH 7.0)를 사용하여 HPLC법으로 식염농도에 따른 검출량과 검출율의 차이를 검토하였다.

6. 효소법에 의한 액젓중의 ATP관련물질 분석

효소법에 의한 액젓중의 ATP관련물질 분석은 Fujii et al. (1973)과 Nakamura et al. (1985)의 방법으로 분석하였다. 즉, 효소를 사용하여 IMP[Ⓐ]→HxR[Ⓑ]→Hx[Ⓒ]→Uric acid의 과정으로 분해시키기 위하여, PCA (perchloric acid)로 처리한 ATP관련물질 추출액 1 ml에 탈이온수 1.5 ml, M/15 sodium phosphate buffer (pH 7.6) 2.0 ml 그리고 각 성분들의 분해효소인 ADA (Ⓐ adenosinedeaminase) 4 unit, NP (Ⓑ nucleosidephosphorylase) 0.02 unit 및 XOD (Ⓒ xanthineoxidase) 0.03 unit를 혼합한 효소용액 0.5 ml를 넣어 잘 섞은 후, 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 40분간 반응시켜서 시료중의 ATP관련물질을 전부 요산으로 분해시켰다. 생성된 요산량을 분광광도계로 290 nm에서 흡광도를 측정하여 Sigma사 요산 (U-2875)표준품으로 만든 검량곡선을 사용하여 총요산량 (IMP+Hx+HxR+요산)으로 나타내었다. 그리고, 요산량은 ATP관련물질 추출액 1 ml에 탈이온수 2.0 ml, M/15 sodium phosphate buffer (pH 7.6) 2.0 ml만을 넣고 반응시켰으며, Hx량은 XOD (Ⓒ xanthineoxidase) 0.03 unit 효소용액, 그리고 HxR량은 NP (Ⓑ nucleosidephosphorylase) 0.02 unit 및 XOD (Ⓒ xanthineoxidase) 0.03 unit를 혼합한 효소용액을 요산량 측정반응 용액에 더 넣고 반응시켜 각각의 함량을 구하였다. IMP의 함량은 총요산량에서 HxR+Hx+요산량을 감하여 구하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분, 염분함량, pH

본 실험에 사용한 멸치액젓 (추자도수협 제품) 및 가나리액젓 (웅진수협 제품)의 일반성분, 염분함량, pH는 Table 1과 같다. 수분함량은 가나리액젓이 약간 높고, 조회분 및 조단백질 함량은 멸치액젓이 약간 높았으며, 염분함량과 pH는 거의 유사하게 나타났다.

Table 1. Proximate composition, salinity and pH of fish sauces

Sauce	Moisture (%)	Crude ash (%)	Crude protein (%)	Salinity (%)	pH
Anchovy	66.3 \pm 0.3	21.1 \pm 0.2	13.7 \pm 0.1	25.9 \pm 0.1	5.8
Northern sand lance	68.4 \pm 0.4	20.5 \pm 0.1	11.1 \pm 0.2	25.4 \pm 0.1	5.6

2. 총질소 및 아미노산성질소함량, VBN

총질소, 아미노산성질소 및 VBN함량은 Table 2와 같다. 멸치액젓은 전보 (Cho et al., 1998)에서 발표한 24개월 숙성시킨 시제품보다 총질소함량과 아미노산성질소함량이 높았고, 가나리액젓보다도 높은 값을 나타내었다. VBN값은 238.0 mg/100 ml로 Oh (1995)

의 500 mg/100 ml 정도의 값보다 상당히 낮게 나타났으며, 까나리 액젓은 더 낮은 155.6 mg/100 ml를 나타내었다. 이러한 결과는 젓갈제조시 어종, 어체의 선도, 숙성조건 등의 차이 때문으로 추정된다.

