

명태 수리미 부산물 유래 젤라틴 가수분해물을 이용한 시판 간장의 항산화성 및 ACE 저해활성의 개선

허민수·박찬호¹·김정균¹·김형준¹·윤민석¹·박권현¹·김진수^{1*}

경상대학교 식품영양학과 / 해양산업연구소,

¹경상대학교 해양식품공학과 / 해양산업연구소

Improvement of the Antioxidative and ACE-inhibiting Activities of Commercial Soy Sauce using Gelatin Hydrolysates from the By-products of Alaska Pollock

Min Soo Heu, Chan Ho Park¹, Jeong Gyun Kim¹, Hyung Jun Kim¹,
Min Seok Yoon¹, Kwon Hyun Park¹ and Jin Soo Kim^{1*}

Department of Food and Nutrition / Institute of Marine Industry,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

¹Department of Seafood Science and Technology / Institute of Marine Industry,
Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

This study examined ways to improve the functional properties of commercial soy sauce using gelatin hydrolysates from the refiner discharge of Alaska pollock, *Theragra chalcogramma*. The total nitrogen content and pH of gelatin sauce prepared by dissolving the second-step gelatin hydrolysates (15 g), salt (20 g), sugar (5 g), glucose (2.5 g), inosine monophosphate (IMP) (0.5 g), black pepper (0.1 g), caramel powder (0.1 g), ginger powder (0.05 g), garlic powder (0.05 g), vinegar (3 mL), and fructose (3 mL) in water(100 mL) were 1.71% and 5.35, respectively. The results of a sensory evaluation indicated that when preparing blended soy sauce, the optimal blending ratio of gelatin sauce to commercial soy sauce was 20:80 (v/v). Because the total nitrogen content and pH of the blended soy sauce were 1.52% and 5.31, respectively, the blended soy sauce could be sold as a soy sauce. The oxidative property of the blended soy sauce was similar to that of 20 mM ascorbic acid, and its angiotensin-converting enzyme (ACE) -inhibiting activity was 1.5 mg/mL. The results suggest that the antioxidative and ACE-inhibiting activities of commercial soy sauce can be improved by blending gelatin sauce (20) with commercial soy sauce (80). The total amino acid content of the blended soy sauce was 9,107.3 mg/mL, which was higher than that (8,992.4 mg/100 mL) of commercial soy sauce. However, the taste value of the blended soy sauce was 415.8, which was lower than that (431.2) of commercial soy sauce.

Key words: Fish gelatin, Gelatin hydrolysate, By-products, Soy sauce, Alaska pollock

서 론

게맛살, 새우맛살, lobster 맛살, 어육 패티, 어육 소시지 등과 같은 수산연제품은 비린내를 느낄 수 없으면서 잔가시에 대한 부담이 없어 서구는 물론이고 우리나라에서도 소비가 증가되고 있는 대표적인 수산가공품 중의 하나이다 (Morrisey et al., 2005). 따라서 게맛살, 새우맛살, lobster 맛살, 어육 패티, 어육 소시지 등의 제조를 위한 중간소재로 사용되고 있는 수리미 (surimi)는 그 생산량이 자연히 증가하는 추세이다. 한편, 수리미는 명태 Pacific whiting, arrowtooth flounder, southern blue whiting 등과 같은 한대성 어류와 threadfin bream, lizardfish, croaker 등과 같은 온대성 어류가 다양하게 이용되고 있고, 원료의 종류에 관계없이 내장 (전어체에 대하

여 15-30%), 두부 (전어체에 대하여 14-20%), frame (전어체에 대하여 약 17%), 껍질 (전어체에 대하여 8-10%). 가용성 단백질 (전어체에 대하여 14-16%) 및 refiner discharge (전어체에 대하여 8-10%) 등과 같은 다양한 부산물들이 다량 발생하여 단지 20% 정도 만이 제품으로 생산되고 있어 부산물의 유효 이용이 절실하다 (Wendel, 1992). 수리미 가공 중 많은 양이 파생되는 여러 가지 부산물 중 어류껍질 및 refiner discharge와 같은 고품 부산물에는 단백질 기준으로 각각 57.1% 및 28.8%와 같은 다량의 콜라겐이 존재하여 우수한 콜라겐 및 젤라틴 추출 소재이나 현재까지 일부 만이 사료로 이용되고 있고, 대부분이 폐기되어 사회적으로 문제가 되고 있어 이의 유효 이용이 절실하다.

