상업적 효소를 이용한 명태(*Theragra chalcogramma*) 두부 및 정형 다시마(*Laminaria japonica*) 부산물 유래 고압 추출물의 수율개선 및 이의 식품성분 특성

노윤이 · 박권현 · 이지선 · 김현정 · 김민지 · 김기현 · 김정균 · 허민수¹ · 김진수*

경상대학교 해양식품공학과/해양산업연구소, ¹경상대학교 식품영양학과

Improvement on Yield of Extracts from Byproducts of Alaska Pollock *Theragra chalcogramma* and Sea Tangle *Laminaria japonica* using Commercial Enzymes and Its Food Component Characterization

Yuni Noh, Kwon Hyun Park, Ji Sun Lee, Hyeon Jeong Kim, Min Ji Kim,
Ki Hyun Kim, Jeong Gyun Kim, Min Soo Heu¹ and Jin-Soo Kim*

Department of Seafood Science and Technology/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

¹Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

This study was conducted to improve the yield of extracts from Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and sea tangle *Laminaria japonica* byproducts using various commercial enzymes, such as Alcalase, Flavourzyme, Neutrase (NH), and Protamex. Among the enzymatic hydrolysates, the yield was highest in hydrolysate incubated with NH for 4 h. NH-treated hydrolysates (NHH) also improved functional properties, such as angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and 2,2-diphenyl-1-picryldrazyl (DPPH) radical scavenging activity, as compared to extracts from Alaska pollock head and sea tangle byproducts. Total free amino acid and taste values of NHH were 379.7 mg/100 mL and 24.03, respectively, after digestion for 4 h. These values are 2.2-fold and 1.9-fold higher compared with those of water soluble fractions extracted from Alaska pollock head and non-forming sea tangle, respectively. According to the taste value results, the major taste-active compounds among free amino acids of NHH were glutamic acid and aspartic acid. These results suggest that NHH can be used as an ingredient for natural seasoning preparation.

Key words : Alaska pollock, Alaska pollock byproduct, Natural seasoning, Sea tangle

서 론

명태는 라운드(round)상태 그대로 이용되기도 하나, 수리미(surimi), 북어, 황태, fillet 형태로 가공되어 다양하게 이용되고 있고(Kim et al., 2007), 이때 알, 내장, 껍질, frame 및 두부(頭部)등이 부산물로 다량 발생한다(Wendel, 1999; Park et al., 2007). 이 중 두부는 대부분이 폐기되고 있거나 일부가 단순 건조되어 유통되고 있다. 그러나 명태 두부는 예로부터 어두육미(魚頭肉尾)라는 이야기가 전하여져 오듯이 대체로 근육, 껍질

및 뼈 등으로 이루어져 있으며 명태 근육의 식품 성분과 유사하면서도 콜라겐과 무기질은 물론이고 엑스분도 풍부하여 우수한 천연풍미 소재 중의 하나이다.

우리나라에서 다시마는 생산량이 약 200천-300천 M/T로 매년 증가하고 있고, 각종 미네랄, 다양한 비타민류, 그리고 알긴산 등이 골고루 함유되어 있으면서 엑스분이 다량 함유되어 있어 식품학적으로 주요한 식품자원이다. 이로 인해 다시마는 각 가정에서 여러 가지 조미 소스의 추출 소재로 많이 이용하고 있어 업계에서는 이를 공급할 목적으로 정형하여 공급하는데, 이

Article history;

Received 4 May 2012; Revised 29 October 2012; Accepted 30 October 2012

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 772. 9146 Fax: +82. 55. 772. 9149

E-mail address: jinsukim@gnu.ac.kr

Kor J Fish Aquat Sci 46(1) 037-045, February 2013

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2013.0037>

pISSN:0374-8111, eISSN:2287-8815

© The Korean Society of Fishereis and Aquatic Science. All rights reserved

공정에서 비정형 부산물이 약 10% 가량 발생하고 있다. 그러나 이와 같은 비정형 다시마의 경우도 식품성분은 정형 다시마와 전혀 차이가 없어 형상을 갖추고 있지 않은 추출물 등과 같이 효율적으로 이용할 가치가 있는 자원이다.

한편, 식품가공산업에서 효소는 수율을 향상시키고 맛과 기능성을 개선시키기 위한 용도로 사용되고 있다. 이와 같은 용도로 효소를 식품가공산업에 적용한 연구로는 Kim et al. (2009)의 고압 효소분해 처리에 의한 멸치 가수분해물에 관한 연구, Lee et al. (1997)의 다시마와 효소처리 고등어육을 이용한 조미소재의 제조 조건 조사에 관한 연구, Oh et al. (2007)의 효소분해에 의한 참치 자숙액의 품질 및 기능성 개선에 대한 연구 등과 같이 아주 다양하게 존재하고 있다. 하지만 이들 연구 중에 고온 가압법을 이용하여 명태 두부와 다시마 부산물로부터 천연 풍미 소재의 수율과 건강 기능성의 개선 및 식품학적 성분 특성 등에 관한 연구는 찾아보기 어렵다.

본 연구에서는 명태 및 다시마 부산물의 효율적 이용에 관한 일련의 연구로 명태 두부 및 다시마 부산물 유래 고온가압 추출물에 상업적 효소를 적용시켜 수율과 건강 기능성 개선을 시도하였고, 아울러 이들 추출물의 식품학적 성분 특성에 대하여도 조사하였다.

