

## 수산식품 조미제 개발을 위한 굴 자숙 농축액의 이용

김 정 한  
여수대학교 냉동공학과

### Potential Utilization of Concentrated Oyster Cooker Effluent for Seafood Flavoring Agent

Jeong Han KIM

Department of Refrigeration Engineering, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

Proximate composition of concentrated oyster cooker effluent (COCE) was 70% moisture, 8.55% total nitrogen, and 18.6% ash. Optimum conditions for enzymatic hydrolysis of COCE (200 ml) were pH 7.0~7.5 and 50~60°C for 8 h reaction time with 0.128 U of *Aspergillus oryzae* PF protease (AOP). Hydrolysis of COCE led to an increase in free amino acids to 1.41 fold, with taurine comprising about 17.62% of the total free amino acid. Fifty volatile flavor components were identified in COCE and 63 in enzyme treated COCE (HCOCE). Volatile flavor compounds were increased significantly in HCOCE when compared with untreated COCE. Results of this study might help to alleviate the current wastewater disposal problem caused by oyster cooker effluent.

Key words:

#### 서 론

1995년도 우리 나라 굴 총 생산량은 18만톤으로 이중 4만 4천 톤 가량 통조림 원료로 처리되고 있다 (Korean Fisheries Association, 1996). 굴 통조림 제조시 파생되는 자숙액은 8°brix 기준으로 연간 40,000 톤에 달하고 있다. 굴자숙액에서 파생되는 자숙액은 해수와 희석하여 연안으로 방류되거나 자숙액을 가열농축하여 총 고형물의 농도를 40°brix까지 농축시켜 굴향미제 원료로 이용하고 있다. 굴자숙 농축액에는 다량의 유기화합물과 굴 향미가 함유되어 있으므로 이들을 효과적으로 이용함으로써 가공폐기물에 의한 환경오염을 방지함과 동시에 수산자원의 효율적인 이용이 가능하다.

수산가공부산물을 효과적으로 활용하기 위하여 새우 가공공장에서부터 배출되는 배출수 중의 수용성 유기화합물을 회수하여 이용하기 위한 연구가 수행되었으며 (Perkins and Meyers, 1977), 배출수로부터 유기물을 회수함으로써 수질오염을 해결할 뿐만 아니라 수산가공 부산물의 이용도를 극대화하고 있다. 한편 조개 가공시에 배출되는 수세액을 이용하여 조개 향미제 개발을 위한 연구 결과 조개 향미제 개발의 가능성이 보고되었다 (Reddy et al., 1989; Joh and Hood, 1979; Burnette et al., 1983). 또한 굴 가공시에 파생되는 침출수에는 단백질과 비단백태 질소화합물이 다량 함유되어 있으며 이를 이용한 굴 스프원료 (Shiau and Chai, 1990)로서의 이용이 시도되었으나 높은 염도 때문에 상용화에 어려움이 있는 것으로 보고되고 있다. 한편 수산가공부산물을 단백질 분해효소로 처리하여 향미성분 전구체의 추출을 향상시켜 수산향미제 개발에 관한 연구들이 수행되어오고 있으며, 특히 게 살재임 공장 폐기물인 게 껍질을 마쇄하여 단백질 분해효소로 처리한 결과 고소한 맛의 주체인 pyrazine 화합물이 증가하였으며 (Kim et al., 1994), 북미산 가재를 마쇄하여 수종의 상용 단백질 분해효소로 처리한 결과 향미성분의 함량이 증가되었다고 보고되고 있다 (Baek and Cadwallader, 1995).

따라서 본 연구에서는 *Aspergillus oryzae* PF에서 생산된 단백질 분해효소 (AOP)를 이용하여 굴자숙 농축액 중의 단백질을 효과적으로 분해할 수 있는 조건을 검토하였다. 그리고 굴 자숙농축액을 AOP로 분해시킴으로써 수산향미제 개발을 위한 가수분해물의 화학적인 성분을 분석하였기에 보고하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 1. 재료

굴 자숙액은 자숙농축액 수출회사인 삼덕물산(주) (경남 마산시 합포구 구산면 난포리)에서 입수하여 탈염한 후, 단백질 분해효소에 의한 가수분해 반응에 사용하였다. AOP는 Kim (1997)의 방법에 의해 개발된 효소를 제공받아 사용하였다.

##### 2. 방법

###### 2-1. 자숙액을 이용한 단백질 분해효소의 활성측정

굴 자숙액 중의 단백질을 가수분해시키기 위해 AOP를 사용하였다. 단백질 분해효소활성은 Ahn and Kim의 방법 (1996)에 따라 측정하였다. 즉, 적당히 희석된 AOP 20~50 µl를 각 시험관 (1.3×5 cm)에 취한 후 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.5) 750 µl를 가하여 혼합한 후, 기질 250 µl를 각각의 시험관에 첨가하여 항온수조에서 20분간 반응시킨 다음 5% trichloroacetic acid (TCA)용액 1 ml를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 반응액을 상온에서 30분간 방치시킨 후, 원심분리 (3,000×g, 15 min)한 다음, 상등액 0.5 ml를 취하여 1.25 ml의 5.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액과 0.5 ml의 3배 희석된 Foline-Ciocalteu's 시약을 가하여 45°C에서 20분간 방치시킨 다음, Lowry et al. (1951) 방법에 따라 분광광도계 (UV/Vis spectrophotometer, Shimadzu UV-140-02)를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 tyrosine의 농도에 따른 검량선에 의하여

결정하였다. 효소의 활성단위는 단위 반응시간(분)당 효소량 1 ml에 대하여 1  $\mu$ mole의 tyrosine을 유리시키는 양을 1 unit (U)로 나타내었다.