하지만, 젤라틴이 현재 식품용, 의약품 및 화장품용 등과 같이 산업적으로 이용되기 위하여는 반드시 일정 이상의 점도

*Corresponding author: jinsukim@gun.ac.kr

와 녹는점이 요구되고 있으나, 수산물 유래 젤라틴은 점도의 경우 일부 충족되나 녹는점의 경우 요구 온도 (대체로 30°C 이상) 이하이어서 산업화 소재에 문제가 되고 있다 (Kim and Park, 2004). 따라서, 수산물 유래 젤라틴을 효율적으로 이용하기 위하여는 현재 주로 이용되고 있는 용도 즉 일정 규격 이상의 물리적 특성을 요하는 용도 이외의 새로운 용도 개발이 요구된다. 한편, 젤라틴은 여러 가지 효소에 의하여 가수분해되는 경우 angiotensin- I converting enzyme (ACE) 저해 활성과 항산화 활성을 가진 peptide들이 산생되어 건강 기능성 개선 소재로 이용 가능하다 (Kim et al., 2001a; Kim et al., 2001b). 이러한 일면에서 수산물 유래 젤라틴을 효율적으로 이용하고자 하는 경우 일정 이상의 점도와 녹는점 등을 요구하는 요구르트의 안정제 등과 같은 식품용 소재, 캡슐, 수술용 실 등과 같은 의약품 소재, 그리고, 샴푸, 립스틱 등과 같은 화장품용 소재로 이용하기 보다는 일정 이상의 점도와 녹는점 등을 요구하지 않는 건강 기능성 소재로 이용하는 것이 적절하리라 판단된다.

한편, 수산물 유래 젤라틴의 이용에 관한 연구로는 어류껍질 (Gudmundsson, 2002; Gudmundsson and Hafsteinsson, 1997; Kim et al., 1996; Hamada, 1990; Gimenez et al., 2005), 어류뼈 (Kittiphattanabawon et al., 2005; Muyonga et al., 2004), 비늘 (Nagai et al., 2004; Ogawa et al., 2004) 및 refiner discharge (Kim and Park, 2004) 젤라틴의 일정 이상의 점도와 녹는 점 등을 요구하는 식품용 소재, 의약품 소재, 그리고, 화장품용 소재로서 이용을 위한 가능성의 검토와 이들 소재로부터 추출한 가수분해물의 항산화 (Kim et al., 2001b; Kim and Byun, 1994; Mendis et al., 2005; Heu et al., 2009) 및 ACE 저해 소재 (Kim et al., 2001a; Byun and Kim, 2001; Park et al., 2009)로서의 검토 등을 시도한 바 있으나, 이들 젤라틴과 그 유래 가수분해물의 직접적인 이용을 시도한 예는 대구껍질 유래 가수분해물을 이용한 혼합 간장을 제조한 예 (Kim et al., 1993)를 제외한다면 없다.

본 연구에서는 명태 수리미 가공 부산물인 refiner discharge 유래 젤라틴 가수분해물을 이용하여 시판 간장의 건강 기능성 개선을 목적으로 젤라틴 가수분해물 소스 (이하 젤라틴 소스로 칭함)를 제조한 다음 이의 식품성분 특성을 살펴보고자 하였고, 시판 간장에 이 젤라틴 소스의 적정 대체 비율을 구명하고자 하였으며, 최종적으로 젤라틴 소스를 시판 간장에 첨가한 혼합 간장의 일반성분, 그리고 항산화성 및 ACE 저해 활성에 대하여 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

젤라틴 (명태 수리미 가공부산물인 명태 refiner discharge로부터 추출)으로부터 가수분해물을 제조하기 위하여 사용한 Alcalase 2.4L FG (최적온도 및 pH; 각각 55-70°C 및 6.5-8.5, 이하 Alcalase라 칭함), Flavourzyme 500 MG (최적온도 및 pH; 각각 50°C 및 7.0, 이하 Flavourzyme라 칭함), Neutrase

0.8L (최적온도 및 pH; 각각 45-55°C 및 6.0, 이하 Neutrase라 칭함)은 Novo Co. (Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark)에서, 그리고, Pronase (최적온도 및 pH; 각각 37°C 및 7.5)는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, Mo, USA) 에서 각각 구입하여 사용하였다.

