

효소분해에 의한 붉은 대게 자숙액의 품질 및 기능성 개선

강경태¹ · 허민수² · 김진수^{1*}

¹경상대학교 해양식품생명공학과/해양산업연구소

²경상대학교 식품과학과/해양산업연구소

Improvement on the Quality and Functionality of Red Tanner Crab Cooking Drip Using Commercial Enzymes

Kyung Tae Kang¹, Min Soo Heu² and Jin-Soo Kim^{1*}

¹Dept. of Seafood Bioscience and Technology/Institute of Marine Industry,
Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

²Dept. of Food Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University,
Tongyeong 650-160, Korea

Abstract

For the improvement on the quality and functionality of red tanner crab cooking drip, the preparation of hydrolysates from red crab cooking drip using commercial enzymes (Alcalase, Flavourzyme, Neutrase and Protamex) was attempted and its taste, nutritional and functional characteristics were also investigated. According to the results of heavy metal contents and proximate composition, red tanner crab cooking drip (RTCCD) could be used as a food resource. From the results of the trichloroacetic acid soluble index (TSI), angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibiting activity and antioxidative activity, RTCCD hydrolysates incubated with Alcalase for 2 hrs was superior to the other one-step hydrolysates. There were no differences in the ACE inhibiting activity and antioxidative activity between one-step hydrolysates, which was incubated with Alcalase for 2 hrs, and two-step hydrolysates sequentially incubated with Alcalase and other enzymes. Alcalase-treated hydrolysates was similar in proximate composition and Hunter color value, while high in free amino acid content compared with crab cooking drip. Total amino acid content of Alcalase-treated hydrolysates was 11.9 g/100 mL and the major amino acids were glutamic acid (10.2%), proline (10.1%) and glycine (10.7%).

Key words: red tanner crab, crab by-products, crab cooking juice, cooking juice

서 론

현재 붉은 대게(*Chionoecetes japonicus*)는 동해안 구룡포 연안의 수심 200~2,000 m 심해에 분포하고, 대체로 심층으로 갈수록 분포 밀도가 높다(1). 이와 같은 붉은 대게는 우리나라의 대표적인 친환경 수산물로 1998년 이래 현재까지 연간 19,969 M/T 내외로 생산되고 있다(2). 붉은 대게는 친환경 수산물일 뿐만 아니라 갑각이 연하여 육질의 분리가 용이하면서 특유의 게맛을 가져 예로부터 즐겨 식용한 대표적인 소비자 선호 수산물 중의 하나이다. 이러한 붉은 대게의 소비 패턴은 전처리로 증자를 하고 채육을 한 다음 저장성 부여를 위하여 냉동처리를 하거나 통조림으로 가공하여 소비자에게 시판되고 있다. 따라서 붉은 대게의 이용을 위하여는 반드시 자숙처리가 동반되어야 하고(3), 이로 인해 발생한 자숙액은 대부분이 식품소재와 같이 효율적으로 이용

되지 못하고 폐기되어 환경 오염의 근원이 되고 있다. 그러나 붉은 대게를 자숙처리하는 과정 중에 부산물로 얻어지는 자숙액에는 단백질, peptide 및 glutamic acid와 같은 유용 성분(4)이 다량 함유되어 있어 이를 효소 등으로 적절히 처리하는 경우 단백질 분해에 의한 건강 기능성 peptide와 맛 강화 아미노산의 생성 등으로 유용한 식품소재로 활용 가능 하리라 판단된다.

하지만, 붉은 대게에 관한 연구로는 Hayashi 등(5)의 자숙 계살에 함유되어 있는 엑스분 중의 정미성분에 대한 관능적 분석, Cha와 Baek(6)의 붉은 대게 자숙농축액 중의 향미성분인 alkylypyrazines의 정량적 분석, Chang 등(7)의 게 가공 폐기물인 게껍질을 이용한 식품보존료의 개발 및 Laurer 등(8) 및 Krzeczowski와 Stone(9)의 붉은 대게 근육의 식품 성분 특성 등이 있을 뿐이고, 붉은 대게 자숙액을 상업적 효소로 가수분해한 다음 맛의 개선은 물론이고 건강 기능성

*Corresponding author. E-mail: jinsukim@gachuk.gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-640-3118, Fax: 82-55-640-3111

까지 고려하여 천연 조미소스로 이용하고자 시도한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 붉은 대게 가공부산물로 이용도가 낮은 자숙액을 식품소재와 같이 효율적으로 이용하고자 효소 가수분해물의 제조를 시도하였고, 아올러 이의 맛, 영양 및 건강 기능에 대한 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

붉은 대게(*Chionoectes japonicus*) 자숙액은 2006년 5월에 경북 울진군 소재 대정수산(주)으로부터 구입하여 감압 여과한 후 동결고(-25°C)에 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

붉은 대게 자숙액의 가수분해물을 제조하기 위하여 사용한 Alcalase 2.4 L FG(이하 Alcalase라 칭함, 최적 온도: 55~70°C, 최적 pH: 6.5~8.5), Flavourzyme 500 MG(이하 Flavourzyme이라 칭함, 최적 온도: 50°C, 최적 pH: 7.0), Neutrase 0.8 L(이하 Neutrase라 칭함, 최적 온도: 45~55°C, 최적 pH: 6.0) 및 Protamax 1.5 MG(이하 Protamex라 칭함, 최적 온도: 40°C, 최적 pH: 6.0~7.0)는 Novo 사(Novo Nordisk, Bagsvared, Denmark)에서 구입하여 사용하였다.

가수분해물의 제조 및 가수분해도

붉은 대게 자숙액을 베이스로 한 효소 가수분해물의 제조 공정은 다음과 같다. 붉은 대게 자숙액을 단백질 함량에 1%가 되게 Alcalase, Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex를 각각 첨가한 후 이들 효소의 최적조건에서 0~6시간 동안 가수분해하여 1단 가수분해물을 제조하였다. 2단 가수분해물은 1단 가수분해물에 대하여 1단 가수분해물의 제조시 최적 효소로 선정된 효소를 제외한 나머지 효소(Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex)에 대하여 역시 단백질 함량이 1%되게 첨가한 다음 첨가 효소의 최적조건에서 2시간 동안 가수분해하여 제조하였다.

가수분해도는 자숙액 및 가수분해물에 동량의 20%(w/v) trichloroacetic acid(TCA)를 가하고, 제단백 및 원심분리(1,000×g, 20 min)한 다음 상층액의 일정량을 AOAC(10)법에 따라 semimicro Kjeldahl법으로 정량하여 측정하였으며, 계산은 총 질소에 대한 10% TCA 가용성 질소의 상대비율(%)로 하였다.

일반성분, 염도, pH, 휘발성염기질소 및 brix

일반성분은 AOAC(10)법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semimicro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법 및 회분은 건식회화법으로 측정하였다.

염도와 pH는 자숙액 그 자체를 시료로 하여, 염도는 염도계(model 460C, Istek, Korea)로, pH는 pH meter(model 691, Metrohm, Swiss)로 측정하였고, 휘발성염기질소는 Conway unit를 사용하는 미량확산법(11)으로 측정하였다. Brix는 붉은 대게 자숙액의 농도를 살펴보기 위하여 hand-held re-

fractometers(2E, Atago, Japan)로 측정하였다.

