

대구 Frame 단백질 가수분해물을 이용한 효소분해간장의 제조

김세권[†] · 박표잠 · 김규형*

부경대학교 화학과

*키토라이프 기술연구소

Preparation of Sauce from Enzymatic Hydrolysates of Cod Frame Protein

Se-Kwon Kim[†], Pyo-Jam Park and Gyu-Hyung Kim*

Dept. of Chemistry, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*KITTO LIFE R&D CENTER, Pyungtaek 459-040, Korea

Abstract

In order to utilize the protein source from a fish processing by-product, cod frame was hydrolyzed with various enzymes such as tuna pyloric caeca crude enzyme (TPCCE), α -chymotrypsin, trypsin, papain and pronase E. The TPCCE hydrolysate acquired the highest sensory properties on taste, odor and color. The resultant cod frame protein hydrolysate (CFPH) which was hydrolyzed with TPCCE, was separated through a series of ultrafiltration membranes with molecular weight cut-off (MWCO) of 30, 10, 5 and 1 kDa, and four types of permeates including 30 K (permeate from 30 kDa membrane), 10 K (permeate from 10 kDa membrane), 5 K (permeate from 5 kDa membrane) and 1 K (permeate from 1 kDa membrane) were obtained. The natural sauces were prepared with 30 K, 10 K, 5 K and 1 K hydrolysate, and the sauce prepared with 1 K hydrolysate was the best score in sensory evaluations. In addition, the mixed sauce prepared with 1 K hydrolysate and commercial soy sauce was similar to commercial sauce in sensory properties. These results suggest that the mixed sauce would be utilized as the substitute of acid-hydrolysis sauce.

Key words: sauce, enzymatic hydrolysate, cod frame protein

서론

장류는 우리 나라를 비롯한 동양인들이 즐겨먹는 전통 식품으로 여러 종류가 있지만, 그 중 간장이 가장 널리 사용되면서 음식문화를 주도하는 조미료이다.

현재 국내에서 시판되고 있는 간장의 대부분은 양조간장과 산분해 간장을 혼합하여 만든 혼합간장으로 전체 유통간장의 70%정도를 차지하고 있다(1). 일반적으로 양조간장은 오랜 숙성기간을 통하여 특유의 향과 맛을 가지고 있으나 제조기간이 길고 비용이 많이 든다는 단점을 가지고 있는 반면, 산분해 간장은 제조기간이 짧고 비용이 적게 들지만 특유의 향과 맛이 부족하다. 또한, 산분해간장은 제조과정 중에 탈지대두 단백질에 염산을 가하여 가수분해시켜 만들기 때문에 tryptophan이나 cysteine 등 일부 아미노산이 소실되고(2), L-형의 아미노산이 D-형의 아미노산으로 변환되며, lysinoalanine [N-DL-(amino-2-carboxyethyl)-L-lysine]과 같은 변성 아미노산이 생성되어 인체에 일부 독성물질로 작용하는 것으로 보고되

어 있다(3).

최근 소비자보호원의 발표(1998)에 의하면 국내 시판 간장에는 발암물질로서 알려진 monochloropropanediol (MCPD)(4,5)이 조사대상 21개 품목 중 15개가 검출되었으며, 대부분은 세계보건기구(WHO) 기준치인 2.0 ppm 이하였지만, 일부 제품은 2배에 가까운 3.5 ppm에 달한다고 하였다. 이는 1996년 2차 산분해간장 파동때 조사품목 73개중 65개의 제품에서 MCPD가 검출되었고 평균검출량이 14.5 ppm이었던 것에 비하면 상당히 개선되었지만, 여전히 발암물질이 존재하여 국민건강을 위협하고 있다. 그럼에도 불구하고 단백질을 일반 단백질 분해효소로 가수분해하면 쓴맛으로 인하여 사용할 수 없어 아직도 염산 분해간장이 유통되고 있다. 따라서 인체에 보다 안전하고 건강 지향적인 효소 분해간장의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다.

한편, 우리 나라의 수산물 이용현황을 보면 '96년도 수산가공공장의 가공율은 전년도에 비해 4.7% 증가한 87%를 차지함으로써 상대적으로 어뼈, 어피, 어두, 내장, 비늘

[†]To whom all correspondence should be addressed

등과 같은 수산가공잔사의 증가도 동반되고 있다(6). 현재까지 이들 잔사는 대부분 사료로 이용되거나 폐기되어져 자원의 효율적 활용이 제대로 이루어지지 않을 뿐만 아니라 환경오염까지도 유발하고 있다. 따라서 이를 활용한 고부가가치 상품의 개발은 미이용 자원의 효율적 활용, 환경오염 예방, 저렴하고 풍족한 원료의 공급 등의 이점이 있을 것으로 기대한다.

