

단백질 분해효소로 원료 처리하여 제조한 효소분해 간장의 특성

채희정[†] · 인만진 · 김민홍
(주)미원 중앙연구소

Production and Characteristics of Enzymatically Hydrolyzed Soy Sauce by the Treatment Using Proteases

Hee-Jeong Chae[†], Man-Jin In and Min-Hong Kim

R&D Center, Miwon Co., Ltd, Icheon 467-810, Korea

Abstract

Enzymatically hydrolyzed soy sauce(eHSS) was prepared by the treatment of defatted soy flake using two types of proteases, followed by maillard reaction and formulation with some ingredients. The eHSS was mixed with fermented soy sauce(FSS) to make enzymatically hydrolyzed mixed soy sauce(eHMSS). The properties and sensory characteristics were evaluated and compared with commercially available soy sauces. The control of salt and total nitrogen contents in eHSS and eHMSS was easy, and the production of soy sauce of low salt and high protein was possible. However, the free amino acid content of eHSS was lower than FSS, due to lower degree of hydrolysis. In sensory evaluation, the eHSS have no less taste and overall acceptance than FSS. Consequently, the eHSS and eHMSS have the potential for use with FSS to produce high quality soy sauce of low salt and high protein contents.

Key words: enzymatically hydrolyzed soy sauce, soy protein hydrolysate, protease

서 론

일반적으로 복합 조미료, 소스류 등과 같은 가공식품의 원료 및 첨가물로 산분해 간장이 광범위하게 사용되고 있다. 산분해 간장의 주원료인 산분해 식물성 가수분해 단백질(acid hydrolyzed vegetable protein: aHVP)은 탈지 대두박 또는 소맥 글루텐 같은 식물성 단백질에 염산을 첨가하고 100~125°C에서 4~24시간 반응시켜 단백질을 대부분 유리아미노산으로 분해한 후 중화, 여과, 탈색, 탈취 공정을 통하여 제조한다. 이를 원료로 감미료, 보존료 등을 첨가하여 산분해 간장을 제조하는 것으로 알려져 있다(1). 이 산분해 간장은 산분해 후 탄산칼슘 또는 탄산나트륨을 이용한 중화로 제품 중 염의 농도가 15~18%로 매우 높고, 산분해 과정에서 탈지대두박에 잔류하는 글리세린이 염산과 반응하여 생성되어, 발암물질로 유해성 논란이 있는 3-chloro-1,2-propanediol(MCPD)과 1,3-dichloro-2-propanol(DCP)도

함유되어 있다(2,3). 양조간장은 탈지 대두와 볶은 소맥을 잘 혼합하여 선별된 종균을 접종시켜 염수속에서 6~12개월 발효시킨 후 이를 압착하여 감미료나 조미료 등을 첨가하여 제조하므로 MCPD, DCP와 같은 위해 성분이 없다. 반면 미생물 발효에 의하여 제조하므로 제조기간이 길며 이에 필요한 부대 설비를 필요로 하고 원료의 이용률이 떨어지는 단점을 갖고 있다. 또한 장기간 숙성하는 동안 보존성을 높이기 위하여 다량의 식염을 사용하므로 산분해 간장과 동일하게 제품 중의 염 농도가 높다는 단점도 있다. 공장 생산에 의한 간장 제조는 양조간장과 산분해 간장을 적절히 조합한 혼합 간장이 기호면이나 가격면에서 유리하기 때문에 널리 이용되고 있다.