중금속 및 무기질

수은을 제외한 중금속(Pb, Cd 및 Cr) 및 무기질(K, Mg, Ca, P 및 Fe)은 Tsutagawa 등(12)의 방법으로 질산을 이용하여 유기질을 습식분해한 후 inductively coupled plasma spectrophotometer(ICP, Atomscan 25, TJA)로 분석하였고, 수은은 시료를 동결건조한 다음 이를 수은 자동분석기(model SP-3A, Nippon Instrument Co., Tokyo, Japan)를 이용한 gold amalgamation method(13)로 분석하였다.

Angiotensin I converting enzyme(ACE)의 저해능

ACE 저해능은 Horiuchi 등(14)의 방법에 따라 정제 ACE(60 mU/mL)를 이용해 Zorbax SB C₈ column(Agilent Technologies Co., 4.6×150 mm)을 장착한 역상 HPLC(L-2400, Hitachi Co., Japan)로 분석하였다.

항산화능 및 radical 소거능

항산화능은 측정의 용이성과 재현성을 고려하여 Budincevis와 Vrbaski(15)의 방법에 따라 Rancimat test로 측정하였다. 항산화능의 측정을 위하여 Rancimat(743 Rancimat, Metrohm Ltd., CH-9101 Herisau, Switzerland)의 reaction vessel에 대두유(동방유량(주), 한국) 2.5 g과 자숙액 원액 및 가수분해물 0.5 g 및 Tween-80 0.2 g을 각각 취한 다음 120°C로 조절된 aluminum heating block에서 20 L/hr의 여과된 공기를 주입하여 산화시켰다. 항산화능은 휘발성 산화 생성물을 60 mL의 증류수가 들어 있는 absorption vessel에 이향시켜 전기전도도의 변화에 따라 유도기간을 자동적으로 산출시켜 protection factor(PF, 시료 첨가구의 유도기 / 시료 무첨가구의 유도기)로 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거능은 Rosen과 Rauckman(16)의 방법으로, alkyl radical 소거능은 Hiramoto 등(17)의 방법으로, 그리고 DPPH radical 소거능은 Nanjo 등(18)의 방법으로 각각 측정하였다. Radical의 소거능 측정을 위하여 ependorf tube(1.7 mL)에 hydroxy radical 소거능의 경우 자숙액 원액 및 가수분해물 20 µL, 0.3 M DMPO(5,5-dimethylpyrroline N-oxide) 20 µL, 인산완충액(pH 7.0)을 용매로 하는 10 mM H₂O₂ 20 µL, 10 mM FeSO₄ 20 µL를, alkyl radical 소거능의 경우 자숙액 원액 및 가수분해물 20 µL, phosphate buffer solution(PBS; pH 7.4) 20 µL, 40 mM AAPH(2,2-azobis-2-amidinopropanehydrochloride) 20 µL를, 그리고 DPPH radical의 소거능 측정을 위하여 ependorf tube(1.7 mL)에 자숙액 원액 및 가수분해물 30 µL, 60 µM DPPH 용액을 각각 넣고 반응(hydroxy radical 소거능 및 DPPH radical 소거능의 경우 각각 실온에서 2.5분, alkyl radical 소거능의 경우 37°C에서 30분)시켜 반응액을 조제하였다. 각 radical에 대한 소거능은 이들 반응액을 capillary tube에 옮긴 다음 ESR spectrometer(JES-PX 2300, JOEL, Japan)로 각각 분석하였다.

색도

색도는 직시색차계(ZE 2000, Nippon Denshoku Industries Co., Japan)를 이용하여 측정된 자숙액 및 이의 가수분해물에 대한 Hunter L, a, b 및 ΔE 값으로 하였다. 이 때 표준 백판은 L값이 91.6, a값이 0.28 및 b값이 2.69이었다.

총 아미노산

총 아미노산은 적정량의 시료(2 mL)에 동량의 12 N HCl 2 mL를 가하여 가수분해(110°C, 24시간)한 후 glass filter로 여과 및 감압건조한 다음 구연산나트륨 완충액(pH 2.2)으로 정용(25 mL)하여 시료를 조제하였다. 이어서 총 아미노산의 분석은 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia Biotech., England)로 실시하였다.

엑스분 질소, 유리아미노산 및 taste value

엑스분 질소 및 유리아미노산 분석을 위한 시료는 일정량(약 10 mL)의 원료에 20% trichloroacetic acid(TCA) 30 mL를 가하여 균질화(10분)하고 정용(100 mL)한 것을 원심분리(3,000 rpm, 10분)하였다. 이어서 상층액 중 80 mL를 분액깔때기에 취하여 동량의 ether를 사용하여 TCA 제거공정을 4회 반복하였고, 다시 이를 농축 및 lithium citrate buffer(pH 2.2)로 정용(25 mL)하여 제조하였다.

엑스분 질소 함량은 semimicro Kjeldahl법으로 측정하였고, 유리아미노산의 분석은 전처리 시료의 일정량을 사용하여 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, Pharmacia Biotech., England)로 실시하였다.

Taste value는 Cha 등(19,20)과 같이 유리아미노산 함량을 Kato 등(21)이 제시한 유리아미노산의 맛의 역치로 나누어 얻어진 값으로 나타내었다.

통계처리

실험에서 얻어진 데이터의 표준편차, 유의성 검정(5% 유의수준)은 SPSS 통계 패키지에 의한 ANOVA test를 이용하여 분산분석한 후 Duncan의 다중위검정을 실시하였다(22).

결과 및 고찰

붉은 대게 자숙액의 식품학적 특성

붉은 대게 자숙액의 식품학적 특성(일반성분, 중금속 함량, 휘발성염기질소 함량, 염도, pH 및 brix)은 Table 1과 같다. 붉은 대게 자숙액의 일반성분은 수분이 75.9%, 조단백질이 12.2%, 조지방이 0.4% 및 조회분이 10.7%이었다. 이와 같이 붉은 대게 자숙액에 조회분 함량이 많은 것은 붉은 대게에 함유되어 있던 해수의 영향이라 판단되었다. 식품소재로서 안전성을 검토하기 위한 중금속 함량은 수은의 경우 검출(0.007 mg/kg)되었으며, 납, 카드뮴 및 크롬의 경우는 모두 검출되지 않았다. 한편, 우리나라 수산물 검사 법규(13)에서는 수은 및 납의 경우 각각 0.5 ppm 이하 및 2.0 ppm 이하로 규정하고 있고, 카드뮴의 경우 2.0 ppm 이하로 규정

Table 1. Food chemical properties of red tanner crab cooking drip

Component		Content
Proximate composition (g/100 mL)	Moisture	75.9±0.1 ¹⁾
	Crude protein	12.2±0.2 (47.7) ²⁾
	Crude lipid	0.4±0.1 (1.6)
	Crude ash	10.7±0.1 (41.8)
Heavy metal (mg/kg)	Hg	0.007±0.001
	Pb	ND ³⁾
	Cd	ND
	Cr	ND
VBN (mg/100 mL)		53.4±2.0
Salinity (%)		6.4±0.0
pH		6.8±0.0
Brix		30.0±0.0

¹⁾Values are the means±standard deviation of three determination.

