

효소를 이용한 동물성 식품가공부산물의 식품 소재화 탐색

채희정¹ · 인만진*

¹호서대학교 식품생물공학전공 및 벤처전문대학원 첨단산업기술전공, 청운대학교 식품영양학과

(2003년 12월 9일 접수, 2004년 2월 13일 수리)

식품 가공의 부산물 중 동물성 부산물을 재활용하여 조미소재로의 개발 가능성을 탐색하였다. 부산물 원료로는 돼지뼈(PB)와 닭뼈(CB), 그리고 참치 혈합육(TDF)을 사용하였다. PB와 CB를 열수로 18시간 추출한 후 단백질과 지방 분해효소를 처리하여 가수분해물을 제조하였다. 각각의 열수 추출물에서 지방의 제거를 위하여 1차로 lipase활성이 있는 pancreatic enzyme를 처리하고 2차로 Flavourzyme을 사용하는 경우 가수분해도(DH)가 PB는 약 70%, CB는 약 80%까지 증가하였다. 지방이 적은 TDF는 단백질 분해효소인 Alcalase와 Flavourzyme으로 분해한 결과 고형분 회수율은 약 22%, 단백질 회수율은 9%이었으며, 효소분해액 중 유리 아미노산 함량은 고형분 중 27%까지 향상되었다. 세 종류 분해액에 가열한 후 관능적인 특성을 조사한 결과 전체적으로 TDF > PB > CB의 순으로 우수하여 참치 혈합육은 조미소재의 원료로 적합한 동물성 부산물로 판단되었다.

Key words: 동물성 부산물, 참치 혈합육, 단백질 분해효소

서 론

농·수·축산물을 원료로 이용하는 식품 산업에서 발생하는 여러 가지 부산물들은 비료, 사료와 같은 낮은 부가가치의 자원으로 활용되거나 대부분 폐기되는 경우가 많다. 부산물의 예로는 옥수수로부터 전분을 제조하는 과정에서 부산물로 생성되는 글루텐 피드(gluten feed)와 글루텐 밀(gluten meal), 두부 제조시 생성되는 비지, 두유 제조 부산물인 두유비지 등의 식물성 부산물, 도축 부산물과 참치와 같은 생선 폐기물 등의 동물성 부산물, 그리고 아미노산, 핵산, 주정, 맥주 발효공정에서 부산물로 발생하는 세균 또는 효모의 균체와 같은 미생물성 부산물이 있다. 재활용되는 대부분의 부산물들은 건조, 분쇄 등과 같은 단순한 처리를 통하여 단순한 식품 첨가물 혹은 사료나 비료로 사용되고 있는 실정이다.^{1,3)} 그러나 식품 가공 부산물 중 일부는 성분의 조성 및 단백질의 특성, 구성 아미노산의 종류 및 함량 등에 따라서 효소반응이나 미생물 발효와 같은 적절한 처리를 사용하여 식품 소재로서 재활용할 수 있다. 대두 가공 부산물인 비지나 두유박을 활용한 식품 혹은 식품 소재용 원료로 이용하는 연구^{4,5)}와 맥주 효모를 이용한 효모 추출물의 제조⁶⁻⁸⁾와 참치 가공부산물을 이용한 조미료의 개발에 관한 연구⁹⁾도 보고되어 있으나 아직까지 이러한 부산물들이 산업적으로 크게 활용되지 않고 있는 실정이다. 한편 도축 부산물 중 혈액으로부터 기능성 소재인 헴철(heme-iron)을 제조¹⁰⁾하는 것과 같이 산업적으로 이용되고 있는 경우도 있다. 최근에는 생리활성을 갖는 기능성 펩타이드를 얻기 위하여 부산물 중 단백질을 이용하는 연구도 활발하게 진행되고 있다.^{11,12)}

따라서 본 연구에서는 식품가공 부산물의 재활용 방안의 탐

색에 관한 연구의 일환으로 식물성 부산물의 재활용 연구¹³⁾ 뿐만 아니라 돼지뼈, 닭뼈와 참치 혈합육 으로부터 조미성분을 열수로 추출한 후 단백질 및 지방 분해효소로 처리하여 천연 조미소재의 제조가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료. 부산물 원료인 돼지뼈(pig bone, PB)와 닭뼈(chicken bone, CB)는 대상농장에서, 참치 혈합육(tuna dark flesh, TDF)은 동원산업에서 구하였다. 단백질 분해효소 중 endopeptidase로는 *Bacillus licheniformis*유래의 AlcalaseTM를 exopeptidase로는 *Aspergillus oryzae*유래의 FlavourzymeTM을 Novozyme사(Bagsvaerd, Denmark)로부터, pancreatic enzyme는 Merck사(Darmstadt, Germany)로부터 구입하여 사용하였다.