단백질 분해효소를 이용한 단백질 소재의 제조에는 어육 단백질을 분해를 통한 액젓의 숙성 제조(4), 식물 단백질의 가수분해에 의한 조미 소재의 제조 등이 보고되고 있으나(5-7) 효소를 이용한 방법은 자연 발효,

[†]To whom all correspondence should be addressed

속성으로 제조한 것에 비하여 풍미, 감칠맛 등이 부족하여 제조기간을 단축시킬 수 있는 이점에도 불구하고 산업화의 사례는 미미하다. 조미 소재보다는 기능성 펩타이드 제조를 위하여 단백질 분해효소가 많이 이용되고 있다(8,9)

본 연구에서는 산분해 간장과 양조간장의 문제점에 대한 대책으로 단백질 분해효소로 탈지 대두박을 가수분해하여 제조한 효소분해 식물성 가수분해 단백질(enzymatically hydrolyzed vegetable protein: eHVP)을 이용하여 효소분해 간장을 제조하였다. 또한 효소분해 간장에서 부족한 풍미, 감칠맛 등을 보완하기 위하여 기존의 양조간장과 혼합하여 효소분해 혼합간장도 제조하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

단백질 원료 및 재료

단백질 원료로는 탈지 대두박(신동방, 한국)을, 단백질 분해효소로는 Novo사(Bagsvaerd, Denmark)의 AlcalaseTM와 FlavourzymeTM를 사용하였다. 분석 시약은 Merck사(Darmstadt, Germany)의 제품이었으며, 간장의 제조에 사용한 자일로스(xylose), 포도당, 글리신(glycine), monosodium glutamate(MSG), inosine monophosphate(IMP), 과당, 설탕 등은 식품용 등급이었다.

효소분해 간장의 제조

효소분해 간장 제조의 원료인 단백질 가수분해물(eHVP)은 임 등(7)의 방법에 따라 제조하였다. 곱게 분쇄한 탈지 대두박(단백질 함량 45%)에 10배의 증류수를 가하고 pH를 7.0으로 조절한 다음 AlcalaseTM와 FlavourzymeTM를 고형분 기준으로 각각 0.2%씩 첨가하여 50°C에서 8시간 가수분해하였다. 80°C에서 20분간 열처리하여 효소를 실효시키고 여과하여 고형분을 제거한 후 60~85°C에서 감압농축하고 활성탄을 이용하여 탈색, 탈취하여 최종 가수분해물을 얻었다. 30°Brix로 농축된 가수분해물(eHVP) 25kg에 자일로스 0.5%, 포도당 1%, 글리신(glycine) 0.5%를 첨가한 후 90°C에서 30분간 마일러드(Maillard)반응을 시키고 중량 기준으로 MSG 0.84%, IMP 0.04%, 식염 5%를 첨가, 혼합하였다. 이에 감미료로 과당 16%, 설탕 0.5%를 첨가하여 10~20분간 교반하여 혼합하고 멸균하여 효소분해 간장을 제조하였다. 효소분해 혼합간장은 효소분해 간장과 양조간장(순창 양조간장, 화영식품)을 1:1 중량비로 혼합하여 제조하였다.

분석방법

가수분해도(degree of hydrolysis: DH)는 trinitrobenzenesulfonic acid(TNBS)를 이용하여 측정하였으며(10). 유리아미노산 함량은 Hitachi사(Tokyo, Japan)의 amino acid analyzer(model 835 AA)로, 분자량 분포는 size exclusion chromatography(column: ShodexTM Protein KW-802.5, Showa Denko, Japan)로 분석하였다(11). 단백질 함량은 총 질소(total nitrogen: TN)를 Kjeldahl분석기로(12) 정량함으로써 계산하였다(질소계수는 6.25). 일반 성분분석은 AOAC법(13)에 준하여 실시하였다. MCPD와 DCP는 SIM(selected ion monitoring)기법(14)으로 GC-MS(Jeol, Japan)를 사용하여 분석하였다.