재료 및 방법

재료

러시아산 명태(*Theragra chalcogramma*)두부와 완도산 비정형 다시마(*Laminaria japonica*)는 경상남도 거제시 소재 거제수협 수산물종합가공공장에서부터 학교급식 소재로 가공할 때 부산물로 발생하는 것을 2011년 1월에 제공받아 사용하였다. 즉, 제공받은 명태 두부는 동결된 채로, 그리고 비정형 다시마는 비닐 백에 넣어 실험실로 신속히 운반하였다. 이어서 명태 두부는 저온실(5℃ 부근)에서 해동하고 두 쪽으로 쪼개어 냉풍건조(18℃, 4일)시킨 후, 그리고 다시마 부산물은 비닐 백에 넣은 후 -25℃ 냉동고에 보관하여 두고 실험에 사용하였다. 이 때 원료로 사용한 명태 두부, 및 비정형 다시마의 일반성분 함량은 수분의 경우 각각 78.0% 및 13.5%이었고, 조단백질의 경우 각각 14.1% 및 7.9%이었으며, 조지방의 경우 각각 2.2% 및 1.0%, 회분의 경우 각각 5.5% 및 32.3%이었다.

명태 두부 및 다시마 부산물 유래 고온가압 추출물(이하 고온가압 추출물로 칭함)의 수율 및 기능성 개선을 위하여 사용한 효소 즉, Alcalase 2.4 L FG (최적 온도는 55-70℃이고, 최적 pH는 6.5-8.5: 이하 Alcalase로 칭함), Flavourzyme 500 MG (최적 온도는 50℃이고, 최적 pH는 5.0-7.0: 이하 Flavourzyme으로 칭함), Neutrase 0.8 L (최적 온도는 45-55℃이고, 최적 pH는 5.5-7.5: 이하 Neutrase로 칭함) 및 Protamex 1.5 MG (최적 온도는 40℃이고, 최적 pH는 6.0-7.0: 이하 Protamex로 칭함)는 Novo Co. (Novo Nordisk, Bagsvared, Denmark)에서

구입하여 사용하였다.

고온 가압 추출물과 이의 가수분해물의 제조 및 수율

고온 가압 추출물은 건조 명태 두부 중량에 대하여 18.18% (w/w)에 해당하는 다시마와 6.86배 (v/w)에 해당하는 가공용수를 가하고, 118℃로 조정된 autoclave (MAC-6100, Eyela, Japan)에서 5.48시간 동안 추출하여 제조하였으며, 이를 8,000 rpm에서 30분간 원심분리시켜 얻은 상층액을 추출액으로 하였다. 명태 두부 및 비정형 다시마 유래 가수분해물은 고온 가압 추출물을 마쇄한 다음 이의 단백질에 대하여 2% (w/w)에 해당하는 효소를 가하고, 일정시간(0, 0.5, 1, 2, 3, 4 및 6시간) 동안 효소의 최적 온도에서 반응시킨 다음, 이를 8,000 rpm에서 30분간 원심분리시켜 상층액에 해당하는 것으로 하였다. 이때, 추출물 (pH 6.77)의 pH가 사용한 효소 4종의 최적 pH의 범위에 있어 추출물에 대한 별도의 pH 조정은 이루어지지 않았다.

가수분해물의 수율은 추출을 위하여 사용한 원료 명태 두부와 다시마 부산물을 혼합한 혼합물의 단백질 함량에 대하여 가수분해물에 함유된 단백질 함량의 상대비율 (%)로 하였다.

TCA 가용성 질소 및 TCA soluble index

Trichloroacetic acid (TCA) 가용성 질소 함량은 시료액과 동량의 20% (w/v) TCA를 넣고, 혼합하여 제단백한 다음 원심분리(1,000×g, 20분)하고, 이를 semimicro Kjeldahl법으로 정량한 질소 함량으로 하였다.

TCA soluble index는 총 질소 함량에 대한 10% TCA 가용성 질소 함량의 상대 비율 (%)로 하였다.

색조

색조는 가수분해물을 직시색차계(ZE 2000, Nippon Denshoku Industries Co., Japan)의 부속 용기인 원통형 용기에 담아 Hunter L 및 b값을 각각 측정하였다. 이 때 직시색차계의 표준백판은 L값이 94.53, a값이 -0.39 및 b값이 0.63이었다.

총 아미노산 및 무기질

총 아미노산의 분석을 위한 시료는 일정량의 추출물(약 2 mL)에 12 N HCl을 2 mL 가하고, 밀봉, heating block (HF21, Yamato, Japan)에서 가수분해(110℃, 24시간), glass filter로 여과 및 감압건조하여 감압건조물을 얻었으며, 이 감압건조물을 sodium citrate buffer (pH 2.2)로 정용하여 제조하였다. 총아미노산의 분석은 전처리한 각 시료의 일정량을 아미노산 자동분석기(Pharmacia Biotech Biochrom 30, England)에 주입하여 실시하였으며, 이를 토대로 동정 및 정량하였다.

무기질은 Tsutagawa et al. (1994)이 실시한 방법에 따라 질산으로 유기질을 습식 분해하여 시료를 조제한 다음 inductively coupled plasma spectrophotometer (ICP, Atomscan 25, TJA,

USA)로 분석하였다.

유리아미노산 및 taste value

유리아미노산의 분석 시료는 고온가압 추출물에 20% TCA를 동량 가하여 원심분리(1,000 g, 20 min)한 다음 상층액을 정용하고, 이의 80 mL를 분액깔때기에 취하여 동량의 ether를 사용하여 TCA 제거 공정을 4회 반복한 다음 이를 농축 및 0.20 M lithium citrate buffer (pH 2.2)로 정용(25 mL) 하여 제조하였다.

유리아미노산은 전처리한 시료의 일정량을 아미노산 자동분석기(Pharmacia Biotech Biochrom 30, England)에 주입하여 분석하고, 정량하였다.

Taste value는 Kato et al. (1989)이 제시한 유리아미노산의 맛에 대한 역치 (threshold)를 이용하여 Cha et al. (1999a; 1999b)과 같은 방법으로 계산하였다.