추출 및 효소분해. PB와 CB로부터 조미성분을 열수로 추출하였다. 일정한 크기(3~5 cm)로 절단한 재료를 10배 중량의 끓는 증류수에서 18시간 동안 추출하고 여과하여 추출액을 준비하였다. 추출액의 pH를 7.0으로 조절한 후 두 종류의 단백질 분해효소를 각각 단백질 함량의 2%가 되도록 첨가하고 50°C에서 24시간 동안 가수분해하였다. 또한 추출액의 지방제거를 위하여 lipase 활성이 있는 pancreatic enzyme를 고형분 함량의 1%로 처리한 후 단백질 분해효소 Flavourzyme을 동일한 조건으로 처리하였다. TDF는 100 g에 증류수 150 g을 가하고 분쇄기로 5분간 분쇄하여 준비하였으며, pancreatic enzyme는 사용하지 않고 단백질 분해효소를 PB, CB와 동일한 조건으로 처리하고 22시간 동안 가수분해하였다. 일정시간 가수분해 후 생성된 효소분해액은 100°C에서 10분간 가열하여 효소반응을 정지시켰다.

분석방법. 효소분해로 생성된 수용성 성분의 총량은 4°C에서 원심분리(10,000×g, 20분)하여 불용성 성분을 제거하고 상등액의 고형분 함량을 Brix meter(Atago사, Japan)로 측정하였

*연락처

Phone: +82-41-630-3278; Fax: +82-41-632-3278

E-mail: manjin@chungwoon.ac.kr

Table 1. Dry matter content and crude protein content of hot water extract of pig bone and chicken bone

	pH	Dry matter content (%)	Dry matter yield (%)	Crude protein (%)	Crude protein content (solid basis) (%)
Pig bone extract	6.43	11.8	14.0	7.6	64.2
Chicken bone extract	6.29	6.0	10.6	3.0	50.0

으며, 단백질 함량은 총 질소(total nitrogen, TN)를 micro-Kjeldahl법으로 분석하였다. 효소분해에 의한 고형분과 단백질의 가용화 정도를 비교하기 위하여 원심분리 후 상등액의 고형분 회수율(dry matter yield, DMY)과 단백질의 회수율(total protein yield, TPY)을 계산하였다.⁵⁾ 단백질의 가수분해도(degree of hydrolysis, DH)는 pH 8.2에서 단백질 가수분해물 중 아미노산 혹은 펩타이드의 아미노기에 TNBS(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid)를 반응시키고 산성조건(pH 3.8)에서 발색시킨 후 340 nm에서 흡광도를 측정하는 방법¹⁴⁾으로 분석하였다. 효소 반응으로 생성된 유리 아미노산은 OPA법¹⁵⁾으로 HPLC에서 분석하였다. Nova-pak C18(3.9×150 mm, Waters) 칼럼과 형광 검출기(Ex 338 nm, Em 425 nm)를 사용하였고, 용매는 gradient system으로 50 mM CH₃COONa/50 mM Na₂HPO₄/tetrahydrofuran = 467/467/66(v/v/v)과 CH₃OH/CH₃CN/H₂O = 9/2/9(v/v/v)의 2종류를 이용하였다. 관능검사는 10인의 panel을 구성하여 색, 향, 맛 및 전체적인 선호도를 5단계 평점법으로 평가하였다.