관능검사

선발된 100명의 주부 패널원을 대상으로 하여 효소분해 간장, 효소분해 혼합간장과 시판 양조간장(순창 양조간장)을 나눠 주고 가정유치조사(home user test)를 실시하였으며, 평가 항목은 색깔(color), 냄새(odor), 맛(taste)과 전체적인 수용도(overall acceptance)이었다. 모든 관능적 특성은 제품별 각 특성에 대한 좋고 나쁨을 알고자 하여 최저 1점, 최고 5점으로 5점 척도법을 이용하여 평가하였다

결과 및 고찰

효소분해 간장의 제조

효소분해 간장(enzymatically hydrolyzed soy sauce: eHSS)을 제조하기 위하여 먼저 제조한 효소분해 HVP(eHVP)는 고형분 농도 30%, 총 질소 함량 2.8%, 염 농도 0.7%, 가수분해도 50%로 부드러운 맛을 나타내었다. eHVP는 복합 조미료의 원료, 미생물 배양의 배지 등과 같은 용도가 보고되어 있으나(7,15) 비교적 풍미와 맛이 약하여 용도가 제한되는 문제점이 있다. 본 연구에서는 eHVP에 당과 아미노산(xylose, glucose, glycine)을 첨가하여 마일러드반응으로 풍미를 향상시키고 조미 과정을 통하여 맛이 향상된 효소분해 간장을 제조하였다. 그러나 효소분해 간장은 양조간장(fermented soy sauce: FSS)과 달리 유기산, 휘발성 방향 성분이 존재하지 않기 때문에 관능적 특성이 기존의 양조간장에 비하여 약한 단점을 갖고 있었다. 이러한 관능적 열악성을 보완하기 위해 시판 중인 양조간장과 1:1로 혼합하여 효소분해 혼합간장(enzymatically hydrolyzed mixed soy sauce: eHMSS)을 제조하였다.

Table 1. Comparison of enzymatically hydrolyzed soy sauces and commercially available soy sauce

	Enzymatically hydrolyzed soy sauce (eHSS)	Enzymatically hydrolyzed mixed soy sauce ¹⁾ (eHMSS)	Commercially available soy sauces		
			Fermented soy sauce (FSS)	Acid hydrolyzed soy sauce (aHSS)	Low-salt fermented soy sauce
TN(%)	2.2	1.9	1.5	1.0	1.5
Salt(t)	5.5	11.3	17	14	12
DH(%)	48	54	64	77	62
Average MW	400	330	250	200	250

¹⁾Mixing ratio, eHSS : FSS=50 : 50

성분 분석 비교

효소분해 간장과 효소분해 혼합간장을 시중에 유통되고 있는 양조간장(순창 양조간장, 화영식품), 산분해 혼합간장(양조간장과 산분해 간장을 1:1로 혼합한 제품, 순창 토속간장, 화영식품) 및 저염 간장(샘표 저염간장, 샘표식품)과 성분을 분석하여 비교하였다(Table 1). 효소분해 간장의 총 질소 함량은 2.2%로 기존 양조간장에 비하여 1.5배 수준이었으며, 이는 양조간장과는 달리 효소분해 과정에서 원료의 농도, 효소반응 조건 등에 의해 임의로 조절이 가능한 특성이다. 효소분해 간장에 존재하는 염은 조미 과정에서 첨가한 것(5%)과, 원료 자체로부터 직접, 또는 효소반응 전후 pH 조절용으로 사용된 NaOH와 HCl로부터 유래하는 것(0.7%)으로, 효소분해시에는 보존을 위해 인위적으로 염을 첨가하지 않고 조미시에 용도에 맞추어 가열하기 때문에 염 농도의 조절이 용이하다. 본 연구에서 제조한 효소분해 간장의 염 농도는 5.5%로서 시중에서 유통되고 있는 저염 간장의 절반 수준으로 매우 낮아 다른 원료와의 배합에 제한 요인이 되지 않는 특성이라 할 수 있다. 즉, 공정상 염의 함량이 6% 이하이므로 전기 투석과 같은 별도의 탈염 공정이 필요하지 않으며 임의로 식염을 첨가하여 원하는 농도의 저염 간장을 제조할 수 있고, 양조간장과 혼합 단계에서 사용상 제한이 없어 식물성 고단백 간장의 제조가 가능하다. 가수분해도는 가수분해된 펩타이드의 백분율로서 효소분해의 척도로 사용된다. 본 연구에서는 endoprotease와 exoprotease의 혼합 사용으로 48% 수준의 높은 가수분해도를 얻을 수 있었으며 이때 평균 분자량은 약 400으로 가수분해 단백질의 주성분은 아미노산이 2~4개 연결되어 있는 펩타이드임을 알 수 있었다. 시중에 시판되고 있는 양조간장이나 산분해 혼합간장의 가수분해도는 효소분해 간장보다 높은 60% 이상이며 평균 분자량은 약 250으로 주로 dipeptide로 구성되어 있어 효소분해 간장의 식품학적 특성은 양조간장, 산분해 혼합간장(acid hydrolyzed soy sauce: aHSS)과 유사함을 알 수 있었다. 또한 효소분해 간장과 효소분해 혼합간장의 MCPD와 DCP