ACE 저해 활성 및 DPPH radical 소거 활성

Angiotensin-I converting enzyme (ACE) 저해 활성은 Horiuchi et al. (1982)의 방법으로 측정하였다. 일정량(15 μ L)의 시료에 정제 ACE (60 mU/mL) 50 μ L를 가하여 예비 가온(37 $^{\circ}$ C, 5 min)시켰다. 여기에 봉산 완충액(pH 8.3, 400 mM NaCl 함유)에 용해한 5 mM의 hippuryl-histidyl-leucine 용액 125 μ L를 가하여 반응(37 $^{\circ}$ C, 30 min)시킨 후 10% trifluoroacetic acid (TFA) 20 μ L를 가하여 반응을 정지시켰다. 이어서 반응용액 20 μ L를 Zorbax 300SB C₈ column (Hewlett Packard Co., 4.6 $\times$ 150 mm)을 장착한 역상 HPLC (LC-10Avp, Shimadzu Co., Japan)에 주입하여 분석하였다.

DPPH radical 소거 활성은 Blois (1958)의 방법을 일부 변형하여 실시하였다. 즉, test tube에 ethanol을 용매로 하는 0.2 mM 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich INC, MO, USA)용액 0.9 mL를 가하고, 여기에 0.1 mL의 시료용액을 혼합한 후, 상온에서 30분간 방치하여 DPPH 분석을 위한 시료를 조제하였다. 조제한 시료를 spectrophotometer (UV-140-02, Shimadzu, Japan)로 흡광도 (517 nm)를 측정하였다. DPPH radical 소거 활성은 다음과 같이 백분율로 계산하였고, blank는 시료 대신 증류수를 사용하였다. 그리고, 시료의 DPPH radical 소거 활성을 비교하기 위한 대조구는 0.20 mM ascorbic acid로 하였다.

$$\text{DPPH radical 소거활성 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{Blank의 흡광도}}\right) \times 100$$

관능검사 및 통계 처리

관능 평가 요원은 고온가압 추출액의 농도에 따른 색, 맛 및 냄새에 대하여 잘 훈련된 식품가공 전공의 대학생과 대학원생 10인(남녀 동일 비율)으로 구성하였다.

관능검사는 고온가압 추출액을 대조구로 하고, 이의 색, 맛 및

냄새를 기준점인 5점으로 한 다음, 가수분해물의 이들 항목이 이보다 우수한 경우 각각 6-9점으로 하고, 이보다 열악한 경우 4-1점으로 하는 9단계 평점법으로 상대평가하여 평균값으로 나타내었다.

본 실험에서 얻어진 데이터의 표준 편차 및 유의차 검정(5% 유의 수준)은 SPSS 통계 패키지(spss window, release 10.0.1 (1 Jun 2000))에 의한 ANOVA test를 이용하여 분산분석한 후 Duncan의 다중위 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

상업적 효소의 종류 및 처리 시간 구명

상업적 효소(Neutrase, Alcalase, Flavourzyme 및 Protamex)를 이용하여 고온가압 추출물(Noh, 2012)의 수율과 맛의 강도를 개선하고 생리활성을 부여할 목적으로 응용할 효소의 종류 및 처리 시간을 구명하고자 하였다.

고온가압 추출물에 효소 4종을 일정 시간(0, 0.5, 1, 2, 3, 4 및 6시간) 동안 반응시켜 얻은 가수분해물의 수율 변화는 Fig. 1과 같다. 효소를 응용하기 직전 상태인 고온가압 추출물의 수율은 19.5%이었다. 가수분해물의 수율은 Alcalase를 제외한 3종의 가수분해물은 4시간까지 증가하는 경향을 나타내었고, 이후 6시간까지 미미한 변화가 있거나 거의 변화가 없었다. 그러나, Alcalase 처리 가수분해물의 수율은 6시간까지 계속적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 고온가압 추출물에 효소 4종을 4시간 처리한 후의 수율은 Neutrase 가수분해물이 47.6%로 가장 높았고, 다음으로 Protamex 가수분해물(45.0%) 및 Flavourzyme 가수분해물(42.7%)의 순이었으며, Alcalase 가수분해물이 31.8%로 가장 낮았다. 효소로 4시간동안 처리한 가수분해물의 수율은 추출물의 그것(19.5%)에 비하여 Neutrase 가수분해물의 경우 144.1%가, Protamex 가수분해물의 경우

Fig. 1. Yield of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with various enzymes for different times. Different letters of the same hydrolysate indicate a significant difference at $P < 0.05$.

Fig. 2. TCA soluble index (TSI) of hydrolysed from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with various enzymes for different times. Different letters on the same hydrolysate indicate a significant difference at $P<0.05$.

130.8%가, Flavourzyme 가수분해물의 경우 119.0%가, Alcalase 가수분해물의 경우 63.1%가 개선되었다. 따라서, 천연 향미 물질의 베이스로 제조하기 위하여 이들 효소 4종을 원료 추출물에 응용하는 경우 수율 개선 효과는 확연히 인지되었다. 효소 4종을 원료 추출물에 응용에 의해 수율이 개선되는 것은 추출 마쇄물 내에 함유되어 있는 고온가압 변성 단백질을 이들 효소들이 기질 특이성에 따라 일부분 절단하여 가용화시켰기 때문이고, 그 정도에 따라 수율이 달라졌기 때문이라 추정되었다.

고온가압 추출물에 효소를 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 및 6시간 동안 반응시켜 얻은 가수분해물들의 TCA soluble index는 Fig. 2와 같다. 효소를 응용하기 직전인 고온가압 추출물의 TCA soluble index는 31.3%이었다. 효소 가수분해물의 TCA soluble index는 효소의 종류에 관계없이 서서히 증가하는 경향을 나타내었으나, Flavourzyme 가수분해물의 경우 2시간까지 49.1%로, Protamex 가수분해물의 경우 3시간까지 54.1%로, Alcalase 가수분해물의 경우 4시간까지 51.8%로, 그리고 Neutrase 가수분해물의 경우 6시간까지 56.1%로 증가하였고, 이후 미미한 변화가 있거나 거의 변화가 없었다. 효소 종류에 따라 가수분해물의 TCA soluble index 변화 패턴에 차이가 있는 것은 이들 효소 간의 기질 특이성 때문이라 판단되었다.