결과 및 고찰

돼지뼈와 닭뼈의 조미 소재화 탐색. 도출 부산물인 돼지뼈(PB)와 닭뼈(CB)를 100°C에서 열수에서 18시간 동안 추출하여 여과한 후 추출물을 분석한 결과는 Table 1과 같다. PB와 CB 추출물의 DMY는 14%와 10.6%로 높지 않았으나 고형분 중 64.2%와 50%는 조단백질로 PB와 CB 추출물은 우수한 단백질 원이며 조미소재로 이용될 수 있을 것으로 판단되었다. 이와 같은 추출물에 작용기작이 상이한 2종의 단백질 분해효소인 Alcalase(endopeptidase)와 Flavourzyme(exopeptidase)을 각각 단백질의 2%로 첨가하여 가수분해하였다. 단백질의 가수분해도(DH)는 12시간까지 효소 반응시간에 비례적으로 증가하였으며, Alcalase와 Flavourzyme을 동시에 처리하는 경우 DH가 크게 증가하였다(Fig. 1). 특히 CB 추출물에서는 DH가 72%까지 증가하였다. 이러한 경향은 콩단백질과 헤모글로빈의 가수분해에서도 보고된 것과 일치하였다.^{16,17)} PB와 CB를 가수분해하는 과정에서 지방이 용출되어 지방층의 분리가 일어났으며 상층과 하층의 총질소 함량(상층 1.46%, 하층 1.48%)은 큰 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 현상은 단백질 분해효소의 작용으로 단백질이 분해되면서 단백질과 결합되어 있는 지방이 유리되어 지방층이 분리되기 때문인 것으로 판단된다. 특히 Flavourzyme과 Alcalase를 동시에 사용한 실험군에서는 반응 2시간 후부터 지방층이 분리되는 것이 관찰되었다. 그러므로 효율적으로 단백질을 이용하기 위하여 PB, CB 추출물에서 지방을 제거하는 것이 필요하므로 열수추출 후 지방분해효소(lipase)로 처리하였다. 지방분해효소는 Merck사의 pancreatic enzyme을 사용하였는데 이 효소는 lipase뿐만 아니라 protease와 amylase 활성을

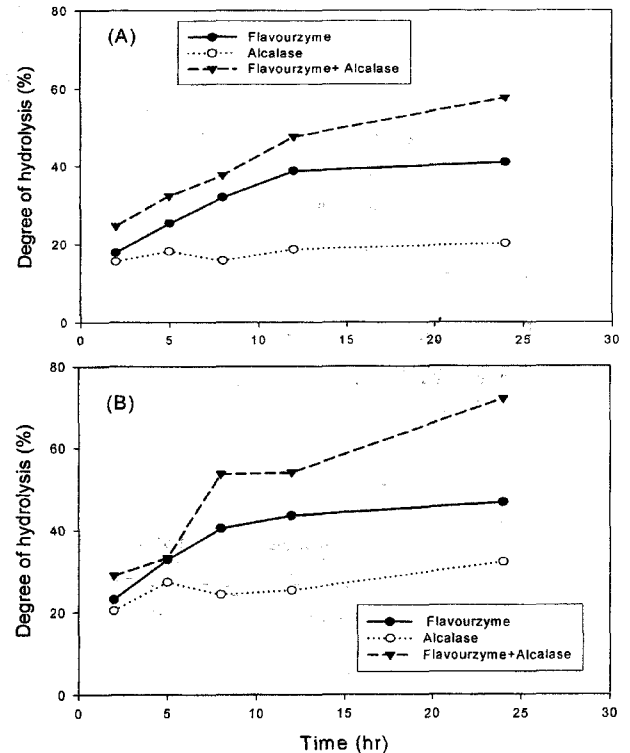


Fig. 1. Time course of degree of hydrolysis (DH) for different enzyme reaction conditions in pig bone extract (A) and chicken bone extract (B) hydrolysis.

포함하고 있다(protease 1,400 U/g, amylase 30,000 U/g, lipase 24,000 U/g). 따라서 lipase 처리 중 pancreatic enzyme에 함유되어 있는 protease에 의하여 추출물 중 단백질 분해도 진행된다. Pancreatic enzyme을 처리한 후 추출물의 DH를 Alcalase만으로 분해한 결과와 비교한 결과(Table 2), PB에서 DH가 20% (20.1% → 24.5%) 향상되었으나 CB에서는 오히려 다소 감소하였다. 또한 PB에서 pancreatic enzyme처리 후 2차로 Flavourzyme으로 분해한 추출물의 DH는 Alcalase → Flavourzyme의 순으로 분해한 경우보다 57.6%에서 69.5%로 약 20% 증가하여 Alcalase보다 pancreatic enzyme이 PB추출물의 효소분해에 적합하였다. 반면 CB 추출물에서는 DH의 변화가 PB에 비하여 작았다.