의 함량을 분석한 결과 양조간장과 동일하게 두 물질이 전혀 검출되지 않았다(14). 효소분해 간장, 효소분해 혼합간장 및 양조간장에서 풍미에 영향을 주는 유리 아미노산 함량을 분석한 결과(Table 2), 효소분해 간장은 양조간장에 비하여 단백질 함량이 높음에도 불구하고 유리 아미노산의 함량이 낮았으며, 이는 가수분해도의 차이에 기인하는 것으로 풍미가 양조간장에 비하여 약한 원인이 되는 것으로 보인다.

효소분해 간장의 관능검사

선발된 100명의 주부 패널원을 대상으로 하여 효소분해 간장, 효소분해 혼합간장, 양조간장, 산분해 간장 및 저염 양조간장을 나눠 주고 5점 척도법으로 가정유치조사(home user test)를 실시하였다(Table 3). 맛에서는 효소분해 간장과 산분해 혼합간장이 가장 높은 점수를, 색에서는 산분해 혼합간장이 가장 낮은 점수를 나타내었다. 효소분해 간장은 전체적인 수용도(overall

Table 2. Free amino acid compositions of enzymatically hydrolyzed soy sauces and fermented soy sauce

Amino acid(%)	Enzymatically hydrolyzed soy sauce(eHSS)	Enzymatically hydrolyzed mixed soy sauce (eHMSS)	Fermented soy sauce (FSS)
Asp	0.15	0.22	0.28
Thr	0.13	0.16	0.18
Ser	0.16	0.18	0.26
Glu	1.14	1.33	1.50
Gly	0.3	0.23	0.17
Ala	0.12	0.30	0.47
Cys	0.06	0.06	0.07
Val	0.2	0.22	0.27
Met	0.01	0.06	0.11
Ile	0.15	0.18	0.20
Leu	0.35	0.33	0.30
Tyr	0.14	0.10	0.04
Phe	0.55	0.31	0.05
Lys	0.16	0.25	0.36
His	0.06	0.04	0.03
Arg	0.26	0.17	0.08
Total	3.94	4.14	4.84

Table 3. Sensory evaluation of enzymatically hydrolyzed soy sauces and other commercially available soy sauces

	Enzymatically hydrolyzed soy sauce (eHSS)	Enzymatically hydrolyzed mixed soy sauce (eHMSS)	Commercially available soy sauces		
			Fermented soy sauce (FSS)	Acid hydrolyzed soy sauce (aHSS)	Low-salt fermented soy sauce
Taste	3.81±0.61	3.53±0.54	3.31±0.71	3.78±0.41	3.65±0.58
Color	3.73±0.42	3.65±0.38	3.35±0.36	3.12±0.47	3.81±0.49
Odor	3.22±0.80	3.52±0.42	3.64±0.52	3.43±0.54	3.52±0.61
Overall acceptance	3.48±0.73	3.62±0.65	3.51±0.51	3.82±0.60	3.47±0.46

Values are mean±S.D.

acceptance)에서 저염 양조간장과 비슷한 관능적 특성을, 효소분해 혼합간장은 산분해 혼합간장보다는 낮지만 양조간장에 비해 우수한 관능적 특성을 나타냈다. 전체적으로 각각의 시료들간에 유의적인 차이가 없었으며, 이는 eHVP를 이용하여 마이러드반응과 조미 과정을 통하여 제조한 효소분해 간장과 효소분해 혼합간장이 기존의 양조간장과 함께 사용되어 저염 간장의 제조 및 고단백 특급 간장의 제조에 응용될 수 있는 가능성을 나타내고 있다.

