

자건대멸의 선택, 어취 및 *in vitro* 칼슘 흡수율에 미치는 주정과 유기산 처리의 효과

조진호^{1*} · 장해진¹ · 조승목² · 이양봉³

¹한국식품연구원

²(재)강릉해양생물산업진흥원

³부경대학교 식품공학과

Effects of Ethanol and Organic Acids on Color, Fishy Odor and *in vitro* Absorption Rate of Calcium of Dried Large Anchovy

Jin-Ho Jo^{1*}, Hae-Jin Jang¹, Seung-Mock Cho² and Yang-Bong Lee³

¹Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

²Gangneung Development Institute for Marine Bioindustry, Gangwon 210-923, Korea

³Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract

The optimization of ethanol treatment was carried out by response surface methodology (RSM) which was expressed through change of ΔE value for improvement of color of dried large anchovy. The optimum condition was shown as treatment with 7 volumes (v/m) of ethanol at 50°C for 9 hrs. At this condition, the removal rates of trimethylamine (TMA) and fat considered as fishy odor-causing materials were 81.1 and 77.4%, respectively, when analyzed by solid phase microextraction (SPME)/gas chromatography and soxhlet method, respectively. The effect of citric acid on the removal rate of TMA was the highest one among organic acid treatments. The removal rate of TMA was affected greatly by the concentration of organic acid rather than the temperature and time of treatment. 73% of TMA was removed by treatment of 1% of citric acid at 20°C for 20 min. Specially, above 90% of TMA could be removed by the combination of alcohol and citric acid treatment. *In vitro* absorption rate of calcium was also increased to 12.3% by the combination of alcohol and citric acid treatment compared with 2.9% of control.

Key words: dried large anchovy, ethanol, citric acid, color, fishy odor, *in vitro* calcium absorption

서 론

멸치(*Engraulis japonicus*)는 우리나라 연안에서 많은 양이 어획(1)되어 자원이 풍부하면서 단백질, 철분, 비타민 및 칼슘뿐 아니라 나이아신, 핵산과 고도 불포화지방산 등을 다량 함유하고 있어 성장기의 어린이, 임산부, 노약자는 물론 건강 생활을 지향하는 현대인에 필요한 우수한 수산 식량 자원이다(2). 우리나라의 멸치 관련 연구는 지속적으로 많이 수행되었는데, 마른멸치에 대한 연구는 주로 지방산 조성(3) 정미성분(4) 및 핵산관련물질의 함량(5), 저장성을 높이기 위한 항산화제 처리(6), 포장방법(7) 및 탈산소제 첨가(8) 등에 집중되고 있다. 이와 같은 이유는 저장 중의 갈변반응으로 인한 선택(9) 및 비린내 등의 관능적인 문제로 인해 가공 분야가 건제품, 젓갈류에 한정되었기 때문이다. 이러한 문제점 중 어취는 어획 후 발생하는 아민류 중 암모니아, di-

methylamine(DMA) 그리고 trimethylamine(TMA)가 가장 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이러한 어취유발물질인 DMA와 TMA의 분석에는 대부분 비색법(10)이 사용되어지고 있으나 gas chromatography(GC)로 분석했을 때 효율성이 높다는 연구도 보고되었다(11). 또한, 고급지방산들의 산화에 의해 생성되어지는 저급지방산이나 aldehyde, ketone등의 산화부산물들도 어취에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(12).

제품의 제조 조건의 최적화에 주로 사용되고 있는 반응표면분석법(RSM, response surface methodology)(13,14)은 제품개발, 공정개발, 원가절감 및 분석방법개발에 있어서 주로 사용되는 방법으로 식품분야에 있어서도 널리 사용되고 있다. 예를 들면, 효소가수분해 최적화(15)나 물리학적 특성 연구(16,17), 반응향의 개발(18,19) 등에 사용되어지고 있다.

따라서 본 연구에서는 자건대멸을 분말화하여 식품첨가

*Corresponding author. E-mail: jhjo@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9098. Fax: 82-31-709-9876

소재로 활용코자 주정으로 처리하여 멸치 분말의 색택 개선을 위한 처리 조건을 반응표면분석법을 사용하여 최적화하였고 유기산의 TMA 제거효과를 GC로 분석하여 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

자건 대멸(체장 7.7 cm, 체중 1.5 g)은 경남 통영에 소재한 기선권현항 수산업 협동조합에서 구입, 비닐포장하여 -20°C의 동결상태에서 보관하였으며 50 mesh로 분쇄하여 실험에 사용하였다. 이 때 대멸의 수분은 8.5%, 단백질은 61.1%, 지방은 12.9%, 회분은 15.2% 그리고 칼슘은 1.8%였으며, 처리물질인 주정과 유기산들은 식용급으로 사용하였고, 분석에 필요한 모든 시약들은 Sigma 사에서 구입하여 사용하였다.

