

## 효소 처리에 의한 고온가압 연어 frame 추출물의 수율 및 건강 기능성 개선

허민수·지승길<sup>1</sup>·구재근<sup>1</sup>·권재석<sup>2</sup>·한병욱<sup>3</sup>,  
김정균<sup>4</sup>·김형준<sup>4</sup>·김진수<sup>4\*</sup>  
경상대학교 식품영양학과, <sup>1</sup>군산대학교 식품생명공학과,  
<sup>2</sup>대상식품 (주), <sup>3</sup>구룡촌 (주), <sup>4</sup>경상대학교 해양식품공학과

### Improvement on Yield and Functional Properties of Autoclave-Treated Salmon Frame Extracts using Commercial Enzymes

Min Soo Heu, Seong-Gil Ji<sup>1</sup>, Jae-Geun Koo<sup>1</sup>, Jae-Seok Kwon<sup>2</sup>,  
Byung Wook Han<sup>3</sup>, Jeong-Gyun Kim<sup>4</sup>, Hyung Jun Kim<sup>4</sup> and  
Jin-Soo Kim<sup>4\*</sup>

*Department of Food and Nutrition/Institute of Marine Industry,  
Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea*

*<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology,  
Kunsan National University, Kunsan 573-440, Korea*

*<sup>2</sup>Daesang Food Co. LTD., Ichon 467-813, Korea*

*<sup>3</sup>Guryongchon Fishert Co. LTD., Pohang 790-805, Korea*

*<sup>4</sup>Department of Seafood Science and Technology/Institute of Marine Industry,  
Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea*

This study was conducted to improve yield and functional properties of autoclave-treated salmon frame extracts (SFETA) using commercial enzymes (Alcalase 2.4 L FG, Flavourzyme 500 MG, Neutrase 0.8 L and Protamex 1.5 MG). Yield and angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of all enzymatic hydrolysates improved compared to those of control (undigested extracts), which were the highest in hydrolysates incubated with Protamex 1.5 MG for 4 hrs (P4-treated hydrolysates) and 2 hrs (P2-treated hydrolysates), respectively. However, antioxidant activities of all enzymatic hydrolysates showed less than 29%. According to the trichloroacetic acid soluble-N, volatile component intensity and sensory evaluation, when compared to control, taste of P4-treated hydrolysates improved, while its fish odor strongly smelt. Therefore, for efficient use of P4-hydrolysates, the fish odor should be improved by Maillard reaction of extracts or pre-treatment of salmon frame.

Key words: Fish Gomtang, Salmon, Salmon by-products, Salmon frame

#### 서 론

연어는 비린내가 적으면서, 소고기와 유사한 육색을 가지고 있어 훈제품, 스테이크 및 저키 형태 (jerky type)의 건제품 등으로 가공하여 즐겨 먹고 있는 고급 수산물 중의 하나이며 자원의 효율적 이용이 절실하다. 한편, 수산가공 중 부산물로 발생하는 fish frame (수산물을 가공하기 위하여 fillet로 제조하는 경우 두 편외 근육부와 한편의 근육이 약간 붙어 있는 뼈부분이 분리되는데, 이 중 근육부가 일부 붙어 있는 뼈부분을 말함)은 뼈 유래의 콜라겐 (Nagai and Suzuki, 2000) 과 칼슘 및 인 등과 같은 건강 기능성 성분 (Kim et al., 2000)은 물론이고, 근육 유래 엑스분 (Montecalvo et al., 1984) 및 근원 섬유 단백질 (Wendel et al., 2002) 등이 다량 함유되어 있어

유용 식품 재자원이다. 하지만, fish frame의 유효 이용에 관한 연구로는 단지 효소를 이용한 가수분해물의 제조 및 기계에 의한 압착 또는 사위식으로 탈육을 하여 수리미 (surimi) 증량제로 이용하려는 연구 (Crapo and Himelbloom, 1994)와 같이 육의 재활용에 관한 연구와 소성 후 칼슘 소재로 이용하고자 하는 연구 (Lee et al., 1997)와 같이 뼈의 재활용에 관한 연구 이외에는 거의 진행된 바 없다. 이로 인하여, 연어 frame의 경우도 일부만이 사료로 이용되고 있고, 대부분이 폐기되어 환경오염을 야기하고 있는 실정이다 (Ahn, 2003).

한편, 우리나라는 전통적으로 축육뼈, 질긴 부위 및 내장을 소재로 하여 장시간 끓여서 그 용출액을 이용한 탕요리 문화가 발달하여 왔고, 그 대표적인 가공식품이 곰탕 및 설렁탕 (Yoo et al., 1994)이다. 이와 같은 곰탕 및 설렁탕은 칼슘을 위시한 무기질 뿐만 아니라 흡수에 용이한 저분자 peptide가 다량 함유되어 있어 (Park and Lee, 1983) 예로부터 영양식으로

\*Corresponding author: jinsukim@gnu.ac.kr

취급됨으로 인하여 성장기 어린이, 임산부, 수유부, 노인 등을 막론하고 다양한 연령대에서 섭취가 이루어지고 있다. 하지만, 근년에 축산물에는 고농도의 지질과 콜레스테롤이 다량 분포되어 있어 성인병을 야기할 뿐만 아니라 (Suh et al., 1995), 광우병 및 조류독감 등과 같은 질병으로 건강을 우려하는 소비자들의 경우 축산가공식품의 섭취를 꺼려하고 있는 실정이다.