따라서 본 연구에서는 수산가공장에서 부산물로 생산되어 대부분 동물 사료로 이용되거나 폐기되어 심각한 환경오염을 야기시키는 대구 frame을 효율적으로 이용하기 위하여, 단백질을 효소로 가수분해시킨 후 막반응기를 사용하여 분자량별로 분획하였으며, 이 분획물을 조미간장을 제조하여 관능검사를 통한 천연 조미료로서의 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

원료로 사용된 대구(*Gadus macrocephalus*) frame은 대림산업(주) 가공공장에서부터 filleting한 후, 남은 잔사인 frame을 제공받아 -20°C 에서 냉동보관하였다. 단백질 가수분해 효소를 추출하기 위하여 (주)동원산업으로부터 제공받은 참치 유문수(tuna pyloric caeca)는 -60°C 에 저장하여 두고 사용하였다. 시판 단백질 분해효소인 α -chymotrypsin(from bovine pancreas, Type II), papain(from papaya latex, Type IV), pronase E(from *Streptomyces griseus*, Type XIV) 및 trypsin(from bovine pancreas)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. 그 외의 모든 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였다.

참치 유문수 유래의 조효소 추출

참치 유문수 유래의 proteinase 조효소 추출은 Kim 등(7)의 방법에 따라 다음과 같이 수행하였다. 참치 유문수를 잘게 자른 후 완충용액(20 mM Tris-HCl buffer containing 5 mM CaCl_2 , pH 7.0)을 2배 가량 첨가하여 균질기(Ace homogenizer, Nessei AM-7, Japan)로 2회 반복하여 균질화(9,500×g, 2 min)시킨 다음, 이것을 40°C 항온수조에서 3시간 동안 활성화시킨 후, 원심분리(9,500×g, 20 min)하여 얻은 상층액에 동일한 양의 아세톤을 첨가하여 2°C 냉장실에서 6시간 동안 방치하여 두고 침전물을 얻었다. 이것을 다시 원심분리(2,370×g, 10 min)하여 얻은 침전물에 동일한 양의 50% 아세톤을 첨가하여 원심분리(2,370×g, 10 min)한 후 단백질을 회수하였다. 회수된 단백질에서 불용성 단백질 부분을 제거하기 위하여 동일한 양의 증류수를 첨가하여 원심분리(9,500×g, 10 min)한 후 그 상층액을 동결건조하여 -20°C 에 저장하여 두고

참치 유문수 유래의 조효소(TPCCE; tuna pyloric caeca crude enzyme, 0.54 U/mg protein)로 사용하였다.

대구 frame 단백질의 가수분해

대구 frame 2 kg(건조물 기준)을 Kim 등(7)의 방법에 따라 가수분해시킨 후 95°C 에서 10분간 효소를 불활성시킨 다음, 그 추출액을 여과(Whatman No. 41) 및 원심분리(4,650×g, 20 min)로 어뼈 잔사 및 미반응 근육단백질을 제거하였다. 이것을 한외여과막 장치(ultrafiltration membrane system)를 사용하여 분자량 한계범위(molecular weight cut-off: MWCO)가 각각 30, 10, 5 및 1 kDa인 한외 여과막을 차례로 통과시켜 각각을 분자량 크기에 따라 대량 분획하여 농축한 후 동결건조하여 대구 frame 단백질 가수분해물(30, 10, 5 및 1 K 가수분해물)의 시료로서 사용하였다.

가수분해물의 관능평가

관능검사는 잘 훈련된 대학원생 중 10인을 선발하여 관능검사 요원을 구성하고 5단계 평점법(5점: 매우 좋다, 4점: 좋다, 3점: 보통이다, 2점: 나쁘다, 1점: 매우 나쁘다)으로 실시하였다. 평가는 참치유문수 유래 단백질 가수분해효소로 만든 대구 frame 단백질 가수분해물과 상업용 효소로 제조한 가수분해물들에 대하여 맛(taste), 냄새(odor) 및 색(color)의 3가지 항목으로 구분하여 비교하였다.

아미노산 조성

구성 아미노산 조성분석은 각각의 가수분해물 시료 50 mg을 정평하여 ampoule에 넣고 6 N HCl 5 mL를 가하여 진공 밀봉한 다음 22시간 동안 110°C 항온기에서 가수분해시켰다. 이 가수분해물을 여과하고, 그 여액을 50°C 에서 감압, 건조하여 염산을 제거한 후 sodium loading buffer(pH 2.2)로 10 mL로 정용하였다. 이 중 일부를 아미노산 자동분석기(Hitachi Co., Japan)로 분석하였다.