색택개선의 최적화

본 연구에서 대멸의 색택 개선을 위해 주정을 처리하는 최적조건을 구명하기 위해 직교중심합성계획법을 사용하였다. 이때 주정 처리에 영향을 미치는 독립변수를 처리온도(°C), 처리함량(v/m) 및 처리시간(hrs)으로 정하였고, 각 구간을 -1.4, -1, 0, 1, 1.4의 5구간(Table 1)으로 하였고, 종속변수는 Color difference meter(Minolta, Japan)로 Hunter L, a, b값을 측정하여 ΔE값으로 나타내었다.

반응표면분석(RSM, response surface methodology)

Table 1을 토대로 실험을 수행한 결과를 SAS software program으로 통계처리하여 2차 회귀방정식을 얻은 후 실험에 관여하는 세 가지 독립변수 중 하나의 독립변수를 최적조건으로 설정하여 나머지 두 반응조건의 관계를 Maple software program(Maple 6, Waterloo Maple Inc., Canada)를 사용하여 3차원 그래프로 나타내었다.

유기산처리

대멸분말에 유기산(Citric acid, malic acid, lactic acid, acetic acid)을 처리하여 비린내 유발물질인 TMA를 제거하기 위해 citric acid의 농도, 처리온도 및 처리시간의 변화에 따라 색택 및 TMA 제거율을 측정하여 처리조건을 설정한 후 다른 유기산들을 처리하여 유기산들의 효과를 비교하였다.

조지방과 trimethylamine(TMA) 측정

지방은 ethyl ether를 용매로 하는 Soxhlet법으로 분석하

였고, TMA는 Oh 등(11)의 방법을 변형하여 head space법으로 Gas chromatography(GC, HP-5890, Hewlett Packard, USA)를 사용하여 분석하였다. 시료 2 g에 증류수 8 mL을 첨가한 후 온도를 가열하여 solid phase microextraction(57300-U, Supelco, USA)으로 휘발성 성분을 흡착시켜 HP-1 column(30 m×0.25 mm×0.25 μm, 19091N-133, Supelco, USA)이 장착된 GC에 주입하여 분석하였다. GC의 injector와 detector 온도는 230과 250°C였으며, oven온도는 초기 30°C에서 5분간 머무름 시간을 가졌고, 분당 10°C씩 200°C까지 증가시켰고 200°C에서 5분간 머무름 시간을 가졌다. 그리고, 조지방과 TMA는 자건대멸에 대한 감소율로 나타내었다.

In vitro 칼슘흡수율

시료의 칼슘흡수율은 Miller 방법(20-22)에 따라 *in vitro*로 실험을 수행하였고, 사용된 모든 시약과 투석막은 Sigma 사(St. Louis, MO)에서 구입하여 사용하였다. 자건대멸 분말 6 g을 400 mL의 증류수와 함께 용기에 넣고 6 M HCl 용액을 사용하여 pH를 2로 조정하고 15분간 mixing 후 6 mL의 pepsin(P-7000, from porcine stomach mucosa) 용액을 첨가하여 37°C에서 2시간 동안 shaking incubation 하고 소화된 시료 20 mL을 취하여 0.1 M NaOH pH 7로 적정하여 NaHCO₃의 첨가량을 결정하였다. 결정된 NaHCO₃와 증류수 25 mL을 투석막(D9652-100FT, 33 mm×21 mm)에 넣고 용기에 담근 후 밀봉하여 37°C에서 shaking incubation 하였다. 30분 후 pH 5가 되었을 때 0.4 g의 pancreatin(P-1750, from porcine pancreas)과 2.5 g의 bile extract(B-8631, porcine)를 0.1 mol/L NaHCO₃ 100 mL에 용해시킨 pancreatin-bile salts mixture를 5 mL 첨가하고 2시간 동안 37°C에서 incubation 후 투석막을 제거하여 membrane 속의 dialysate의 무게를 측정하고 ICP로 분석한 결과를 이용하여 흡수율을 계산하였다.