#### 2-1-1. pH의 영향

AOP용액 50  $\mu$ l와 250  $\mu$ l의 굴 자숙농축액, 그리고 pH가 다른 완충액 0.1 M sodium acetate (pH 4.0~6.0), 0.1 M sodium phosphate (pH 6.0~8.0), 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5~8.5), 0.1 M sodium carbonate (pH 8.5~10.0) 750  $\mu$ l을 혼합한 후 50°C에서 30분간 반응시킨 다음 5% TCA 용액 1 ml를 가하여 반응을 정지시키고 Lowry et al. (1951) 방법에 따라 분광광도계로 660 nm에서 측정하였다.

#### 2-1-2. 온도의 영향

굴 자숙농축액 250  $\mu$ l에 대하여 AOP 50  $\mu$ l, 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.0) 750  $\mu$ l를 혼합한 후 반응온도를 25~70°C의 범위에서 10°C 간격으로 각각 설정하여 30분간 반응시킨 후 5% TCA 용액 1 ml를 가하여 반응을 정지시킨 후 Lowry et al. (1951) 방법에 따라 분광광도계로 660 nm에서 측정하였다.

#### 2-1-3. 반응시간의 영향

AOP의 최적조건하에서 250 ml의 굴 자숙액 농축액에 0.2% (3,000 U)의 효소량을 첨가하여 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간 반응시켜 각 시간별로 가수분해율을 측정하였다. 각 시간마다 가수분해율 측정 시료 1 ml씩을 취해 5% TCA 1 ml와 CCl<sub>4</sub> 100  $\mu$ l를 가하여 혼합한 후 원심분리 (3,000×g, 10 min)하여 상등액을 적당히 희석하여 ninhydrin법으로 측정하였다. 그리고 총아미노산의 양은 시료 1 ml에 12 N HCl 1 ml를 넣고 질소를 충전시킨 뒤 진공상태로 밀봉하여 110°C sand bath에서 24시간 동안 가수분해시킨 후, Whatman paper No. 1로 여과하고 6 N NaOH로 중화시킨 다음 100 ml로 정용 후 적당량의 시료를 ninhydrin 반응에 의하여 총 아미노산 양을 구하였다. 이때 사용한 판계식은 아래와 같다.

$$\text{가수분해율 (DH, \%)} = \frac{(L_t - L_o)}{(L_{\max} - L_o)} \times 100$$

L<sub>t</sub>: 각 시간별 분해물 중의 amino acid의 양

L<sub>o</sub>: 효소반응 전에 유리되어 있던 amino acid의 양

L<sub>max</sub>: 염산 가수분해 후 시료의 총 amino acid의 양

#### 2-2. 일반성분

일반성분은 AOAC법 (1980)에 따라 수분은 상압 가열 건조법으로 단백질은 semi-micro Kjeldahl 법, 지질은 Bligh & Dyer 법으로 회분은 건식회화법으로 정량하였다.

#### 2-3. 유리아미노산 분석

시료 1 ml를 시험관에 취하여 50 mg의 5'-sulfosalicic acid를 가하여 혼합한 후 원심분리 (3,000×g, 15 min) 후 단백질이 제거된 상등액을 취하여 0.2  $\mu$ m filter로 여과하고 0.3 M lithium hydroxide로 pH를 2.2로 조정후 아미노산 자동분석기 (Pharmacia Biochrom 20, Li<sup>+</sup> type high performance ultra pack, U.K.)로 정량 분석하였다.

#### 2-4. 향미성분 추출

2 ml의 시료를 purge & trap concentrator (Tekmar 3000, Automatic sampler 2016, Cincinnati, OH, U.S.A.)의 시험관에 넣고 40°C로 유

지하면서 helium gas (30 ml/min)로 20분간 purge하여 이를 Tenax TA (Chrompack, Inc., Raritan, NJ., U.S.A.)로 충전된 column에 흡착하였다. 이 column을 225°C로 가열하고 이를 cryofocusing module (Tekmar, Cincinnati, OH, U.S.A.)을 사용하여 GC/MS (Shimadzu QP-5000, Tokyo, Japan)에 주입하여 분석하였다.

#### 2-5. GC/MS의 분석조건

향미성분 분석용 column 은 Supelcowax 10 capillary column (60 m long×0.25 mm i.d.×0.25  $\mu$ m film thickness)을 사용하였으며 운반기체는 He으로 선속도는 22.5 cm/sec, column pressure는 46.9 kPa로 설정하였다. Oven 온도는 35°C에서 5분간 유지한 후, 175°C까지 2°C/min 속도로 승온하여 10분간 유지하였다. MS 분석 조건으로 capillary direct interface 온도는 230°C, ion source 온도는 230°C, mass range는 45~350 a.m.u., electron multiplier voltage는 1500 V 그리고 scan rate는 1 cm/sec로 조정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 일반성분

수산물 가공공장에서 파생되는 굴 자숙액의 일반성분을 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1에 나타난 바와 같이 조단백질 함량은 8.55%, 지질의 함량은 0.28%로 아주 낮은 반면에 회분은 18.6%로 나타났다. NaCl 함량이 14.6%로 회분 중의 약 78.5%가 NaCl로 구성되어 있었다.