이러한 일면에서 건강 기능성 성분이 다량 함유되어 있으면서, 광우병 및 조류독감 등의 위험인자를 함유하고 있지 않은 fish frame을 적정시간 가열하고, 수율 및 건강 기능성 개선을 위하여 효소 처리한 건강 기능성 peptide 함유 설령탕 및 곰탕 유사 제품을 제조할 수 있다면 환경 오염원의 근원적 제거 이외에도 식품산업분야 및 국민건강 유지 분야에서 그 의미가 상당히 크리라 판단된다.

한편, 곰탕 및 곰탕 유사 제품의 개발에 관한 연구는 국내에서 다수 있으나 (Mariko, 1991; Hiromi and Kinji, 1990; Keiko et al., 1981; Cho and Yang, 1999; Park and Lee, 1983), 이는 축육뼈를 소재로 하였고, 어류뼈로부터 곰탕의 추출을 시도하거나 이의 수율 및 건강 기능성 개선을 위하여 효소처리를 시도한 연구는 fish frame 추출물의 특성 (Han et al., 2007), 비린내 개선 (Heu et al., 2008) 및 기능성 개선 (Heu et al., 2007)과 같은 일부 한정된 연구가 있을 뿐이다. 하지만, 이들 어류뼈로부터 곰탕을 제조하고자 하는 연구도 추출 수율이 다소 낮으면서 산업적으로 응용하기 힘든 열수 추출물에 관한 것이고, 현재 산업적으로 다양하게 응용되어지고 있는 고온가압 추출과 이의 기능성 개선을 위하여 효소공학적인 기법을 시도한 예는 찾아 볼 수 없다.

본 연구에서는 고온가압 연어 frame 추출물의 수율 및 기능성 개선을 목적으로 현재 산업적으로 많이 응용되고 있는 고온가압 연어 frame 추출물에 대하여 4가지 시판 효소의 적용 조건과 최적조건에서 제조된 고온가압 연어 frame 추출물의 식품학적 성분 특성에 대하여 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 재료

연어 (*Oncorhynchus keta*) frame (길이 58-62 cm, 중량 209-248 g)은 연어 훈제품 가공 중 부산물로 발생한 것을 2005년 4월에 부산광역시 사하구 소재 연어 훈제품 제조공장인 우영수산으로부터 HACCP 관리공장 하에서 구입하여 얼음에 채운 다음 경상대학교 해양식품공학과 식품가공학연구소로 운반하였다. 이어서, 구입한 연어 frame을 일정한 크기로 절단한 다음 -25℃ 냉동고에 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

연어 frame 추출물의 수율 및 건강 기능성 개선을 위하여 사용한 4종의 효소 즉, *Bacillus licheniformis*에서 분리된 Alcalase 2.4 L FG (이후 Alcalase로 명명되고, 최적온도가 55-70℃이며, 최적 pH가 6.5-8.5임), *Aspergillus oryzae*에서 분리된 Flavourzyme 500 MG (이후 Flavourzyme으로 명명되고, 최적 온도가 50℃이며, 최적 pH가 7.0임), *Bacillus*

*amyloliiensquefaciens*에서 분리된 Neutrase 0.8 L (이후 Neutrase로 명명되고, 최적온도가 45-55℃이며, 최적 pH가 6.0임) 및 *Bacillus* sp.에서 분리된 Protamex 1.5 MG (이후 Pratomex로 명명되고, 최적온도가 40℃이며, 최적 pH가 6.0-7.0임)는 Novozymes Co. (Novonordisk Bioindustrials, Inc., Denmark)에서 구입하여 사용하였다.

### 연어 frame 추출물 유래 효소 가수분해물의 제조

연어 frame 유래 효소 가수분해물은 연어 frame에 대하여 3배에 해당하는 정제수를 가하고, autoclave에서 고온 가압 (121℃, 4시간) 처리한 다음 여과하지 않은 추출물의 단백질 함량에 대하여 1%에 해당하는 4종의 상업적 효소 (Alcalase, Flavourzyme, Neutrase 및 Pratomex)를 공급 회사에서 제시한 최적 온도로 처리한 후 고형분의 제거를 위하여 두겹의 거즈 (cheese cloth)로 여과하였고, 이어서 비린내 잔류물질의 하나인 지질을 분리하기 위하여 저온실 (5℃)에서 1시간 동안 방치하고 하층만을 취하여 제조하였다.

### 조단백질 및 brix

조단백질은 AOAC (1995)법에 따라 semimicro Kjeldahl법으로 측정하였고, 고형물량을 살펴보기 위하여 검토했던 brix는 0-32% 범위의 refractometer (Atago N1, Atago, Japan)로 측정하였다.

### Trichloroacetic acid (TCA) 가용성 질소 및 휘발성염기 질소

TCA 가용성 질소는 액상 시료의 경우 동량의 20% (w/v) TCA를 가한 다음 15분간 충분히 교반시킨 후 원심분리 (8,000 rpm, 20 min) 한 상층액을 시료로 조제하여, 고상 시료의 경우 일정량의 시료 (10 g)에 20% TCA 30 mL을 가한 다음 15분간 충분히 균질화 (10분), 정용 (100 mL) 및 원심분리 (8,000 rpm, 20 min) 한 상층액을 시료로 조제하여, 이들 조제 시료들을 semimicro Kjeldahl법으로 질소 함량을 측정하는 다음 아래와 같은 계산식에 의하여 계산하였다.

$$\text{TCA 가용성 질소 (\%)} = \frac{\text{원심분리 상층액의 총질소 함량}}{\text{TCA 처리 전 시료의 총질소 함량}} \times 100$$

휘발성염기질소는 Conway unit를 사용하는 미량확산법 (Pharmaceutical Society of Japan, 1980)으로 측정하였다.