소스 제조용 첨가물 즉, 마늘분말, 생강분말, 카라멜 분말 및 IMP는 MSC Co. LTD. (Yangsan, Korea)에서, glucose 및 fructose는 Shinyo Pure Chemical Co. LTD. (Osaka, Japan)에서, 식초, 설탕 및 후추는 경남 통영 소재 마켓에서 각각 구입하여 사용하였고, 시판 간장은 C사의 양조간장을 구입하여 사용하였다.

젤라틴 및 그 가수분해물의 제조

Refiner discharge로부터 젤라틴과 이를 이용한 1단 및 2단 가수분해물의 제조는 Park (2006)이 언급한 방법에 따라 실시하였다.

명태 수리미 가공 부산물인 refiner discharge에 대하여 냉수 (5°C 이하)로 수세 및 체가름 하고, 이를 0.3 M Ca(OH)₂ 현탁액 처리 및 냉수로 재수세하였다. 수세처리한 알칼리 처리 refiner discharge에 대하여 0.15 M acetic acid 로 중화처리 및 수세한 다음 3배 (v/w)량의 증류수를 가하고 50°C 에서 4시간 동안 젤라틴을 추출하였다. 이어서 추출 젤라틴 용액을 활성탄 처리 및 감압 여과하고, 50°C 로 조절된 열풍건조기에서 건조 및 분쇄하여 분말 젤라틴을 제조하였다.

1단 가수분해물 (이하 가수분해물)은 1% 젤라틴 용액에 2 (g/100 g 젤라틴)에 해당하는 Pronase를 가하고 별다른 pH의 조정없이 2시간 동안 가수분해, 끓는 물에서 10분간 실험처리하여 제조하였고, 2단 가수분해물은 제조한 1단 가수분해물에 2 (g/100 g 젤라틴)에 해당하는 Flavourzyme을 가하고 연속적으로 각각 2시간 동안 반응시킨 후 열처리 (열탕, 10분), 냉각 및 여과하여 제조하였다. 그리고 소스 제조용 가수분해물 분말은 가수분해물을 급속 동결시킨 다음 동결건조기 (FDV-540, EYELA, Japan)에서 건조 및 분말화하여 제조하였다.

젤라틴 소스 및 이를 첨가한 혼합 간장의 제조

젤라틴 소스는 Kim et al. (1993)이 제시한 방법과 동일하게 제조하였다. 즉, 물 100 mL에 대해 2단 젤라틴 가수분해물 (15 g), 식염 (20 g), 설탕 (5 g), glucose (2.5 g), IMP (0.5 g), 후추 (0.1 g), 카라멜 분말 (0.1 g), 마늘 (0.05 g) 및 생강분말 (0.05 g), 식초 (3 mL) 및 과당 (3 mL)을 각각 첨가한 다음 완전 용해를 위하여 10분간 끓인 후 거즈로 여과하여 제조하였고, 여기에 젤라틴 가수분해물 무첨가 소스를 대조구로 하였다. 이와 같이 제조한 젤라틴 소스의 풍미개선을 위하여 시판 간장을 적절히 배합 (젤라틴 소스 : 시판간장, v/v ; 9:1, 8:2, 7:3, 5:5)하여 혼합 간장으로 사용하였다.

일반성분, pH 및 염도

일반성분은 AOAC법 (1995)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식회화법, 조단백질은 semimicro Kjeldahl법으로 각각 측정하였다.

pH 및 염도는 소스 또는 간장 그 자체를 시료로 하여 pH meter (691, Metrohm, Swiss) 및 염도계 (460CP, Istek Co.,

Korea)로 각각 측정하였다.

갈변도

갈변도는 Hirano et al. (1987)의 방법에 따라 시료에 2배량의 66% 에탄올을 가하고, 균질화시켜 여과한 다음, 그 여액을 분광광도계 (UV-140-02, shimadzu, Japan)로 측정하여 흡광도 (430 nm)로 나타내었다.