²⁾Values in parentheses indicated percentage of dry basis.

³⁾ND: Not detected.

하고 있다. 휘발성염기질소 함량 및 pH의 경우 각각 54.3 mg/100 mL 및 6.8을 나타내었으며, 염도 및 brix의 경우는 각각 6.4% 및 30°이었다.

이와 같은 결과로 미루어 보아 붉은 대게 자숙액의 경우 식품소재로 재이용하여도 식품위생적인 측면에서 문제가 되지 않으리라 판단되었다.

붉은 대게 자숙액 유래 1단 가수분해물의 특성

효소의 종류(Alcalase, Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex) 및 가수분해 시간(0~6 시간)에 따른 붉은 대게 자숙액 유래 1단 가수분해물의 TCA soluble index(TSI)의 변화는 Fig. 1과 같다. 자숙액 유래 1단 가수분해물의 TSI는 Flavourzyme 가수분해물의 경우 가수분해 1시간까지, 나머지 효소 가수분해물의 경우 가수분해 2시간까지 증가하였고, 그 이상의 가수분해 시간에서는 차이가 인정되지 않았다. 효소의 종류에 관계없이 TSI는 2.0시간 반응시킨 가수

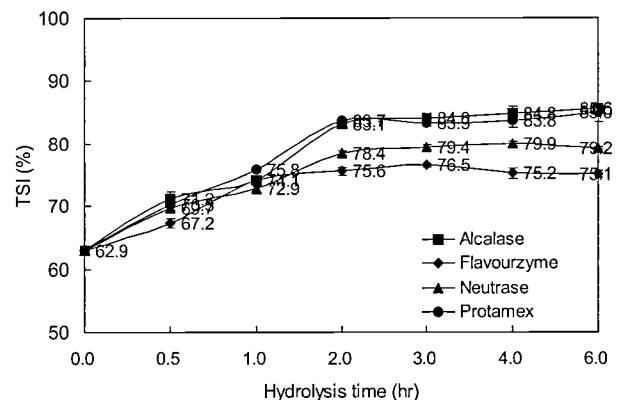


Fig. 1. TCA soluble index (TSI) of hydrolysates from red tanner crab cooking drip incubated with various enzymes for different times.

Table 2. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hydrolysates from red tanner crab cooking drip incubated with various enzymes for different times

Hydrolysis time (hr)	ACE inhibitory activity (%)			
	Alcalase	Flavourzyme	Neutrased	Protamex
0.0	25.4±0.9 ^{e1)}	25.4±0.9 ^c	25.4±0.9 ^c	25.4±0.9 ^c
0.5	56.9±0.5 ^d	47.9±0.7 ^c	61.5±0.5 ^c	51.9±0.6 ^d
1.0	60.5±0.5 ^c	46.0±0.7 ^d	59.3±0.5 ^e	56.9±0.5 ^c
2.0	66.0±0.4 ^a	48.8±0.6 ^b	62.7±0.5 ^b	57.0±0.5 ^c
3.0	66.1±0.4 ^a	50.5±0.6 ^a	60.1±0.5 ^d	60.7±0.5 ^b
4.0	63.1±0.5 ^b	48.9±0.6 ^b	54.6±0.6 ^f	63.0±0.5 ^a
6.0	63.4±0.5 ^b	48.4±0.7 ^b	64.4±0.4 ^a	60.6±0.6 ^b

The concentrations of sample for measuring ACE inhibitory activity were 2 mg/mL.

¹⁾Means with different letters within the same column are significantly different (p<0.05).

분해물의 경우 Protamex로 처리한 것이 83.7%로 가장 높았고, 다음으로 Alcalase(83.1%), Neutrased(78.4%) 등의 순이었으며, Flavourzyme로 처리한 것이 75.6%로 가장 낮았다. 이와 같이 효소의 종류에 따른 가수분해물의 TSI 차이는 효소의 기질 특이성 때문이라 판단되었다.

붉은 대게 자숙액에 대하여 효소의 종류 및 가수분해 시간에 따른 ACE 저해능의 변화는 Table 2와 같다. 붉은 대게 자숙액의 ACE 저해능은 효소의 종류에 관계없이 가수분해 2.0시간에서 Alcalase 가수분해물의 경우 66.0%, Flavourzyme 가수분해물의 경우 48.8%, Neutrased 가수분해물의 경우 62.7%, Protamex 가수분해물의 경우 57.0%로 최대치 또는 이와 유사한 값이어서 붉은 대게 자숙액 원액(25.4%)과 비교해 많이 개선되었다. 한편, 붉은 대게 자숙액 유래 1단 가수분해물의 ACE 저해능은 시간에 따른 의존성과 TSI에 따른 의존성은 인정되지 않았다. 이는 효소의 기질 특이성에 의해 생성된 peptide의 아미노산 구성에 차이가 있었기 때문이라 판단되었다(23).

붉은 대게 자숙액을 상업적 효소로 가수분해할 때 효소의 종류(Alcalase, Flavourzyme, Neutrased 및 Protamex) 및 가수분해 시간(0~6시간)에 따른 가수분해물의 항산화능 결과는 Table 3과 같다. 대조구의 유도기에 대한 가수분해물의 유도기의 상대비율로 나타낸 protection factor(PF)로 살펴본 가수분해물의 항산화능은 대조구의 경우 1.00이었고, 붉은 대게 자숙액의 경우 1.08로 대조구에 비하여 효과가 인정되지 않았으나, 4종의 상업적 효소로 가수분해하는 경우 효소의 종류 및 가수분해 시간에 관계없이 1.47~2.46의 범위로 연장되어 효과가 인정되었다. 동일 효소로 0.5~6.0시간 가수분해시킨 가수분해물의 PF로 살펴본 항산화능은 Alcalase 가수분해물의 경우 1.09~2.26의 범위이었고, 가수분해 3.0시간(2.29) 및 6.0시간(2.26)에서 최대를, Flavourzyme 가수분해물의 경우 1.55~2.19 범위이었고, 가수분해 6.0시간(2.19)에서 최대를, Neutrased 가수분해물의 경우 1.47~2.05 범위이었고, 가수분해 4.0시간(2.05) 및 6.0시간(2.03)에서 최대를, 그리고 Protamex 가수분해물의 경우 1.77~2.46

Table 3. Protection factor (PF) of hydrolysates from red tanner crab cooking drip incubated with various enzymes for different times

Hydrolysis time (hr)	Alcalase	Flavourzyme	Neutrased	Protamex
Control	1.00±0.00 ^{b1)}	1.00±0.00 ^e	1.00±0.00 ^c	1.00±0.00 ^d
0.0	1.08±0.12 ^b	1.08±0.12 ^e	1.08±0.12 ^c	1.08±0.12 ^d
0.5	1.96±0.12 ^a	1.56±0.23 ^d	1.47±0.17 ^b	1.77±0.14 ^c
1.0	2.13±0.25 ^a	1.66±0.10 ^{cd}	1.53±0.20 ^b	1.92±0.15 ^{bc}
2.0	2.18±0.30 ^a	1.89±0.14 ^{bc}	1.93±0.32 ^a	2.08±0.12 ^{abc}
3.0	2.29±0.27 ^a	2.06±0.17 ^{ab}	1.96±0.18 ^a	2.20±0.14 ^{ab}
4.0	2.18±0.18 ^a	2.08±0.11 ^{ab}	2.05±0.17 ^a	2.29±0.09 ^a
6.0	2.26±0.16 ^a	2.19±0.26 ^a	2.03±0.19 ^a	2.46±0.27 ^a

The concentrations of sample for measuring antioxidant activity were 2 mg/mL.