### 분자량 분포

연어 frame 추출물의 분자량 분포는 Sephadex G-50 칼럼을 사용하여 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 겔 여과용 시료는 원심분리 (12,000 × g, 15분)하여 얻어진 추출물 (5 mL)을 millipore filter (0.45 μm)로 여과하여 사용하였다. 시료는 Sephadex G-50 칼럼 (i.d. 1.6 × 100 cm)에 주입하여 유속 0.5 mL/min으로 튜브당 분획량이 3 mL가 되도록 하여 용출시켰고, 용출액은 흡광도 280 nm에서 측정하여 단백질 분자량 분포를 확인하였다. 분자량 측정을 위한 표준 단백질은 insulin (6,500 Da), cytochrome C (12,400 Da) 및 carbonic anhydrase

(29,000 Da)를 사용하였다.

산화 억제능 및 ACE 저해능

항산화능은 ferric thiocyanate (Mitsuda et al., 1996)법으로 측정하여 얻은 흡광도를 아래의 식으로 계산하여 나타내었다. 즉, 시료 0.25 mL, 증류수 0.25 mL, sodium phosphate buffer (pH 7.0) 1 mL, 그리고 ethanol을 용매로 하는 50 mM linoleic acid 1 mL를 tube에 혼합한 후 60°C incubator에서 자동산화시켰다. 24시간 후 산화시료 50 µL, 75% ethanol 2.35 mL, 30% ammonium thiocyanate 50 µL, 3.5% HCl을 용매로 하는 20 mM ferric thiocyanate solution 50 µL를 test tube에 넣고, 3분동안 혼합한 후 흡광도를 측정하여 다음의 방법으로 계산하여 나타내었다.

$$\text{항산화능 (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{시료 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \right) \times 100$$

Angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해능은 정제 angiotensin I converting enzyme을 이용하여 Horiuchi et al. (1982)의 방법으로 전처리한 후 Zorbax 300SB C<sub>8</sub> column (Hewlett Packard Co., 4.6×150 mm)이 장착된 HPLC (LC-10Avp, Shimadzu Co, Japan)로 분석하였다.

백색도

백색도는 추출한 엑스분을 시료로 하여 직시색차계 (ZE-2000, Nippon Denshoku Industries Co., Japan)로 L (명도), a (황색도) 및 b (적색도) 값을 측정하여 다음 이틀 이용하여 아래 식에 따라 백색도 (white index)를 계산하였고, 이 때 표준 백판은 L값이 96.82, a값이 -0.42 및 b값이 0.64이었다.

$$\text{White index} = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

비린내 강도

비린내 강도의 측정을 위한 시료는 시료가 분말인 경우 4 g을, 액체인 경우 4 mL를 40 mL nial에 각각 넣고 테프론으로 코팅된 septa로 봉한 후 50°C로 조정된 water bath에서 1시간 방치하여 비린내를 휘발시켜 제조하였다. 그리고, 비린내 강도의 측정은 제조한 시료를 이용하여 주위의 영향을 줄이기 위해 밀폐된 공간에서 전자코 (odor concentration meter, XP-329, New Cosmos Electric Co., LTD, Japan)로 측정하였다. 비린내의 강도는 전자코가 인지한 mv로 나타내었다.

관능검사 및 통계처리

관능검사는 10인의 panel member를 통하여 효소 가수분해를 시도하지 않고 autoclave에서 고온 가압처리 (121°C, 4시간) 한 즉시 여과 및 방냉 처리한 대조구 (C)의 탁도를 포함한 색도, 향 및 맛을 기준점인 5점으로 하여 효소 가수분해물의 이들 항목이 대조구에 비하여 열악한 경우 4-1점, 이보다 우수한 경우 6-9점으로 하는 9점 척도법으로 평가한 다음 평균값으

로 나타내었다. 데이터의 통계처리는 ANOVA test를 이용하여 분산분석 한 후 Duncan의 다중위검정 (Steel and Torrie, 1980)으로 최소유의차 검정 (5% 유의수준)을 실시하였다

결과 및 고찰

효소의 종류 및 처리시간에 따른 고온가압 추출물 유래 가수분해물의 수율 변화

수율 및 기능성 개선을 목적으로 무염과 고온 가압 (121°C, 4시간) 처리물에 4종의 상업적 효소 (Alcalase, Flavourzyme, Neutrase 및 Protamax)로 처리한 효소 가수분해물의 brix 및 단백질 함량은 Fig. 1 및 2와 같다. 고형물의 함량을 의미하는 brix는 효소 무처리 연어 frame 추출물인 대조구 (C)가 3.5°이었으나, Protamax 처리물의 경우 분해 초기부터 급격히 증가하기 시작하여 4시간 이후에는 4.5°를 나타내었다. 하지만

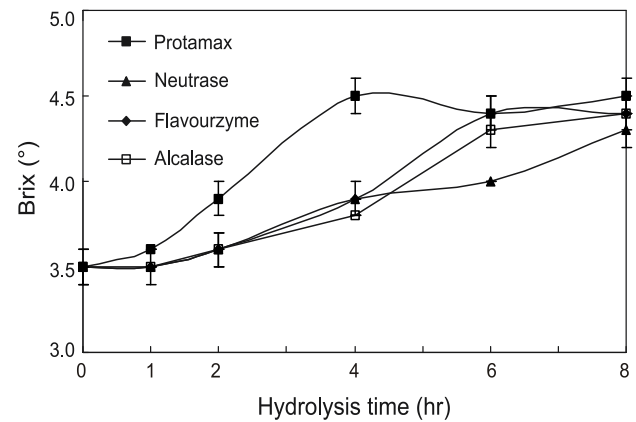


Fig. 1. Brix of enzymatic hydrolysates from salmon frame extracts incubated with various enzymes for different times.