참치 혈합육의 조미 소재화 탐색. 참치 통조림 제조과정에서 참치의 혈합육, 머리, 내장, 껍질, 뼈 등의 부산물이 생성되며 이들 대부분은 주로 사료용으로 사용되고 있다. 특히 혈합육은 이취 및 쓴맛이 있어 대부분 사료용이나, 단백질 함량이 높고,¹⁸⁾ 비타민, 철, 타우린, EPA(eicosapentaenoic acid), DHA(docosahexaenoic acid)가 풍부하여 건강에 유용한 식품소재로 활용이 가능하다. 참치 통조림 제조과정에서 참치를 93~95°C로

Table 2. Effect of two-step hydrolysis on degree of hydrolysis for pig bone, chicken bone extract and tuna dark flesh

Treatment ¹⁾	Pig bone extract	Chicken bone extract	Tuna dark flesh
A	20.1	32.2	46.8
A→F	57.6	72.0	75.4
P	24.5	30.4	-
P→F	69.5	79.1	-

¹⁾A, Alcalase; F, Flavourzyme; P, pancreatic enzyme.

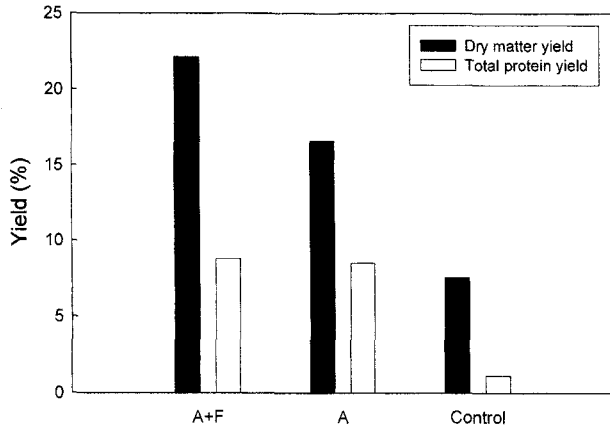


Fig. 2. Dry matter yield (closed bar) and total protein yield (open bar) by hydrolysis from tuna dark flesh according to enzyme treatments. Control, no treatment; A, Alcalase treatment; A+F, cotreatment Flavourzyme and Alcalase.

30~60분간 지속¹⁹⁾시킨 후 참치의 어육을 분리하므로 열수로 추출될 수 있는 성분 중 상당 부분은 참치 자숙액으로 유출된 후 참치에서 TDF를 분리한다. 참치 부산물은 이미 열처리되었으므로 자기소화나 미생물에 의한 분해보다는 상업용 효소를 첨가하는 것이 효율적이다. 먼저 CB, PB와 동일하게 TDF를 열수로 추출한 추출액과 TDF에 증류수를 가하고 분쇄한 현탁액에 동일하게 효소를 처리한 결과 반응 후 고형분 회수율이 약 22%로 매우 유사하였으며, 이는 참치 부산물은 이미 열처리되었으므로 PB, CP와는 상이하게 TDF의 열수 추출의 효과가 미미하게 나타난 것으로 사료된다. 그러므로 이후의 실험에서는 TDF를 분쇄한 현탁액을 원료로 사용하였다. 본 연구에서 사용한 TDF의 단백질 함량은 21.84%이었으며 분쇄한 TDF를 단백질 분해효소로 분해한 결과 DH는 Alcalase 처리로 46.8%, Flavourzyme의 2차 분해로 75.4%까지 증가하였으며 2차 분해 후 DH는 CB, PB와 유사하였다(Table 2). 또한 DMY는

Table 3. Free amino acid composition of enzymatic hydrolysates of pig bone, chicken bone extract and tuna dark flesh