유리아미노산 분석은 같은 시료를 3 g 정평하여 70% 에탄올 용액에 녹여 100 mL로 정용한 후 원심분리(4,000×g, 10 min)하였다. 그 상층액을 20 mL 취하여 감압 건조하여 에탄올을 제거한 다음 최종 20 mL가 되게 정용하였다. 이 중 10 mL를 취하고 그 용액속에 5'-sulfosalicylic acid 0.5 g을 첨가하여 냉암소에서 1시간 방치한 후, 다시 원심분리(12,000×g, 10 min)하여 상층액 5 mL를 취하여 감압건조한 후 lithium loading buffer(pH 2.2)로 2 mL가 되게 정용하였다. 이 중 일부를 취하여 아미노산 자동분석기로 유리아미노산의 조성을 분석하였다.

분자량 측정

대구 frame 가수분해물의 분자량 측정은 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, Spectra Physics Co., USA)를

이용하여 측정하였다. 즉, GPC column (Altech Co., pore size 60 Å, 240×4.6 mm)을 0.05 M KH₂PO₄-KOH buffer (pH 7.0)로 평형화시킨 후, 각 1 mg/mL의 시료 용액 20 µL를 유출속도 0.3 mL/min으로 용리시켜 220 nm에서 흡광도로 확인하였다. 표준 단백질로서 carbonic anhydrase (MW 29,000 Da), cytochrome C (MW 12,400 Da), apro-tinin (MW 6,500 Da) 및 kyotrophin (337 Da)을 각각 사용하였다.

조미간장의 제조

조미간장의 제조는 예비실험을 통하여 설정된 조건에 따라 다음과 같이 제조하였다. 즉, 1 K 가수분해물의 시료 30 g을 식염 40 g, 설탕 5 g, 포도당 5 g, 핵산[명신화성(주) 제품] 1 g, 검은 후추분말[명신화성(주) 제품] 0.2 g, 카라멜분말[명신화성(주) 제품] 0.2 g, 감초[백경상사 제품] 0.2 g, 생강분말[명신화성(주) 제품] 0.1 g, 마늘분말[명신화성(주) 제품] 0.1 g, 양파분말[명신화성(주) 제품] 0.1 g, 양조식초[오뚜기 식품(주) 제품, 총산도: 6.7~7.0%] 6 mL 및 과당[명신화성(주) 제품] 6 mL와 함께 혼합하여 물에 녹여 200 mL가 되게 하였다. 이 용액을 냉각관이 부착된 둥근바닥 플라스크에 넣고 24시간 동안 끓인 다음, 그 용액을 식혀 여과포로 여과하고 얻은 여액을 1 K 가수분해물의 효소 분해간장(enzymatic sauce: ES)으로 하였다. 이 원액과 100% 시판 대두 양조간장[오복식품(주) 제품]을 9:1(v/v), 8:2(v/v) 및 5:5(v/v)의 비율로 혼합한 것을 각각 ES-I, ES-II 및 ES-III로 하였다.

관능검사에 의한 품질평가

1 K 가수분해물의 효소분해간장에 대한 관능평가는 제조된 원액(ES), 효소분해간장과 양조간장을 혼합한 ES-I, ES-II, ES-III 및 시판간장인 AS-I, AS-II, AS-III를 맛, 냄새 및 색의 3가지 항목으로 구분하여 실시하였다. 여기서 AS-1은 산 분해간장 95%와 양조간장 5%, AS-II는 산 분해간장 80%와 양조간장 20% 및 AS-III는 산 분해간장 70%와 양조간장 30%로 구성되어 있는 시판 혼

합간장이다. 관능검사 방법은 가수분해물의 관능평가와 동일한 방법으로 평가하였다.