굴 자숙액을 제조할 경우, 대체로 제조회사 또는 제조시기에 따라 다소 차이가 있으며, 자숙액의 제품 규격은 총 고형분 (TDS)이 40 brix 이상이어야 한다. 따라서 이러한 조건의 TDS를 맞추기 위하여 가열 농축을 하며, 이때 염도 동시에 농축되어 높은 회분 함량을 나타낸다. 그리고, 굴 자숙농축액에는 2.4% 가량의 glyco-gen이 함유되어 있으며, 자숙액의 점도 상승의 원인이 된다 (Kim et al., 1999). 자숙액의 다른 종류인 참치 자숙액의 일반성분은 대체로 변화가 적고, 원료 참치의 종류에 따라 차이가 있으며 (Ahn and Kim, 1996), 참치 자숙농축액의 염도는 2.1~2.4% (Ahn and Kim, 1996)로 보고되었으며, 참치 자숙액의 단백질 함량은 약 4% 부근이며, 어피에서 유래된 gelatin성 단백질이다 (Ahn and Kim, 1996). Table 1에 나타난 바와 같이 각 시료의 조단백질 함량은 천연 조미제를 제조할 경우 최종제품에 있어서 탁도와 점도의 상승요인으로 작용할 수 있다. 그러므로 단백질 분해효소를 이용하여 단백질을 저분자 peptide류와 아미노산으로 분해시킴으로써 최종 제품의 품질을 향상시킬 수 있다. 또한, 유리된 아미노산과 첨가된 당류에 의한 갈변반응으로 pyrazine과 같은 고소한 맛 성분의 생성을 촉진시킬 수 있는 가능성을 제시하고 있다 (Kim et al., 1994).

Table 1. Proximate compositions of oyster cooker effluent.

Components	g/100 g
Moisture	70.0
Protein	8.55
Lipid	0.28
Ash	18.6
NaCl	14.6

## 2. 굴 자숙액 분해를 위한 반응 조건

AOP에 의한 굴 자숙농축액 중의 단백질의 분해를 pH에 따라 측정된 결과는 Fig. 1A에 나타난 바와 같이 pH 7.5에서 최적이었다. 그리고 pH 6.5에서는 최적활성의 65%를 나타내었으나, pH 5.5 이하와 pH 8.0 이상에서는 최대활성의 30% 부근으로 낮게 나타났다.

자숙액을 pH 7.5로 조정된 후 자숙액의 분해에 대한 온도 영향은 Fig. 1B에 나타난 바와 같이 55°C에서 최대 활성을 나타내었으며, 45°C에서는 최대활성의 71% 그리고 65°C에서는 79%를 나타내어 비교적 넓은 온도대에서 활성분포를 나타내었다.

*A. oryzae*가 생산한 단백질 분해효소를 이용하여 대두 단백질을 분해한 결과 pH 6.0~8.0에서 가장 가수분해율이 높았으며, 효소와 기질의 비율을 달리하더라도 최적 조건은 변하지 않음이 보고되었다 (Zhang et al., 1996). 그리고 Free enzyme membrane reactor를 사용하여 명태육의 수용성 단백질을 *Bacillus thermoproteolyticus* 유래의 Somoase로 가수분해 한 결과 중성 부근에서 최대활성을 나타내었다 (Nakajima et al., 1992). 이와는 달리 *A. oryzae* 387 균주로부터 생산된 단백질 분해효소의 식물성 단백질에 대한 활성은 pH 5.5에서 가장 높았으며, 가수분해 결과 유리 아미노산 양이 108~227%가량 증가함을 보여주고 있다 (Rimareva et al., 1997). Ahn and Kim (1996)은 참치 자숙액을 이용한 분말 엑기스의 제조에서 Neutrase를 사용할 경우 참치 엑기스의 pH와 *Bacillus liqueniformis* 유래의 Neutrase의 반응 조건이 일치하므로 반응물의 pH를 조정할 필요 없이 65% 이상의 가수분해율을 나타내었다고 보고하였다. 이러한 현상들에 대하여 Kim (1997)은 *A. oryzae* PF에서 생산된 단백질 분해효소를 정제하여 각각의 기질들 (casein, hemoglobin 및 collagen)에 대하여 최적 반응 온도와 pH를 조사한 결과, 각각의 기질에 대하여 최적 온도 및 pH는 기질의 종류에 따라 다르다고 보고하였다. 따라서 AOP에 의한 굴 자숙액의 가수분해에 있어서 자숙액의 원래 pH인 5.8에서는 낮은 활성을 나타내어 *A. oryzae* PF protease를 이용하여 굴 엑기스를 제조할 경우 인위적으로 pH를 조정할 필요가 있음을 제시하고 있다.

## 4. 대량 분해에 의한 가수분해율 결정

어육 단백질을 이용한 가수분해에 관한 많은 결과가 보고되

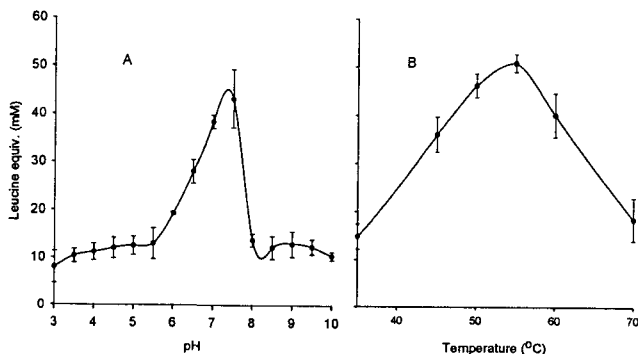


Fig. 1. Effect of pH and temperature on hydrolysis of the concentrated oyster cooker effluent by the crude *Aspergillus oryzae* PF protease.

