

연속식 3단계 막 반응기를 이용한 명태피 젤라틴으로부터의 천연조미료 개발

†김 세 권 · 전 유 진 · 변 희 국 · *안 창 범 · **조 덕 제 · ***이 응 호

부산수산대학교 화학과, *여수수산대학교 식품영양학과,
동서공과대학 식품공학과, *부산수산대학교 식품공학과

Development of Natural Seasoning from Alaska Pollack Skin Gelatin Using Continuous Three-Step Membrane Reactor

Se-Kwon Kim[†], You-Jin Jeon, Hee-Guk Byun, Chang-Bum Ahn*,
Duk-Je Jou** and Eung-Ho Lee***

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

*Dept. of Food Science and Nutrition, National Fisheries University of Yeosu, Yeosu 550-749, Korea

**Dept. of Food Science and Technology, Dong Seo University, Pusan 616-010, Korea

***Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

ABSTRACT

The hydrolysates of three kinds [FSEH(first step enzymatic hydrolysate), SSEH(second step enzymatic hydrolysate), and TSEH(third step enzymatic hydrolysate)] were prepared by continuous hydrolysis of Alaska pollack(*Theragra chalcogramma*) skin gelatin with three-step membrane enzyme reactor. The molecular weight distributions of FSEH, SSEH, and THSE are 9,500~4,800Da, 6,600~3,400Da, and 2,300~900Da, respectively. The contents of amino acid having sweet taste(glycine, proline, serine, alanine, hydroxyproline, glutamic acid, and aspartic acid) were about 70% of total amino acid being in the three kinds hydrolysates. We also tried preparing of natural seasonings(complex seasoning and enzymatic hydrolysate sauce) using the hydrolysates. From the results of sensory evaluations, complex seasoning containing TSEH was nearly equal to shellfish complex seasoning on the market. The mixture sauce which was made by mixing of 80% enzymatic hydrolysis sauce and 20% fermented soy sauce, was at least similar to the tradition soybean sauce in product quality, too.

서 론

천연조미료는 천연물을 원료로 하여 추출, 분리, 가열, 발효, 농축, 건조 등의 수단으로 제조되는 것

을 말하며, 크게 분해형과 추출형으로 대별할 수 있다. 분해형은 천연의 동식물 단백질을 가수분해하여 제조하는 것이며, 추출형은 천연재료에서 유기성분 등의 엑기스를 추출한 후 농축한 것을 말한다. 분해형 천연조미료로서 비교적 값싸게 이용되는 것은 식물단백질 가수분해물(HVP: hydrolyzed vegetable

† Corresponding Author

protein), 동물단백질 가수분해물(HAP : hydrolyzed animal protein) 및 효모 엑기스 등이다(1). 동식물 단백질의 가수분해물 제조는 동식물 단백질을 산 또는 알칼리에 의한 화학적 분해법과 효소에 의한 효소적 분해법이 있다. 화학적 분해법은 분해시 비용이 적게 들고 분해율이 좋지만, tryptophan과 같은 필수아미노산의 소실, lisinoalanine, dichloropropanol 등과 같은 인체 유해성 물질의 생성으로 인하여 안전성이 문제가 되고 있다(2). 이에 반해 효소적 분해법은 안전성의 문제는 없지만, 분해율이 떨어지고, 비용이 많이 든다는 단점이 있다. 특히 이러한 방법에 의한 단백질 가수분해물의 제조시 쓴맛이 생성된다는 것은 이미 예전부터 잘 알려져 있는 사실이다. 예를 들어 대두단백질의 펩신 분해물(3, 4)이나, 카제인의 트립신 분해물에서 쓴맛을 내는 펩티드가 분리되었다(5, 6). 따라서 이러한 단백질 가수분해물의 쓴맛을 개선하기 위하여 쓴맛 펩티드의 구조적 연구를 수행하고 있으며(7~10), 한편에서는 쓴맛을 내는 펩티드를 가수분해물로부터 제거하기 위하여 많은 연구가 진행되어 왔다(11, 12).

그러나 우리 나라 수산가공공장에서 연간 약 30만 톤 이상이 폐기되고 있는 어피에서 추출한 젤라틴을 효소로 분해하여도 쓴맛이 없거나 아니면 오히려 단맛을 주고 있다. 이러한 동물성 단백질의 가수분해물 즉, HAP는 proline, glycine, lysine, alanine 등과 같은 단맛이 강한 아미노산을 다량으로 함유하고 있기 때문에 단맛을 내는 특징이 있다(1).