Table 2. Total nitrogen, amino nitrogen and VBN content in fish sauces

Sauce	Total nitrogen (mg/100 ml)	Amino nitrogen (mg/100 ml)	VBN (mg/100 ml)
Anchovy	2195.0 ± 17.8	1191.3 ± 8.5	238.0
Northern sand lance	1779.1 ± 32.2	996.0 ± 10.7	155.6

3. HPLC에 의한 ATP관련물질의 분석

근육중의 ATP 및 그 관련 물질들은 저장중에 체내에 있는 각종 분해효소에 의하여 분해되고, 분해정도는 HPLC로서 분석하며 어육의 신선도 지표인 K값으로 나타내기도 한다.

멸치 및 까나리육중의 ATP 및 그 관련물질을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 멸치 및 까나리육 모두 ATP는 검출되지 않았으며, ADP 및 AMP는 약간씩 검출되었고, IMP가 가장 많은 4.213 μmol/g 및 4.239 μmol/g을 나타내었다. 그리고, HxR 및 Hx도 상당량 검출되어 K값은 각각 51.4% 및 54.1%로 선도가 많이 저하되었음을 나타내었다. 육중의 ATP관련물질 총량은 멸치가 9.332 μmol/g, 까나리가 9.468 μmol/g으로 거의 비슷한 값을 나타내었으며, 수산물의 ATP관련물질 함량은 어중에 따라 약간의 차이는 있지만 대개 5~10 μmol/g 정도인 것으로 알려져 있다 (Iwamoto et al., 1988, 1990 ; Watabe et al., 1991 ; Hwang et al., 1991)

Table 3. Content of ATP related compounds in anchovy and northern sand lance muscle determined by the HPLC method (μmol/g)

Fish	ATP	ADP	AMP	IMP	HxR	Hx	Total
Anchovy	-	0.125	0.197	4.213	2.541	2.256	9.332
Northern sand lance	-	0.097	0.186	4.239	2.162	2.964	9.468

액젓중의 ATP관련물질을 HPLC로 분석한 결과는 Table 4와 같다. 액젓의 종류와 관계없이 ATP, ADP, AMP는 거의 검출되지 않았으며, IMP는 극미량, 그리고 HxR도 약간 검출되었고, 약 85% 정도가 Hx이었다. 이와 같이 액젓중에 Hx성분이 많이 검출되는 결과는 다른 보고자들과 일치하였다 (Oh, 1995, 1996 ; Park, 1995 ; Koo et al., 1990). 그리고, ATP관련물질 총량은 멸치액젓이 3.989 μmol/ml, 까나리액젓이 4.145 μmol/ml이었는데, 이 값은 시판 멸치액젓중의 ATP관련물질을 분석한 결과인 Oh (1995)의 7.89~15.68 μmol/ml에 훨씬 미치지 못하였으며, Park (1995)의 1.57~

Table 4. Content of ATP related compounds in fish sauces determined by the HPLC method (μmol/g)

Fish	ATP	ADP	AMP	IMP	HxR	Hx	Total
Anchovy	-	trace	trace	0.010	0.528	3.451	3.989
Northern sand lance	-	trace	trace	0.042	0.617	3.486	4.145

6.55 μmol/ml의 범위에는 포함되었다.

액젓 원료육중의 ATP관련물질 총량 (Table 3)은 멸치육이 9.332 μmol/g, 까나리육이 9.468 μmol/g인데 반하여, 액젓중의 ATP관련물질 총량 (Table 4)은 멸치액젓이 3.989 μmol/ml, 까나리액젓이 4.145 μmol/ml로, 액젓중의 ATP관련물질 총량이 원료육의 42.7% 및 43.8%밖에 검출되지 않는 것은 분석방법에 문제가 있는 것으로 생각된다.