따라서, TCA soluble index에 의한 효소 가수분해물의 맛의 강도로 판단할 때 적정 효소 가수분해 시간은 Flavourzyme 가수분해물의 경우 2시간, Protamex 가수분해물의 경우 3시간, Alcalase 가수분해물의 경우 4시간, 그리고 Neutrase 가수분해물의 경우 6시간이었다. 한편, 추출물을 4시간 동안 효소 처리한 가수분해물의 TCA soluble index는 Protamex 가수분해물이 55.3%로 가장 높았고, 다음으로 Neutrase 가수분해물(53.5%), Alcalase 가수분해물(51.8%)의 순이었으며, Flavourzyme 가수분해물이 50.7%로 가장 낮았다. 따라서, 실험에 사용한 효소는 수율을 개선하기 위한 적정 조건에서 처리하는 경우에도 가수분해물은 맛의 강도 또한 개선하리라고 판단되었고, 그 중에서도 특히, Protamex로 처리한 가수분해물의 개선 효과가 가장 뚜렷하리라고 판단되었다.

한편, Heu et al. (2007)은 연어 가공 부산물인 연어 frame을 고온가압 처리 및 여과하여 추출물을 제조하고 여기에 상업적 효소 4종을 처리한 결과 TCA 가용성 질소 함량이 증가하였는데, 그 정도는 Alcalase 가수분해물, Neutrase 가수분해물 및 Protamex 가수분해물 간에는 차이가 거의 없었으나, Flavourzyme 가수분해물에 비하여는 이들이 다소 높았다고 보고하여 본 실험의 결과와 차이가 있었다. 이와 같은 결과는 연어 frame과 명태 두부 및 다시마 부산물이라는 가수분해 대상 소재에서 차이가 있었기 때문이라 판단되었다.

효소 가수분해물의 건강 기능성

고온가압 추출물에 상업적 효소를 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 및 6시간 동안 반응시켜 얻은 가수분해물의 ACE 저해 활성은 Table 1과 같다. 효소 가수분해물의 ACE 저해능은 효소 종류에 관계없이 가수분해 시간에 따른 의존성은 없었다. 단백질 가수분해물의 기능성은 peptide를 구성하는 아미노산의 종류에 의하여 결정되므로 적정 수준 이상으로 가수분해되는 경우 기능성 함유 peptide가 효소에 의하여 오히려 분해되었기 때문이라 판단되었다 (Wum et al., 2003). 한편, Byun et al. (2001)도 상업적 효소를 이용하여 명태 껍질 가수분해물을 제조하여 ACE 저해 활성을 살펴 본 결과, 가수분해도와 ACE 저해 활성 간에는 상관성이 없었다고 보고한 바 있다. 고온 가압 추출물을 상업적 효소로 처

Table 1. Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibiting ratio of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with various enzymes for different times (%)

Enzyme	Hydrolysis time (hrs)						
	0	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	6.0
Neutrase	49.8±2.3 ^{a1}	78.3±1.2 ^b	79.0±1.0 ^{bc}	81.0±1.0 ^{df}	82.7±0.6 ^f	80.7±0.6 ^{cd}	79.7±1.2 ^{bcd}
Alcalase	49.8±2.3 ^a	75.0±0.0 ^{bc}	74.0±3.6 ^b	76.3±1.2 ^{bc}	80.7±0.6 ^d	76.3±1.2 ^{bc}	77.7±1.2 ^{cd}
Flavourzyme	49.8±2.3 ^a	57.3±1.2 ^b	59.3±1.2 ^{bc}	65.0±0.0 ^d	60.7±1.2 ^c	57.3±2.3 ^b	60.3±2.5 ^{bc}
Protamex	49.8±2.3 ^a	45.3±5.5 ^b	48.7±1.5 ^b	54.0±3.5 ^c	58.7±1.2 ^c	74.0±2.6 ^d	80.7±0.6 ^f

¹Different superscript letters in the row indicate a significant difference at $P<0.05$.

리한 가수분해물 중 가장 높은 ACE 저해 활성과 이때의 처리 시간은 Neutrase 가수분해물의 경우 3시간과 82.7%, Alcalase 가수분해물의 경우 3시간과 80.7%, Flavourzyme 가수분해물의 경우 2시간과 65.0%, Protamex 가수분해물의 경우 6시간과 80.7%이었다. 한편, 고온가압 추출물에 효소를 4시간 동안 처리한 가수분해물의 ACE 저해 활성은 Neutrase 가수분해물이 80.7%로 가장 높았고, 다음으로 Alcalase 가수분해물(76.3%), Protamex 가수분해물(74.0%)의 순이었으며, Flavourzyme 가수분해물의 경우 57.3%로 가장 낮았다. 효소의 종류를 달리하여 제조한 가수분해물 간 ACE 저해 활성 차이는 가수분해를 위하여 사용한 효소의 기질 특이성에 의해 생성된 peptide의 구조 차이 때문이라 판단되었다. 한편, 명태 껍질을 기질로 하여 Pronase E로 2시간 동안 처리한 가수분해물의 ACE 저해 활성(IC_{50})은 0.66 mg/mL이고(Byun et al., 2001), 정어리 근육을 기질로 한 pepsin 가수분해물의 ACE 저해 활성(IC_{50})은 0.62 mg/mL이었다(Ukeda et al., 1992).

고온가압 추출물에 효소 4종을 4시간 동안 반응시켜 얻은 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 Fig. 3과 같다. 고온가압 추출물의 항산화 활성은 62.4%이었다. 효소 가수분해물의 항산화 활성은 Alcalase 가수분해물이 88.7%로 가장 우수하였고, Neutrase 가수분해물(74.1%), Flavourzyme 가수분해물(73.8%) 및 Protamex 가수분해물(72.3%) 간 항산화 활성은 그 차이가 2% 이내이었다. 따라서, 고온가압 추출물을 4시간 동안 적용하는 경우 가수분해물은 고열압 저해 활성은 물론이고 항산화 활성도 기대되었다. 효소 4종(Alcalase, Neutrase, Flavourzyme 및 Protamex)을 굴 자숙액에 적용한 결과 항산화성이 대조구에 비하여 51%가 개선되고, 이들은 DPPH 라디칼의 소거 활성보다 superoxide 라디칼, hydroxyl 라디칼 및 alkyl 라디칼의 소거 활성이 우수하였다(Kang et al., 2007).