었으나, 대부분의 결과가 기질에 대한 효소의 비율, 반응조건의 차이 때문에 가수분해율에 관한 직접적인 결과 비교가 어려운 점이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위하여 본 실험에서는 AOP의 활성을 5% casein으로 결정한 후에 사용된 효소량을 기질에 대한 %비율이 아니라 효소의 절대 Unit를 사용하여 실험을 행하였다.

대량의 단백질 가수분해시 분해시간은 가수분해율과 직접적인 관련이 있으며, 가수분해시간의 연장은 가수분해율을 상승시킨다. 따라서, 굴 자숙액의 대량 분해시 가수분해율을 측정하기 위하여 시료 2 L를 취하여 1.28 U의 AOP를 첨가한 후에 50°C에서 250 rpm으로 교반하면서 8시간 동안 분해시켰다. 분해 중에 반응액 일정량씩 취하여 이들의 분해정도를 ninhydrin법으로 정량하여 총 아미노산에 대한 TCA 가용성 peptide의 양을 가수분해율로 나타내었다. Fig 2에 나타난 바와 같이 반응시간에 따른 분해율은 전형적인 효소 반응 곡선을 나타내고 있었으며, 반응 8시간만에 약 65%의 가수분해율을 나타내었다. 이와 유사한 가수분해율이 대두 단백질 (Constantinides and Adu-Amankwa, 1980; Aler-Nissen, 1979), 소의 근육단백질 (O'Meara and Munro, 1984), casein (Mannheim and Cheryan, 1990) 및 가재 부산물 (Beak and Cadwallader, 1995)의 가수분해 반응 동안에 나타난 것으로 보고되고 있다. 그리고 trypsin에 의한 연어육의 가수분해의 경우 기질에 대하여 2%의 효소를 사용함으로써 가수분해 8시간 동안에 70%가량의 가수분해율을 나타내었으며, 기질에 대하여 1%의 효소를 사용할 경우 60% 정도의 가수분해율을 나타내었다고 보고하였다 (이 et al., 1988).

## 5. 가수분해물의 아미노산의 분석

굴 자숙농축액 200 ml에 0.128 U의 AOP를 첨가하여 최적조건에서 8시간 동안 가수분해시킨 후의 유리아미노산 조성을 Table 2에 나타내었다. 굴 자숙농축액중의 taurine은 887 mg/100 g으로 전체 유리아미노산의 22.2%를 차지하고 있었으며, Glu, Gly 및 Ala이 주요 아미노산으로 전체 아미노산의 25.7%를 차지하여 이 네 종류의 아미노산이 총 아미노산의 47.9%를 차지하였다

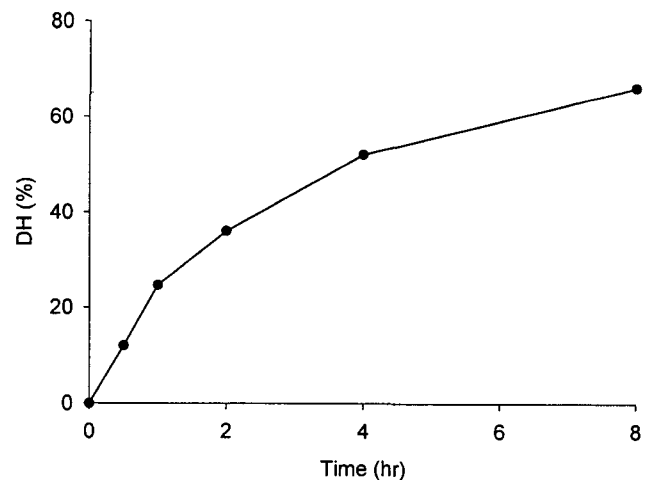


Fig. 2. Effect of reaction time on degree of hydrolysis (DH) of concentrated oyster cooker effluent by *Aspergillus oryzae* PF protease.

(Table 2). 굴자숙 농축액을 AOP로써 8시간 가수분해시킨 결과, 유리아미노산은 141%로 증가하였다. 어패류의 정미성분의 발현에 중요한 역할을 하는 Glu, Gly, Arg 등이 가수분해 전보다 약 1.7~2.6배 가량 증가하여 AOP에 의한 단백질의 가수분해로 정미효과를 향상시킬 수 있음을 시사하고 있었다.