일반적으로 액젓의 식염농도는 약 25%이며, 액젓을 PCA로 처리한 분석용 시료액의 식염농도는 2.5% 정도가 되므로 식염에 의한 영향이 있을 것으로 판단된다. 식염농도의 영향에 대하여 IMP, HxR 및 Hx의 표준품을 사용하여 0~5%까지의 각각의 식염농도로 조절하여 분석한 결과는 Table 5와 같다. IMP, HxR 그리고 Hx성분 모두 식염농도가 증가함에 따라서 검출율이 낮았고, 식염농도가 2.5%인 경우의 검출율은 83.8~86.4%를 나타내고 있다. 따라서, 액젓중의 ATP관련물질 분석시에는 식염에 의한 영향을 배제하기 위하여 탈염처리를 해야할 것으로 판단된다.

Table 5. Effect of salt concentration on detection ratio of standard ATP related compounds determined by the HPLC method

Salt concentration (%)	IMP (μmol)	HxR (μmol)	Hx (μmol)
0	5.00 (100)	5.00 (100)	5.00 (100)
1.0	4.39 (87.8)	4.41 (88.2)	4.28 (85.6)
2.5	4.23 (86.4)	4.26 (85.2)	4.19 (83.8)
5.0	4.09 (81.8)	4.08 (81.6)	4.04 (80.8)

Parenthesis represents the detection ratio

4. ATP관련물질의 검출파장

어육은 선도저하와 더불어 ATP관련물질인 HxR 및 Hx의 축적량이 많아지며, 이들 성분의 축적정도로써 어육의 신선도를 나타내고 있다. 액젓과 같이 25%의 고농도 식염조건에서는 ATP관련물질 분해효소의 활성이 억제되므로 분해가 서서히 진행되지만, 1년~1년반 이상 장기간의 숙성중에는 거의 대부분이 Hx로 분해됨을 보고하고 있다 (Park et al., 1995, 1996a, 1996b, 1997 ; Baek et al., 1996 ; Oh, 1995, 1996 ; Lee et al., 1989, 1996 ; Kim et al., 1995 ; Koo et al., 1990 ; Han et al., 1990). 생성된 Hx는 체내의 XOD (xanthineoxidase)에 의하여 요산으로 분해되어 액젓중에는 상당량의 요산이 생성되어 있을 것으로 추정되지만, 액젓중의 요산량 분석에 대한 연구는 전무하다.

Table 6은 ATP관련물질들의 검출파장을 나타낸 것으로 IMP, HxR 및 Hx는 254 nm에서 검출되고 290 nm에서는 검출되지 않았다. 그리고, 요산은 254 nm에서는 검출되지 않고 290 nm에서 검출되는 것으로 나타났다.

이상의 결과로부터, 액젓중의 ATP관련물질 총량 (Table 4)이 원료육의 ATP관련물질 총량 (Table 3)에 비해 42.7% (멸치액젓)

Table 6. Detection wavelength of ATP related compounds

Wavelength (nm)	IMP	HxR	Hx	Uric acid
254	○	○	○	×
290	×	×	×	○

○ : detected, × : not-detected

및 43.8% (까나리액젓)로 분석되는 것은 액젓중의 고농도 식염에 대한 영향도 있겠지만, HPLC법 (254 nm)에서 요산이 검출되지 않았기 때문에 판단된다.

5. 효소법으로 ATP관련표준물질의 분석

액젓중에 대부분을 차지하고 있는 ATP관련물질인 IMP, HxR, Hx 성분들의 표준물질 1.0 μmol에 각각의 분해효소를 첨가하여 반응시켜 이들 물질들을 전부 요산으로 분해시킨 후의 검출율은 Table 7과 같으며, 모든 성분들이 거의 100% 가깝게 검출되었다. 한편, 액젓을 PCA로 처리하여 ATP관련물질 추출액을 각각의 분해효소와 반응시킬 때 식염농도는 0.5%로 희석되므로, 효소반응에 미치는 식염의 영향은 없었다.