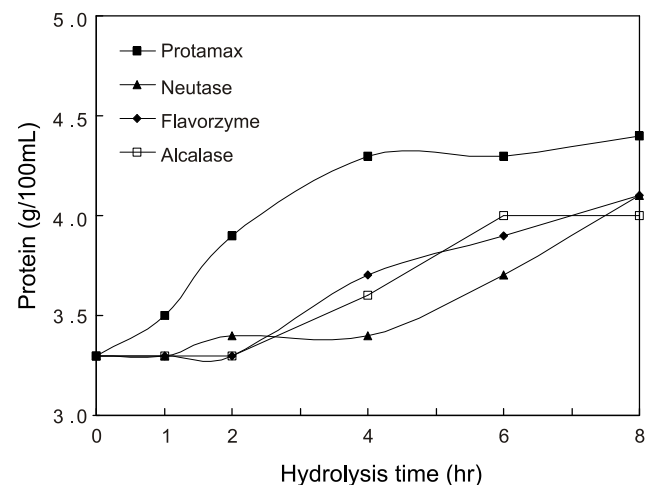


Fig. 2. Protein content of enzymatic hydrolysates from salmon frame extracts incubated with various enzymes for different times.

나머지 3종의 상업적 효소 처리물은 분해초기 (분해 2시간까지)에는 거의 변화가 없었고, 이후 4시간째부터 Neutrase 처리물의 경우 서서히 증가하는 경향을 나타내었으나, Flavourzyme 처리물 및 Alcalase 처리물의 경우 6시간째까지는 급격히 증가한 후 8시간째에는 거의 변화가 없었다.

한편, 단백질 함량은 효소 무처리 연어 frame 추출물인 대조구 (C)가 3.3 g/100mL이었으나, Protamex 처리물의 경우 분해초기부터 급격히 증가하기 시작하여 4시간 이후에는 4.3 g/100mL을 나타내었다. 하지만 나머지 3종의 상업적 효소 처리물은 분해초기 (분해 2시간까지)의 경우 거의 변화가 없었고, 이후 Flavourzyme 처리물의 경우 이후 2시간째부터, Neutrase 처리물의 경우 4시간째부터 증가하는 경향을 나타내었으나, Alcalase 처리물의 경우 2시간째부터 6시간째까지는 급격히 증가한 후 8시간째에는 거의 변화가 없었다. 하지만, 효소 가수분해물의 단백질 함량은 전 가수분해 기간 동안 Protamex 처리물이 가장 높았다. 한편, 효소 가수분해물의 추출시간에 따른 단백질 함량 변화는 brix의 변화와 거의 유사한 경향을 나타내었다.

이상의 가수분해 시간에 따른 효소 처리 연어 frame 가수분해물의 brix 및 단백질 함량의 결과로 미루어 보아 수율 개선을 위한 최적 효소는 Protamex이었고, 최적시간은 4시간으로 판단되었다. 연어 frame 추출물을 이와 같은 조건으로 가수분해하는 경우 단백질 함량 면에서 수율 개선 효과는 약 30%이었다.

효소의 종류 및 처리시간에 따른 고온가압 추출물 유래 가수분해물의 기능성 변화

일반적으로 단백질 가수분해물은 여러 가지 건강 기능성을 가지고 있고, 그 중에서도 특히 항산화성과 angiotensin I converting enzyme (ACE) 억제능이 널리 알려져 있다 (Byun and Kim, 2001; Ukeda et al., 1992). 이러한, 일면에서 본 실험에서도 연어 frame추출물의 수율 개선 뿐만이 아니라 건강 기능성도 부여할 목적으로 연어 frame 추출물에 대하여 효소 가수분해를 시도하였다. 수율 및 기능성 개선을 목적으로 무 여과 고온 가압 (121°C, 4시간) 처리물에 4종의 상업적 효소

(Alcalase, Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex)로 처리한 효소 가수분해물의 angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해능은 Table 1과 같다. 가수분해 시간에 따른 연어 frame 추출물 유래 효소 가수분해물의 ACE 저해능은 Neutrase 처리물의 경우 가수분해 1시간 처리물이 42.4%를 나타내었고, 이후 가수분해 시간이 경과할수록 증가하는 경향을 나타내어 가수분해 8시간 처리물이 60.5%이었다. 하지만 Protamex, Flavourzyme 및 Alcalase와 같은 나머지 3종의 상업적 효소 처리물의 경우 사용 효소의 종류에 관계없이 가수분해 시간에 따른 의존성은 없었다. 이와 같은 결과는 단백질 가수분해물의 기능성은 peptide의 말단을 구성하는 아미노산의 종류에 의하여 결정되므로 적정 수준 이상으로 가수분해되는 경우 기능성 함유 peptide가 오히려 분해되기 때문이라 판단되었다. 한편, 수산물 유래 효소 가수분해물의 건강 기능성을 검토하는 연구에서 Byun and Kim (2001)의 경우 명태 껍질 가수분해물을 제조하여, Chung et al. (2006)의 경우 굴 가수분해물을 제조하여 ACE 저해능을 살펴 본 결과 가수분해 시간 및 가수분해도와 ACE 저해능 간에는 상관성이 없었다고 보고한 바 있다. 효소 처리 시간 및 효소의 종류에 따른 연어 frame 추출물 유래 효소 가수분해물의 ACE 저해능은 1시간, 2시간 및 6시간 처리 가수분해물의 경우 Protamex 처리물이 각각 71.2%, 77.6% 및 67.9%로 가장 높았으나, 4시간 및 8시간 처리 가수분해물의 경우 Flavourzyme 처리물이 각각 65.6% 및 69.6%로 가장 높았고, Protmaex 처리물은 각각 61.7% 및 63.9%를 나타내었다. 이와 같이 효소의 종류를 달리하여 제조한 효소 가수분해물의 ACE 저해능은 가수분해를 위하여 사용한 상업적 효소의 기질 특이성에 의해 생성된 peptide의 구조 차이 때문이라 판단되었다 (Wu et al., 2003). 본 실험에서 4종의 상업적 효소를 이용하여 8시간동안 연어 frame 추출물 유래 효소 가수분해물 중에서 ACE 저해능은 Protamex로 2시간 반응시킨 처리물이 77.6%로 가장 높았고, 이의 IC<sub>50</sub> value는 1.11 mg/mL이었다. 한편, Byun and Kim (2001)은 명태껍질을 기질로 하여 Pronase E로 2시간 동안 가수분해한 가수분해물의 ACE 저해능 (IC<sub>50</sub>)은 0.66 mg/mL이었다고 보고한 바 있고, Ukeda et al. (1992)은 정어리 근육을 기질로 하여 pepsin으로 가수분해한 가수분해물의 ACE 저해능 (IC<sub>50</sub>)은 0.62 mg/mL이었다고 보고한 바 있다. 이와 같은 결과와 보고 (Byun and Kim, 2001; Ukeda et al., 1992)로 미루어 보아 연어 frame 추출물 유래 Protamex 2시간 가수분해물의 경우 ACE 저해능을 기대할 수 있을 것으로 사료되었다.