결과 및 고찰

색택 개선의 최적화

자건 대멸의 색택 개선을 위해 주정을 중심합성계획법에 따라 Table 1과 같이 설계한 후 무작위로 실험을 수행한 결과를 Table 2에 나타내었으며, 반응표면식과 유의차검증을 위하여 SAS software로 통계 처리하여 다중회귀분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 무처리구의 ΔE 값은 50.93으로 실험값이 무처리구의 색도보다 높으면 갈변도가 증가하여 색택이 나빠지는 것으로, 낮으면 색택이 좋아지는 것으로 판단하였다. 각 항목들이 실험에 관여하는 적합도를 알아본 결과, 대부분의 항목들의 실험 적합도가 0.01 이상으로 나타났고, 처리온도와 시간의 교차항, 주정 처리량과 처리시간의 교차항은 0.05로 각 조건들의 실험에 대한 관여도가 높은 것으로 나타났으며, 2차 회귀방정식의 적합도 결정계수인 R²값은 0.9803으로 본 실험이 만족할만한 디자인으로 설계

Table 1. Experimental ranges and values of independent variables in a central composite design of ethanol treatment for color improvement of dried large anchovy

Independent variables	Symbol	Ranges and levels				
		-1.4	-1	0	1	1.4
Ethanol volumes (v/m)	X ₁	2.8	4.0	7.0	10.0	11.2
Treatment time (hr)	X ₂	3.8	5.0	8.0	11.0	12.2
Treatment temperature (°C)	X ₃	22	30	50	70	78

Table 2. Responses of the dependent variable on ethanol treatment to improve the color of the dried large anchovy

Run No.	Independent variables			Dependent variable
	Temperature	Ethanol volumes	Time	ΔE
1	-1	-1	-1	47.34
2	-1	-1	1	46.01
3	-1	1	-1	50.39
4	-1	1	1	51.65
5	1	-1	-1	47.26
6	1	-1	1	46.37
7	1	1	-1	50.06
8	1	1	1	53.13
9	0	0	0	40.62
10	0	0	0	40.76
11	0	0	0	40.74
12	0	0	0	40.82
13	-1.4	0	0	47.89
14	1.4	0	0	47.73
15	0	-1.4	0	46.46
16	0	1.4	0	52.53
17	0	0	-1.4	42.27
18	0	0	1.4	40.86

Table 3. Effect of independent variables by multiple linear regression for ethanol treatment to improve the color of the dried large anchovy

Factors	Coefficients	Factors	Coefficients
Constant	74.7207**	X_3^2	0.1066
X_1	-1.1832**	X_1X_2	0.0018**
X_2	-0.6968**	X_1X_3	0.0136*
X_3	-1.5294**	X_2X_3	-0.0882*
X_1^2	0.0117**	R^2	0.9803
X_2^2	0.1198**	probability	$p < 0.0001$

* $p > 0.05$, ** $p > 0.01$.

되었다는 것을 알 수 있었다(Table 3). 따라서 실험을 통해 알아본 주정 처리의 최적 조건은 자건 대멸에 주정을 7배정도 첨가하여 50°C에서 9시간동안 처리하는 것으로 나타났다. 또, 세 가지 독립변수 중 하나의 독립변수를 최적조건에 고정된 후 나머지 두 독립변수간의 관계를 알아보기 위하여

Table 3의 결과를 통해 다음과 같은 2차 회귀방정식을 얻었고,

$$\Delta E = 74.7207 - 1.1832X_1 - 0.6968X_2 - 1.5294X_3 + 0.0117X_1^2 + 0.1198X_2^2 - 0.1066X_3^2 + 0.0018X_1X_2 + 0.0136X_1X_3 - 0.0882X_2X_3$$

자건대멸에 주정을 처리할 때 영향을 미치는 두 독립변수 상호간의 상관관계를 알아보기 위하여 나머지 하나의 변수를 최적조건에 둔 상태로 두 독립변수간의 3차원 그래프를 Maple software를 사용하여 나타내었다(Fig. 1).