고온 가압 추출물에 상업적 효소 4종을 4시간 동안 반응시켜 얻은 가수분해물의 색을 Hunter 색차계로 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 관능적으로 살펴본 고온가압 추출물(대조구)의 색은 맑으면서 옅은 갈색이었던 반면 가수분해물의 색은 이보다 불투명하고 짙은 갈색을 나타내었다(데이터 미제시). 효소 가수분해물 간의 관능적 색은 Alcalase 가수분해물이 가장 짙은 갈색을 나타내었고, 다음으로 Neutrase 가수분해물의 순이었으며,

Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with various enzymes for 4 h. ¹Different superscript letters on the data indicate a significant difference at $P < 0.05$.

Protamex 가수분해물 및 Flavourzyme 가수분해물 간에는 차이가 없었다(데이터 미제시). 이러한 결과는 가수분해물의 고형물과 가용성 질소 화합물의 농도 및 가수분해 중 진행된 갈변 반응 등에 의한 영향이라 판단되었다.

대조구의 Hunter 색조는 명도의 경우 60.2, 적색도의 경우 6.0, 황색도의 경우 29.8 및 색차의 경우 50.1을 나타내었다. 이에 반하여 효소 가수분해물의 Hunter 색조는 명도의 경우 17.5-34.8 범위, 적색도의 경우 5.0-7.9 범위, 황색도의 경우 10.4-19.9 범위, 색차의 경우 68.5-83.3 범위를 나타내어, 대조구에 비하여 명도 및 황색도의 경우 낮았고, 색차의 경우 높았으나, 적색도의 경우 가수분해물에 따라 높거나 낮아 일정한 경향을 나타내지 않았다. 따라서, 효소 가수분해물은 대조구에 비하여 색이 다소 진하면서 탁한 경향을 나타내었다. 가수분해물의 명도, 적색도 및 황색도는 5% 유의 수준에서 Neutrase 가수분해물(각각 24.7, 5.5 및 15.3)이 Flavourzyme 가수분해물(각각 34.8, 7.5 및 19.9) 및 Protamex 가수분해물(각각 31.7, 7.9 및 18.3)에 비하여 낮았고, Alcalase 가수분해물(각각 17.5, 5.0 및 10.4)에 비하여 높았

Table 2. Hunter color values of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with various enzymes for 4 h

Color value	Extracts	Hydrolysate			
		Neutrase	Alcalase	Flavourzyme	Protamex
L	60.2± 0.7 ^{e1}	24.7± 0.2 ^b	17.5± 0.1 ^a	34.8± 0.3 ^d	31.7± 0.3 ^c
a	6.0± 0.1 ^d	5.5± 0.4 ^b	5.0± 0.1 ^a	7.5± 0.1 ^d	7.9± 0.1 ^c
b	29.8± 0.2 ^e	15.3± 0.1 ^b	10.4± 0.0 ^a	19.9± 0.2 ^d	18.3± 0.2 ^c
ΔE	50.1± 0.5 ^a	78.4± 0.1 ^d	83.3± 0.1 ^e	68.5± 0.2 ^b	71.2± 0.2 ^c

¹Different superscript letters in the row indicate a significant difference at $P < 0.05$.

Table 3. Total amino acid content of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with Neutrase for 4 h

(mg/100 mL)		
Amino acid	Extract	Hydrolysate
Aspartic acid	286.1 (9.9) ¹	590.7 (10.0)
Threonine	103.9 (3.6)	222.2 (3.8)
Serine	208.5 (7.2)	414.2 (7.0)
Glutamic acid	405.0 (14.1)	822.9 (14.0)
Proline	129.4 (4.5)	235.9 (4.0)
Glycine	395.2 (13.7)	730.2 (12.4)
Alanine	307.5 (10.7)	598.5 (10.1)
Cystine	34.5 (1.2)	65.2 (1.1)
Valine	106.1 (3.7)	238.9 (4.1)
Methionine	75.6 (2.6)	161.9 (2.7)
Isoleucine	69.0 (2.4)	162.0 (2.7)
Leucine	159.9 (5.6)	364.5 (6.2)
Tyrosine	35.2 (1.2)	90.7 (1.5)
Phenylalanine	95.2 (3.3)	215.3 (3.7)
Histidine	71.1 (2.5)	169.5 (2.9)
Lysine	171.6 (6.0)	376.7 (6.4)
Arginine	222.7 (7.7)	438.4 (7.4)
Total	2,876.5 (99.9)	5,897.7 (100.0)
Essential amino acid	1,075.1 (37.4)	2,349.4 (39.9)

¹The value in parenthesis shows (g/100 g total amino acid).

다. 가수분해물에 대한 명도의 결과는 관능적인 탁도와 일치하는 경향을 나타내었다.

가수분해물의 색차는 5% 유의 수준에서 Neutrase 가수분해물(78.4)이 Flavourzyme 가수분해물(68.5) 및 Protamex 가수분해물(71.2)에 비하여 높았으나, Alcalase 가수분해물(83.3)에 비하여 낮았다. 가수분해물에 대한 색조의 결과로 미루어 보아 색의 강도가 Neutrase 가수분해물이 Flavourzyme 가수분해물과 Protamex 가수분해물에 비하여 진할 것으로 판단되었으나, Alcalase 가수분해물에 비하여서는 다소 연하리라 예상되었다.