이상의 결과로부터 건강 기능성을 함유한 연어 frame 추출물 유래 효소 가수분해물을 제조하고자 하는 경우 연어 frame 추출물을 제조한 다음 여기에 단백질의 1%에 해당하는 Protamex를 첨가한 후 제조하는 것이 가장 적절하리라 판단되었다. 한편, 연어 frame 추출물 유래 효소 가수분해물들 중 수율이 가장 높았던 Protamex 4시간 처리 가수분해물의 ACE 저해능은 61.7%이었고, IC<sub>50</sub> value (mg/mL)는 1.48 mg/mL이었다.

고형물을 분리하지 않은 연어 frame 고온 가압 (121°C, 4시간)

Table 1. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity (%) of hydrolysates from salmon frame extracts incubated with various enzymes for different times

Enzyme	Incubation time (hrs)					
	0	1	2	4	6	8
Protamax	55.47	71.23	77.55 (1.11) <sup>1)</sup>	61.69 (1.48)	67.92	63.9
Neutrase	55.47	42.39	42.69	50.37	56.31	60.49
Flavourzyme	55.47	53.97	66.80	65.60	61.93	69.64
Alcalase	55.47	58.65	61.78	59.57	60.98	63.50

※ Samples used for analysis of ACE inhibitory activity was diluted to five times.

<sup>1)</sup>Value in the parenthesis indicate IC<sub>50</sub> value (mg/mL) of ACE inhibitory activity.