통계분석

모든 결과에 대한 통계는 SAS 프로그램을 이용하여 평균±표준오차(mean±SE)로 제시하였다. 유의성 검증은 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

여러 효소에 따른 가수분해물의 관능평가

참치 내장 유래 단백질 분해 조효소인 TPCCE를 이용하여 대구 frame 단백질을 가수분해하여 제조한 가수분해물과 상업용 단백질 분해효소인 trypsin, α-chymotrypsin, pronase E 및 papain으로 가수분해하여 제조한 가수분해물의 관능평가에 대한 결과는 Table 1과 같다. TPCCE에 의해 제조된 가수분해물은 모든 항목에서 높은 점수를 얻었으며, 특히 간장의 제조에 밀접한 관계가 있는 항목인 맛과 냄새에서 가장 높은 점수를 받았다. 그리고, 상업용 효소 중에서는 α-chymotrypsin으로 처리한 가수분해물이 비교적 높은 점수를 받았으나, 쓴맛이 강하고 어류 특유의 비린내가 강하였다. Kim 등(8)은 참치자속액을 탈염한 후 TPCCE와 여러 가지 시판효소를 사용하여 분해시킨 가수분해물의 관능검사를 실시한 결과, TPCCE로 분해시킨 가수분해물이 맛, 냄새 및 색깔의 모든 평가에서 가장 우수하였다고 보고하였는데 이러한 결과들은 본 연구의 결과와 매우 유사하였다.

가수분해물의 분자량 분포

대구 frame 단백질을 TPCCE로 가수분해시킨 후 한외여과막(MWCO 30 kDa, 10 kDa, 5 kDa 및 1 kDa)을 사용하여 30 K(MWCO 30 kDa 한외여과막에는 통과하고 10 kDa인 막에는 통과하지 못한 획분), 10 K(10 kDa인 막은 통과하고 5 kDa의 막은 통과하지 못한 획분), 5 K(5 kDa

Table 1. Sensory evaluation for the enzymatic hydrolysates prepared with TPCCE¹⁾ and commercial enzymes

Hydrolysate ²⁾	Total score	Mean score ³⁾		
		Taste	Odor	Color
TPCCE	4.63 ^a	4.3±1.2 ^a	4.9±1.6 ^a	4.7±0.3 ^a
Papain	2.53 ^c	2.3±1.4 ^c	2.9±1.4 ^b	2.4±0.5 ^b
Pronase E	2.80 ^c	1.3±1.3 ^c	3.3±1.1 ^b	3.8±0.5 ^a
Trypsin	3.47 ^b	2.8±0.7 ^b	3.7±1.1 ^a	3.9±0.8 ^a
Chymotrypsin	4.33 ^a	3.9±1.2 ^a	4.4±0.6 ^a	4.7±0.5 ^a

¹⁾TPCCE: tuna pyloric caeca crude enzyme.

²⁾Respective hydrolysates were prepared with enzymes within the column.

³⁾Means within each column followed by the same letter are not significantly different (p<0.05).

5 points scale (1: undesirable, 2: slightly undesirable, 3: slightly desirable, 4: desirable, 5: very desirable).

인 막은 통과하고 1 kDa의 막은 통과하지 못한 획분) 및 1 K(1 kDa인 막을 통과한 획분) 가수분해물을 만들어 분자량분포를 살펴본 결과는 Fig. 1과 같다. 즉, 가수분해물의 분자량을 기초로 하여 분획된 이들 가수분해물들은 분자량 25,000 Da 이하에서 서로 유사한 분자량 분포 패턴을 보였으나, 분획에 사용된 막의 한계분자량에 따라 피크의 비율은 서로 차이를 보였다. 30 K 가수분해물은 25,000, 13,000, 6,000, 3,000 및 1,000 Da 등 5개의 주요 피크가 나타났으며, 10 K 가수분해물은 대체로 30 K 가수분해물과 비슷하였으나, 25,000 Da의 주 피크가 점차 사라지고 새로운 500 Da 피크가 나타났다. 5 K 가수분해물은 13,000, 6,000, 3,000, 1,000 및 500 Da 등 5개의 주 피크에서 1 K 가수분해물과 거의 유사한 패턴을 보였으나, 1 K 가수분해물에서는 13,000 Da 피크가 급격하게 줄어든다는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 각 가수분해물들이 한외여과막의 한계분자량에 의해서 분획되었어도

분자량 분포에서 매우 뚜렷하게 분획된 것은 아니지만, 한외여과막의 한계분자량 크기가 줄어들수록 가수분해물의 큰 분자량 피크는 감소하거나 제거된다는 것을 알 수 있었다.

가수분해물의 아미노산 조성

대구 frame을 TPCCE로 가수분해시켜 분자량별로 분리한 획분에 대한 각각의 구성아미노산 및 유리아미노산 조성에 대한 결과는 Table 2 및 Table 3에 나타내었다. 각 가수분해물에 대한 구성아미노산 조성의 함량 차이는 큰 차이가 없었으나 glutamic acid, threonine, aspartic acid, lysine, glycine 등의 순으로 아미노산이 함유되어 있었으며, 이들 아미노산이 전체 아미노산의 약 50%를 차지하였다.