처리온도와 처리량간의 반응표면(Fig. 1(A))에서는 주정 처리량에 비해 처리온도의 변화에 따른 색도의 변화가 더욱 큰 것으로 나타났고, 가장 낮은 색도를 나타낸 조건은 6~8 배의 처리량과 50°C의 처리온도였다. 특히 50°C이하의 경우 50°C까지 색도가 낮아지는 경향을 보였는데, 이것은 멸치분말의 지용성 색소가 유기용매인 주정에 의해 제거되기 때문인 것으로 사료된다. 반면 50°C 이상의 온도에서는 색도가 증가하는 것으로 나타났는데 이러한 결과는 온도가 증가하면서 시료에 함유되어 있는 유리당과 유리아미노산에 의한 비효소적 갈변반응인 Maillard 반응으로 인해 생성되어지는 색소에 의해 갈변이 일어나기 때문인 것으로 사료된다. 처리온도와 처리시간의 그래프(Fig. 1(B))에서도 처리온도의 변화가 처리시간에 비해 색도에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다, 50°C에서 7~8시간 처리했을 때 가장 낮은 색도를 나타내었다. 처리시간의 경우, 낮은 온도에서는 큰 영향이 없었으나, 50°C이상의 온도에서는 6~7시간 이후부터 색도가 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. 처리량과 처리시간의 경우(Fig. 1(C)), 색도가 처리량과 처리시간에 대해 비례하는 경향을 나타내었으나, 색도의 변화량을 Fig. 1(A), (B)와 비교해보면, (A), (B)는 최저색도와 최고색도가 대략 15~20 정도의 변화량을 보인 반면 (C)의 경우에는 6~7정도의 변화량으로 앞선 결과에 비해 색도의 변화량이 매우 적은 것으로 나타났다.

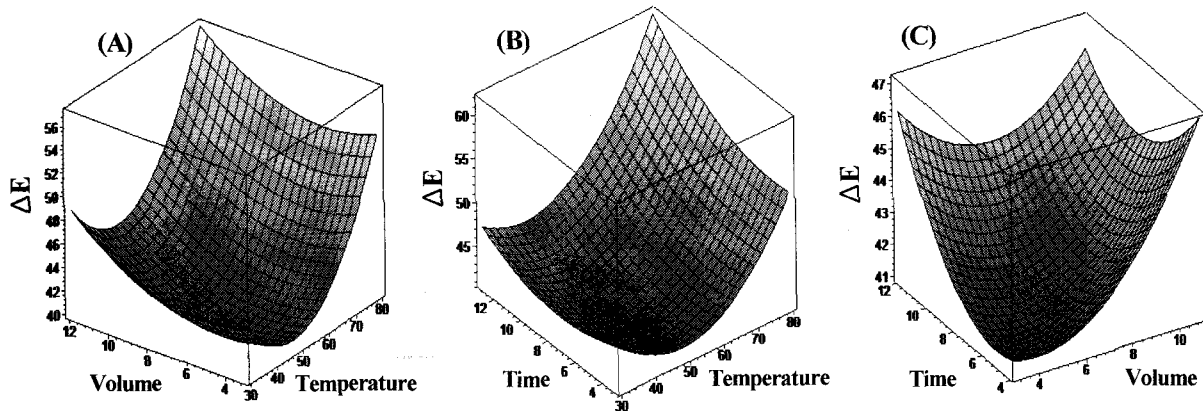


Fig. 1. Response surface of ΔE on the variables of temperature and ethanol volumes (A), temperature and time (B) and ethanol volumes and time (C) to determine the optimum condition for ethanol treatment of the dried large anchovy.

에탄올의 어취제거 효과

최적화를 통해 알아본 대멸에 대한 주정 처리 최적조건에서 처리량, 온도 그리고 시간의 변화에 따른 TMA와 지방의 감소율의 변화에 대해 알아본 결과(Fig. 2), 처리량의 경우 3배부터 13배까지 처리량을 증가시켜 처리한 결과 9배 처리구에서 81%정도의 감소율을 보여 적은 양의 처리구에 비해 많은 감소율을 보였고 그 이후부터는 변화가 없는 것으로 나타났다. 지방의 경우 가장 많은 13배 처리한 실험구에서 83%정도의 TMA 감소율을 보였으나(Fig. 2(A)) 지방과 TMA의 감소율 모두 유의차 검증을 통해 알아본 결과 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). 처리온도를 20~80°C까지 변화시켜 실험을 수행한 결과 50°C까지 제거율이 급격히 증가하는 경향을 보이다가 그 이상의 온도에서는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). TMA는 낮은 온도에 비해 50°C에서 TMA 제거율이 급격히 증가하는 경향을 보였고, 그 이상의 온도에서는 50°C까지의 증가율에 비해 다소 낮으나, 완만한 증가율을 보였다(Fig. 2(B)). 시간의 변화에 따른 지방과 TMA의 감소율은 Fig. 2(C)와 같이 7시간까지 75%정도의 지방이 감소되었고, 그 이후에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). TMA 감소율은 5시간까지 높은 증가량을 보였는데, 이때 TMA 감소율은