Table 7. Detection ratio of standard ATP related compounds determined by the enzymatic method

Standard materials	Additional concentration (μmol)	Uric acid (μmol)	Detection ratio (%)	Enzyme
IMP	1.0	0.999	99.9	ADA, NP, XOD
HxR	1.0	0.998	99.8	NP, XOD
Hx	1.0	0.996	99.6	XOD

ADA : adenosinedeaminase (4 unit), NP : nucleosidephosphorylase (0.02 unit), XOD : xanthineoxidase (0.03 unit)

액젓중의 ATP관련물질들을 각각의 분해효소를 첨가하여 최종 분해산물인 요산으로 전부 분해시킨 후의 결과는 Table 8과 같다. 즉, ADA (adenosinedeaminase) 4 unit, NP (nucleosidephosphorylase) 0.02 unit, XOD (xanthineoxidase) 0.03 unit를 혼합한 효소 용액을 첨가하여 액젓중의 ATP관련물질을 전부 요산으로 분해시켜서 290 nm에서 흡광도를 측정하여 총 요산량 (IMP+HxR+Hx+요산)으로 나타내었다. 요산량은 효소를 첨가하지 않고, Hx량은 XOD 0.03 unit, HxR량은 NP 0.02 unit 및 XOD 0.03 unit를 첨가하여 반응시킨 후에 측정하여 각각의 성분값으로 나타내었다. 그리고, IMP량은 총 요산량에서 HxR+Hx+요산량을 감하여 나타내었다.

멸치액젓 및 까나리액젓중의 Hx량은 각각 3.959 μmol/ml 및 4.007 μmol/ml로 총요산량 (IMP+HxR+Hx+요산)의 43.5% 및 42.5%를 차지하였으며, 멸치액젓 및 까나리액젓중의 요산량은 각각 4.357 μmol/ml 및 4.632 μmol/ml로 총요산량 (IMP+HxR+Hx+요산)의 48.7% 및 49.2%를 차지하여 액젓중의 ATP관련물질중 90% 이상이 Hx와 요산인 것으로 나타났다. 한편, IMP량은 극미량 검출되었다. 그리고, 총요산량은 멸치액젓이 8.942 μmol/ml, 까나리액젓이 9.424 μmol/ml로 원료 멸치육의 9.332 μmol/g 및 원료 까나리육의 9.468 μmol/g보다 다소 작은 값을 나타내었는데, 이것은 육이 완전히 액화되지 않고 일부 남아있기 때문에 판단된다.

Park (1995)의 보고에서 시판 멸치액젓중의 ATP관련물질

Table 8. Content of ATP related compounds in fish sauces determined by the enzymatic method (μmol/ml)

Sauce	IMP	HxR	Hx	Uric acid	Total
Anchovy	0.012	0.614	3.959	4.357	8.942
Northern sand lance	0.050	0.735	4.007	4.632	9.424

총량이 1.57~6.55 μmol/ml 범위로 분석된 것은 액젓중의 고농도 식염의 영향으로 적게 검출되었을 뿐만아니라, HPLC법 (254 nm)에서 요산이 검출되지 않았기 때문인 것으로 추정할 수 있다. 그리고, 액젓중의 ATP관련물질을 분석한 다른 연구자들도 요산의 분석에 대한 보고는 없었다 (Oh, 1995, 1996 ; Park, 1995 ; Koo et al., 1990).

6. HPLC법 및 효소법에 의한 액젓중의 ATP관련물질량의 비교

액젓중의 ATP관련물질량을 HPLC법 및 효소법으로 분석한 결과를 Fig. 1 및 Fig. 2에 나타내어 비교하였다.