각각의 가수분해물 중에서 맛과 관련된 아미노산의 조성을 살펴보면, 단맛을 내는 glycine, proline, alanine 및 serine은 전체 아미노산 중 22%(30 K 가수분해물), 23%(10 K 가수분해물), 23%(5 K 가수분해물) 및 22%(1 K 가수분해물)를 함유하고 있었으며, 감칠맛과 신맛을 내는 아미노산인 glutamic acid 및 aspartic acid는 각각 25%(30 K 가수분해물), 26%(10 K 가수분해물), 25%(5 K 가수분해물) 및 25%(1 K 가수분해물)가 함유되어 있어 양호한 맛을 내는 아미노산은 전체아미노산의 모든 가수분해물에서 47%~49%로 거의 비슷하였다. 반면에 쓴맛과 관련된 arginine, phenylalanine, valine, leucine, isoleucine, histidine 및 methionine 등의 소수성 아미노산 함량은 모든 가수분해물에서 32%정도로 거의 일정하였다. 그러나, 유리아미노산의 함량은 30 K, 10 K 및 5 K 가수분해물에서는 20~22%정도였으나, 분자량이 가장 낮은 1 K 가수분해물에서는 32%정도로 그 함량이 아주 높았다.

일반적으로 유리아미노산은 핵산관련물질과 같은 정미성분이 공존하게 되면 맛의 상승작용이 있다고 하였으며(9), 또한 육단백질 그 자체로는 별 맛이 없지만 육단백질내의 효소와 미생물에 의하여 가수분해가 진행되면서 육단백질로부터 유리아미노산이 생성되어 맛과 방향성분이 증가한다고 보고되어 있다(10).

따라서 본 연구에서의 대구 frame을 TPCCE로 가수분해시켜 분자량별로 분획한 가수분해물 중 1 K 가수분해물은 유리아미노산의 함량이 높아 그 자체의 정미성분과 상호작용하여 맛의 상승효과를 가져올 것으로 판단된다.

조미간장의 관능평가

TPCCE로 가수분해시킨 대구 frame 가수분해물을 분자량별로 분리한 획분물에 대한 관능평가의 결과는 Table 4에서와 같이 1 K 가수분해물이 맛, 냄새 및 색깔의 모든 평가에서 가장 높은 점수를 얻었다. 일반적으로 단

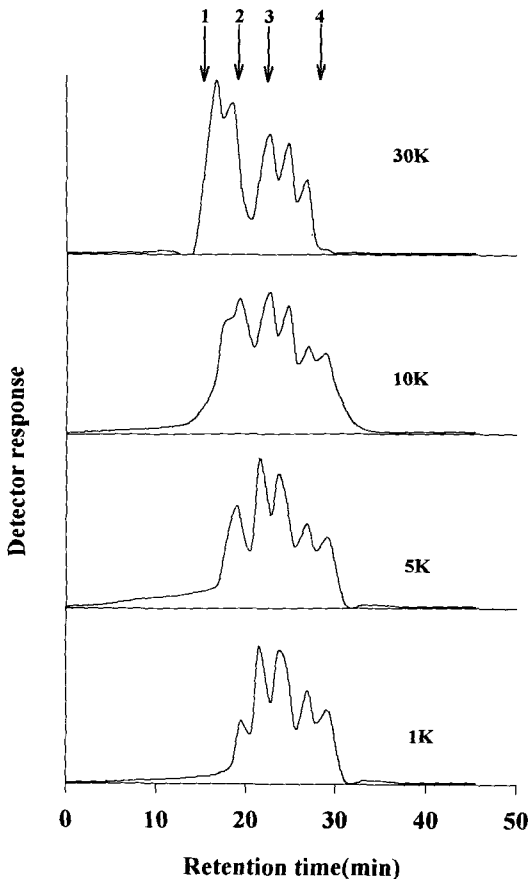


Fig. 1. Molecular weight distribution profiles of cod frame protein hydrolysates by tuna pyloric caeca crude enzyme (TPCCE) on HPLC with GPC column. HPLC operation was carried out at flow rate 0.3 mL/min. 1, Carbonic anhydrase (MW 29,000); 2, Cytochrome C (MW 12,400); 3, Aprotinin (MW 6,500); 4, Kyotrophin (MW 337).