77%정도였으며, 그 이후는 역시 유의성이 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). 최적조건하에서 각 조건들의 변화에 따른 지방과 TMA 제거율로 살펴본 어취제거 효과는 색도를 이용하여 설정한 대멸 분말의 선택 개선 최적조건과 유사한 결과를 얻을 수 있었다.

유기산의 어취제거 효과

유기산의 종류에 따라 TMA 감소율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실온에서 1.0%의 유기산으로 1시간동안 처리하여 TMA의 감소율을 알아본 결과, citric acid는 70.3%, malic acid는 40.1%, lactic acid는 38.7%, 그리고 acetic acid는 22.9%로 나타나 citric acid가 가장 효과가 큰 것으로 나타났다(Fig. 3). 이러한 결과는 강산일수록 강한 proton donor의 역할을 하여 불휘발성염을 안정화시키는 능력이 크기 때문이다(23).

유기산 중 어취제거 효과가 가장 큰 citric acid의 최적조건을 검토하기 위하여 citric acid의 처리온도, 농도를 변화시키면서 멸치분말에 1시간동안 처리하여 실험을 수행한 결과는 Fig. 4와 같다. 각 조건의 변화에 따른 TMA 변화를 살펴본 결과, 처리온도와 시간의 경우 유의적인 차이를 보이지 않았으나($p>0.05$), 첨가농도의 경우에는 0.6%까지는 50% 미만의 TMA 감소율을 보였고 0.8~1.0%로 처리한 경우에는