무척추 동물의 근육은 어류 근육보다 유리아미노산의 함량이 높으며 (Konosu, 1982), 이들 중 Gly, Ala, Pro, Tau 등이 많은데 이들은 주로 삼투압의 조절시 중요하다고 알려져 있다. 그리고 Gly, Ala, Glu, Arg가 어패류 정미성분 발현에 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다 (Ahn and Kim, 1986). 이 결과들을 종합해볼 때 효소의 반응시간 동안에 유리 아미노산의 증가는 단백질의 분해에 기인하고 질소화합물의 증가는 유리 아미노산과 함께 굴

**Table 2. Free amino acid contents in concentrated oyster cooking effluent (COCE) and enzyme hydrolyzed concentrated oyster cooking effluent (HCOCE) (mg/100 mL)**

	COCE	HCOCE
Phosphoserine	52.9	71.2
Taurine	887	990
Urea	1183	1257
Aspartic acid	64.3	65.4
Hydroxyproline	64.0	89.2
Threonine	39.5	156
Serine	50.3	62.3
Asparagine	24.6	22.8
Glutamic acid	235	412
Sarcosine	37.8	38.3
$\alpha$ -Aminoadipic acid	4.24	4.14
Glycine	440	816
Alanine	350	779
Citrulline	8.66	6.94
$\alpha$ -Aminobutylic acid	7.89	6.57
Valine	30.1	37.3
Cystine	7.69	5.44
Methionine	17.0	87.6
DL-Allocystathionine	3.68	3.20
Isoleucine	20.5	21.0
Leucine	33.7	46.4
Tyrosine	20.3	82.0
$\beta$ -Alanine	98.3	121
Phenylalanine	20.4	20.8
$\beta$ -Aminobutyric acid	9.86	19.7
Homocytine	4.41	4.21
$\gamma$ -Aminobutyric acid	6.31	6.54
Ethanolamine	13.5	12.8
Ammonia	163	221
DL-Allohydroxylysine	6.25	3.20
Ornithine	34.0	32.8
Lysine	14.5	42.6
Histidine	9.46	27.8
3-Methylhistidine	4.12	3.98
Anserine	4.55	3.21
Arginine	18.9	49.3
Total	3989.72	5628.73

자숙액 가수분해물의 정미효과에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다.

#### 6. 가수분해물의 향기성분의 분석

굴 자숙액의 향기성분을 분석한 결과 50종의 휘발성성분이 검출되었으며, AOP로 처리한 자숙액의 경우 63종의 향기성분이 검출되었다 (Table 3). 굴 자숙액의 주요 향기성분은 3-methylcyclopentanone, 3-methyl-1-butanol, 2-butanone, dimethylsulfide 및 dimethyldisulfide로 판명되었다. 그리고 효소처리에 의한 향기성분의 주성분은 3-methylcyclopentanone, 3-methyl-1-butanol, 2-propanone, 3-methylbutanal, 2-butanone 및 dimethyldisulfide로 나타났다.

효소처리에 의하여 대부분의 aldehyde 성분이 증가하였으나, 4-pentenal, pentanal, hexanal 및 octanal의 함량은 변하지 않았거나 감소하였다. Alkadienals는 다른 휘발성분들의 전구체로서 작용한다. 예로서 2,4-decadienal과 cysteine의 상호반응에 의하여 3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane이 생성된다 (Ho and Carlin, 1989). 이때 생성된 3,5-dimethyl-1,2,4-trithiolane의 증가는 2,4-decadiene의 감소를 초래할 수 있다.

해양동물에는 고도 불포화 지방산들의 함량이 높아서 이들의 자동산화에 의하여 일부는 aldehyde류로 변화하여 어류 특유의 방향성분으로 된다 (Josephson et al., 1983). 본 결과에서는 굴조직에 분포하는 lipoxygenase에 의하여 고도불포화 지방산이 분해되었던 것들이 효소반응 중에 aldehyde 류로 전환하여 그 함량이 상승된 것으로 추정된다. 높은 함량을 나타낸 3-methylbutanal은 그 농도에 따라 fruity, nutty, cheesy 및 sweaty 향을 나타낸다고 보고되고 있다 (Arctander, 1969). 그리고 탄소수가 8 ~ 9개의 aldehyde 중 몇몇은 lipoxygenase 작용의 결과로 생성된다고 생각되며, 이는 신선한 백신어의 주요한 방향성분으로 보고되고 있다 (Josephson et al., 1983). Hexanal은 해산어에서 많이 발견되며,

**Table 3. Comparison of volatile components from concentrated oyster cooking effluent (COCE) and enzyme hydrolyzed concentrated oyster cooking effluent (HCOCE) (area %)**

Retention Time	Compound Name	COCE	HCOE
Aldehydes			
4.68	propanal	0.67	0.92
6.06	2-propenal	nd	0.61
7.02	butanal	0.07	0.28
8.50	2-methylbutanal	1.83	3.20
8.73	3-methylbutanal	3.66	6.35
11.14	4-pentenal	0.08	0.06
11.70	pentanal	0.98	0.82
18.14	hexanal	0.49	0.31
19.04	2-pentenal	0.02	0.53
27.00	4-pentenal	nd	0.12
30.90	octanal	0.13	0.10
46.15	2-furancaboxaldehyde	0.04	0.08
50.05	benzaldehyde	0.33	0.83
Alcohols			
9.37	3-penten-2-ol	3.19	3.29