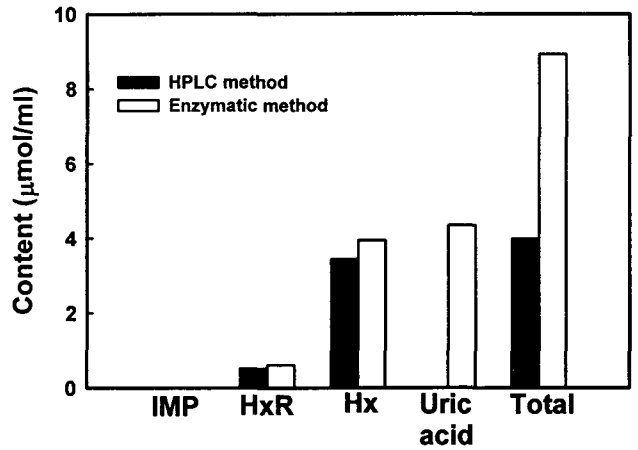


Fig. 1. Assay of ATP related compounds in anchovy sauce determined by the HPLC and the enzymatic method. HPLC method ; IMP, HxP, and Hx content were detected at 254 nm. Enzymatic method ; IMP~Hx content were uric acid content decomposed by various enzymes.

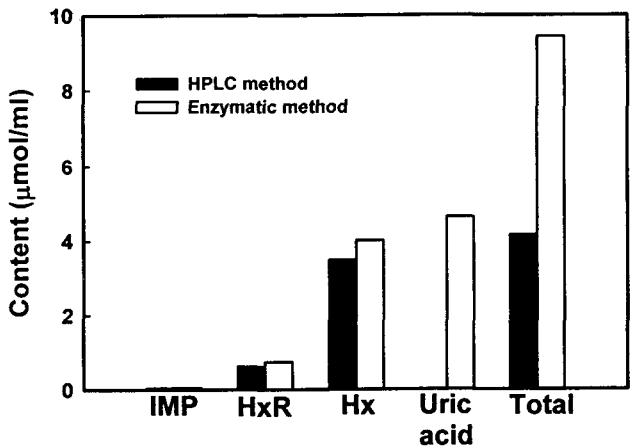


Fig. 2. Assay of ATP related compounds in northern sand lance determined by the HPLC and the enzymatic method. HPLC method ; IMP, HxR and Hx content were detected at 254 nm. Enzymatic method ; IMP~Hx content were uric acid content decomposed by various enzymes.

HPLC법으로 분석한 ATP관련물질량은 효소법으로 분석한 ATP관련물질량에 대하여, 멸치액젓의 경우 HxR은 86%, Hx는 87.2%였으며, ATP관련물질 총량은 44.6%로 나타났고, 까나리액젓의 경우 HxR은 83.9%, Hx는 87.0%였으며, ATP관련물질 총량은 44.0%로 나타났다. 그리고, HPLC법 (254 nm)에서는 요산이 전혀 검출되지 않았다. 이와 같이, HPLC법으로 분석한 HxR 및 Hx량이 효소법으로 분석한 값의 83.9%~87.2%로 나타난 것은 Table 5에 나타낸 바와 같이 식염 (2.5%)의 영향 때문으로 생각된다. 그리고, HPLC법으로 분석시에 요산이 전혀 검출되지 않는 것은 Table 6에 나타낸 바와 같이 요산의 최대흡광도는 290 nm이기 때문이다. 이상과 같이 액젓중의 식염의 영향 및 검출파장의 상이함 때문에 HPLC법 (254 nm)으로 정량한 ATP관련물질 총량은 효소법의 44.0% 정도밖에 되지 않았던 것으로 판단된다.

이상의 결과로부터, 액젓중의 ATP관련물질을 분석시에는 HPLC법이 적당하지 못하며, ATP관련물질을 각종 분해효소를 사용하여 인위적으로 요산으로 전부 분해시켜서 측정하는 효소법으로 분석해야 할 것이다.

요 약

액젓중의 ATP관련물질의 정확한 분석방법을 확립하기 위하여 현재 사용되고 있는 HPLC법과 새로운 분석방법인 효소법을 비교·검토한 결과는 다음과 같다.