한편, 최근에 생체촉매를 고정화한 반응장치를 이

용하는 bioreactor가 개발되어 여러분야로의 이용을 시도하고 있다. 또한 막장치를 bioreactor에 부착시킨 membrane bioreactor는 조미료 제조의 연속화, 자동화, 공정기간의 단축, 반응장치의 소형화, 반응조건의 용이한 제어 등과 같은 많은 잇점이 있다(2). 그러나 이러한 bioreactor는 주로 유산발효나 효모에 의한 알코올 생성 등과 같은 발효분야에서는 이미 실용화되어 있지만, 단백질의 가수분해에 의한 이용분야에서는 아직 실용화되지 못하고 있다(2).

따라서 본 연구에서는 membrane bioreactor기술을 다단계 막반응기 시스템으로 단백질을 연속적으로 가수분해하여 얻은 것을 천연조미료 개발에 응용하고자 전보에서 그 분해조건들을 검토하였다(13). 검토된 조건에 따라서 명태피 젤라틴을 3단계 막반응기 시스템 하에서 효소를 각각 달리 처리하여 1단계 가수분해물(Alcalase로 처리), 2단계 가수분해물(pronase E로 처리) 및 3단계 가수분해물(collagenase로 처리)을 제조한 후, 각 단계별 가수분해물을 이용하여 천연 복합조미료 및 효소분해간장을 제조하고, 관능평가를 통하여 천연조미료로서의 이용가능성을 검토해 보았다.

재료 및 방법

가수분해물 제조

전보(13)에서 확립된 재순환 3단계 막반응기 시스템(Fig. 1)의 최적 가수분해조건 하에서 명태피 젤라틴의 효소적 가수분해물을 각 단계별로 얻었다.

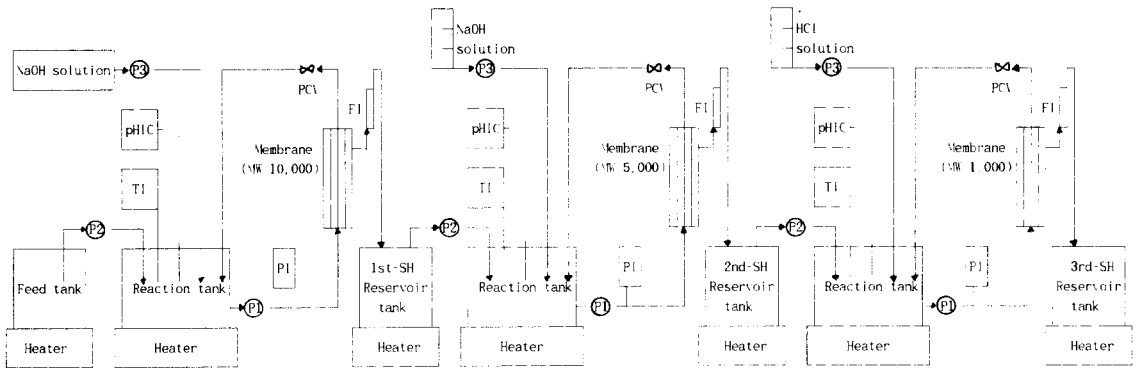


Fig. 1. Schematic of the recycle three-step membrane reactor for the production and separation of enzymatic fish skin gelatin hydrolysates. TI : temperature indicator, PI : pressure indicator, FI : flow indicator, PI : recycling pump, P2 : feed pump, P3 : NaOH pump, PCV : pressure control valve, FCV : flow control valve, pHIC : pH indicator controller FSEH : first step enzymatic hydrolysate, SSEH : second step enzymatic hydrolysate, TSEH : third step enzymatic hydrolysate.

이때 효소는 유리된 상태로 첨가되어 한외여과막과 반응기 내부에서 유동적으로 기질과 반응하여 생성물만 막의 외부로 유출되어 가수분해물을 얻었다. 1단계 효소적 가수분해물(first step enzymatic hydrolysate : FSEH)은 원료 명태피에서 추출한 젤라틴을 반응온도 50°C, pH 8.0, Alcalase 0.6l (Novo Co.)의 농도 0.2mg/ml, 기질대 효소비 50 (w/w), 반응부피 600ml, 유출속도 6.14ml/min의 반응조건으로 처리하여 분자량 한계범위가 10KDa인 한외여과막(Ultrafiltration membrane)을 통과시켜 얻었으며(분해율 87%), 2단계 효소적 가수분해물(second step enzymatic hydrolysate : SSEH)은 1단계 막반응기 시스템에서 제조된 FSEH를 pronase E(Sigma Co. : 5 units/mg solid) 농도 0.3mg/ml, 기질대 효소비 33(w/w) 및 그외는 1단계와 동일한 조건으로 처리하여 분자량 한계범위가 5KDa인 한외여과막을 통과시켜 얻었다(분해율 77%). 그리고 3단계 효소적 가수분해물(third step enzymatic hydrolysate : TSEH)은 2단계 막반응기 시스템에서 제조된 SSEH를 반응온도 37°C, pH 7.5, collagenase(Sigma Co.; 470 units/mg solid) 농도 0.1mlg/ml, 기질대 효소비 100(w/w), 유출속도 10ml/min의 조건으로 처리하여 분자량 한계범위가 1KDa인 한외여과막을 통과시켜 제조하였다(분해율 70%). 이와 같이 연속적 재순환 공정의 각 단계별 한외여과막을 거쳐 생성된 각 단계별 가수분해물을 동결건조하여 2°C에서 저장하여 두고 실험에 사용하였다. 동결건조된 각 단계별 가수분해물의 단백질 함량은 각각 97.67%(FSEH), 96.78%(SSEH) 및 93.29%(TSEH)였다.