Table 3. Continued

Retention Time	Compound Name	COCE	HCOE
9.75	ethanol	3.93	3.62
14.58	2-butanol	nd	0.59
19.63	2-methyl-1-propanol	0.98	0.77
23.66	1-Butanol	1.05	0.99
28.01	3-methyl-1-butanol	16.40	11.96
30.82	1-pentanol	0.17	0.21
37.98	1-hexanol	0.13	0.06
41.56	2-hexen-1-ol	0.19	0.14
51.79	1-octanol	0.03	0.02
Hydrocarbons			
2.80	hexane	0.41	0.37
2.91	diethylether	2.68	1.50
3.12	diethylether	nd	1.51
3.34	heptane	nd	0.18
3.44	2-methylpropane	nd	1.26
3.61	1-hexene	nd	0.55
10.43	4,4-dimethyl-1,2-pentadiene	0.04	0.04
12.02	2,3-butanedione	3.18	2.51
12.68	4-methyloctane	0.13	0.05
15.50	3-methyl-hexane	nd	0.90
17.07	2,3-pentenedione	1.70	1.67
18.05	undecane	0.21	0.19
23.08	2,4-dimethylpentane	0.05	0.11
33.86	3-methylcyclopentanone	19.3	13.8
Ketones			
5.20	2-propanone	nd	10.9
8.08	2-butanone	7.08	6.22
12.21	2-pentanone	nd	0.68
13.85	3-methyl-2-pentanone	0.11	0.03
20.04	1-methoxy-2-propanone	0.14	0.15
21.68	4-methyl-2,3-pentanedione	0.60	1.04
25.32	5-methyl-2-hexanone	0.42	0.27
48.87	1-(2-furanyl)-ethanone	0.15	0.14
Esters			
4.19	methylformate	nd	0.06
36.89	methyl 2,4-hexadienoate	2.71	1.42
Sulfur compounds			
3.97	dimethylsulfide	6.10	1.44
7.54	methylthiirane	0.39	0.64
16.07	S-methylthioacetate	0.81	0.54
17.59	dimethyldisulfide	5.11	4.61
39.84	dimethyltrisulfide	0.29	0.20
Miscellaneous compounds			
4.79	furan	0.79	0.74
6.38	tetrahydrofuran	1.51	1.51
6.79	2-methylfuran	0.09	0.04
13.40	acetonitrile	3.00	2.78
14.30	chloroform	1.85	3.68
15.31	toluene	6.39	1.87
22.29	1-methylpyrrole	0.10	0.11
29.42	1,3,5-trimethylbenzene	nd	0.03
32.36	1,2,4-trimethylbenzene	nd	0.07
35.93	2,5-dimethyl-pyrazine	0.21	0.32
49.56	1-Hpyrrole	0.05	0.04

이는 lipoxygenase 작용의 결과로 생성되기보다는 자동산화의 결과로 생성된다고 하였고 (Josephson and Lindsay, 1986), Kubota et al. (1986)의 보고와 같이 자숙 새우에서는 aldehyde류가 생성되지만, 구운 새우에서는 검출되지 않았다는 것으로 미루어 aldehyde류는 수분이 많은 환경에서 쉽게 생성된다고 생각된다.

굴 자숙액의 alcohol 성분은 9종이 동정되었으며, 효소처리에 의하여 2-butanol이 생성되었다. Aldehyde 화합물과는 달리 대부분의 alcohol 화합물은 효소처리에 의하여 그 양이 감소하는 것으로 나타났다. Alcohol류는 주로 지질의 산화에 의한 분해로 생성되고 (Watanabe and Sato, 1971), 직쇄상의 일차 alcohol류는 greenish, woody 및 fatty flavor를 나타내며, 끓인 stew의 주요 향미성분으로 보고되고 있다 (Peterson and Chang, 1982). Alcohol류 중에서 1-octen-3-ol은 Shiitake 버섯 및 갑각류에 존재하며 버섯의 독특한 향미성분으로 보고되어 있으나 (Kim, 1991), 굴 자숙 농축액에서는 검출되지 않았다. 또한 이들은 신선한 어류의 향미 성분 중 heavy 및 planty aroma의 주성분으로 보고되고 있으며 (Josephson et al., 1983) 어류에 존재하는 lipoxygenase의 작용에 의한 결과라고 보고하였다.

자숙액으로부터 9종의 hydrocarbon 화합물이 동정되었으며, 단백질 분해효소처리에 의하여 heptane, 2-methylpropane, 1-hexene 및 3-methyl-hexane이 생성되었으나, 4-methyloctane과 3-methylcyclopentanone의 양은 감소하였다. Hydrocarbon 화합물들은 미량이지만 해산물 및 동식물에 골고루 존재하는 물질이다. 이들의 자체 생합성 경로를 통하여 합성되어질 수 있으며, 또한 석유의 오염 때문이기도 하다 (Sasaki et al., 1991). 그러나 탄소수가 8~19의 alkane 화합물들은 탈탄산화와 지방산의 분해에 의해서 생성되지만 향미는 거의 없는 것으로 보고되고 있다 (Watanabe and Sato, 1971). Alkylbenzene류의 생성 원인은 불확실하지만, 환경의 변화에 의해서 생성된 것으로 추정된다 (Habu et al., 1985). 그러나 여러 가지의 alkylbenzene이 가열중의 쇠고기 기름 (Watanabe and Sato, 1971), 녹차 (Habu et al., 1985)와 어류의 건조 훈연품 (Sakakibara et al., 1990)에서 검출되고 있다. 게 가공폐수를 단백질 분해효소로 처리한 결과 대부분의 방향족 탄화수소는 감소하였으며, 이러한 결과는 효소작용에 의하여 고분자물질의 저분자화에 의한 것이라고 하였다 (Kim, 1991).