1. HPLC분석법에 의한 멸치 및 까나리육중의 ATP관련물질총량은 각각 9.332 $\mu\text{mol/g}$ 및 9.468 $\mu\text{mol/g}$ 이었고, 멸치 및 까나리액젓중의 ATP관련물질총량은 각각 3.989 $\mu\text{mol/g}$ 및 4.145 $\mu\text{mol/g}$ 으로 원료육의 42.7% 및 43.8%였다. 그리고, Hx량은 ATP관련물질총량의 85% 정도를 차지하였다. HPLC법으로 ATP관련물질을 분석시에 식염의 영향은, 식염농도가 2.5%일 때, IMP, HxR 및 Hx 표준물질의 검출율은 83.8~86.4%였다. 그리고, IMP, HxR 및 Hx는 254nm에서, 그리고 uric acid는 290nm의 파장에서만 검출되었다.

2. 효소법으로 ATP관련물질 분석시에는 IMP, HxR 및 Hx 표준물질의 검출율이 거의 100%였으며, 식염의 영향은 없었다. 멸치 및 까나리액젓중의 ATP관련물질총량은 각각 8.942 $\mu\text{mol/g}$ 및 9.424 $\mu\text{mol/g}$ 으로, 원료 멸치육 및 까나리육보다 약간 적었다. 효소법으로 분석한 멸치 및 까나리액젓중의 요산량은 각각 4.357 $\mu\text{mol/g}$ 및 4.632 $\mu\text{mol/g}$ 으로, 총ATP관련물질의 48.7% 및 49.2%를 차지하였다.

3. 이상의 결과로부터, 액젓중의 ATP관련물질을 분석시에는 HPLC법이 적당하지 못하며, ATP관련물질을 이들 분해효소를 사용하여 인위적으로 요산으로 전부 분해시켜 측정하는 효소법으로 분석해야 할 것이다.

참 고 문 헌

AOAC. 1990A. Nitrogen (total) in fertilizers. in "Official Methods of Analysis", 15th ed. Assoc. of Offic. Anal. Chem., Arlington, 17.

AOAC. 1990B. Ash of seafood. in "Official Methods of Analysis", 15th ed. Assoc. of Offic. Anal. Chem., Arlington, 868.

AOAC. 1990B. Moisture in meat. in "Official Methods of Analysis", 15th ed. Assoc. of Offic. Anal. Chem., Arlington, 931.

Baek, S.H., M.S. Lim and D.H. Kim. 1996. Studies on the taste properties in processing of accelerated low salt-fermented anchovy by adding Koji. Korean J. Food Sci. Technol., 9 (4), 398~403. (in Korean)

Cho, Y.J., S.H. Kim., Y.S. Im, I.S. Kim, D.S. Kim and Y.J. Choi. 1998. Properties and utilization of undigested peptides in anchovy sauces ; 2. Effect of fermentation periods on undigested peptides of anchovy sauces. J. Korean Fish. Soc., 31 (3), 393~398. (in Korean)

Fujii, Y., K. Shudo, K. Nakamura, S. Ishikawa and M. Okada. 1973. Relation between the quality of canned fish and its content of ATP-breakdown; III. ATP-breakdowns in canned albacore and skipjack in relation to the organoleptic inspection. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39 (1), 69~84.

Han, B.H., T.J. Bae, H.D. Cho, J.C. Kim, B.S. Kim and S.I. Choi. 1990. Conditions for rapid processing of modified fish sauce using enzymatic hydrolysis and improvement of product quality ; 1. Fish sauce from mackerel waste and its quality. Bull. Korean Fish. Soc., 23 (2), 109~124. (in Korean)

Hwang, G.C., H. Ushio, S. Watabe, M. Iwamoto and K. Hashimoto. 1991. The effect of thermal acclimation on rigor mortis progress of carp stored at different temperatures. Nippon Suisan Gakkaishi, 57, 541~548.

Iwamoto, M., H. Yamanaka, S. Watabe and K. Hashimoto. 1987. Effect of storage temperature on rigor-mortis and ATP degradation in plaice *paralichthys olivaceus* muscle. J. Food Sci. 52, 1514~1517.