한편, 제조된 각 단계별 가수분해물의 쓴맛의 유무에 대한 평가(Table 1)에서 전혀 쓴맛을 느낄 수가 없었다. 일반적으로 대두 단백질이나 카제인의 효소적 가수분해물은 쓴맛이 상당히 많아 이용에 제약을 받고 있는데³⁻⁶⁾ 반하여, 어피젤라틴의 효소적 가수분해물은 3종류 모두가 쓴맛은 나타나지 않았으므로 조미료로서의 이용 가능성을 기대할 수 있었다.

분자량 측정

3단계 막반응기 시스템에서 얻어진 각 단계별 가수분해물에 대한 분자량은 HPLC(Spectra Physics Co.)를 사용하여 측정하였으며, 컬럼은 분자량 한계범위가 250~28,000Da인 GPC(Altech Co., pore size 60 Å)를 사용하였다. 즉, 시료 1mg을 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.0) 1ml에 녹여서

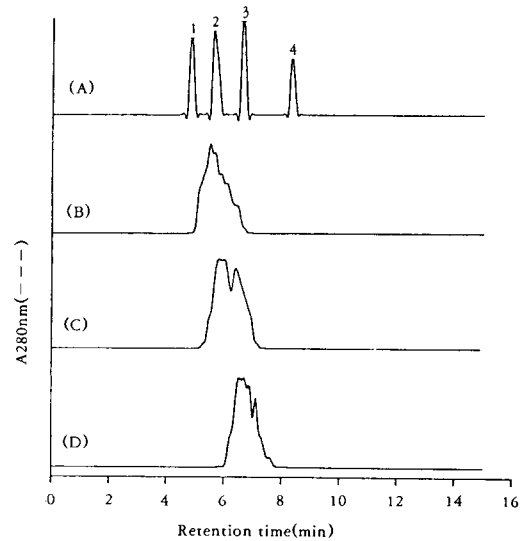


Fig. 2. Molecular weight distribution profiles of FSEH(B), SSEH(C) and TSEH(D) on GPC column(pore size 60 Å) by HPLC. Marker materials(A): 1, Cytochrome C(MW 12,400Da); 2, Aprotinin(MW 6,500Da); 3, Vitamin B₁₂(MW 1,355Da); 4, ATEE (L-acetyl-L-tyrosine ethylester) (MW 251Da) [solvent: 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.5), flow rate: 0.5ml/min].

FSEH : First-Step Enzymatic Hydrolysate
SSEH : Second-Step Enzymatic Hydrolysate
TSEH : Third-Step Enzymatic Hydrolysate

유속 0.5ml/min으로 용리시켰으며, 그 용리액의 단백질 흡광도는 분광광도계 280nm에서 측정하였다. 분자량 측정에 사용된 표준물질로는 cytochrome c (M.W. 12,400Da), aprotinine (M.W. 6,500Da), vitamin B₁₂ (M.W. 1,355Da), ATEE (N-acetyl-L-tyrosine ethyl ester; M.W. 251Da)이다.

아미노산 분석

가수분해물의 전체 아미노산 분석은 다음과 같이 실시하였다. 즉, 각 단계별의 막반응기 시스템에서 얻어진 가수분해물 시료 50mg을 ampoule에 넣고 6N HCl 2ml를 가하여 봉한 후 110°C에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압 건조하여 HCl을 제거한 후 sodium loading

Table 1. The hydrolysates produced by enzyme treatment under membrane reactor system.

Hydrolysate	MWCO ⁴ of ultrafiltration membrane	Used enzyme	Degradation rate	Molecular weight range(kDa)	Bitter taste
FSEH ¹	10,000Da	Alcalase	87%	9.5~4.8	not
SSEH ²	5,000Da	Pronase	77%	6.6~3.4	not
TSEH ³	1,000Da	Collagenase	70%	2.3~0.9	not

¹FSEH(first step enzymatic hydrolysate), ²SSEH(second step enzymatic hydrolysate)

³TSEH(third step enzymatic hydrolysate), ⁴MWCO(molecular weight cut off)

buffer(pH 2.2)로 25ml 되게 정용하였다. 이중 일부를 아미노산 자동분석기(LKB 4150-a)로 전체 아미노산 함량을 분석하였다.