PF, which is calculated by IP (induction period) of sample/IP of control, 20 mM ascorbic acid were 2.06±0.25.

¹⁾Means with different letters within the same column are significantly different (p<0.05).

범위이었고, 가수분해 6.0시간(2.49)에서 최대이었다.

이와 같은 결과로 미루어 보아 TSI, ACE 저해능 및 항산화능을 동시에 고려하는 경우 Alcalase로 2.0 시간 가수분해시킨 가수분해물이 최적이라 판단되었다.

2단 가수분해물의 TSI, ACE 및 항산화 특성

붉은 대게 자숙액을 Alcalase로 2시간 반응시킨 1단 가수분해물을 기질로 하여 1단 가수분해물 제조시 최적으로 선정된 Alcalase를 제외한 나머지 3종의 상업적 효소(Flavourzyme, Neutrased 및 Protamex)로 반응시킨 붉은 대게 자숙액 유래 2단 가수분해물의 TSI는 Fig. 2와 같다. TSI는 Alcalase-Flavourzyme 처리 가수분해물이 84.5%로 가장 높았고, 다음으로 Alcalase-Neutrased 처리 가수분해물(83.7%) 및 Alcalase-Protamex 처리 가수분해물(79.9%)의 순이었으나, Alcalase-Flavourzyme 처리 가수분해물 및

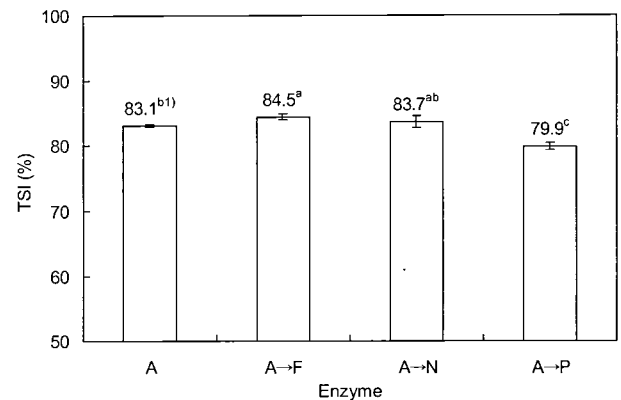


Fig. 2. TCA soluble index of (TSI) hydrolysates from red tanner crab cooking drip incubated by single treatment of Alcalase or sequential treatments of Alcalase followed by other enzymes.

P: Protamex, A: Alcalase, N: Neutrased, F: Flavourzyme.

¹⁾Means with different letters on the bars are significantly different (p<0.05).

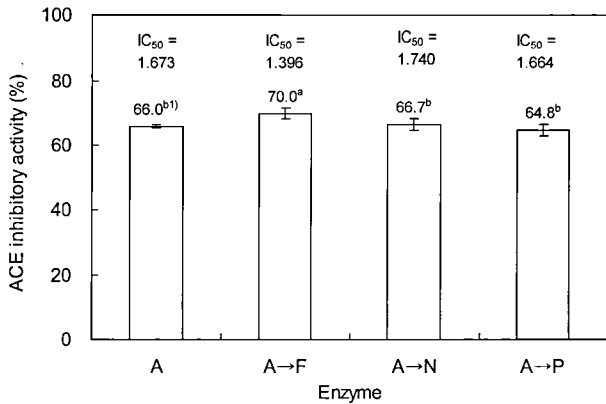


Fig. 3. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hydrolysates from red tanner crab cooking drip incubated by Alcalase or sequential treatments of Alcalase and other enzymes.

P: Protamex, A: Alcalase, N: Neutrase, F: Flavourzyme. The concentrations of sample for measuring ACE inhibitory activity were 2 mg/mL.

¹⁾Means with different letters on the bars are significantly different ($p < 0.05$).

Alcalase-Neutrase 처리 가수분해물 간에는 5% 유의수준에서 차이가 없었다.

1단 가수분해물을 기질로 하여 상업적 효소(Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex)로 2단 가수분해하여 얻은 가수분해물의 ACE 저해능은 Fig. 3과 같다. 효소 종류를 달리하여 제조한 2단 가수분해물의 ACE 저해능은 Alcalase-Flavourzyme 처리 가수분해물 및 Alcalase-Neutrase 처리 가수분해물의 경우 70.0%(IC₅₀=1.396 mg/mL) 및 66.7%(IC₅₀=1.740 mg/mL)로 약간 개선되었으며, Alcalase-Protamex 처리 가수분해물의 경우 오히려 감소한 64.8%(IC₅₀=1.664 mg/mL)이었다. 한편, Alcalase 처리 1단 가수분해물의 경우 IC₅₀은 1.673 mg/mL로 Alcalase-Flavourzyme 처리 가수분해물에 비해 높았으나, 기타 2단 가수분해물(Alcalase-Neutrase 및 Alcalase-Protamex)에 비하여 5% 유의수준에서 차이가 인정되지 않았다. Alcalase-Protamex 처리 가수분해물과 같이 2단 가수분해에 의해 ACE 저해능이 감소되는 것은 1단 가수분해에 의하여 생성된 ACE 저해능이 있는 peptide가 Protamex로 2단 가수분해에 의해 오히려 분해됨과 동시에 ACE 저해능이 있는 새로운 peptide의 생성이 적었거나 없었기 때문이라 판단되었다(24).

붉은 대게 자숙액 유래 Alcalase 가수분해물을 기질로 하여 상업적 효소(Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex)로 2단 가수분해하여 얻은 가수분해물의 항산화능은 Fig. 4와 같다. 상업적 효소로 가수분해 처리한 가수분해물 간 protection factor(대조구의 유도기와 시료 첨가구의 유도 시간에 상대비율)는 Alcalase 처리 1단 가수분해물이 2.18인데 반하여 2단 가수분해물의 경우 Alcalase-Flavourzyme 처리 가수분해물이 2.26, Alcalase-Neutrase 처리 가수분해물이

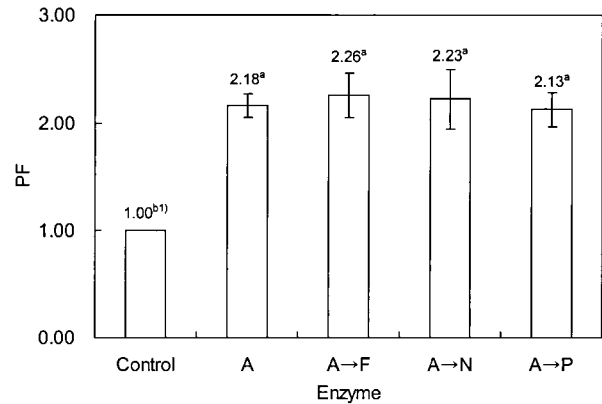


Fig. 4. Protection factor (PF) of hydrolysates from red tanner crab cooking drip incubated by single treatment of Alcalase or sequential treatments of Alcalase and other enzymes.