고온가압 추출물에 상업적 효소를 4시간 동안 반응시켜 얻은 효소 가수분해물의 색, 냄새 및 맛에 대한 관능평가에 대한 결과는 Table 5와 같다. 가수분해물 색조의 경우 Neutrase 가수분해물이 6.1점으로 Flavourzyme 가수분해물(5.5점) 및 Protamex 가수분해물(5.4점)에 비하여 높았고, Alcalase 가수분해물(6.3점)에 비하여 낮았으나 5% 유의수준에서 차이가 없었다. 그러나 이들 효소 가수분해물의 색조는 대조구의 색조에 비하여 5% 유의수준에서 높아 차이가 있었다.

한편, 가수분해물의 냄새는 Neutrase 가수분해물을 제외한 나머지 3종의 가수분해물이 대조구보다 5% 유의수준에서 낮았다. 이는 효소 가수분해물이 대조구에 비하여 비린내가 진하기

때문이라 추정되고, 이후 천연 향미 물질의 베이스로 효율적으로 이용되기 위해서는 비린내에 대한 마스킹(masking) 공정의 도입이 필요하리라 판단되었다. 한편, Neutrase 가수분해물의 맛은 6.3점으로 Alcalase 가수분해물(5.3점), Flavourzyme 가수분해물(5.6점) 및 Protamex 가수분해물(5.7점)과 같은 나머지 효소 가수분해물에 비하여 높았으나 5% 유의수준에서는 차이가 없었지만, 대조구(5.0점)에 비하여는 5% 유의수준에서 차이가 있었다.

이상에서 언급한 결과에 의하면 고온가압 추출물에 Neutrase를 적정온도에서 4시간 동안 처리하는 경우 수율과 맛이 개선되고 생리활성도 개선될 것으로 판단되었다.

효소 가수분해물의 영양 특성

고온가압 추출 마쇄물에 최적 효소로 구명된 Neutrase를 4시간 동안 반응시켜 얻은 가수분해물과 추출액(대조구)의 총아미노산 함량은 Table 3과 같다. 총 아미노산의 총함량은 효소 가수분해물이 5,897.7 mg/100 mL로, 대조구의 2,876.5 mg/100 mL에 비하여 약 2.1배가 높았다. 이와 같은 결과는 상업적 효소에 의해 추출물에 함유되어 있던 고형물이 가용화되어 가수분해물로 이행되었기 때문이라 판단된다. 이들 추출물 및 가수분해물의 단백질을 구성하는 주요 아미노산으로는 효소 가수분해물과 대조구가 모두 aspartic acid, glutamic acid, glycine 및 alanine 등이었다. 따라서, 효소 가수분해물의 주요 구성아미노산은 추출액(대조구)의 그것에 비하여 종류 및 조성의 경우 유사하였으나, 함량의 경우 많았다. Tryptophan을 제외한 9종의 필수아미노산(threonine, valine, leucine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, histidine 및 arginine)의 함량은 효소 가수분해물의 경우 2,349.4 mg/100 mL로, 대조구의 1,075.1 mg/100 mL에 비하여 2.2배가 높아 영양적으로 의미가 있다고 판단되었다.

한편, 곡류 단백질에는 lysine과 threonine이 부족하기 쉬운 것으로 알려져 있다(Heu et al., 2008). 이러한 일면에서 살펴본 lysine과 threonine의 조성은 효소 가수분해물의 경우 각각 376.7 mg/100 mL (6.4%) 및 222.2 mg/100 mL (3.8%)로, 대조구의 각각 171.6 mg/100 mL (6.0%) 및 103.9 mg/100 mL (3.6%)에 비하여 함량은 높았고, 조성은 유사하였다. 따라서 고온가압 추출물에 Neutrase를 첨가하고 4시간 동안 효소 가수분해시킨 것을 주 베이스로 한 천연 풍미 물질을 적절히 식용한다면 곡류를 주식으로 하는 우리나라 사람들의 경우 영양 균형적인 면에서 상당히 의미가 있다고 판단되었다.

고온가압 추출물 및 효소 가수분해물의 철, 칼슘, 칼륨, 인 및 마그네슘의 함량과 조성은 Table 4와 같다. 일반적으로 철과 칼슘은 우리나라를 위시한 동양권 식이 패턴에서 부족하기 쉬운 영양소로 알려져 있다(The Korean Nutrition Society, 2000). 철과 칼슘 함량은 효소 가수분해물에 각각 1.0 mg/100 mL 및 12.1 mg/100 mL로, 대조구의 각각 0.4 mg/100 mL 및 8.7

Table 4. Mineral content of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with Neutrase for 4 h

(mg/100 mL)		
Mineral	Extracts	Hydrolysate
Fe	0.4±0.0	1.0±0.0
Ca	8.7±0.1	12.1±0.2
K	564.9±10.0	450.4±1.9
P	100.8±1.0	139.9±2.8
Mg	25.6±0.4	22.9±0.1

mg/100 mL에 비하여 높았다. 칼륨과 인 함량은 효소 가수분해물이 각각 450.4 mg/100 mL 및 139.9 mg/100 mL로, 대조구의 각각 564.9 mg/100 mL 및 100.8 mg/100 mL에 비하여 낮거나 높아 차이가 있었다. 마그네슘 함량은 효소 가수분해물이 22.9 mg/100 mL로, 대조구의 25.6 mg/100 mL에 비하여 낮았다.

한편, 일반적으로, 위의 무기질에 대한 여러 가지 건강기능 효과를 기대하기 위한 일일 섭취량으로 철의 경우 12 mg, 칼륨의 경우 4 g, 칼슘의 경우 0.6-1.0 g 범위(성인의 경우 0.7 g), 마그네슘의 경우 0.2-0.7 g 범위, 인의 경우 0.6-0.9 g 범위(성인의 경우 0.7 g)가 제시되고 있다(Kim et al., 2006). 이러한 일면에서 효소 가수분해물과 대조구의 각각 100 mL를 섭취하는 경우 건강 기능 효과를 기대할 수 있는 일일 섭취량에 대하여 철은 각각 8.3% 및 3.3%, 칼슘(성인기준)은 각각 1.7% 및 1.2%, 칼륨은 각각 11.3% 및 14.1%, 인은 각각 20.0% 및 14.4%, 마그네슘(500 mg 기준)은 각각 4.6% 및 5.1%에 해당하여 칼륨과 인의 보강 효과 이외에는 크게 기대할 수 없으리라 판단되었다.