아미노산 및 taste value

총 아미노산 조성 및 함량 분석을 위한 시료는 일정량의 시료 (약 2 mL)에 12 N HCl 2 mL를 가하고, 밀봉한 다음, 이를 heating block (HF21, Yamato, Japan)에서 가수분해 (110°C, 24 hrs)한 후 glass filter로 여과 및 감압건조하였다. 이어서 감압건조물을 sodium citrate buffer (pH 2.2)로 정용한 후 이를 구성아미노산 분석용 시료로 사용하였다.

유리 아미노산 조성의 분석을 위한 시료는 시료에 20% trichloroacetic acid (TCA)를 동량 가하여 원심분리 (SUPRA 22K, Han-il science industrial Co., Daejeon. Korea ; 1,000 × g, 20 min)한 다음 상층액을 정용한 후 그 중 2 mL를 취하였다. 여기에 conc. HCl 2 mL를 가하고, 밀봉한 다음, 이를 heating block (HF21, Yamato, Japan)에서 가수분해 (110°C, 24시간)한 후 glass filter로 여과 및 감압건조 하였다. 이어서 감압건조물을 lithium buffer (pH 2.2)로 정용한 후, 이를 유리아미노산 분석용 시료로 하였다.

구성 및 유리아미노산 조성은 전처리한 각 시료의 일정량을 아미노산 자동분석기 (Pharmacia Biotech Biochrom 20, England)에 주입하여 분석 및 정량하였다.

또한, Taste value는 Kato et al. (1989)이 제시한 유리아미노산의 taste threshold를 이용하여 Cha et al. (1999a; 1999b)과 같은 방법으로 계산하였다.

ACE (angiotensin-I converting enzyme) 저해능 및 산화도

ACE 저해능은 Horiuchi et al. (1982)의 방법으로 전처리한 다음 전처리 용액 20 uL를 Zorbax 300SB C₈ column (Hewlett Packard Co., 4.6×150 mm)이 장착된 HPLC (Shimadzu LC-10Avp, Japan)로 분석하였으며 ACE 저해제의 농도는 ACE의 활성을 50% 저해하는데 요구되는 저해제의 양으로 계산하여 IC₅₀ (mg/mL)으로 나타내었다.

산화도는 ferric thiocyanate법 (Chen et al., 1995; Mitsuda et al., 1995)에 따라 전처리한 다음 spectrophotometer (UV- 1601, Shimadzu, Japan)로 측정 (500 nm)한 흡광도로 나타내었다.

관능검사 및 통계처리

관능검사는 잘 훈련된 10 인의 panel을 구성하여 시판 간장의 맛, 색깔 및 향을 각각 5점으로 하고 시료가 이보다 우수한 경우 6-9점을, 이보다 열악한 경우 4-1점으로 하는 9단계 평점법으로 평가하였고, 그 결과를 평균값으로 나타내었다.

실험에서 얻어진 데이터의 표준편차, 유의성 검정 (5% 유의수준)은 SPSS 통계 패키지에 의한 ANOVA test를 이용하여 분산분석한 후 Duncan의 다중위 검정을 실시하였다 (Steel and Torrie, 1980).

결과 및 고찰

젤라틴 소스의 특성

혼합간장의 기능성 개선을 위하여 사용할 목적으로 제조한 젤라틴 소스의 일반성분, pH, 염도 및 갈변도는 Table 1과 같다. 수분, 단백질, 지질 및 회분 함량은 젤라틴 소스가 각각 71.9%, 10.9%, 0.3% 및 16.5%로 시판 왜간장, 재래간장 및 양조간장의 각각 70.1-71.6% 범위, 7.4-7.7% 범위, 0.3-0.6% 범위 및 14.7-16.7% 범위 (National Rural Resources Development Institute, 2007)에 비하여 수분 함량과 조단백질 함량은 높았고, 조지방 함량과 회분 함량은 차이가 없었다. 젤라틴 소스의 총질소, pH, 염도 및 갈변도 (원액을 5배 희석한 시료)는 각각 1.74%, 5.35, 13.4% 및 0.884를 나타내었다. 한편, Ko and Chun (1986)은 시판 간장 6종 및 재래식 간장 1종의 화학적 특성을 살펴보는 연구에서 총질소는 시판 간장의 경우 0.85-1.51% 범위, 재래식 간장의 경우 0.73%이었고, 염도는 시판 간장의 경우 평균 16.6%, 재래식 간장의 경우 30.9%이었으며, pH는 시판 간장의 경우 4.49-4.82 범위, 재래식 간장의 경우 5.58이었다고 보고한 바 있다. 따라서, 젤라틴 소스는 본 실험의 결과와 Ko and Chun (1986)의 연구 결과로 미루어 보아 시판 간장 및 재래식 간장에 비하여 총질소는 높았고, 염도는 낮았으며, pH는 시판간장에 비하여는 높았으나 재래식 간장에 비하여는 낮았다.