P: Protamex, A: Alcalase, N: Neutrase, F: Flavourzyme. The concentrations of sample for measuring antioxidant activity were 2 mg/mL.

¹⁾Means with different letters on the bars are significantly different ($p < 0.05$).

2.23, Alcalase-Protamex 처리 가수분해물이 2.13이어서 1단 가수분해물에 비하여 높거나 약간 낮았으나, 5% 유의수준에서 비교하는 경우 차이가 인정되지 않았다.

Radical 소거능

항산화성이 인정된 붉은 대게 자숙액 1단 가수분해물 및 2단 가수분해물의 어떤 radical의 소거에 의해 항산화능을 나타내는지 살펴보기 위하여 측정된 hydroxyl radical 소거능, alkyl radical 소거능 및 DPPH radical 소거능은 Fig. 5~7과 같다. 세포에 손상을 주는 가장 강력한 free radical로서, 피부 세포막 지질의 과산화반응을 일으키고, DNA 손상 및 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있는(25,26) hydroxyl radical 소거능은 1단 가수분해물의 경우 57.5%를 나타내며 반하여, 2단 가수분해물의 경우 53.5%를 나타내어 1단 가수분해물에 비하여 오히려 감소하였다. Hydrocarbon reaction의 초기 반응 생성물로 많이 형성되는(17) alkyl radical 소거능은 1단 가수분해물이 67.4%인데 반하여, 2단 가수분해물이 64.3%로 감소하였다. 분자내의 질소가 불안정한 상태가 되기 때문에 쉽게 전자를 받아들이는 성질을 가지고 있다고 알려져 있는(18,27) DPPH radical 소거능은 1단 가수분해물 및 2단 가수분해물이 각각 70.8% 및 71.0%로 두 가수분해물의 차이는 없었다. 이와 같은 결과는 1단 가수분해에 의하여 peptide들이 2단 가수분해에 의하여 새롭게 생성되기보다는 오히려 감소하는 양이 많았기 때문이었다. 한편, 붉은 대게 자숙액 유래 1단 및 2단 가수분해물의 radical 소거능은 시료의 종류에 관계없이 모두 DPPH radical 소거능이 약 71%로 가장 높았고, 다음으로 alkyl radical 소거능(1단 가수분해물 67.4%, 2단 가수분해물 64.3%)의 순이었으며, hydroxy radical 소거능이 각각 57.5% 및 53.5%로 가장 낮았다. 하지만,

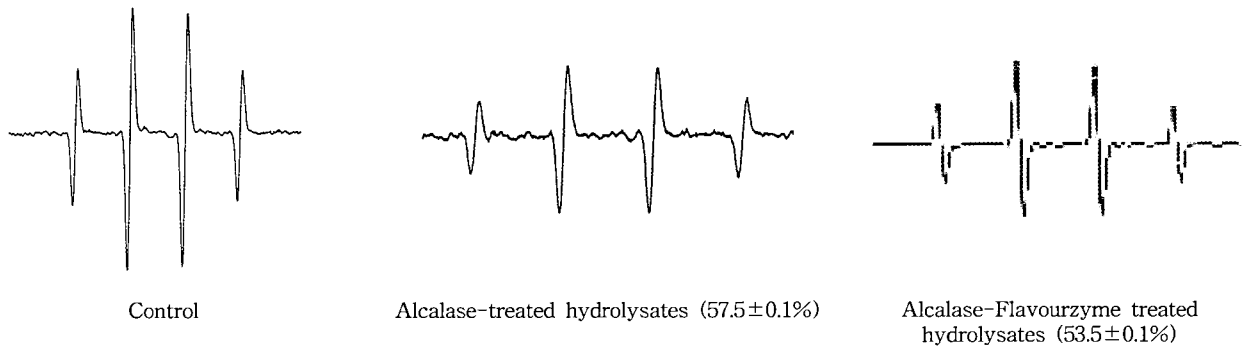


Fig. 5. Hydroxyl radical scavenging activity of hydrolysates from red tanner crab cooking drip by single treatment of Alcalase or sequential treatments of Alcalase-Flavourzyme.

The value in parenthesis indicates scavenging activity of hydrolysate/scavenging activity of the control. The concentrations of sample for measuring hydroxyl radical scavenging activity were 0.2 mg/mL.

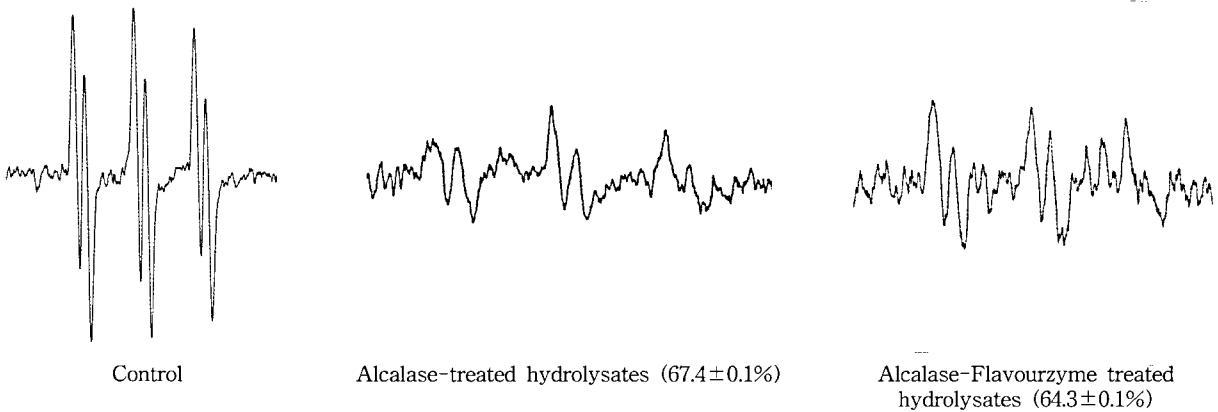


Fig. 6. Alkyl radical scavenging activity of hydrolysates from red crab tanner cooking drip by single treatment of Alcalase or sequential treatments of Alcalase-Flavourzyme.

The value in parenthesis indicates scavenging activity of hydrolysate/scavenging activity of the control. The concentrations of sample for measuring alkyl radical scavenging activity were 0.2 mg/mL.