유리 아미노산 분석은 같은 시료를 3g 정량하여 70% 에탄올 용액에 녹여 100ml 되게 정용한 후 원심분리(2,000×g, 10min)하였다. 원심분리 후 그 상층액을 20ml 취하여 감압 건조하여 에탄올을 제거한 다음 최종 20ml 되게 정용하였다. 이 중 10ml를 취하고 그 용액 속에 5'-sulfosalicylic acid 0.5g을 첨가하여 냉암소에서 1시간 방치한 후 다시 원심분리(13,600×g, 5min)하여 상층액 5ml를 취하여 감압건조한 후 sodium loading buffer(pH 2.2)로 2ml되게 정용하였다. 이 중 일부를 취하여 아미노산 자동분석기(LKB 4150-a)로 유리 아미노산의 조성을 분석하였다.

복합조미료 및 효소분해 간장의 제조

먼저, 복합조미료의 제조는 예비실험을 통하여 설정된 조건에 따라 다음과 같이 제조하였다. 즉, 각 단계별 가수분해물의 시료 30g을 식염 20g, 핵산[IMP와 GMP가 동량 함유; 농심(주) 제품] 5g, 포도당[농심(주) 제품] 10g, 고추장분말[태경농산(주) 제품] 5g, 된장분말[태경농산(주) 제품] 3g, 양파분말[농심(주) 제품] 1g, 생강분말[태경농산(주) 제품] 0.5g, 마늘분말[태경농산(주) 제품] 2g과 잘 혼합하여 마쇄한 후, 각각 명태피 젤라틴의 1단계(FSEHCS), 2단계(SSEHCS) 및 3단계 가수분해물 복합조미료(TSEHCS)로 하였다.

한편, 효소분해 간장의 제조는 예비실험을 통하여 설정된 조건에 따라 각 단계별 가수분해물의 시료 30g을 식염 50g, 설탕 5g, 포도당 5g, 핵산 1g, 검은후추분말[명신화성(주) 제품] 0.2g, 카라멜분말[명신화성(주) 제품] 0.2g, 감초[백경상사] 0.2g, 생강분말 0.1g, 마늘분말 0.1g, 양파분말 0.1g, 양조식초[오뚜기 식품(주) 제품, 총산도: 6.7~7.0%] 6ml 및 과당[태경농산(주) 제품] 6ml와 함께 혼합

하여 물에 녹여 200ml 되게 하였다. 이 용액을 냉각관이 붙어 있는 등근 삼구플라스크에 넣고, 24시간 동안 끓여서 자비환류시켰다. 반응이 끝난 후, 그 용액을 식혀서 여과포로 여과하고 얻어진 여액을 1단계(FSEHS), 2단계(SSEHS) 및 3단계 효소분해간장의 원액(TSEHS)으로 하였다. 이 원액과 시판 100% 대두양조간장(오복식품)을 9:1(v/v)의 비율로 혼합한 것을 혼합간장 (B)로 하였으며, 8:2(v/v)의 비율로 혼합한 것을 혼합간장 (C)로 하였다.

관능검사에 의한 품질 평가

관능검사는 잘 훈련된 대학원생 중 10인을 선발하여 관능검사요원을 구성하고 5단계 평점법(5점:매우 좋다, 4점:좋다, 3점:보통이다, 2점:나쁘다, 1점:매우 나쁘다)으로 실시하였다.

각 단계별로 제조된 가수분해물을 이용하여 만든 복합조미료에 대한 관능검사는 대조구로서 시판 복합조미료 즉, 멸치복합조미료(anchovy complex seasoning, ACS), 조개복합조미료(shellfish complex seasoning, SCS) 및 쇠고기복합조미료(beef complex seasoning, BCS)와 함께 맛(taste), 냄새(odor) 및 색(color) 등 3가지 항목으로 구분하여 실시하였다.

한편, 효소분해 간장의 관능평가는 제조된 원액(A), 혼합간장(B), (C)와 2종류의 시판간장(D), (E)를 비교하여 실시하였다. 여기서 시판간장(D)는 산분해간장 80%와 양조간장 20%로 구성되어 있으며, 시판간장(E)는 산분해간장 50%와 양조간장 50%로 구성되어 있는 시판 혼합간장이다. 관능검사 방법은 복합조미료에서와 동일한 방법으로 실시하였다.

결과 및 고찰

가수분해물의 분자량 분포

3단계 막반응기 시스템을 이용한 명태피 젤라틴의

각 단계별 가수분해물에 대한 분자량 분포는 Table 1과 같다. FSEH, SSEH 및 TSEH의 분자량 분포는 각각 9,500~4,800Da, 6,600~3,400Da 및 2,300~900Da이었으므로 유리아미노산 내지는 저분자 펩티드로 분해하지는 못하였다.