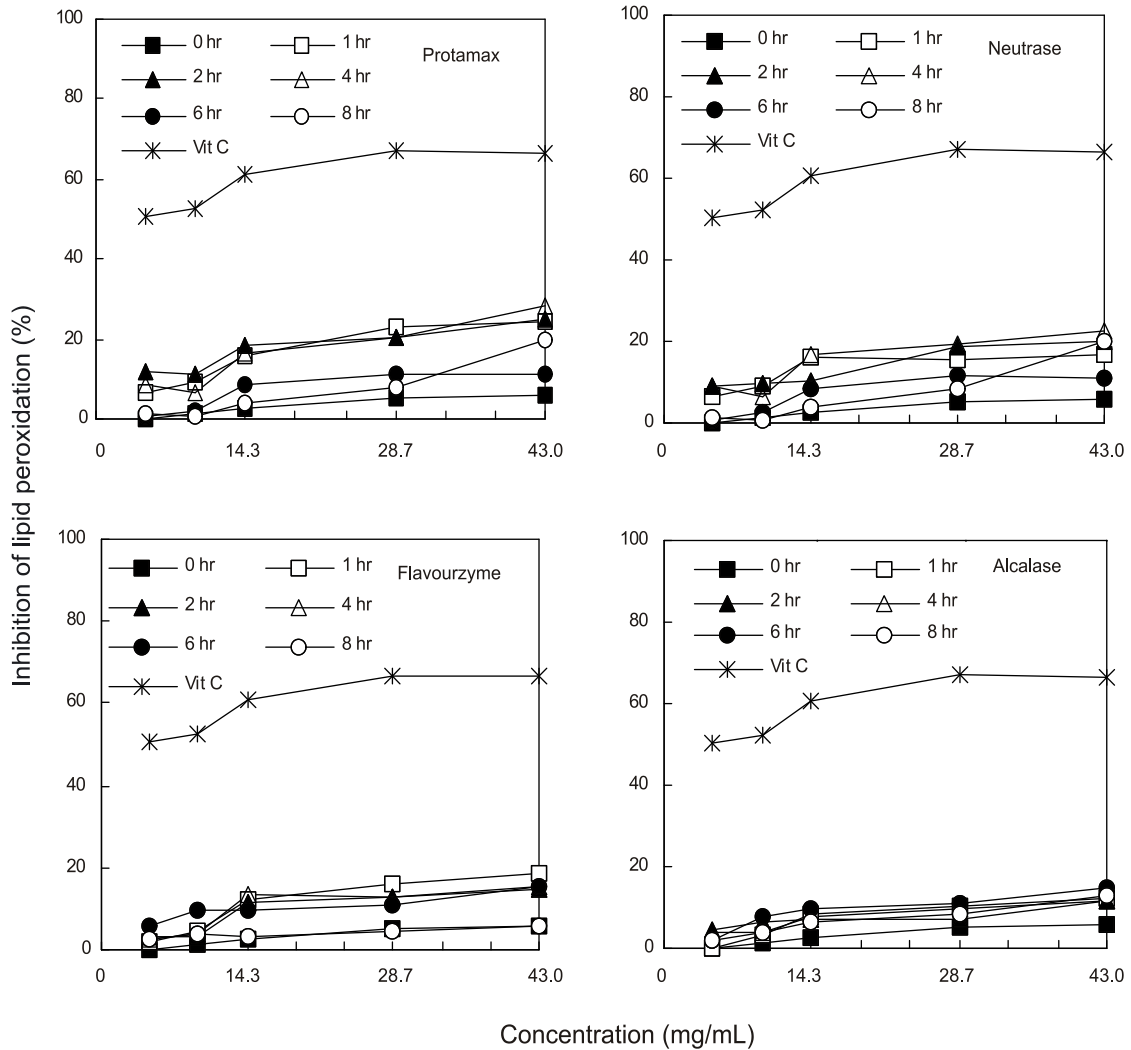


Fig. 3. Inhibition of lipid peroxidation activity of hydrolysates from salmon frame extracts incubated with various enzymes for different concentrations.

추출물에 대하여 4종의 상업적 효소 (Alcalase, Flavourzyme, Neutrase 및 Protamex)를 처리한 연어 frame 유래 효소 가수분해물의 항산화능은 Fig. 3과 같다. 여기서 항산화능은 Figure에서는 여러 가지 농도로 표기되어 있으나 언급한 항산화능 (%)의 가수분해물 농도는 43.0 mg/100mL이었다. 항산화능은 Alcalase 가수분해물의 경우 가수분해 시간에 관계없이 11.3-14.9% 범위로 거의 차이가 없었고, 나머지 3종의 효소 가수분해물의 경우 효소 가수분해 시간에 따른 의존성은 없었다. 한편, 효소 가수분해물간 최대 항산화능은 Alcalase 가수분해물의 경우 6시간 처리한 것 (14.9%), Flavourzyme 가수분해물의 경우 1시간 처리한 것 (18.6%), Neutrase 가수분해물의 경우 4시간 처리한 것 (22.8%) 및 Protamex 가수분해물의 경우 4시간 처리한 것 (28.6%)이었고, 이들의 항산화능은 비타민 C (20 mM, 66.7%)에 비하여는 확연히 낮았다. 한편, 연어

frame 추출물 유래 효소 가수분해물들 중 수율이 가장 높았던 Protamex 4시간 처리 가수분해물의 항산화능은 검토한 효소와 처리시간 들 중 가장 효과가 있는 28.6%이었고, 검토한 효소와 시간들 중 ACE 저해능이 가장 높았던 Protamex 2시간 처리 가수분해물의 항산화능은 25.1%이었다.

#### 고온가압 추출물 유래 효소 가수분해물의 분자량 분포

수율 및 기능성 개선을 목적으로 고온 가압 연어 frame 추출물에 Protamex를 가하고 2시간 (P2, ACE 저해능이 가장 높았던 가수분해물) 및 4시간 (P4, 수율이 가장 높았던 가수분해물)동안 가수분해한 Protamex 가수분해물의 Sephadex G-50을 이용한 분자량 분포를 살펴 본 결과는 Fig. 4와 같다. 연어 frame 추출물 (C)의 분자량 분포는 fraction 18-30사이의 고분

자 획분과 29 kDa을 최대 peak로 하는 fraction 30-60 사이의 저분자 획분 즉 2개의 획분으로 구성되어 있었다. 그러나 이를 Protamex로 2시간 및 4시간 가수분해함에 따라 두 효소 가수분해물 모두 고분자 획분의 크기가 감소되면서 저분자 획분의 크기가 증가하여 P2의 경우 12.4 kDa을 최대로 하는 fraction 24-76 사이의 저분자 획분으로, P4의 경우 6.5 kDa을 최대로 하는 fraction 24-80 사이의 저분자 획분으로 변화하였다. 연어 frame 추출물에 비하여 저분자화 경향은 Protamex 처리 시간이 경과할수록 뚜렷한 경향을 나타내었다.

연어 frame 추출물 유래 Protamex 가수분해물의 식품학적 특성

연어 frame 추출물과 이를 기질로 한 Protamex 가수분해물(원료 연어 frame 추출물에 대하여 1%에 해당하는 Protamex를 첨가한 다음 40°C에서 4시간 반응 처리한 반응물)의 TCA 가용성 질소, 휘발성염기질소, 색조(백색도) 및 관능검사의

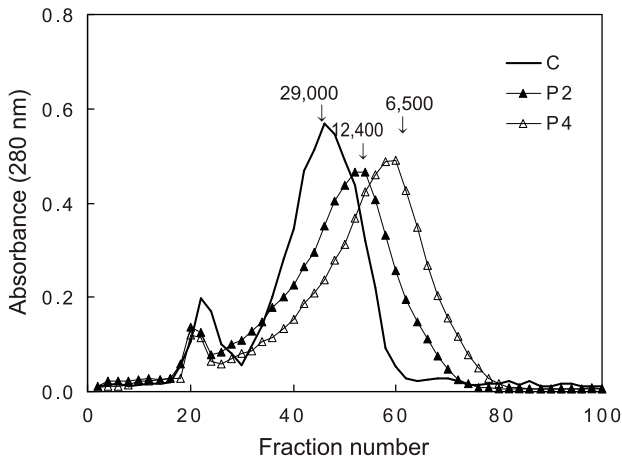


Fig. 4. Molecular weight distribution profiles of hydrolysates from salmon frame extracts incubated with Protamex for different concentration.