	(g/100 g, solid basis)		
	Chicken bone extract	Pig bone extract	Tuna dark flesh
Asp	0.48	0.20	0.78
Glu	1.17	0.79	1.38
Asn	0.55	0.13	0.16
Ser	0.68	0.48	2.16
His	0.92	0.50	1.38
Arg	0.70	0.51	2.14
Gly	0.92	0.10	0.19
Thr	0.35	0.36	2.49
Ala	1.15	0.81	1.84
Tyr	0.80	0.79	3.95
Met	0.15	0.15	2.65
Val	0.77	0.46	0.86
Trp	0.32	0.46	0.65
Phe	0.90	0.61	1.81
Ile	0.57	0.05	2.08
Leu	1.25	0.35	1.51
Lys	1.25	0.64	0.70
Total	12.92	7.38	26.73

17~22%로 효소로 분해하지 않은 경우의 7.54%보다 2배 이상 증가하였으며, TPY는 8.8%로 1.1%에서 8배 증가하였다(Fig. 2). 특이하게 TDF의 단백질을 분해하는 경우 헤모글로빈의 분해¹⁰⁾와는 상이하게 exopeptidase가 TPY를 향상시키는 효과가 미미하였다.

효소분해물의 관능적 특성. PB와 CB 추출물은 pancreatic enzyme → Flavourzyme, TDF는 Alcalase → Flavourzyme의 순으로 분해한 후 유리 아미노산의 함량을 분석하여 분해물에서 고형분 중 유리 아미노산의 함량으로 나타내었다(Table 3). TDF 분해물의 유리 아미노산 함량은 PB보다 3배 이상, CP보다 2배 이상 높은 26.7%이었다. 유리 아미노산은 정미성분과 깊은 관련이 있으므로 유리 아미노산의 함량이 많은 TDF는 CB, PB 분해물보다 조미소재로 사용 가능성이 높을 것으로 사료된다. 효소 분해물에 소금을 1% 첨가하여 냄새, 풍미, 비린 냄새와 맛, 구수한 맛 등에 대한 관능적인 특성을 비교하였다. 이때 맛의 비교를 위해 조미소재로 유통되고 있는 쇠고기 사골 추출물에 1% 가염하여 대조군으로 사용하였다(Table 4). 모든 항목에서 쇠고기 사골 추출물이 가장 우수한 결과를 보였으며, CB에서는 비린 맛이, PB는 구수한 맛이, TDF는 시원한 맛이 강한 특성을 나타내었다. 본 연구의 결과물 중에는 전체적인 선호도

Table 4. Sensory evaluation for hydrolysates of pig bone, chicken bone extract, tuna dark flesh and commercially available beef bone extract¹⁾

	Pig bone extract	Chicken bone extract	Tuna dark flesh	Beef bone extract ²⁾
Color	3.51±0.12	3.42±0.13	2.33±0.11	3.99±0.12
Odor	3.25±0.21	1.88±0.21	2.97±0.24	3.67±0.20
Savory taste	2.82±0.12	1.92±0.21	3.00±0.12	4.20±0.15
Overall acceptance	3.07±0.22	2.50±0.31	3.27±0.30	3.79±0.15

¹⁾Values are mean ± S.E.