김 등(14)은 콜라겐 단백질이 주종인 대구피를 collagenase로 1시간 분해시킨 후 pronase로 3시간 반응시킨 가수분해물의 분자량이 7,000~10,000Da 범위로 분포하고 있음을 보고하였다. 그러나 Deeslie와 Cheryan(15)은 대두 단백질을 Pronase/Promine D의 효소로 가수분해하여, 이것을 분자량 한계범위가 각각 5,000Da, 10,000Da 및 50,000Da 인 한외여과막을 통하여 분리하였을 때 얻어진 가수분해물의 분자량 분포에 있어 모든 종류가 똑같이 2,300Da과 1,000Da의 커다란 두 획분으로 얻어졌다고 보고하였다. 이러한 결과는 콜라겐이나 젤라틴의 가수분해물이 대두 단백질 가수분해물에 비하여 다소 높은 분자량 분포를 나타내었는데, 그 이유는 콜라겐이나 젤라틴에는 Gly-Gly, Gly-Pro과 같은 사슬이 많고, 이들 사슬은 일반 단백질 분해효소에 의해 분해가 곤란하기 때문에 대두 단백질이나 카제인, 글루텐 정도만큼 분해율이 높지 않았다(16).

아미노산 분석

각 단계별로 얻어진 가수분해물의 아미노산 조성은 Table 2와 같다. 전체 아미노산의 함량은 각 시료간의 함량차이가 거의 없었으며, 단지 유리 아미노산의 함량은 FSEH, SSEH, TSEH 순으로 증가함을 보였다. 그러나 유리 아미노산의 함량은 전체 아미노산의 함량에 비해 상당히 적었으며 따라서 각각의 단계별로 3종류의 효소를 달리 처리하여도 젤라틴은 유리형 아미노산까지의 분해가 제대로 이루어지지 않은 것으로 알 수 있었다.

전체 아미노산의 함량을 보면 glycine(22%), glutamic acid(12%), proline+hydroxyproline(15%), alanine(9%), arginine(8%) 순으로 많이 분포하고 있으며, 이들 아미노산들이 전체 아미노산의 약 64%를 차지하고 있는 것으로 나타났다. 그리고 단맛과 관련된 아미노산인 glycine, proline+hydroxyproline, alanine, serine 등이 51%, 감칠맛과 신맛을 내는 아미노산인 glutamic acid와 aspartic acid가 19%으로서, 결국 바람직한 맛을 내는 아미노산이 약 70%를 차지하고 있었다. 한편, 쓴맛과 관련된 valine, methionine, leucine, isoleucine, phenylalanine, arginine 및 histidine 등의 소수성

Table 2. Amino acid compositions for FSEH, SSEH and TSEH.

Amino acid	FSEH		SSEH		TSEH	
	TA ¹	FA ²	TA	FA	TA	FA
Hyp	5.97	— ³	6.20	—	6.39	—
Asp	6.42	0.011	6.85	0.011	6.22	0.073
Thr	2.54	0	2.84	0.012	2.89	0
Ser	5.21	0.015	5.36	0.010	4.30	0.041
Glu	12.22	0.003	11.60	0.005	12.29	0.011
Gly	22.15	0.003	22.47	0.007	21.85	0.009
Ala	8.47	0.002	8.90	0.006	9.74	0.007
Cys	0.61	0	0.60	0	0.64	0.001
Val	3.11	0.009	2.83	0.009	2.88	0.009
Met	1.89	0	1.49	0.008	1.48	0
Ile	1.23	0.016	1.04	0.014	1.09	0.009
Leu	3.30	0.008	2.89	0.010	2.91	0.011
Tyr	0.53	0.003	0.58	0.007	0.54	0.009
Phe	2.31	0.011	2.07	0	2.06	0.027
His	3.54	0.003	3.95	0.023	3.75	0.017
Lys	3.18	0.002	3.04	0.013	2.93	0.012
Arg	8.44	0.023	8.01	0.001	8.66	0.014
Pro	8.88	0	9.26	0.012	9.38	0.013
Total	100.00	0.124	100.00	0.154	100.00	0.270

¹TA(total amino acid), ²FA(free amino acid),

³Not Detector

아미노산의 함량은 약 23%에 불과하였다. Adler-Nissen(17)은 단백질의 가수분해물의 쓴맛은 사용한 효소보다는 단백질에 들어 있는 소수성 아미노산의 함량과 관계가 있다고 보고하였다. 이러한 사실은 젤라틴의 가수분해물을 천연조미료의 원료로서 사용 가능하다는 것을 시사해 주고 있다. Stanley(18)도 단맛을 지닌 아미노산인 글리신이 다량으로 함유되어 있는 젤라틴을 쓴맛을 내는 단백질 가수분해물에 첨가하였을 때, 쓴맛을 감소시켜 준다고 보고하였다.