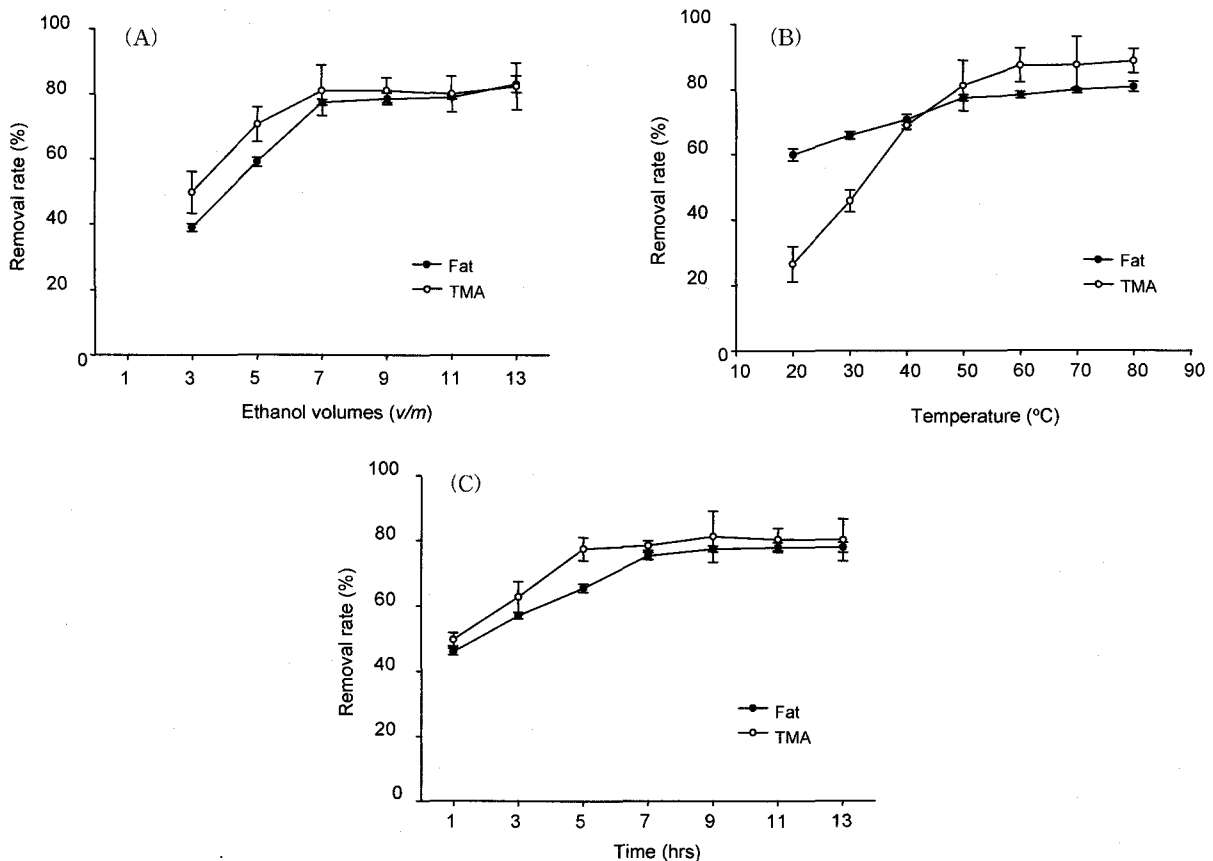


Fig. 2. The effect of ethanol treatment on the removal rate of TMA and fat in the dried large anchovy. (A): ethanol volume, (B): temperature, (C): time.

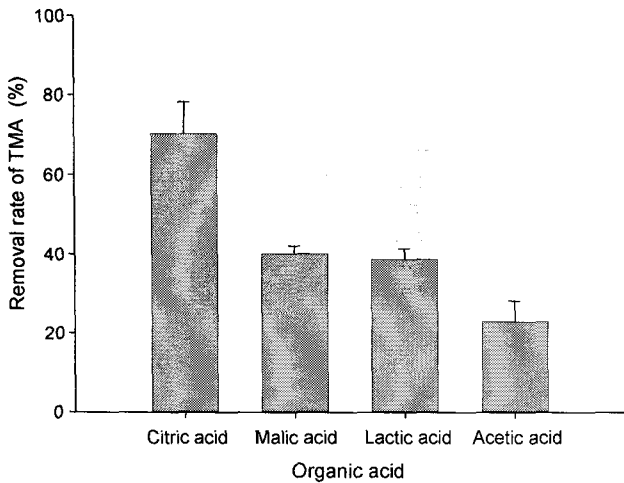


Fig. 3. Change in the removal rate of TMA during treatment with various organic acids at room temperature for 1 hr. Concentration of each organic acid was adjusted to 1%.

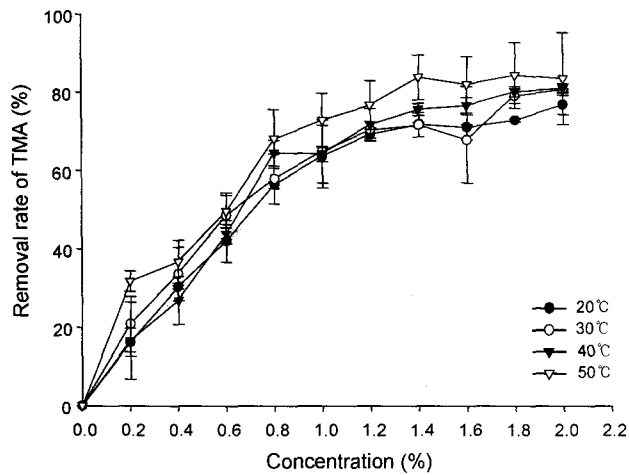


Fig. 4. The effect of treatment temperature and ratio of citric acid on the removal rate of TMA in the dried large anchovy during citric acid treatment for 30 mins.

60% 이상의 감소율을 보였다. 1.4% 이상의 citric acid를 처리하였을 때 80% TMA의 감소율을 나타내었다.

각 처리구별 최적 조건에서 TMA 제거율을 비교한 결과는 Fig. 5와 같이 나타났다. 주정과 citric acid 병행처리구의 TMA 제거율은 91.7%로 주정 처리구의 81.1%에 비해 약 13%, citric acid 처리구의 70.3%에 비해 약 30% 높은 TMA 제거 효과를 보였다.