²⁾Commercially available beef bone extract

는 TDF > PB > CB의 순으로 TDF 분해율이 가장 우수하였다. 이상의 결과로부터 참치 혈합육의 효소 분해물은 돼지뼈, 닭뼈의 경우보다 유리 아미노산의 함량이 높고 관능적으로도 적당하여 천연 조미소재의 원료로서의 사용 가능하였으며 실제 조미소재로의 활용에는 기존의 연구 결과⁹⁾와 함께 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Cho, M.-K. and Lee W.-J. (1996) Preparation of high-fiber bread with soybean curd residue and Makkolli (rice wine) residue. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 632-636.
2. Kweon, M.-N., Ryu, H.-S. and Moon, J.-H. (1993) Nutritional evaluation of tofu containing dried soy milk residue (DSR). I. Evaluation of protein quality. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **22**, 255-261.
3. Kim, C. H., Park, G. H., Ryu, K. S. and Lee, J. H. (1997) Utilization of slaughter porcine blood as an animal feed. *Korean J. Livestock Housing Environ.* **3**, 133-143.
4. Park, C., Kim, H. and Moon, T. W. (1997) Preparation and physicochemical properties of soluble dietary fiber extracts from soy milk residue at high temperature. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 648-656.
5. Chae, H. J., In, M.-J. and Lee, J. D. (1998) Production of a protein supplement from soy milk residues by combined use of enzymes and microorganisms. *Agric. Chem. Biotechnol.* **41**, 73-77.
6. Chae, H. J., Joo, H. and In, M.-J. (2001) Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. *Bioresource Technol.* **76**, 253-258.
7. Chung, Y., Chae, H. J., Kim, D. C., Oh, N.-S., Park, M. J., Lee, Y. S. and In, M.-J. (1999) Selection of commercial proteolytic enzymes for the production of brewer's yeast extract. *Food Eng. Progress* **3**, 159-163.
8. Lee, S.-K., Park, K.-H., Pek, U.-H. and Yu, J.-H. (1993) Production of brewer's yeast extract by enzymatic method. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**, 276-280.
9. Cha, Y.-J. and Kim, E.-J. (1996) Development of functional seasoning agents from skipjack preparation by-product with commercial proteases. 1. Processing of hydrolysate from skipjack processing by-product with protease treatment. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 608-616.
10. In, M.-J., Chae, H. J. and Oh, N.-S. (2002) Process development for heme-enriched peptide by enzymatic hydrolysis of hemoglobin. *Bioresource Technol.* **84**, 63-68.
11. Lee, Y. S., Shin, M. K., Lee, Y. D. and Lee, H. S. (1997) Enhanced effect of gluten hydrolysate on solubility and bioavailability of calcium in rats. *Korean J. Nutr.* **30**, 40-47.
12. Fruitier, I., Garreau, I., Lacroix, A., Cupo, A. and Piot, J. M. (1999) Proteolytic degradation of hemoglobin by endogenous lysosomal proteases gives rise to bioactive peptides: hemorphins. *FEBS Lett.* **447**, 81-86.
13. Chae, H. J., Han, M.-S. and In, M.-J. (2004) Study on utilization of vegetable by-product from food processing by enzyme treatment. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **47**, 146-148.
14. Adler-Nissen, J. (1979) Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.* **27**, 1256-1262.
15. Godel, H., Seltz, P. and Verhoeft, M. (1992) Automated amino acid analysis using combined OPA and FMOC-Cl precolumn derivatization. *LC GC International* **5**, 44-49.
16. Chae, H. J., In, M.-J. and Kim, M.-H. (1997) Optimization of enzymatic treatment for the production of hydrolyzed vegetable protein. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 1125-1130.
17. In, M.-J., Kim, D. C., Chae, H. J. and Oh, N.-S. (2003) Effects of degree of hydrolysis and pH on the solubility of heme-iron enriched peptide in hemoglobin hydrolysate. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 365-367.
18. Kang, C.-H., Jung, H.-Y., Lee, D.-H., Park, J.-K., Ha, J.-U., Lee, S.-C. and Hwang, Y.-I. (2000) Analysis of chemical compounds on tuna processing by-products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 981-986.
19. Ahn, C.-B. and Kim, H.-R. (1996) Processing of the extract powder using skipjack cooking juice and its taste compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 696-701.

Study on Utilization of Animal By-products from Food Processing by Enzyme Treatment

Hee Jeong Chae¹ and Man-Jin In* (*Department of Human Nutrition and Food Science, Chungwoon University, Hongseong 350-701, Korea; ¹Dept. of Food and Biotechnology, and Dept. of Innovative Industrial Technology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea*)

Abstract: In order to recycle animal by-products from food processing as food seasonings, pig bone (PB), chicken bone (CB) and tuna dark flesh (TDF) were studied. PB and CB extract prepared by hot water extraction for 18 h were hydrolyzed with protease and lipase. The DHs of PB and CB extract were increased to 70% and 80%, respectively, when Flavourzyme was treated after pancreatic enzyme treatment. When TDF was hydrolyzed with Alcalase and Flavourzyme, dry matter yield and total protein yield were around 22% and 9%, respectively. Also the free amino acid content in hydrolysate reached up to 27% of total solid. The sensory properties of three hydrolysates containing 1% NaCl were, in order of their overall acceptance, TDF, PB and CB. Therefore, tuna dark flesh turned out to be the suitable animal by-product as raw material for seasoning ingredient.

Key words: animal by-product, tuna dark flesh, protease

*Corresponding author