Table 2. Amino acid compositions of cod frame hydrolysates according to molecular weight (%-AA/100 g-protein)

Amino acid	TPCCE-30 K	TPCCE-10 K	TPCCE-5 K	TPCCE-1 K
Asp	8.30	8.57	8.24	7.95
Thr	9.38	9.93	9.92	9.40
Ser	5.30	5.61	5.52	5.34
Glu	16.89	17.50	16.83	16.88
Pro	4.59	4.61	4.88	4.09
Gly	6.18	6.50	6.33	6.12
Ala	6.04	6.45	6.29	6.64
Val	5.77	6.04	6.06	6.03
Cys	1.69	1.23	1.29	0.60
Met	3.44	3.59	3.57	3.88
Ile	5.29	5.38	5.61	5.41
Leu	5.94	6.22	6.35	6.86
Tyr	1.16	0.97	1.27	1.49
Phe	4.01	3.82	4.49	4.96
Lys	7.36	7.31	7.19	8.15
His	2.59	1.57	1.53	1.42
Arg	6.07	4.71	4.64	4.78
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

Table 3. Contents of free amino acids of cod frame hydrolysates according to molecular weight (mg/100 g-hydrolysate)

Amino acid	1 K hydrolysate	5 K hydroysate	10 K hydrolysate	30 K hydrolysate
Taurine	393	261	325	310
Aspartic acid	729	503	551	441
Hydroxyproline	1,696	1,299	-	1,481
Threonine	1,959	1,337	1,320	1,170
Serine	1,236	833	826	730
Asparagine	2,460	1,618	1,031	1,418
Glutamic acid	2,661	1,746	1,744	1,512
Proline	99	57	41	50
Glycine	789	530	509	789
Alanine	2,000	1,281	1,278	1,118
α -Aminobutyric acid	61	49	45	42
Valine	1,537	1,044	1,027	885
Cystine	33	-	-	-
Methonine	1,132	881	898	802
Isoleucine	1,452	1,017	958	856
Leucine	2,982	2,014	1,941	1,671
Tyrosine	1,772	1,192	1,184	1,043
β -Alanine	120	121	139	147
Phenylalanine	1,630	1,134	1,139	991
5-Hydroxylysine	102	72	72	108
Ornithine (orn)	35	25	27	29
Lysine	3,916	2,692	2,621	2,343
Histidine	169	167	128	153
3-Methylhistidine	291	116	147	164
Arginine	3,126	2,318	2,311	2,161
Total	32,389	22,320	20,473	20,426

백질을 protease로 가수분해하면 쓴맛이 나는데, 본 연구에서 TPCCE로 가수분해하여 분자량별로 분획한 가수분해물 중 1 K 가수분해물은 쓴맛을 내지 않았다. 이는 이 가수분해물에 분자량이 작은 펩타이드와 유리아미노산의 함량이 많기 때문인 것으로 판단되며, 이러한 결과는 FPC(fish protein concentrate)를 가수분해하여 각 분자량 획분별로 분리한 가수분해물 중에서 분자량이 가장 낮

은 1 kDa 이하의 가수분해물이 맛의 평가면에서 가장 우수하였다고 보고한 결과와 일치하였다(11).

이상의 결과를 바탕으로 맛, 냄새 및 색깔에 대한 종합적인 점수 비교에서 가장 우수한 1 K 가수분해물을 이용하여 효소분해간장을 제조(enzymatic sauce : ES)한 후 이를 시판양조간장과 함께 혼합하여 조미간장을 만들어 관능평가를 실시한 결과는 Table 5와 같다. 관능평가의

Table 4. Sensory evaluation for various molecular weight of the hydrolysates prepared with TPCCE¹⁾

Hydrolysate ²⁾	Total score	Mean score ³⁾		
		Taste	Odor	Color
30 K hydrolysate	2.43±0.41 ^c	2.00±0.41 ^c	2.75±0.61 ^b	2.53±0.28 ^b
10 K hydrolysate	2.91±0.44 ^b	2.72±0.45 ^b	3.00±0.45 ^{ab}	3.02±0.47 ^{ab}
5 K hydrolysate	3.06±0.46 ^b	2.48±0.52 ^b	3.16±0.48 ^{ab}	3.55±0.38 ^a
1 K hydrolysate	3.44±0.57 ^a	3.26±0.71 ^a	3.47±0.55 ^a	3.59±0.43 ^a

¹⁾TPCCE: tuna pyloric caeca crude enzyme.

²⁾Respective hydrolysates were separated through a series of ultrafiltration membranes with each molecular weight cut-off within the column.

³⁾Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

5 points scale (1: undesirable, 2: slightly undesirable, 3: slightly desirable, 4: desirable, 5: very desirable).