Table 1. Proximate composition, pH, salinity and browning index of gelatin sauces with gelatin hydrolysate

Proximate composition (%)				pH	Salinity (%)	Browning index ¹⁾ (430 nm)
Moisture	Protein	Lipid	Ash			
71.9±3.0	10.9±0.3	0.3±0.2	16.5±0.0	5.35	13.4	0.884

¹⁾This sample was diluted to 5 times.

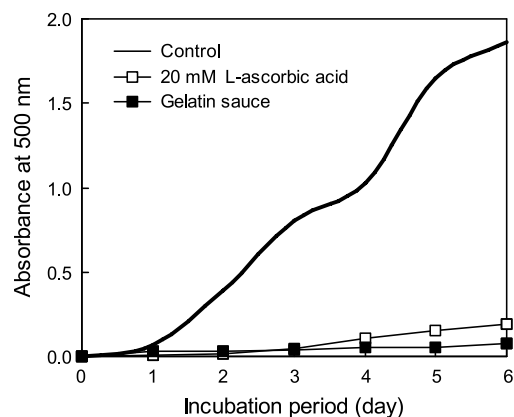


Fig. 1. Oxidative property of gelatin sauce with two-step gelatin hydrolysate from Alaska pollock refiner discharge. The control is defined where no gelatin hydrolysate is added in the antioxidative activity test.

혼합간장의 항산화 활성 및 ACE 저해 활성의 개선을 위하여 사용할 목적으로 제조한 젤라틴 소스의 산화도 (Fig. 1)와 ACE 저해 활성 (데이터 미제시)을 살펴 본 결과 산화도는 대조구의 경우 incubation 1일째에 0.073에서 6일째에 1.865로 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. 이에 반하여 일반적으로 식품 산업계에서 항산화제로 다양하게 사용하는 20 mM L-ascorbic acid의 경우 incubation 1일째에 0.009에서 6일째에 0.192로 변화하여, 대조구에 비하여 아주 완만히 증가하는 경향을 나타내어 항산화 효과가 완연히 인정되었다. 젤라틴 소스의 산화도는 incubation 1일째에 0.030에서 6일째에 0.078로 변화하여 대조구는 물론이고 식품산업계에서 항산화제로 많이 이용하고 있는 20 mM L-ascorbic acid에 비하여도 항산화 효과가 인정되어 천연 항산화제 소재로 충분히 검토 가능하리라 판단되었다. 이와 같은 젤라틴 소스의 항산화성 이외에 ACE 저해 활성 (IC₅₀)을 살펴 본 결과 ACE 저해 활성은 0.6 mg/mL를 나타내었다. 한편, Han et al. (2009)은 fish frame으로 건강 기능성 곰팡 유사 제품의 개발을 위하여 연어 frame으로 건강 기능성 고압 추출물을 제조하고 Flavourzyme으로 가수분해한 가수분해물의 ACE 저해 활성 (IC₅₀)은 2.0 mg/mL이었다고 보고한 바 있다.

이상의 젤라틴 소스의 일반 특성, 산화도 및 ACE 저해 활성의 결과로 미루어 보아 젤라틴 소스를 시판 간장에 혼합하여 항산화성 및 ACE 저해 활성을 개선하면서 KFDA 규정 (Ji-Gu Publishing Co., 2001)을 수용하고자 하는 경우 젤라틴 소스의 적절한 배합비가 구명되어야 할 것으로 사료되었다.