요 약

탈지 대두박에 두종류의 단백질 분해효소를 처리하여 식물 가수분해 단백을 제조하고, 마이러드반응과 조미 과정을 통하여 효소분해 간장을 만들어, 이를 양조간장과 혼합하여 효소분해 혼합간장을 제조하였다. 효소분해 간장과 효소분해 혼합간장의 특성과 관능을 시판 중인 양조간장, 저염 간장, 산분해 혼합간장과 비교하였다. 효소분해 간장은 양조간장에 비하여 염 농도와 총 질소 함량의 조절이 용이하나 상대적으로 낮은 단백질 가수분해도로 유리아미노산의 함량이 낮았다. 그러나 관능검사의 결과는 맛과 전체적인 수용도에서 양조간장과 유의적인 차이가 없어 기존의 양조간장과 함께 사용되어 저염 및 고단백 특급 간장의 제조에 응용될 수 있는 가능성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구의 일부는 덴마크의 NOVO사(NOVO Nordisk A/S)와의 협력하에 진행된 것으로 Mr. Klaus Pommer를 비롯한 NOVO사 관계자들에게 감사드립니다.

문 헌

1. 고정삼 . 식품가공학. 광일문화사, 서울, p.175(1994)

2. IHPC Report 3-6-95: Position paper on 3-monochloropropanediol(3-MCPD). IHPC board, Washington, D. C.(1995)
3. Dixit, V. P., Lohiya, N. K. and Araya, M.: Observations of the effects of 3-chloro-1,2-propanediol on the female reproductive tract and pituitary gonadotrophs of the gerbil(*Meriones hurrianae*). *Folia Biologica*, **22**, 281(1974)
4. Owens, J. D. and Mendoza, L. S.: Enzymatically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. *J. Food Technol.*, **20**, 273(1985)
5. 김은정, 차용준 . 참치 가공부산물로부터 단백질 분해효소를 이용한 기능성 천연조미료 제제의 개발 1. 참치 가공부산물로부터 단백질 가수분해물의 제조. 한국식품영양과학회지, **25**, 608(1996)
6. Pommer, K.: New proteolytic enzymes for the production of savory ingredients. *Cereal Foods World*, **40**, 745(1995)
7. 임철, 박완수, 조운제, 채희정, 김민홍: 식물단백질의 효소가수분해물을 함유하는 고품미, 고단백 조미료 조성물. 한국 공개특허 96-16754호(1996)
8. Maruyama, S. and Suzuki, H.: A peptide inhibitor of angiotensin I converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1393(1982)
9. 유리나, 박수아, 정대균, 남희섭, 신재익: 대두 가수분해물에서 분리한 UF-peptide가 *in vivo*에서 자발성 고혈압 흰쥐의 혈압 강하에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, **25**, 1031(1996)
10. Adler-Nissen, J.: Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 1256(1979)
11. Richter, W. O., Jacob, B. and Schwandt, P.: Molecular weight determination of peptides by high-performance gel permeation chromatography. *Anal. Biochem.*, **133**, 288(1983)
12. Hjalmarsson, S. and Akesson, R.: Modern Kjeldahl procedure. *Int. Laboratory*, April, p.70(1983)
13. A.O.A.C.: *Official methods of analysis*. 13th ed., Association of official analytical chemists, Washington, D.C.(1980)
14. 채희정, 인만진, 김민홍, 한금수: 고체상 추출에 의한 1,3-dichloro-2-propanol과 3-chloro-1,2-propanediol의 분석. 한국식품과학회지, **29**, 183(1997)
15. 인만진, 최경호, 임철, 유귀환, 김민홍: 대두박 효소분해물의 미생물 배양물 배지로서의 용도. 한국 공개특허 96-17840호(1996)

(1997년 7월 2일 접수)