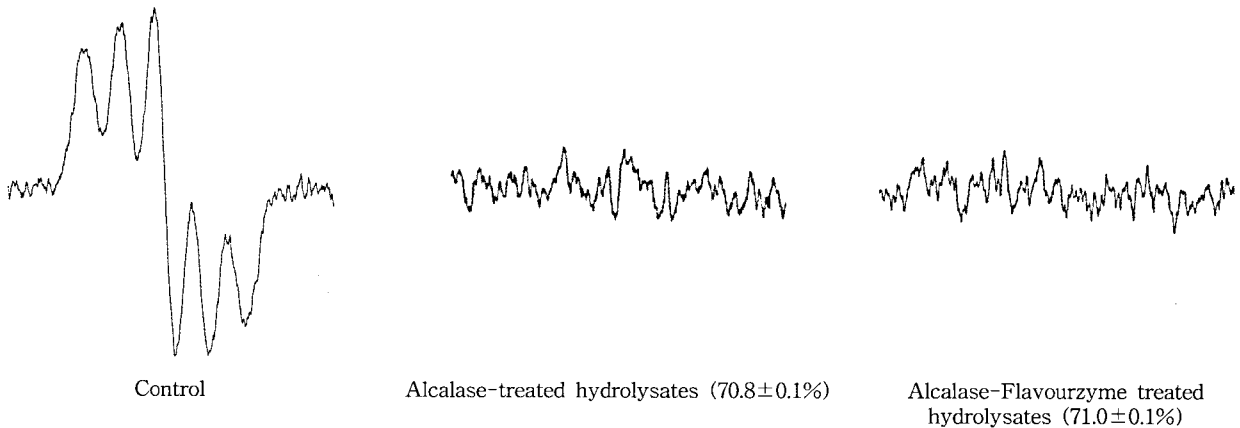


Fig. 7. DPPH radical scavenging activity of hydrolysates from red tanner crab cooking drip by single treatment of Alcalase or sequential treatments of Alcalase-Flavourzyme.

The value in parenthesis indicates scavenging activity of hydrolysate/scavenging activity of the control. The concentrations of sample for measuring DPPH radical scavenging activity were 0.2 mg/mL.

이들 자숙액 유래 1단 및 가수분해물의 DPPH radical 소거 능, alkyl radical 소거능 및 hydroxy radical 소거능이 모두

50% 이상으로 고루 높아 이들 3종 radical에 대한 소거능을 모두 기대할 수 있으리라 보아진다.

Table 4. Proximate composition, extractive-nitrogen (Ex-N) and Hunter color value of red tanner crab cooking drip (RTCCD) and its Alcalase-treated hydrolysates

Components	RTCCD	Hydrolysate from RTCCD
Moisture (g/100 mL)	75.9±0.1 ¹⁾	76.0±0.1
Crude protein (g/100 mL)	12.2±0.2 (50.6) ²⁾	12.0±0.1 (50.0)
Crude ash (g/100 mL)	10.7±0.1 (44.4)	10.4±0.4 (43.3)
Crude lipid (g/100 mL)	0.4±0.1 (1.7)	0.4±0.1 (1.7)
Ex-N (mg/100L)	1,608.5±10.8	1,832.6±18.2
L	6.0±0.3	5.4±0.1
Color value ^a	3.5±0.3	1.3±0.6
b	3.2±0.2	2.8±0.1
ΔE	91.0±0.3	91.5±0.1

¹⁾Values are the means±standard deviation of three determination.

²⁾Values in parentheses indicated percentage of dry basis.

이상의 붉은 대게 자숙액 유래 1단 및 2단 가수분해물의 ACE 저해능 및 항산화능의 결과로 미루어 보아 건강 기능성 개선을 위한 2단 효소 가수분해는 필요하지 않으리라 추정되었다.

효소 가수분해물의 일반성분, 맛 및 색조

붉은 대게 자숙액과 이를 기질로 하여 Alcalase로 2시간 반응시킨 1단 가수분해물의 일반성분, 엑스분 질소 및 색조는 Table 4와 같다. 붉은 대게 자숙액 유래 1단 가수분해물 (Alcalase)의 일반성분은 수분이 76.0%, 조단백질이 12.0%, 조회분이 10.4%, 조지방이 0.4%로 기질인 자숙액의 일반성분(수분 75.9%, 조단백질 12.2%, 조지방 0.4%, 조회분 10.7%)에 비하여 차이가 없었다.

붉은 대게 자숙액과 1단 가수분해물의 엑스분 질소 함량은 자숙액이 1,608.5 mg/100 mL이었는데 반하여 1단 가수분해물이 1,832.0 mg/100 mL로 증가하여 맛의 강도가 높으리라 추정되었다.

명도, 적색도, 황색도 및 색차는 붉은 대게 자숙액이 각각 6.0, 3.5, 3.2 및 91.0이었고, 이의 1단 가수분해물이 5.4, 1.3, 2.8 및 91.5이어서 Alcalase 가수분해에 따른 색조의 차이는 크게 인정되지 않았다.

맛 성분

붉은 대게 자숙액 및 이의 Alcalase 가수분해물의 유리아미노산 함량은 Table 5와 같다. 유리아미노산은 자숙액이 35종, 1단 가수분해물이 이보다 2종류가 많은 37종이 각각 동정되었다. 유리아미노산 총 함량은 자숙액이 2,061.5 mg/100 mL이었고, 이에 반하여 1단 가수분해물이 2,409.5 mg/100 mL(약 16%)로 자숙액에 비하여 높았다. 이와 같은 결과는 자숙액에 대하여 Alcalase 처리를 실시함으로써 인하여 단백질과 같은 일부의 고분자가 저분자화 하였기 때문이었다. 붉은 대게 자숙액 및 이의 1단 가수분해물의 주요 유리아미노산은 glutamic acid(자숙액, 23.9%; 1단 가수분해물,

Table 5. Free amino acid contents of red tanner crab cooking drip and its Alcalase-treated hydrolysates (mg/100 mL)

Amino acid	Red tanner crab cooking drip (RTCCD)	Alcalase-treated hydrolysate from RTCCD
Phosphoserine	14.1 (0.7)	21.4 (0.9)
Taurine	93.0 (4.5)	102.2 (4.2)
Phosphoethanolamine	13.6 (0.7)	18.2 (0.8)
Aspartic acid	13.3 (0.6)	15.3 (0.6)
Hydroxyproline	21.4 (1.0)	19.9 (0.8)
Threonine	25.7 (1.2)	29.9 (1.2)
Serine	10.8 (0.5)	13.1 (0.5)
Asparagine	20.0 (1.0)	22.8 (0.9)
Glutamic acid	493.1 (23.9)	591.7 (24.6)
Sarcosine	180.3 (8.7)	208.7 (8.7)
α-Aminoadipic acid	4.4 (0.2)	6.5 (0.3)
Proline	99.6 (4.8)	120.1 (5.0)
Glycine	141.2 (6.8)	156.0 (6.5)
Alanine	97.3 (4.7)	107.2 (4.4)
Citrulline	17.5 (0.8)	22.0 (0.9)
α-Aminoisobutyric acid	5.4 (0.3)	7.7 (0.3)
Valine	73.5 (3.6)	87.0 (3.6)
Cystine	4.3 (0.2)	4.3 (0.2)
Methionine	72.1 (3.5)	82.8 (3.4)
Cystathionine-1	0.0 (0.0)	15.0 (0.6)
Cystathionine-2	11.5 (0.6)	11.3 (0.5)
Isoleucine	71.6 (3.5)	80.7 (3.3)
Leucine	76.7 (3.7)	88.3 (3.7)
Tyrosine	30.8 (1.5)	46.9 (1.9)
Phenylalanine	91.1 (4.4)	104.3 (4.3)
β-Aminoisobutyric acid	10.7 (0.5)	11.4 (0.5)
Ethamin	9.2 (0.5)	7.2 (0.3)
Hydroxylysine	1.4 (0.1)	4.6 (0.2)
Ornithine	52.9 (2.6)	58.0 (2.4)
Lysine	98.6 (4.8)	109.1 (4.5)
Histidine	4.1 (0.2)	6.1 (0.3)
3-Methylhistidine	9.9 (0.5)	13.6 (0.6)
Arginine	192.4 (9.3)	215.1 (8.9)
Total	2,061.5 (100.0)	2,409.5 (100.0)