Iwamoto, M., H. Yamanaka, H. Abe, H. Ushio, S. Watabe and K. Hashimoto. 1988. ATP and creatine phosphate breakdown in spiked plaice muscle during storage, and actives of some enzymes involved. J. Food Sci., 53, 1662~1665.

Iwamoto, M., H. Yamanaka, H. Abe, H. Ushio, S. Watabe and K. Hashimoto. 1990. Rigor-mortis progress and its temperature dependency in several marine fishes. Nippon suisan Gakkaishi, 56 (1), 93~99.

Kim, Y.M., M.C. Kang and J.H. Hong. 1995. Quality evaluation of low-salt fermented seafoods. J. Korean Fish. Soc., 28 (3), 301~308. (in Korean)

Koo, J.G., Y.M. Kim, Y.C. Lee and D.S. Kim. 1990. Taste compounds of rapid processed sardine sauce. Bull. Korean Fish. Soc., 23 (2), 87~92. (in Korean)

Lee, E.H., T.H. Lee, J.S. Kim and C.B. Ahn. 1989. Processing and taste compounds of the fish sauce from skipjack scrap. Bull. Korean Fish. Soc., 23 (1), 25~35. (in Korean)

Lee, E.H., J.S. Lee, D.S. Joo, J.J. Park, H.K. Kim and S.Z. Chang. 1996. The taste compounds in commercial *Toha-jeot*. J. Korean Soc. Food Nutr., 25 (2), 325~330. (in Korean)

Nakamura, K. and S. Ishikawa. 1985. An enzymatic method of measuring K value. Bull. Tokai Reg. Res. Lab., 118, 39~43.

Oh, K.S. 1995. The comparison and index components in quality of saltfermented anchovy sauces. Korean J. Food Sci. Technol., 27 (4), 487~494. (in Korean)

Oh, K.S. 1996. Studies on the processing of sterilized salt-fermented anchovy sauces. Korean J. Food Sci. Technol., 28 (6), 1038~

1044. (in Korean)
- Park, C.K. 1995. Extractive nitrogenous constituents of anchovy sauce and their quality standardization. *Korean J. Food Sci., Technol.*, 27 (4), 4714~477. (in Korean)
- Park, C.K. and J.N. Park. 1996a. Extractive nitrogenous constituents of Toha (*Cardina denticulata denticulata*, freshwater shrimp) and Jeotsaeu (*Acetes japonicus*, seawater shrimp). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28 (6), 1111~1118. (in Korean)
- Park, C.K., W.J. Kim, K.S. Kim and J.N. Park. 1996b. Extractive nitrogenous constituent in commercial Saeujeot, a salted and fermented shrimp (*Acetes japonicus*). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28 (6), 1135~1141. (in Korean)
- Park, C.K. and J.N. Park. 1997. Extractive nitrogeous constituents in commercial Tohajeot, a salted and fermented freshwater shrimp (*Coridina denticulata denticulata*), and their quality index. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29 (2), 230~239. (in Korean)
- Spies, T.R. and D.C. Chamber. 1951. Spectrometric analysis of amino acid and peptides with their copper salt. *J. Biol. Chem.*, 191, 787.
- Uda, F., E. Hayashi, H. Uchiyama and K. Kakuda. 1983. Colorimetric method for measuring K value, an index for evaluating freshness of fish. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 111 (8), 55~62.
- Watabe, S., M. Kamal and K. Hashimoto. 1991. Postmortem changes in ATP, creatine phosphate, and lactate in sardine muscle. *J. Food Sci.*, 56, 151~153.
- 日本醬油研究所. 1985. しょうゆ實驗法. 東京, p. 6.
- 日本厚生省. 1960. 食品衛生検査指針-I. 揮發性鹽基窒素. pp. 30~32.

1999년 2월 27일 접수

1999년 6월 15일 수리