효소 가수분해물의 맛 특성

효소 가수분해물과 추출액(대조구)의 유리아미노산 함량은 Table 5와 같다. 유리아미노산의 총 함량은 효소 가수분해물이 379.7 mg/100 mL로, 대조구의 172.5 mg/100 mL에 비하여는 2.2배가 높았다. 효소 가수분해물의 유리아미노산 총 함량이 대조구의 그것에 비하여 높은 것은 수율 개선을 목적으로 추출 마쇄물에 적용한 상업적 효소에 의해 고형물로부터 많은 단백질이 절단 용해되고 저분자화한 다음 추출물로 이행되었을 뿐만 아니라 기존 가용화 단백질의 경우도 저분자화 되었기 때문이라 판단되었다.

주요 유리아미노산은 효소 가수분해물과 대조구가 모두 taurine, glutamic acid 등이었다. 따라서, 효소 가수분해물의 주요 유리아미노산은 대조구의 그것에 비하여 함량에 있어 약간의 차이가 있었으나, 종류와 조성 등의 경우 차이가 없었고, 기타 유리아미노산의 경우도 주요 유리아미노산의 경향과 유사하였다. 한편, 고온 가압 명태 두부 추출액에는 근년에 항산화성 등과 같은 건강 기능성으로 주목을 받고 있는 anserine과 carnosine (Fu et al., 2009) 등이 검출되어 의미가 있었다.

Table 5. Free amino acid contents of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with Neutrase for 4 h

(mg amino acid/100 mL)		
Amino acid	Extracts	Hydrolysate
Phosphoserine	2.9 (1.7) ¹	12.7 (3.3)
Taurine	43.0 (24.9)	95.7 (25.1)
Penylethylamine	1.4 (0.8)	- ²
Aspartic acid	12.9 (7.5)	23.7 (6.2)
Hydroxyproline	6.9 (4.0)	10.8 (2.8)
Threonine	5.0 (2.9)	8.8 (2.3)
Serine	5.5 (3.2)	11.0 (2.9)
Glutamic acid	40.0 (23.2)	74.2 (19.4)
Sarcosine	0.6 (0.3)	5.7 (1.5)
Proline	4.6 (2.7)	7.4 (1.9)
Glycine	5.3 (3.1)	11.6 (3.0)
Alanine	9.5 (5.5)	19.2 (5.0)
α-Aminoisobutyric acid	0.3 (0.2)	-
Valine	3.7 (2.1)	7.4 (1.9)
Cysteine	1.1 (0.6)	1.1 (0.3)
Methionine	1.1 (0.6)	7.0 (1.8)
Cystathionine-1	0.5 (0.3)	11.0 (2.9)
Isoleucine	1.9 (1.1)	3.6 (0.9)
Leucine	3.6 (2.1)	5.9 (1.5)
Tyrosine	1.8 (1.0)	2.6 (0.7)
β-Alanine	2.7 (1.6)	11.1 (2.9)
Phenylalanine	2.1 (1.2)	5.1 (1.3)
Homocystine	-	1.5 (0.4)
γ-Aminobutyric acid	-	0.8 (0.2)
Ethanolamine	3.9 (2.3)	8.4 (2.2)
Hydroxylysine	0.2 (0.1)	1.8 (0.5)
Ornithine	0.3 (0.2)	0.5 (0.1)
Lysine	5.5 (3.2)	9.4 (2.5)
1-Methylhistidine	0.9 (0.5)	2.8 (0.7)
Anserine	0.8 (0.5)	7.7 (2.0)
Carnosine	-	5.3 (1.4)
Arginine	4.5 (2.6)	7.9 (2.1)
Total	172.5 (100.0)	379.7 (99.7)

¹The value in parenthesis shows (g/100 g total amino acid).

²Not detected.

일반적으로, 식품의 맛은 유리아미노산 및 관련 peptide의 함량보다는 맛의 역치(taste threshold)를 고려한 taste value(유리아미노산이 관련 식품의 맛에 얼마나 기여하는지를 고려하여 나타낸 값)로 언급하는 것이 적절하다(Kato et al., 1989).

Table 6. Taste value of hydrolysates from extracts of Alaska pollock *Theragra chalcogramma* head and non-forming sea tangle *Laminaria japonica* incubated with Neutrase for 4 h

Amino acid	Taste threshold (g/100 mL)	Extracts	Hydrolysate
Aspartic Acid	0.003	4.30	7.90
Threonine	0.26	0.02	0.03
Serine	0.15	0.04	0.07
Glutamic Acid	0.005	8.00	14.84
Proline	0.3	0.02	0.02
Glycine	0.13	0.04	0.09
Alanine	0.06	0.16	0.32
Valine	0.14	0.03	0.05
Methionine	0.03	0.04	0.23
Isoleucine	0.09	0.02	0.04
Leucine	0.19	0.02	0.03
Phenylalanine	0.09	0.02	0.06
Histidine	0.02	¹	-
Lysine	0.05	0.11	0.19
Arginine	0.05	0.09	0.16
Total	-	12.91	24.03

¹Not detected.