The sample were chromatographed on Sephadex G-50 column (100 × 1.6 cm). Standards : carbonic anhydrase (29,000 Da), Cytochrome C (12,400 Da), aprotinin (6,500 Da).

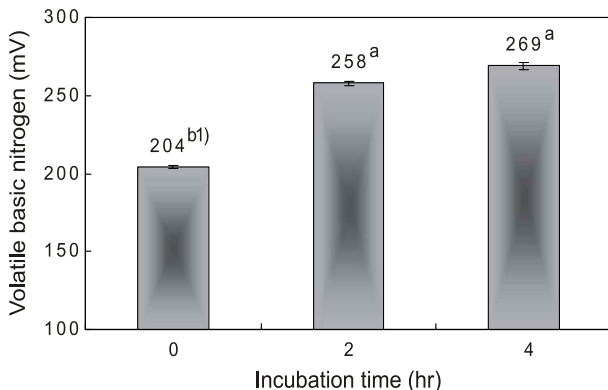


Fig. 5. Volatile component intensity of extracts of salmon frame incubated for different times with Protamex.

Table 2. Trichloroacetic acid (TCA) soluble-N content, volatile basic nitrogen (VBN) content, white index and results on sensory evaluation of hydrolysates of salmon frame extracts incubated with or without Protamex

		Hydrolysis time (hr)	
		0	4
TCA soluble-N (mg/100 mL)		279.6±12.8	582.4±13.1
VBN (mg/100 mL)		15.6±2.2	23.4±3.2
White index		12.6±1.2	10.3±0.8
Sensory evaluation <sup>1)</sup>	Color	5.0±0.0 <sup>a1)</sup>	4.7±0.4 <sup>a</sup>
	Odor	5.0±0.0 <sup>a</sup>	4.2±0.6 <sup>b</sup>
	Taste	5.0±0.0 <sup>b</sup>	6.9±0.5 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Means within the column followed by the same letters are not significantly different ( $P<0.05$ ).

결과는 Table 2와 같고, 전자코로 측정된 휘발성 성분의 강도는 Fig. 5와 같다. TCA 가용성 질소 함량은 효소 무처리 연어 frame 추출물이 277.5 mg/100mL이었는데 반하여 Protamex 처리물의 경우 582.5 mg/100mL으로 상당히 저분화 되었다. Protamex 처리물의 TCA 가용성 질소 함량 결과로 미루어 보아 효소 처리에 의해 연어 frame 추출물의 맛이 농후화 하여 상당히 개선되었으리라 판단되었다. 휘발성염기질소 함량은 효소 무처리 연어 frame 추출물이 15.6 mg/100mL이었는데 반하여 Protamex 처리물이 23.4 mg/100mL로 증가하였다. 한편, Chung et al. (2006)도 건강 기능성 굴 가수분해물을 제조하는 연구에서 효소 가수분해물의 경우 무처리물에 비하여 휘발성염기질소 함량이 높다고 보고하여 본 실험의 결과와 잘 일치하였다. 백색도는 효소 무처리 연어 frame 추출물이 12.6이었는데 반하여 Protamex 처리물이 10.3으로 감소하였다. 이와 같이 Protamex 처리에 의한 연어 frame 추출물의 백색도 저하는 Protamex에 의해 일부 단백질이 가수분해되면서 고형물의 양이 증가하는 효과 이외에 지질 및 기타 성분들의 혼입에 의한 영향이라 판단되었다.

이상의 연어 frame 추출물의 백색도 결과로 미루어 보아 Protamex와 같은 상업적 효소를 이용하여 연어 frame 추출물을 제조하는 경우 수율 및 기능성 개선은 이루어지나 곰팡이 제품의 품질지표 항목인 백색도의 경우 낮아지는 경향을 나타내었다.

색조, 비린내 및 맛에 대한 관능평가는 효소 무처리 연어 frame 추출물을 기준점인 5점으로 하고, Protamex 처리 연어 frame 추출물이 이보다 우수한 경우 6-9점을, 그리고 이보다 열악한 경우 4-1점으로 하는 9점법으로 실시하였다. Protamex 처리 연어 frame 추출물은 무처리 연어 frame 추출물에 비하여 맛에 있어 개선되었고, 백색도의 경우 미미한 정도에서 황색화가 이루어졌으나 5% 유의수준에서는 차이가 없었으며, 비린내의 경우 강도 증가에 의해 기호도가 낮아졌다.

한편, 전자코에 의한 휘발성 성분의 강도는 Protamex 무처리 제품이 204 mV를 나타내었고, 효소 2시간 처리 제품이 258 mV를 나타내었으며, 효소 4시간 처리 제품이 269mV를 나타내어 수율 및 건강 기능성 개선을 위하여 실시하는 효소 처리의 경우 반응시간이 경과할수록 비린내가 증가함을 알

수 있었다. 이와 같은 전자코에 의한 휘발성 성분의 강도의 결과와 관능검사의 결과로 미루어 보아 생성한 휘발성 성분의 경우 비린내로 추정되었다.

이상의 TCA 가용성 질소 함량, 휘발성염기질소 함량, 백색도, 전자코에 의한 휘발성 성분의 강도 및 관능검사의 결과로 미루어 보아 연어 frame 추출물은 효소 처리에 의해 맛의 경우 개선 효과가 인지되었으나, 백색도의 경우 차이가 인지되지 않았다. 그러나, 효소 가수분해물의 경우 연어 frame 추출물에 비하여 비린내의 경우 품질 저하가 인지되어, 수율 및 기능성 개선을 위한 효소 처리의 경우 후처리 공정에서 Maillard 반응을 이용한 비린내 개선 등의 도입이 반드시 이루어져야 하리라 판단되었다.