굴 자숙액 중 2-propanone과 2-pentanone은 효소처리에 의하여 생성된 화합물이며, 효소처리에 의하여 그 외의 ketone 화합물의 변화는 나타나지 않았다. 일반적으로 낮은 역치를 가지는 휘발성 ketone류는 대부분이 어취의 주요성분이며, ketone류들은 고도불포화 지방산의 lipoxygenase의 작용보다는 열에 의한 산화적 분해의 결과라고 보고하였다 (Josephson and Lindsay, 1986). 2,3-Pentandione은 버터 향과 바람직한 방향성분이며, methylketone은 계살에서 발견되었으며, 탄소수가 증가함에 따라 green 및 fruity aroma가 증가한다고 보고되고 있다 (Hsieh et al., 1989). Methylketone류들은  $\beta$ -keto acid에서 가열에 의해서 가수분해 후 생성된다 (Kubota et al., 1986). 여러 가지 ketone류들이 구운 새우 (Kubota et al., 1986), 자숙 계살 (Matiella and Hsieh, 1990) 그리고 몇몇의 건조훈연 어류 (Sakakibara et al., 1990)에서 보고되었다.

효소 처리된 자숙액과 비 처리된 자숙액으로부터 5종의 합황화합물이 동정되었으며, 그 중 dimethyl sulfide는 효소처리에 의하여 그 양이 감소하였으나, 나머지 화합물들의 함량은 크게 변하지 않았다. 일반적으로 합황화합물은 여러 가지 가공육 제품에서 육의 독특한 방향을 나타내는데 중요한 역할을 하는 물질이다. Cysteine과 thiamine, glutamate, ascorbat들과의 model system 반응에서 roast meat의 향이라고 생각되는 여러 가지 화합물들이 생성되었다 (Hartman et al., 1984). 여러 종류의 합황화합물이 가열 및 발효 새우에 분포하며 (Choi et al., 1983). 이러한 물질들은 가열 조리된 krill의 산패취 및 nutty aromas의 중요한 성분이다 (Kubota et al., 1986).

그 밖의 화합물 중 1,3,5-trimethylbenzene과 1,2,4-trimethylbenzene은 효소처리에 의하여 생성되었으며, 2,5-dimethyl-pyrazine과 chloroform의 양 또한 효소처리에 의하여 상당히 증가한 반면에 toluene은 효소처리에 의하여 상당히 감소하였다. 결론적으로 단백질 분해효소처리에 의한 굴 자숙액의 향미성분변화는 대체로 큰 변화가 없었으며, 효소처리에 의하여 대부분의 aldehyde 화합물의 양은 증가한 반면에 alcohol 화합물의 양은 감소하였으며, 특히 hydrocarbon 화합물의 증감은 분자량과 다소 관련이 있는 것으로 나타났다.

## 요 약

굴 자숙농축액의 AOP에 의한 가수분해조건을 확립하였다. 자숙농축액에 대한 AOP의 작용조건은 pH 7.0~7.5와 50~60°C이었다. 그리고 효소 반응에 의한 반응시간에 따른 분해생성물의 양은 4 시간까지는 급격히 증가하였으며, 그 이후에는 완만하게 증가하였다. 굴 자숙액에 대하여 0.128 U의 *A. oryzae* PF protease를 첨가하여 최적조건에서 8 시간 가수분해시켜 가수분해물의 유리 아미노산을 분석한 결과 유리아미노산은 1.41배 증가하였다. AOP 처리에 의한 자숙액의 향미성분의 변화는 대부분의 alcohol, hydrocarbon, ester 및 합황 물질의 양은 증가한 반면에 aldehyde, ketone 화합물의 양은 감소하였으며, 특히 hydrocarbon 화합물의 증감은 분자량과 다소 관련이 있는 것으로 나타났다.