효소 가수분해물과 추출액(대조구)의 유리아미노산 함량을 토대로 맛의 역치(taste threshold)를 고려한 taste value는 Table 6과 같다. 유리아미노산의 taste value는 aspartic acid가 0.003 g/100 mL로 가장 낮아 맛에 가장 지대하게 작용하리라 판단되었고, 다음으로 glutamic acid (0.005 g/100 mL), histidine (0.020 g/100 mL) 및 methionine (0.030 g/100 mL) 등의 순으로 낮아 맛에 민감하리라 생각되었다. 유리아미노산 함량을 토대로 맛의 주성분과 강도를 확인하기 위하여 taste value를 환산한 결과 효소 가수분해물의 total taste value는 24.03이었고, 이는 대조구의 12.91에 비하여 높았다. Total taste value가 대조구에 비하여 효소 가수분해물이 높은 것은 상업적 효소에 의해 추출물의 고형물로부터 많은 단백질이 가용화되어 가수분해물로 이행되었을 뿐만 아니라 기존 가용화 단백질의 경우도 절단 유리되었기 때문이라 판단되었다. 한편, 일반적으로, dipeptide인 anserine의 경우 glutamic acid의 맛난 맛을 더욱 강화한다 (Park et al., 1995). Taste value의 결과로 미루어 효소 가수분해물의 주요 맛성분은 glutamic acid와 aspartic acid로 판단되었고, 추출액과 비교하였을 때 강도의 차이는 있으리라 판단되었으나, 종류(glutamic acid, aspartic acid)에 있어서는 차이가 없었다.

이상의 결과로부터 고온가압 처리한 명태 두부 및 다시마 부산물 유래 추출물에 Neutrase로 4시간 동안 가수분해하는 경우 이의 수율 개선 뿐만 아니라, 맛과 생리활성도 개선되어, 이의

용도 확대가 기대되었다.

참고문헌

- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199-1200.
- Byun HG and Kim SK. 2001. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *Process Biochem* 36, 1155-1162. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1109.09015>
- Cha YJ, Kim H, Jang SM and Park JY. 1999. Identification of aroma-active compounds in Korean salt-fermented fishes by aroma extract dilution analysis. 1. Aroma-active components in salt-fermented anchovy on the market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28, 312-318.
- Fu H, Katsumura Y, Lin M, Muroya Y, Hata K, Fujii K, Akinari Y and Yoshiko H. 2009. Free radical scavenging and radioprotective effect of carnosine and anserine. *Radiation Physics Chem* 78, 1192-1197.
- Heu MS, Kim HS, Ham JS, Park SH, Kim HS, Kang KT, Jee SJ, Lee JH and Kim JS. 2008. Preparation and quality characteristics of seasoned and dried fish slice products using rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37, 348-356.
- Heu MS, Park SH, Kim HS, Jee SJ, Lee JH, Kim HJ, Han BW and Kim JS. 2007. Improvement on the functional properties of Gomtang-like product from salmon frame using commercial enzymes. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 36, 1596-1603. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2007.36.12.1596>
- Horiuchi M, Fujimura KI, Terashima T and Iso T. 1982. Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood tissue by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 233, 123-130.
- Jo CR, Kim DH, Lee WD, Lee JJ and Byun MW. 2003. Application of gamma irradiation on manufacturing Changran jeotgal (aged and seasoned intestine of Alaska pollack): Microbiological and sensory characteristics. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32, 673-678.
- Kang GT. 2007. Development of functional oyster drink using liquid byproducts from canned oyster. MS thesis. Gyeongsang National University, Tongyeong, Korea.
- Kato H, Rhue MR and Nishimura T. 1989. Role of free amino acids and peptides in food taste. In *Flavor Chemistry Trends and Developments*. American Chemical Society, Washington, DC, USA, 158~174.
- Kim JS, Heu MS and Ha JH. 2007. Fundamentals and Applications of Seafood Processing. Hyoil Publishing Co., Seoul, Korea. 41-45, 308-314.
- Kim MJ, Nahmgung B, Kim BN, Lee SJ, Kim CJ, Cho YJ and Kim CT. 2009. Preparation and physicochemical characteristics of anchovy hydrolysates produced by high hydrostatic pressure

- and enzymatic hydrolysis treatment. Food Engineering Progress 13, 85-91.
- Lee BJ. 2009. Separation of GABA-producing lactic acid bacteria from traditional fermented foods and its use for the production of GABA from sea-tangle. MS thesis. Gyeongsang National University, Tongyeong, Korea.
- Lee KH, Song BK, Jeong IH, Hong BI, Jung BC and Lee DH. 1997. Processing condition of seasoning material of the mixture of *Laminaria* and enzyme-treated mackerel meat. Korea J Food SCI Technol 29, 77-81.
- Noh YI. 2012. Development and properties of functional seasoning with high yield from byproducts of Alaska pollock and sea tangle. MS thesis. Gyeongsang National University, Tongyeong, Korea.
- Oh HS, Kim JS, Kim HS, Jee SJ, Lee JH, Chung IK, Kang KT and Heu MS. 2007. Improvement on the quality and functionality of Skipjack tuna cooking drip using commercial enzymes. J Korea Soc Food Sci Nutr 36, 881-888.
- Park CH, Lee JH, Kang KT, Park JW and Kim JS. 2007. Characterization of acid-soluble collagen from Alaska pollock surimi processing by-products (refiner discharge). Food Sci Biotechnol 16, 549-556.
- Park YH, Kim SB and Chang DS. 1995. Seafood Processing and Utilization. Hyungsul Publishing Co., Seoul, 147-168.
- The Korean Nutrition Society. 2000. Recommended Dietary Allowances for Koreans (7th ed.), Chungang Publishing Co., Seoul, Korea, 43-56, 157-218.
- Tsutagawa Y, Hosogai Y and 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.
- Ukeda H, Matsuba H, Osajima K, Matsufuji H, Matsui T and Osajima Y. 1992. Peptides from peptic hydrolysate of heated sardine meat that inhibit angiotensin I converting enzyme. Nippon Nogeikagaku Kaishii 66, 25-29.
- Wendel AP. 1999. Recovery and utilization of Pacific whiting frame meat for surimi production. MS thesis. Oregon State University, Corvallis. Oregon. USA.
- Wum HC, Chen HM and Shiau CY. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). Food Res Int 36, 949-957.