그러나 위의 결과를 유리 아미노산의 함량을 놓고 볼 때는 가수분해물의 분해율에 대해서는 다소 미흡하였다. 즉, 3단계 막반응기 시스템 하에서 제각기 다른 효소를 사용하여 가수분해하였지만, 유리 아미노산의 함량은 극히 적었으므로 젤라틴 특유의 Gly-Gly, Gly-Pro 사슬을 용이하게 절단할 수 있는 효소를 분리하여 저분자 펩티드 내지는 유리 아미노산까지의 분해효율을 높이는 연구가 이루어져야 할

Table 3. Sensory evaluation for the enzymatic hydrolysates on various steps.

Hydrolysate	Total score	Mean score*		
		Taste	Ordor	Color
FSEH	8.80	3.10±1.22 ^a	2.90±1.28 ^a	2.80±0.83 ^a
SSEH	8.80	3.30±1.25 ^a	2.80±0.96 ^a	2.70±0.64 ^a
TSEH	9.20	3.70±1.28 ^a	2.70±1.49 ^a	2.80±1.13 ^a

*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)

것으로 판단된다.

복합조미료 및 효소분해간장의 관능평가

3단계 막반응기 시스템을 이용한 명태피 젤라틴의 각 단계별 가수분해물에 대한 관능평가(맛, 냄새 및 색)를 실시하여 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 맛의 평가에서는 TSEH가 가장 높은 점수를 얻었으며, 냄새와 색의 평가에서는 3종류의 시료 모두 비슷한 점수를 얻었다. 그러나 종합 점수 평가로 볼 때 TSEH가 가장 높은 점수를 얻었으며, 시료들 간의 유의차는 5% 유의수준 내에서 관능적으로 서로 차이가 없었다. 이러한 결과를 볼 때 가수분해물의 분자량이 작은 펩티드가 많이 함유되어 있을 수록 조미료 소재로서 가장 중요한 맛의 평가면에서 우수한 것으로 나타났다. Fujimaki 등(19)도 FPC(fish protein concentrate)를 가수분해하여 각 분자량 획분별로 분리한 가수분해물 중, 분자량이 가장 낮은 1,000Da 이하의 가수분해물이 맛의 평가면에서 가장 좋은 것으로 보고하여 본 실험의 결과와 일치함을 보였다.

한편, 명태피 젤라틴의 각 단계별 가수분해물을 원료로 하여 제조한 복합조미료를 시판되고 있는 멸치 복합조미료(ACS), 조개 복합조미료(SCS) 및 쇠고기 복합조미료(BCS)와 비교하여 관능평가한 결과는 Table 4와 같다. 제조된 3종류의 가수분해물 복합조미료는 맛, 냄새 및 색의 평가면에서 5% 유의수준 내에서 관능적으로 유의차가 없었으며, 시판 복합조미료와 비교해 볼 때, 가수분해물 복합조미료는 종합점수에서 BCS보다는 못하였지만, ACS보다는 우수한 것으로 나타났고, SCS와는 5% 유의수준 내에서 관능적으로 유의차가 없었다. 세부 항목별 관능평가 결과를 검토해 보면, 맛의 평가에서 가수분해물 복합조미료는 BCS와 5% 유의차가 인

Table 4. Sensory evaluation for various complex seasonings.

Complex seasoning*	Total score	Mean score**		
		Taste	Ordor	Color
FSEHCS	8.40	2.90±1.19 ^b	2.70±1.15 ^a	2.80±0.63 ^a
SSEHCS	8.90	3.20±1.39 ^b	3.00±1.56 ^a	2.70±0.54 ^a
TSEHCS	9.10	3.30±1.26 ^b	2.90±1.37 ^a	2.90±0.53 ^a
ACS	6.00	1.40±0.69 ^c	1.80±1.13 ^b	2.80±0.81 ^a
SCS	8.80	3.10±1.19 ^b	2.80±1.13 ^a	2.90±0.54 ^a
BCS	10.20	3.90±1.44 ^a	3.40±0.69 ^a	2.90±0.33 ^a

*ACS, SCS, and BCS is anchovy, shellfish, and beef complex seasoning on market, respectively

**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 enzymatic hydrolysis sauces.

Sauce*	Total score	Mean score**		
		Taste	Ordor	Color
FSEHS	9.50	3.50±1.26 ^a	3.20±1.08 ^a	2.80±0.38 ^a
SSEHS	9.50	3.10±0.99 ^a	3.50±0.91 ^a	2.90±0.64 ^a
TSEHS	9.90	3.80±1.47 ^a	3.00±1.26 ^a	3.10±0.51 ^a

*FSEHS, SSEHS, and TSEHS is first step, second step, and third step enzymatic hydrolysis sauce, respectively.