연어 frame 추출물의 수율 및 건강 기능성 개선을 4종의 상업적 효소 (Alcalase, Flavourzyme, Neutrase, Protamex)로 고형물을 제거하지 않은 연어 frame 추출물에 대하여 가수분해를 실시하였다. 단백질 함량 및 brix의 결과로 미루어 수율 개선 효과는 Protamex 4시간이 가장 우수하였고, 이 때의 ACE 저해능은 61.7%이었다. ACE 저해능은 Protamex 2시간 처리 가수분해물이 77.6%로 가장 우수하였으나 단백질 함량 및 brix가 Protamex 4시간 처리한 것에 비하여 낮았다. TCA 가용성 질소 함량, 휘발성염기질소 함량, 백색도 및 관능검사의 결과로 미루어 보아 효소 처리에 의해 맛의 경우 개선 효과가 인지되었으나, 비린내의 강도는 다소 증가하여, 수율 및 기능성 개선을 위한 효소 처리의 경우 고품질의 제조를 위하여는 후처리 공정에서 반드시 이의 차폐를 위한 조작이 이루어져야 하리라 판단되었다.

## 사 사

본 연구는 2005년 경상북도/울진군 해양바이오산업기술개발사업 (어골을 이용한 레토르트 제품 및 콜라겐 펩티드 기능성 소재 개발)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Ahn CB. 2003. Effective utilization of seafood by-products. Bull. Marine Sci. Institute Yosun National Fisheries University 12, 87-94.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC., pp. 69-74.
- Byun HG and Kim SK. 2001. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. Process Biochemistry 36 1155-1162.
- Crapo C and Himelbloom B. 1994. Quality of mince from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frames. J Aqua Food Prod Tech 3, 7-17.
- Cho EJ and Yang MK. 1999. Effects of herbs on the taste compounds of *Gom-Kuk* (beef soup stock) during cooking. Korean J Soc Food Sci 15, 483-489.
- Chung IK, Kim HS, Kang KT, Choi YJ, Choi JD, Kim JS and Heu MS. 2006. Preparation and functional properties of enzymatic oyster hydrolysates. J Korean Soc Food Sci Nutr 35, 919-925.
- Han BW, Kim HS, Jee SJ, Lee JH, Kim HJ, Park SH, Ji SG, Heu MS and Kim JS. 2007. Characteristics of hot-water extracts from salmon frame as basic ingredients for Gomtang-like products. J Korean Soc Food Sci Nutr 36, 1326-1333.
- Heu MS, Park SH, Kim HJ, Han BW, Ji SG, Kim JG, Yoon MS and Kim JS. 2008. Improvement on fish odor of extracts from salmon frame soaked in soybean milk. J Korean Soc Food Sci Nutr 37, 223-230.
- Heu MS, Park SH, Kim HJ, 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 Korean Soc Food Sci Nutr 36, 1596-1603.
- Hiroimi S and Kinji E. 1990. Changes of amino acids and ATP-related compounds in chicken muscle during storage and their relationship to the taste of chicken soup. J Home Economic Japan 41, 933-938.
- Horiuchi M, Fujimura KI, Terashima T and Iso T. 1982. Method for determination of angiotensin converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr 233, 123-130.
- Keiko H, Setsuko A, Fujiko Y, Ikuko K and Yukiko T. 1981. Effect of heating rate (slow and fast) on physical and chemical properties of cooked chicken leg meat and soup. J Home Economic Japan 32, 515-519.
- Kim JS, Yang SK and Heu MS. 2000. Component characteristics of cooking tuna bone as a food resource. J Kor Fish Soc 33, 38-42.
- Lee CK, Choi JS, Jeon YJ, Byun HG and Kim SK. 1997. The properties of natural hydroxyapatite isolated from tuna bone. J Kor Fish Soc 30, 652-659.
- Mariko T. 1991. Heat-induced effect on soluble protein in meat soup stock. J Home Economic Japan 42, 967-972.
- Mitsuda H, Yasumoto K and Iwami K. 1996. Antioxidative

- action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyoto Shokuryo* 19, 210-214.
- Montecalvo JRJ, Constantinides SM and Yang CST. 1984. Optimization of processing parameters for the preparation of flounder frame protein product. *J Food Sci* 49, 172-176.
- Nagai T and Suzuki N. 2000. Preparation and characterization of several fish bone collagens. *J Food Biochem* 24, 427-436.
- Park DY and Lee YS. 1983. The effect of acid and alkali treatment on extracting nutrients from beef bone. *Korean J Food Nutr* 12, 146-149.
- Pharmaceutical Society of Japan. 1980. The health experimental method notes. Kum-Won Publishing Co. Tokyo, Japan, pp. 728-732.
- Steel RGD and Torrie JH. 1980. Principle and Procedures of Statistics. 1st ed. Tokyo. McGraw-Hill Kogakusha, pp. 187-221.
- Suh JS, Suh KG, Lee SG and Jung HS. 1995. Basic Nutrition. 2nd ed. Ji-gu Publishing Co. Seoul, Korea, pp. 248-251.
- Ukeda H, Matsuda 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 A, Park JW and Kristbergsson K. 2002. Recovered meat from Pacific whiting frame. *J Aquatic Food Product Technol* 11, 5-18.
- Wu 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 Research International* 36, 949-957.
- Yoo IJ, Yoo SH and Park BS. 1994. Comparison of Physicochemical Characteristics among Han Woo. *Korean J Anim Sci* 36, 507-514.

---

2009년 4월 1일 접수  
 2009년 5월 21일 수정  
 2009년 12월 8일 수리