24.6%), arginine(자숙액, 9.3%; 1단 가수분해물, 8.9%), sarcosine(자숙액, 8.7%; 1단 가수분해물, 8.7%), glycine(자숙액, 6.8%; 1단 가수분해물, 6.5%) 및 proline(자숙액, 23.9%; 1단 가수분해물, 24.6%)의 순이었다. 한편, 콜레스테롤 중 LDL을 줄이고 HDL을 증가시켜 동맥경화와 고혈압을 억제시킨다고 알려져 있는 taurine(28,29)은 자숙액 및 Alcalase에 의한 가수분해물에서 모두 3.9~4.5% 범위이어서 함량적으로 의미 있었다.

유리아미노산의 함량에 대하여 Kato 등(21)이 제시한 아미노산의 맛에 대한 역치(taste threshold)로 환산한 자숙액 및 Alcalase 가수분해물의 taste value는 Table 6과 같다. Total taste value는 자숙액 및 Alcalase 가수분해물이 각각 117.2 및 139.6이었다. Taste value로 살펴 본 주요 맛성분은 자숙액 및 Alcalase 처리 가수분해물에 관계없이 glutamic acid(자숙액, 98.6; 1단 가수분해물, 118.3), aspartic acid(자숙액, 4.4; 1단 가수분해물, 5.1) 및 arginine(자숙액, 3.8; 1단 가수분해물, 4.3)이었다. 한편, Hayashi 등(5)은 개육 유리아

Table 6. Taste value of red tanner crab cooking drip (RTCCD) and its Alcalase-treated hydrolysates

Amino acid	Taste threshold (mg/100 mL) ¹⁾	RTCCD	Hydrolysate from RTCCD
Aspartic acid	3	4.4	5.1
Threonine	260	0.1	0.1
Serine	150	0.1	0.1
Glutamic acid	5	98.6	118.3
Proline	300	0.3	0.4
Glycine	130	1.1	1.2
Alanine	60	1.6	1.8
Cystine	-	-	-
Valine	140	0.5	0.6
Methionine	30	2.4	2.8
Isoleucine	90	0.8	0.9
Leucine	190	0.4	0.5
Tyrosine	-	-	-
Phenylalanine	90	1.0	1.2
Lysine	20	2.0	2.2
Histidine	50	0.1	0.1
Arginine	50	3.8	4.3
Total		117.2	139.6

¹⁾The data were quoted from Kato et al. (21).

미노산의 함량과 동일하게 제조한 합성 추출물에서 glutamic acid를 제거한 결과 감칠맛과 단맛이 크게 감소하였고, glycine, alanine, arginine 및 glutamic acid 등이 게맛에 중요한 역할을 한다고 하였다. 이와 같은 taste value의 결과로 미루어 보아 Alcalase 처리 가수분해물의 경우 감칠맛과 다소 신맛이 곁들여진 맛이라 추정되었다.

영양성분

붉은 대게 자숙액을 기질로 하여 Alcalase 처리한 가수분해물의 총 아미노산 함량 및 무기질 함량은 Table 7과 같다. Alcalase 처리 가수분해물의 아미노산은 모두 16종이 동정되었고, 총 함량은 11,859.6 mg/100 mL이었으며, 주요 아미노산으로는 glutamic acid(10.2%), proline(10.1%), glycine(10.7%) 및 arginine(10.0%) 등이었다. 한편, 인체 내에서 합성이 되지 않으나 인체의 단백질 합성에 반드시 필요하여 외부로부터 공급을 받아야 하는 8종의 필수아미노산 중 tryptophan을 제외한 나머지 아미노산의 조성비는 약 38%

이었으며, 성장기 어린이 및 회복기의 환자에게 필요한 arginine(30) 및 곡류 제한아미노산인 lysine(30)의 경우 각각 10.0% 및 7.1% 범위로 함유되어 있어, 이를 소재로 하여 천연 조미 소재와 같이 신제품 개발을 하면 곡류를 주식으로 하는 동양권 국가에서 이들 소재 가공품을 섭취하는 경우 영양적인 면에서 의미가 있었다.

붉은 대게 자숙액을 기질로 하여 Alcalase 처리한 가수분해물의 무기질 함량은 칼륨(1,015.8 mg/100 mL)이 가장 많았고, 다음으로 인(182.2 mg/100 mL), 마그네슘(114.8 mg/100 mL) 및 칼슘(53.2 mg/100 mL)의 순이었다. 한편, 20세 이상 한국인 성인 남성의 1일 섭취 권장량은 칼슘과 인이 모두 700 mg, 철이 12 mg으로 제시되어 있다(31). 이와 같은 보고로 미루어 보아 붉은 대게 1단 가수분해물 100 mL를 섭취하였을 때 20세 이상 한국인 성인 남성의 1일 권장량에 대하여 칼슘은 7.6%, 인은 26.0% 및 철은 5.0%를 섭취하는 효과가 있으리라 판단되었다.