**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)

정되었으나, 냄새와 색의 평가에서는 유의차가 인정되지 않았다.

단백질을 protease로 가수분해하면 쓴맛이 난다는 것은 예전부터 경험으로 알고 있다. 그 예로 대두 단백질의 펩신 분해물에서 많은 쓴맛 펩티드가 분리(3,4)되었고, 카제인의 트립신 분해물에서도 비교적 긴사슬의 쓴맛 펩티드가 분리(5,6)되었다. 그러나 어피젤라틴의 효소적 가수분해물은 관능평가에서, 특히 맛의 평가에서 쓴맛이 나타나지 않았고 평가점수도 모두 3.0 이상으로 나타났다. 그 이유는 어피젤라틴에는 단맛 및 감칠맛을 내는 아미노산인 glycine, alanine, proline, lysine, glutamic acid, aspartic acid 등이 다른 아미노산에 비해 다량으로 함유되어 있기 때문이며, 특히 쓴맛을 내는 아미노산

Table 6. Sensory evaluation for various sauces.

Sauce*	Total score	Mean score**		
		Taste	Ordor	Color
A	7.50	2.30 ± 1.25 ^b	2.30 ± 0.94 ^b	2.90 ± 0.69 ^a
B	7.60	2.10 ± 1.28 ^b	2.50 ± 1.35 ^b	3.00 ± 0.46 ^a
C	9.00	3.10 ± 1.10 ^a	3.00 ± 1.24 ^a	2.90 ± 0.58 ^a
D	10.30	3.40 ± 0.69 ^a	3.60 ± 0.69 ^a	3.30 ± 0.75 ^a
E	9.30	2.90 ± 1.28 ^a	3.30 ± 0.82 ^a	3.10 ± 0.92 ^a

*A ; TSEHS 100%, B ; TSEHS : fermented soy sauce = 90:10 (v/v), C ; TSEHS : fermented soy sauce = 80:20(v/v), D and E is soy sauce on the market {D; acid hydrolysis sauce : fermented sauce = 90:10(v/v), E: acid hydrolysis sauce : fermented sauce = 50:50(v/v)}

**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 소수성 아미노산의 함유량은 상대적으로 적기 때문이다.

3단계 막반응기 시스템에서 분해되어 얻어진 각 단계별 명태피 젤라틴의 가수분해물을 원료로 하여 제조한 효소분해간장의 관능평가에 대한 결과를 Table 5에 나타내었다. 3종류의 효소분해간장은 맛, 냄새 및 색의 평가에서 모두 5% 유의수준 내에서 관능적으로 유의차가 없었으나, 냄새 평가면에서 SSEHS가 다소 높은 점수를 얻었지만, 맛의 평가와 종합점수로 볼 때는 TSEHS가 가장 높은 점수를 얻었다. 따라서 제조된 3종류의 효소분해간장 중에서 TSEHS를 선정하여 시판 간장과 관능평가를 비교하였으며, 그 결과를 Table 6에 나타내었다.

관능평가의 종합점수에서, 가장 높은 점수를 얻은 제품은 시판간장 (D)였으며, 가장 낮은 점수를 얻은 제품은 효소분해간장 원액 (A), 그리고 시판 양조간장과 9:1(v/v)의 비로 혼합한 제조 혼합간장 (B)였다. 그러나 시판 양조간장과 8:2(v/v)의 비로 혼합한 제조 혼합간장 (C)는 시판 간장(E)와 비슷한 결과를 얻었다. 맛과 냄새의 평가면에서 제조 혼합간장 (C)는 시판간장 (D), (E)와 5% 유의수준 내에서 유의차가 없었으며, 색의 평가에서는 모든 간장 제품에서 5% 유의수준 내의 유의차가 인정되지 않았다.

현재 시장에서 판매되고 있는 간장은 양조간장과 산분해 간장이다. 양조간장은 오래 숙성기간을 통하여 특유의 향과 맛을 가지고 있는 장점이 있으나 제

조기간이 길고 제조비용이 높다는 단점을 가지고 있다. 한편, 산분해 간장은 제조기간이 짧고 제조비용이 낮아 양조간장의 단점을 보완할 수는 있지만, 양조간장 특유의 맛이 부족하며, 특히 산분해로 인하여 lisinoalanine, dichloropropanol과 같은 독성이 있는 부산물이 생성하거나 tryptophan과 같은 필수 아미노산의 손실을 가져오므로 여러 가지 안전성 문제가 대두되고 있다(2). 그러나 젤라틴을 원료로 한 효소분해 간장은 산분해 간장에 비하여 식품으로서의 안전성을 가지고 있으며 또한 종래의 인식과는 달리 단백질의 효소적 분해로 인한 쓴맛이 없다. 따라서 효소분해 간장을 시판 양조간장과 8:2(v/v)의 비로 혼합하여 제조한 혼합간장 (C)는 산분해 간장의 대용으로서의 이용 가능성이 충분한 것으로 판단되었다.