관능검사에 의한 혼합간장에 대한 젤라틴 소스의 배합조건의 검토

젤라틴 소스:시판 간장의 배합비율을 5:95, 10:90, 15:85, 20:80 및 30:70으로 달리하여 혼합간장을 제조한 다음 시판 간장을 대조구로 하여 맛, 색 및 향에 대하여 관능 검사한 결과는 Table 2와 같다. 시판 간장을 대조구로 하여 5점으로 하고 여러 가지 비율로 젤라틴 소스를 시판 간장에 첨가하여 제조한 혼합간장의 맛, 색 및 향이 이보다 우수한 경우 6-9점을, 그리고, 열악한 경우 4-1점으로 하는 9점 척도법으로 평가한

Table 2. Results of sensory evaluation on the taste, odor and color of blended soy sauce as affected by different blending rate of gelatin sauce to commercial fermented soy sauce

Item	Blending ratio (gelatin sauce:commercial soy sauce)					
	0:100	5:95	10:90	15:85	20:80	30:70
Taste	5.0±0.0 ^{a1)}	5.1±0.3 ^a	4.9±0.6 ^a	4.8±0.6 ^a	4.9±0.7 ^a	4.9±0.7 ^a
Odor	5.0±0.0 ^b	4.9±0.3 ^b	4.8±0.4 ^b	4.7±0.7 ^b	4.7±0.7 ^b	3.9±0.6 ^a
Color	5.0±0.0 ^b	5.0±0.0 ^b	4.8±0.4 ^b	4.6±0.5 ^b	4.6±0.5 ^b	3.9±0.6 ^a

Means with different letters within the same row are significantly different ($P < 0.05$).

결과 향은 첨가비율에 관계없이 5% 유의수준에서 혼합간장과 시판간장 간에 차이가 없었으나, 맛과 색은 젤라틴 소스의 대체 비율이 20%까지는 차이가 없었으나 30%에서는 5% 유의수준에서 차이가 인정되었다. 이와 같이 젤라틴 소스의 대체 비율을 30%로 하여 제조한 혼합간장과 시판 간장 간에 색의 차이는 젤라틴 소스가 진황색을 나타내기 때문이라 판단되었다. 이상의 결과로부터 혼합간장의 건강 기능성 개선을 위하여 첨가하고자 하는 젤라틴 소스의 적정 비율은 20%로 판단되었다.

혼합 간장의 일반적 특성

혼합 간장 (젤라틴 소스와 시판 간장을 20:80의 비율로 배합한 간장) 및 시판 간장의 일반성분, pH 및 갈변도 (20배 희석한 시료)를 비교하여 나타낸 결과는 Table 3과 같다 수분 함량,

Table 3. Proximate composition, pH, salinity and browning index of commercial soy sauce and blended soy sauce

Soy sauce ¹⁾	Proximate composition (%)				pH	Salinity (%)	Browning index ²⁾ (430 nm)
	Moisture	Protein	Lipid	Ash			
Blended sauce	72.6±1.7	9.5±0.2	1.2±1.0	16.8±1.2	5.31	15.0	1.468
Commercial sauce	72.7±0.1	9.3±0.4	1.4±0.5	16.5±0.3	5.29	15.5	1.740

¹⁾Blended soy sauce: blended soy sauce was prepared by blending gelatin sauces to commercial soy sauce.
²⁾This sample was diluted to 20 times.

단백질 함량 (총질소 함량), 지방 함량 및 회분 함량은 혼합간장이 각각 72.0%, 9.5% (1.52%), 1.2% 및 16.8%로 시판 간장의 각각 72.7%, 9.3% (1.49%), 1.4% 및 16.5%에 비하여 5% 유의수준에서 차이가 없었다. 일반적으로 KFDA 규정 (Ji-Gu Publishing Co., 2001)에서 효소분해 간장은 총질소의 경우 0.8% 이상, pH의 경우 4.0-5.5 범위이어야 한다고 규정되어 있다. 따라서 본 실험의 결과와 KFDA 규정 (Ji-Gu Publishing Co., 2001)으로 미루어 보아 본 시제 혼합 간장의 경우 pH 및 총질소 면에서는 문제가 없으리라 판단되었다.