Table 5. Sensory evaluation for various 1 K hydrolysate sauces

Hydrolysate ¹⁾	Total score	Mean score ²⁾		
		Taste	Odor	Color
ES	3.02±0.22 ^b	2.88±0.41 ^b	3.45±0.56 ^a	2.73±0.34 ^b
ES-I	3.17±0.46 ^{ab}	3.36±0.44 ^{ab}	3.05±0.35 ^b	3.09±0.47 ^a
ES-II	3.12±0.31 ^{ab}	3.11±0.36 ^{ab}	3.19±0.22 ^{ab}	3.16±0.28 ^a
ES-III	3.15±0.35 ^{ab}	3.23±0.41 ^{ab}	3.24±0.31 ^{ab}	3.08±0.36 ^a
AS-I	3.06±0.46 ^b	3.75±0.42 ^a	3.28±0.21 ^{ab}	3.01±0.33 ^a
AS-II	3.06±0.46 ^b	3.72±0.39 ^a	3.16±0.27 ^{ab}	3.14±0.32 ^a
AS-III	3.44±0.57 ^a	3.78±0.28 ^a	3.57±0.33 ^a	3.21±0.32 ^a

¹⁾ES, Enzymatic sauce was prepared from TPCCE-1K; ES-I, ES: fermented soy sauce (FSS)=90:10 (v/v); ES-II, ES:FSS=80:20 (v/v); ES-III, ES:FSS=50:50 (v/v); AS, acid-hydrolysis sauce; AS-I, AS:FSS=95:5 (v/v); AS-II, AS:FSS=80:20 (v/v); AS-III, AS:FSS=70:30 (v/v).

²⁾Means within each column followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

5 points scale (1: undesirable, 2: slightly undesirable, 3: slightly desirable, 4: desirable, 5: very desirable).

전체 항목에서 가장 높은 점수를 얻은 제품은 시판간장 AS-III였으나, 조미간장 원액과 시판간장을 혼합한 조미간장 ES-I, ES-II 및 ES-III는 시판간장 AS-I과 AS-II보다 전체적으로 우수한 것으로 나타났다. 또한, 냄새와 색의 평가면에서는 조미간장과 시판간장 사이에 유의차는 나타나지 않았으며, 맛의 평가에서는 조미간장이 시판간장보다 다소 맛이 떨어지지만, 조미간장 ES-I의 경우는 시판간장과 5% 유의수준 내의 유의차가 인정되지 않았다.

Kim 등은 대구피 젤라틴(12)과 명태피 젤라틴(13)을 효소적으로 가수분해시켜 얻어진 가수분해물들을 이용하여 조미간장을 제조한 후, 시판 양조간장을 8:2(v/v)의 비율로 혼합하여 제조한 간장은 시판 화학간장과 비교했을 때 관능적으로 손색이 없었다고 보고하였다. 또한, 여러 가지 시판효소로 참치 자속액을 가수분해시킨 가수분해물들을 원료로 하여 제조한 조미간장 원액의 관능평가에서 분자량 1 kDa이하의 가수분해물이 가장 높은 점수를 받았으며, 이 가수분해물로 제조된 조미간장 원액을 양조간장과 50:50(v/v)으로 혼합하여 제조한 조미간장이 시판되는 산분해 화학간장에 비해 관능검사 결과 큰 차이가 없었다고 보고하였다(8).

현재 판매되고 있는 대부분의 간장은 산분해간장과 양조간장을 혼합하여 만든 혼합간장으로, 특히 산분해간장

은 탈지대두의 산분해 및 중화과정에서 lysinoalanine 및 dichloropropanol(DPC)과 같은 독성이 있는 부산물이 생성되거나 tryptophan과 같은 필수아미노산의 손실을 가져오므로 여러 가지 문제가 대두되고 있다. 그러나 대구 frame을 참치유분수 유래의 조효소로 분해시켜 얻은 가수분해물은 산분해 화학간장에 비해 안전성의 측면에서 우수한 뿐만 아니라, 어류 고유의 비린 냄새와 효소로 가수분해시켜 얻은 분해물의 문제점인 쓴맛이 나타나지 않았다. 이는 대구 frame을 참치 유분수 유래의 조효소인 TPCCE로 가수분해시킨 후 한외 여과막을 사용하여 얻은 1 K 가수분해물이 다량의 유리아미노산을 함유하기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 대구 frame을 TPCCE로 가수분해시킨 가수분해물 중에서 1 K 가수분해물로 제조한 효소분해간장과 시판 양조간장을 혼합하여 효소분해 혼합간장을 제조한다면 시판 산분해 혼합간장의 안정성을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 폐기되거나 사료로 이용되고 있는 대구 frame에 다량으로 포함되어 있는 단백질로부터 쓴맛이 없는 효소분해 간장을 개발하기 위해 참치유분수 유래의 조효소를 추출하고 이를 이용하여 대구 frame을 가수분