## 감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산특정연구개발사업에 의해 수행된 연구결과이며, 연구비를 지원해 준 해양수산부에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Ahn, C.B. and H.R. Kim. 1996. Processing of the extract powder using skipjack cooking juice and its taste compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 28, 696~701.
- A.O.A.C., 1980, Official Methods of Analysis. 14'th ed.
- Aler-Nissen, J. 1979. Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. J. Agric. Food. Chem., 27, 1256~1260.
- Arctander, S. 1969. In "Perfume and flavor chemicals: Aroma chemicals", Vol. 1~2. S. Arctander, Publisher. NJ.
- Baek, H.H. and K.R. Cadwallader. 1995. Enzymatic hydrolysis of crayfish processing by-products. J. Food Sci., 60, 929~935.
- Burnette, J.A. 1983. Characterization and utilization of ocean quahog (*Arctica islandica*) clam juice as a liquid and dehydrated flavoring agent. J. Food Sci., 48, 353~359.
- Choi, S.H., A. Kobayashi and T. Yamanishi. 1983. Odor of cooked small shrimp, *Acetes japonicus* kishinouye, difference between material and fermented product. Agric. Biol. Chem., 47, 337~341.
- Contantinides, A. and B. Adu-Amankwa. 1980. Enzymatic modification of vegetable protein: Mechanism, kinetics, and production of partially soluble protein in batch reactor. Biotechnol. Bioeng., 22, 1543~1547.
- Habu, T., R.A. Klath, R.A. Mon and J.F. Morton. 1985. Volatile components of rooibos tea (*Aspalathus linearis*). J. Agric. Food Chem., 33, 249~253.
- Hartman, G.J., J.D. Scheide and C.T. Ho. 1984. Effect of water activity on the major volatiles produced in a model system approximating cooked meat. J. Food Sci., 49, 607~613.
- Ho, C.T. and J.T. Carlin. 1989. Flavor Chemistry: Trends and Developments (Teranishi, R.; Buttery, R. G.; Shahidi, F., Eds), American Chemical Society, Washington, DC., pp. 92/04.
- Hsieh, T.C.Y., W. Vejaphan, S.S. Williams and J.E. Matiella. 1989. Thermal Generation of Aroma (Parliment, T. H.; Ho, C. T.; McGorin, R. J., Eds), American Chemical Society, Washington, DC., pp. 386~393.
- Joh, Y. and L.F. Hood. 1979. Preparation and properties of dehydrated clam flavor from clam processing wash water. J. Food Sci., 44, 1612~1615.
- Josephson, D.B. and R.C. Lindsay. 1986. Enzymatic generation of volatile aroma compounds from fresh fish. In "Biogeneration of aromas", T.H. Parliment and R. Croteau, (Ed.) ACS Symposium Series 317, American Chemical Society, Washington DC.
- Josephson, D.B., R.C. Lindsay and D.A. Stuiber. 1983. Identification of compounds characterizing the aroma of whitefish (*Coregonus clupeaformis*). J. Agric. Food Chem., 31, 326~330.
- Kim, H.R. 1991. Characterization and potential utilization of proteases from the hepatopancreas of crawfish, *Procambarus clarkii*. Ph.D. Thesis, Louisiana State Univ. Baton Rouge, LA.
- Kim, D.S., C.B. Ahn, K.J. Jung, H.H. Baek, K.R. Cadwallader and H. R. Kim. 1999. Characterization and utilization of waste water from oyster processing plants as flavoring agent. J. Agric. Food Chem. (submitted).
- Kim, D.S. 1997. Production of a proteolytic enzyme by the protoplast fused-mutated *Aspergillus oryzae* strain and its enzymatic properties. Ph.D. Thesis, Pukyong National University, Pusan, Korea.
- Kim, H.R., H.H. Baek, S.P. Meyers, K.R. Cadwallader and J.S. Godber. 1994. Crayfish hepatopancreatic extract improves flavor extractability from crab processing by-product. J. Food. Sci., 58, 91~96.
- Konosu, S. and K. Yamaguchi. 1982. In "Chemistry and biochemistry of marine food product". (R.E. Martin, G.J. Flicke, C.E. Hebard, and D.R. Ward ed.), Avi Pub. Co., Westport, Connecticut, pp. 367~404.
- Kubota, K., H. Shijimaya and A. Kovayashi. 1986. Volatile components of roasted shrimp. Agric. Biol. Chem., 50, 2867~2873.

- Lee, J.H., K.T. Lee, Park, S.M and C.K. Park. 1998. Improvement of rheological and functional properties of Salmon FPC by enzymatic partial proteolysis. 1. Production of salmon FPC hydrolysates and their sensory properties. *J. Korean Fish. Soc.*, 31, 132~138.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265~275.
- Mannheim, A. and M. Cheryan. 1990. Continuous hydrolysis of milk protein in a membrane reactor. *J. Food Sci.*, 55, 381~385.
- Matiella, J.E. and T.C.Y. Hsieh. 1990. Analysis of crab meat volatile compounds. *J. Food. Sci.*, 55, 962~966.
- Nakajima, M., T. Shoji and H. Nabetani. 1992. Protease hydrolysis of water soluble fish proteins using a free enzyme membrane reactor. *Process Biochem.*, 27, 155~160.
- O'Meara, G.M. and P.A. Munro. 1984. Effects of reaction variables on the hydrolysis of lean beef tissue. *Enzyme Microb. Technol.*, 6, 181~188.
- Perkins, B.E. and S.P. Meyers. 1977. Recovery and application of organic wastes from the Louisiana shrimp canning industry. proceedings of the 8th National symposium on Food Processing Wastes. P. 292. EPA-600/2-77-184, EPA. Washington DC.
- Peterson, R.J. and S.S. Chang. 1982. Identification of volatile flavor compounds of fresh, frozen beef stew and a comparison of these with those of canned beef stew. *J. Food Sci.*, 47, 1444~1448.
- Reddy, N.R., G.J. Flick, H.P. Duoy and G.D. Boardman. 1989. Characterization and utilization of dehydrated wash waters from clam processing plants as flavoring agents. *J. Food Sci.*, 54, 55~59.
- Rimareva, L.V., M.B. Overchenko, E.M. Serba and V.V. Trifonova. 1997. Comparative characterization of microbial proteases by the extent of hydrolysis of protein substrates. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 33, 36~41.
- Sakakibara, H.J. Ide, T. Yanai, I. Yajima and K. Hayashi. 1990. Volatile flavor compounds of some kinds of dried and smoked fish. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 9~16.
- Sasaki, S., T. Ota, H. Yamguchi, and T. Takagi. 1991. Hydrocarbon components of salmon in the gulf of Alaska. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 111~117.
- Shiau, C.Y. and T. Chai. 1990. Characterization of oyster shucking liquid wastes and their utilization as oyster soup. *J. Food Sci.*, 55, 374.
- Watanabe, K. and Y. Sato. 1971. Some alkyl-substituted pyrazines and pyridines in flavor components of shallowed fried beef. *J. Agric. Food Chem.* 19, 1017~1019.
- Zhang, Y., K. Muramoto and F. Yamauchi. 1996. Hydrolysis of soybean proteins by a vortex flow filtration membrane reactor with *Aspergillus oryzae* proteases. *J. Food Sci.* 61, 928~931.
- Korean Fisheries Association. 1996. Korean. Fisheries Yearbook. 97.

---

1999년 11월 29일 접수

2000년 1월 21일 수리