요 약

명태피 젤라틴을 원료로 하여 재순환 3단계 막반응기 시스템에서 연속적으로 1단계(FSEH), 2단계(SSEH) 및 3단계 효소적 가수분해물(TSEH)을 제조하여 쓴맛의 존재 유무를 평가한 바, 일반적으로 단백질의 효소적 가수분해물에서 나타나는 쓴맛이 없으므로 식품 특히 조미료로서의 이용 가능성을 기대할 수 있었다.

명태피 젤라틴의 각 단계별 가수분해물에 대한 분자량 분포는 FSEH, SSEH 및 TSEH이 각각 9,500~4,800Da, 6,600~3,400Da 및 2,300~900Da이었으며 유리아미노산 내지는 저분자 펩티드로 분해하지 못하였다. 각 단계별로 얻어진 가수분해물의 아미노산 조성 중 전체 아미노산의 함량을 보면 glycine(22%), glutamic acid(12%), proline+hydroxyproline(15%), alanine(9%), arginine(8%) 순으로 많이 분포하고 있으며, 단맛과 관련된 아미노산인 glycine, proline+hydroxyproline, alanine, serine 등이 51%, 감칠맛과 신맛을 내는 아미노산인 glutamic acid와 aspartic acid가 19%으로서, 결국 바람직할 맛을 내는 아미노산이 약 70%를 차지하고 있었다. 그러나 유리 아미노산의 함량은 전체 아미노산의 함량에 비해 상당히 적었으며 따라서 각각의 단계별로 3종류의 효소를 달리 처리하여도 젤라틴은 유리형 아미노산까지의 분해가 제대로 이루어지지 않았다.

각 단계별 가수분해물 자체에 대한 관능평가를 비교한 결과, 3단계 가수분해물인 TSEH가 맛과 종합

평가에서 가장 높은 점수를 얻었으며, 가수분해물의 복합조미료에 대한 관능평가는 3단계 가수분해물로 제조한 TSEHCS가 종합점수에서 시판 BCS보다는 못하였지만 ACS보다는 우수하였고, SCS와는 5%의 유의수준 내에서 유의차가 없었다. 또한 효소적 가수분해물을 이용한 효소분해 간장을 제조한 후 관능평가를 실시한 결과, 효소분해 간장을 시판 양조간장과 8:2(v/v)의 비로 혼합하여 제조한 혼합간장(C)는 산분해 간장의 대용으로서의 이용 가능성이 충분한 것으로 판단되었다.

감 사

본 연구는 과학기술처에서 시행한 특정연구개발사업과제(1993) 수행에 의한 연구결과이며, 연구비를 지원해 준 과학기술처에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 太田靜行(1990), *New Food Industry*, **32**, 1.
2. 山内文男(1992), *New Food Industry*, **34**, 6.
3. S. Arai, M. Yamashita, H. Kato and M. Fujimaki(1970), *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 729.
4. M. Yamashita, S. Arai and M. Fujimaki(1969), *Agric. Biol. Chem.*, **33**, 321.
5. T. Matoba, Y. Hayashi and T. Hata(1970), *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1235.
6. A. Hashimoto, H. Aoyagi and N. Izumiya(1980), *Bull. Chem. Soc. Japan.*, **53**, 2926.
7. S. Y. Tanimoto, S. Tanabe, M. Watanabe and S. Arai(1991), *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1119.
8. S. H. Mojarro-Guerra, R. Amado, E. Arrigoni and J. Solms(1991), *J. Food Sci.*, **56**, 943.
9. I. Shinoda, Y. Noshio, K. Otagiri, H. Okai and S. Fukui(1986), *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1785.
10. K. Otagiri, Y. Noshio, I. Shinoda, H. Fukui and H. Okai(1985), *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1019.
11. J. F. Roland, D. L. Mattis, S. Kiang and W. L. Alm(1978), *J. Food Sci.*, **43**, 1491.
12. G. Lalasidis and L. B. Sjberg(1978), *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 742.
13. 김세권, 변희국(1994), *공업화학회지*, **5**, 681.
14. 김세권, 양현필, 이응호(1991), *한국생물공학회지*, **6**, 327.
15. W. D. Deeslie and M. Cheryan(1991), *J. Food Sci.*, **57**, 411.
16. 김세권, 안창범, 강옥주(1993), *한국영양식량학회지*, **22**, 470.
17. Adler-Nissen(1976), *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1090.
18. D. W. Stanley(1981), *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **14**, 49.
19. M. Fujimaki, S. Arai, M. Yamashita, H. Kato and M. Noguchi(1973), *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 2891.