해시켰으며, 한외여과막을 사용하여 분자량별로 분획하여 조미간장을 제조한 후 간장으로서의 이용가능성을 검토하였다. 한외여과막을 사용하여 분자량별로 분획한 각각의 가수분해물들은 25,000 kDa 이하에서 서로 유사한 분자량 분포를 보였으나, 분획에 사용된 막의 한계분자량에 따라 분포 비율은 서로 차이를 보였다. 또한, 아미노산의 조성분석에서도 각 가수분해물에 포함되어 있는 아미노산의 함량 차이는 거의 없었으나, 1 K 가수분해물에서 유리아미노산의 함량이 상대적으로 높았다. 분자량별로 분획된 TPCCE 가수분해물들의 관능평가 결과 1 K 가수분해물이 모든 항목에서 가장 우수한 것으로 나타났으며, 이를 원료로 하여 효소분해간장을 만들어 다시 관능평가한 실시한 결과, 1 K 가수분해물로 제조한 간장은 육단백질을 효소분해할 때 나타나는 쓴맛은 사라졌지만 시판용 간장과 맛의 비교평가에서 약간 낮은 점수를 얻었다. 그러나 효소분해간장 원액을 시판 양조간장과 일정한 비율로 섞어 관능평가를 실시하였을 때는 모든 항목에서 우수한 점수를 얻었다. 따라서, 1 K 가수분해물로 제조한 효소분해간장과 양조간장을 일정비율로 혼합할 경우, 현재 시판되는 산분해 혼합간장의 안정성을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 수산진흥원에서 시행한 수산산학협동 보조 연구사업 (1998) 수행에 의한 연구결과이며, 연구비를 지원해 준 수산진흥원에 감사드립니다.

문헌

1. 주현규 : 한국 장류공업의 현황과 문제점 대책. 영남대학교 장류연구소 개소 심포지움 발표논문집, p.11 (1998)

2. 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**, 140-146 (1990)
3. Kinsella, J.E. and Shetty, K.J. : Chemical modification for improving functional properties of plant and yeast proteins. *A Survey CRC Crit. Food Sci. Nutr.*, **7**, 219-225 (1979)
4. IHPC Report 3-6-95 : Position paper on 3-monochloropropanediol (3-MCPD). IHPC board, Washington, D.C. (1995)
5. Dixit, V.P., Lohiya, N.K. and Araya, M. : Observations of the effects of 3-chloro-1,2-propanediol on the female reproductive tract and pituitary gonadotrophs of the gerbil (*Meriones hurrianae*). *Folia Biologica*, **22**, 281-290 (1974)
6. 수산연감. 한국수산학회편 (1998)
7. Kim, S.K., Jeon, Y.J., Byun, H.G., Kim, Y.T. and Lee, C.K. : Enzymatic recovery of cod frame proteins with crude proteinase from tuna pyloric caeca. *Fisheries Science*, **63**, 421-427 (1997)
8. Kim, S.K., Byun, H.G., Jeon, Y.J., Joo, D.S. and Kim, J.B. : Development of natural seasoning using desalinated tuna boiled extract. *J. Korean Fish Soc.*, **32**, 75-82 (1999)
9. Konosu, S., Maeda, Y. and Fujita, T. : Evaluation of inosinic acid and free amino acids as tasting substance in the katsuobushi stock. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **26**, 45-48 (1960)
10. 清水洋一 : 調味その科學と製造. 高田亮平ら, 東京光生館, p.35-45 (1966)
11. Fujimaki, M., Arai, S., Yamashita, M., Kato, H. and Noguchi, M. : Taste peptide fractionation from a fish protein hydrolysate. *Agricul. Biol. Chem.*, **37**, 2891-2899 (1973)
12. Kim, S.K., Ahn, C.B. and Kang, O.J. : Preparation of imitation sauce from enzymatic hydrolysate of cod skin gelatin. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 470-475 (1993)
13. Kim, S.K., Jeon, Y.J., Byun, H.G., Ahn, C.B., Jou, D.J. and Lee, E.H. : Development of natural seasoning from alaska pollack skin gelatin using continuous three-step membrane reactor. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **10**, 510-517 (1995)

(2000년 4월 10일 접수)