요 약

붉은 대게 가공부산물로 이용도가 낮은 자숙액을 이용하여 효소 가수분해물의 제조를 시도하였고, 아울러 이의 맛, 영양 및 건강기능에 대한 특성을 조사하였다. 붉은 대게 자숙액은 일반성분 및 안전성면에서 식품가공소재로 이용하여도 아무런 문제가 없었다. 1단 가수분해물의 경우 TCA soluble index(TSI), ACE 저해능 및 항산화능을 고려하는 경우 Alcalase로 2.0시간 반응시켜 제조하는 것이 가장 적절하였다. 붉은 대게 자숙액 유래 Alcalase 1단 가수분해물을 기질로 하여 Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex로 각각 2시간씩 연속적으로 가수분해시킨 2단 가수분해물의 ACE 저해능 및 항산화능은 1단 가수분해물에 비하여 유사하거나 약간 우수하여 2단 가수분해의 필요성이 인정되지 않았다. 붉은 대게 자숙액에 비하여 이를 Alcalase 처리한 가수분해물의 경우 일반성분 및 색조는 차이가 없었으나, glutamic acid 및 aspartic acid와 같은 맛에 관여하는 유리아미노산의 경우 증가하였다. 붉은 대게 유래 Alcalase 처리 가수분해물

Table 7. Total amino acid and mineral contents of Alcalase-treated hydrolysates from red tanner crab cooking drip (mg/100 mL)

Amino acid	Content	Amino acid	Content	Mineral	Content
Aspartic acid	946.9 (8.0) ¹⁾	Methionine*	372.6 (3.1)	K	1,015.8±10.3
Threonine*	475.4 (4.0)	Isoleucine*	606.4 (5.1)	Ca	53.2±0.4
Serine	384.7 (3.2)	Leucine*	633.5 (5.3)	Mg	114.8±0.5
Glutamic acid	1210.7 (10.2)	Tyrosine	198.8 (1.7)	Fe	0.6±0.1
Proline	1200.1 (10.1)	Phenylalanine*	967.7 (8.2)	P	182.2±0.5
Glycine	1271.8 (10.7)	Histidine	319.1 (2.7)		
Alanine	679.9 (5.7)	Lysine*	844.3 (7.1)		
Cystine	0.0 (0.0)	Arginine	1,181.8 (10.0)		
Valine*	565.8 (4.8)	Total	11,859.6 (100.0)		

*Essential amino acid. ¹⁾The values in parentheses indicate the percentage of each amino acid content to total amino content.

의 아미노산 함량은 11,859.6 mg/100 mL이었고, 주요 아미노산으로는 glutamic acid(10.2%), proline(10.1%) 및 glycine (10.7%) 등이었다.

문헌

- Kim JS, Yeum DM, Kang HG, Kim IS, Kim CS, Lee TG, Heu MS. 2002. *Fundamentals and Applications for Canned Foods*. 2nd ed. Hyoil Publishing Co., Seoul. p 49-57.
- Ministry of Maritime Affairs and Fisheries. 2006. <http://fs.fips.go.kr/main.jsp>.
- Park YH, Kim SB, Chang DS. 1995. *Seafood Processing and Utilization*. Hyungsul Publish Co., Seoul. p 201-207, 317-320.
- Kim JS, Heu MS, Yeum DM. 2001. Component characteristics of canned oyster processing waste water as a food resource. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 299-396.
- Hayashi T, Yamaguchi K, Konosu S. 1981. Sensory analysis of taste-active components in the extract of boiled snow crab meat. *J Food Sci* 46: 479-483.
- Cha YJ, Baek HH. 1995. Quantitative analysis of alkylpyrazines in snow crab cooker effluents. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 454-458.
- Chang DS, Cho HR, Goo HY, Choe WK. 1989. A development of food preservative with the waste of crab processing. *Bull Korean Fish Soc* 22: 70-78.
- Lauer BH, Murray MC, Anderson WE, Guptill EB. 1974. Atlantic queen crab (*Chionoecetes opilio*), jonah crab (*Cancer borealis*), and red crab (*Geryon quinque-dens*). Proximate composition of crabmeat from edible tissues and concentration of some major minerals constituents in the ash. *J Food Sci* 39: 383-385.
- Krzeczowski RA, Stone FE. 1979. Amino acid, fatty acid and proximate composition of snow crab (*Chionoecetes bairdi*). *J Food Sci* 39: 386-388.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. p 69-74.
- Ministry of Social Welfare of Japan. 1960. Volatile basic nitrogen. In *Guide to Experiment of Sanitary Infection*. Kenpakusha, Tokyo, Japan. Vol III, p 30-32.
- Tsutagawa Y, Hosogai Y, Kawai H. 1994. Comparison of mineral and phosphorus contents of muscle and bone in the wild and cultured horse mackerel. *J Food Hyg Soc Japan* 34: 315-318.
- KDFA. 2006. *2006 Food Code of the Korean Food and Drug Administration*. Moon-young Publishing Co., Seoul. p 70-72, 162.
- Horiuchi M, Fujimura KI, Terashima T, Iso T. 1982. Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood tissue by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 233: 123-130.
- Budincevic M, Vrbaski Z. 1995. Antioxidant activity of *Oenothera biennis* L. *Fat Sci Technol* 97: 277-280.
- Rosen GM, Rauckman EJ. 1984. Spin trapping of superoxide and hydroxyl radicals. In *Methods in Enzymology*. Academic Press, Orlando, FL. Vol 105, p 189-209.
- Hiramoto K, Johkoh H, Sako KI, Kikugawa K. 1993. DNA breaking activity of the carbon-centered radical generated from 2,2-azobis(2 amidinopropane) hydrochloride (AAPH). *Free Radic Res Commun* 19: 323-332.
- Nanjo F, Goto K, Seto R, Susuki M, Sakai M, Hara Y. 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol Med* 21: 895-902.
- Cha YT, Kim H, Jang SM, Park JY. 1999. Identification of aroma-active compounds in Korean salt-fermented fishes by aroma extract dilution analysis. 1. Aroma-active compounds in salt-fermented anchovy on the market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 312-318.
- Cha YT, Kim H, Park JY. 1999. Identification of aroma-active compounds in Korean salt-fermented fishes by aroma extract dilution analysis. 2. Aroma-active compounds in salt-fermented shrimp on the market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 319-325.
- Kato H, Rhue MR, Nishimura T. 1989. Role of acids and peptides in food taste. In *Flavor Chemistry: Trends and Development*. American Chemical Society, Washington DC. p 158-174.
- Steel RGD, Torrie H. 1980. *Principle and Procedures of Statistics*. 1st ed. McGraw-Hill Kogakusha, Tokyo. p 187-221.
- Yeum DM, Roh SB, Lee TG, Kim SB, Park YH. 1993. Angiotensin-1 converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of food proteins. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 226-233.
- Kim SK, Byun HG, Park PJ, Shahidi F. 2001. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. *J Agric Food Chem* 49: 2992-2997.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Clarendon Press, Oxford. p 1-20.
- Cacchiuto MA, Trinh L, Lumpkin JA, Rao G. 1993. Hyperoxia induces DNA damage in mammalian cell. *Free Radic Biol Med* 14: 267-276.
- Tanaka M, Kuie CW, Nagashima Y, Taguchi T. 1988. Application of antioxidative maillard reaction products from histidine and glucose to sardine products. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1409-1414.
- Cho SY, Joo DS, Park SH, Kang HJ, Jeon JK. 2000. Change of taurine content in squid meat during squid processing and taurine content in the squid processing waste water. *J Korean Fish* 33: 51-54.
- Mochizuki H, Oda H, Yokogoshi H. 1998. Increasing effect of dietary taurine on the serum HDL-cholesterol concentration in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 62: 578-579.
- Kim JS, Kmi HS, Heu MS. 2006. *Modern Food Science*. Hyoil Publishing Co., Seoul. p 42-45.
- The Korean Nutrition Society. 2005. Dietary Reference Intakes for Koreans. Seoul. p 199-248.

(2007년 5월 7일 접수; 2007년 5월 25일 채택)