In vitro 칼슘 흡수율

자건대멸분말의 칼슘 흡수율은 *in vitro*로 실험을 수행하였으며, 실험구는 무처리구, 주정 처리구, citric acid 처리구와 병행처리구로 하여 결과를 Table 4와 같이 나타내었다. 각 처리구들의 칼슘함량은 각각 건조 중량으로 1.8, 2.0, 1.9, 2.0%(m/m)로 에탄올과 citric acid를 처리하면서 지방을 비롯한 성분들이 제거되면서 무기질인 칼슘의 함량이 증가하기 때문에 처리구들의 칼슘함량이 높은 것으로 나타났다.

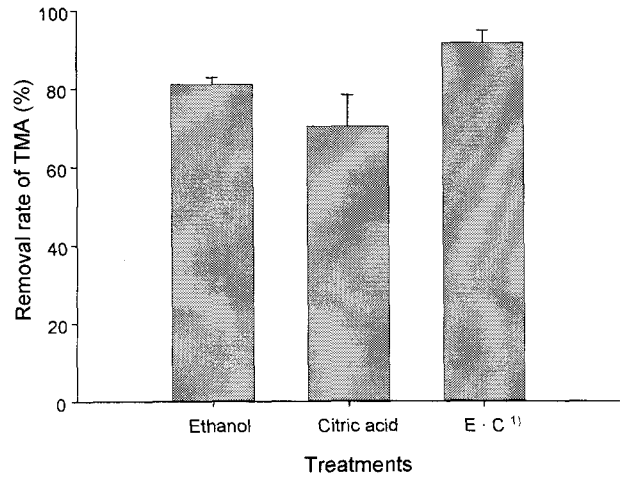


Fig. 5. Comparison of the removal rate of TMA in each prepared treatment group at optimum condition. ¹⁾E · C: combination of ethanol and citric acid treatment.

Table 4. Changes in calcium contents and *in vitro* absorption rate of calcium of dried anchovy as a function of treatments (%)

Treatments	Contents	Absorption rate
Control	1.8	2.9
Ethanol	2.0	8.3
Citric acid	1.9	7.6
Ethanol and citric acid	2.0	12.3

흡수율은 무처리구가 2.9%로 가장 낮은 값을 나타내었고, 병행처리구가 12.3%로 가장 높은 흡수율을 보였다. 단독처리구는 citric acid 처리구가 8.3%, 주정처리구가 7.6%의 흡수율을 보여 citric acid가 주정에 비해 흡수율 촉진에 큰 효과가 있는 것으로 나타났다. Citric acid를 비롯한 유기산 이외에 산업적으로 많이 사용되고 있는 칼슘흡수 촉진물질에는 CPP(casein phosphopeptide)(24)와 vitamine D(25) 등이 보고되고 있다.

요 약

자건대멸분말의 선택 개선을 위한 주정 처리의 최적화를 ΔE값을 종속변수로 하여 반응표면분석법으로 알아본 결과, 멸치의 건조중량 대비 7배의 주정을 50°C에서 9시간동안 처리하는 것이 최적조건으로 설정되었고, 그 조건에서 제조되어진 자건대멸분말을 soxhlet법과 SPME와 GC로 지방과 TMA를 측정된 결과, 무처리구에 비해 각각 81.1, 77.4% 제거되었다. 자건대멸분말의 TMA에 유기산들을 1% 농도로 실온에서 20분간 처리한 결과, citric acid가 가장 효과가 높았다. 주정과 citric acid를 병행처리한 결과, 90%의 제거율을 보여 가장 좋은 효과를 나타내었다. *In vitro* 칼슘 흡수율에서는 병행처리구의 칼슘 흡수율이 12.3%로 무처리구 2.9%에 비해 흡수율이 많이 증가하는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산특정개발과제(MNF12004043-3-2-SB010)에 의해 수행되었으며, 이에 대해 감사드립니다.

문헌

1. The Fisheries Association of Korea. 1998. *Korean Fisheries Yearbook*. Dongyang Publishing Co., Seoul. p 354-363.
2. Lee EH, Kim SK, Cho GD. 1977. *Nutritional component and health in the fishery resources of the coastal and offshore waters in Korea*. Youil Publishing Co., Pusan. p 43-46.
3. Lee EH, Ahn CB, Oh KS, Lee TH, Cha YJ, Lee KW. 1986. Studies on the processing of low salt fermented sea foods: 9. Processing conditions of low salt fermented small shrimp and its flavor components. *J Korean Fish Soc* 19: 459-468.
4. Lee EH, Kim SK, Jeon JK, Cha YJ, Chung SH. 1981. The taste compounds in boiled-dried anchovy. *Bull Korean Fish Soc* 14: 194-200.
5. Lee EH, Park YH. 1971. Degradation of acid soluble nucleotides and their related compounds in seafoods during processing and storage. *Bull Korean Fish Soc* 4: 31-41.
6. Lee EH, Kim JS, Ahn CB, Park HY, Jee SK, Joo DS, Lee SW, Lim CW, Kim IH. 1989c. The effect of tait-F and bactokil on retarding lipid oxidation in boiled-dried anchovy. *J Korean Soc Food Nutr* 18: 181-188.
7. Lee EH, Cha YJ. 1985a. Studies on the processing of low salt fermented sea foods 5. Processing conditions of low salt fermented anchovy and yellow corvenia. *J Korean Fish Soc* 18: 206-213.
8. Jeong BY, Seo HJ, Moon SK, Pyeun JH. 1995a. Effect of deoxygenizer on the suppression of lipid deterioration of boiled and dried-anchovy, *Engraulis japonica*. 1. Changes in lipid class composition. *J Korean Fish Soc* 28: 770-778.
9. Han SB, Lee JH, Lee KH. 1973. Non-enzymatic browning reactions in dried anchovy when stored at different water activities. *J Korean Fish Soc* 6: 37-43.
10. Bullard FA, Collins J. 1980. An improved method to analyze trimethylamine in fish and interference of ammonia and dimethylamine. *Fish Bull* 78: 465-473.
11. Oh MC, Oh CK, Kim SH, Kim SH. 1997. Analysis of dimethylamine and trimethylamine in fishes by gas chromatography. *J Food Sci Nutr* 2: 197-201.
12. McGill AS, Hardy R, Gunstone FD. 1977. Further analysis of the volatile components of frozen cold stored cod and the influence of these on flavour. *J Sci Food Agric* 28: 200-205.
13. Box GEP. Evolutionary operation: A method for increasing industrial productivity. *Applied Statistic* 6: 3-23.
14. Box GEP, Hunter JS. 1957. Multifactor experimental designs for exploring response surfaces. *Annals of Mathematical Statistics* 28: 195-242.
15. Baek HH, Cadwallader KR. 1995. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. *J Food Sci* 60: 929-935.
16. Carballo J, Barreto G, Comenero FJ. 1995. Starch and egg white influence on properties of bologna sausage as related to fat content. *J Food Sci* 60: 673-677.
17. Penna A, Baruffaldi R, Oliveira MN. 1997. Optimization of yogurt production using demineralized whey. *J Food Sci* 62: 846-850.
18. Wu YF, Baek HH, Cadwallader KR. 2000. Development of a meatlike process flavoring from soybean-based enzyme-hydrolyzed vegetable protein (E-HVP). *J Food Sci* 65: 1220-1227.
19. Jang HJ, Kim MC, Jung EJ, Shin EC, Lee SH, Lee SJ, Kim SB, Lee YB. 2005. Optimization and flavor quality of enzymatic hydrolysate from dark muscle of skipjack. *J Food Sci Nutr* 10: 11-16.
20. Miller DD, Schricker BR, Rasmussen RR, Campen DV. 1981. An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr* 34: 2248-2256.
21. Shen LH, Luten J, Robberecht H, Bindels J, Deelstra H. 1994. Modification of an *in vitro* method for estimating the bioavailability of zinc and calcium from foods. *Z Lebensm Unters Forsch* 199: 144-445.
22. Chaiwanon P, Puwastien P, Nitithamyong A, Sirichakwal PP. 1999. Calcium fortification in soybean milk and *in vitro* bioavailability. *J Food Composition and Analysis* 13: 319-327.
23. Lee YE, Rhee HS. 1982. Effect of organic acids on suppression of fishy odor in salted clam pickle. *Korean J Food Sci Technol* 14: 6-10.
24. Lee YS, Naito H. 1982. Effect of lactose on calcium absorption enhanced by casein phosphopeptides in the rat small intestine. *Korean J Nutr* 15: 1-8.
25. Hong HO, Yu CH. 1994. The effect of Ca and vitamin D supplementation on bone metabolism in postmenopausal women. *Korean J Nutr* 27: 1025-1036.

(2005년 8월 19일 접수; 2005년 9월 13일 채택)