혼합 간장의 항산화성 및 ACE 저해 활성

젤라틴 소스와 시판 간장을 배합 (20:80의 비율)한 혼합간장의 항산화성을 살펴보기 위하여 실시한 산화도의 결과는 Fig. 2와 같다. Incubation 6일째의 산화도는 혼합 간장이 0.235로 대조구의 1.865는 물론이고, 시판 간장의 0.903에 비하여도 훨씬 낮아 항산화성이 인정되었다. 혼합 간장의 산화도는 20 mM ascorbic acid와 유사한 정도이었다. 이와 같이 산화도가 시판 간장에 비하여 혼합 간장이 낮은 것은 젤라틴 소스의 주원료인 젤라틴 가수분해물 즉, Pronase로 2시간 가수분해한 다음 연속적으로 Flavourzyme으로 2시간 가수분해한 가수분해물의 항산화성이 81.5%로 우수 (Heu et al., 2009)하였기 때문이라 판단되었다. 한편, Cheigh et al. (1993a; 1993b)은 시판 간장의 항산화 활성에 대하여 조사한 결과 시판 간장의

항산화 활성이 인정되었고, 이의 주성분은 Maillard 반응으로부터 형성된 산물인 melanoidin related products (MRPs)로 보고한 바 있다. 이상의 결과로 미루어 보아 시판 간장에 젤라틴 소스를 적절히 혼합하는 경우 항산화성을 개선을 할 수 있으리라 판단되었다.

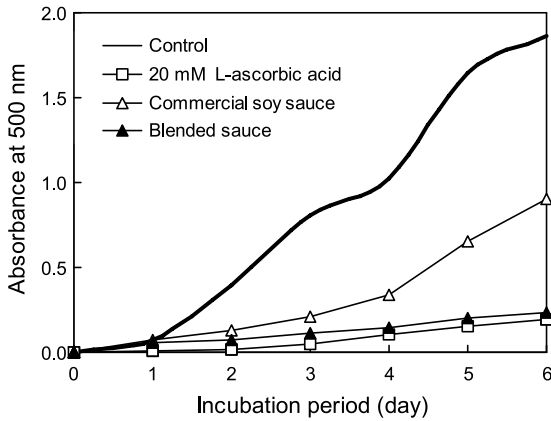


Fig. 2. Oxidative property of commercial soy sauce and blended soy sauce.

¹⁾The blended soy sauce is defined as a blended soy sauce prepared by blending gelatin sauces to commercial soy sauce. The control is defined where no gelatin hydrolysate is added in the antioxidative activity test.

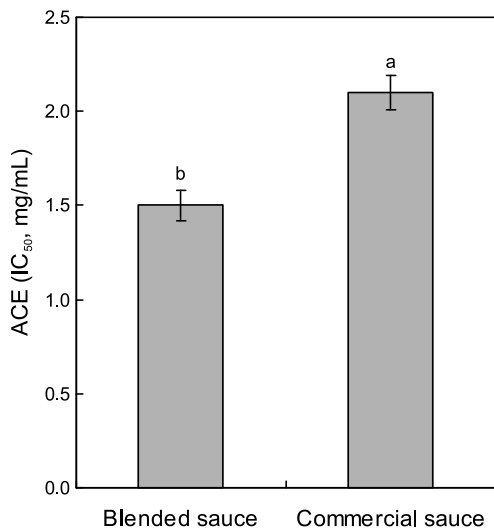


Fig. 3. Angiotensin- I converting enzyme (ACE) inhibitory activities of commercial soy sauce and blended soy sauce.

¹⁾The blended soy sauce is defined as a blended soy sauce prepared by blending gelatin sauces to commercial soy sauce. ²⁾Different letters on the bars indicate a significant difference at $P < 0.05$.

시판 간장에 젤라틴 소스를 배합 (20:80의 비율)한 혼합 간장의 ACE 저해 활성을 살펴 본 결과는 Fig. 3과 같다. ACE

저해 활성 (IC_{50})은 혼합 간장이 1.5 mg/mL으로 시판 간장의 2.1 mg/mL에 비하여 개선되었다. 이와 같이 혼합 간장이 시판 간장에 비하여 ACE 저해 활성을 가지는 것은 혼합 간장에 혼합한 젤라틴 소스의 주 단백질이 효소 처리에 의하여 ACE 저해 활성이 우수한 peptide를 주로 하는 물질로 구성되어져 있었기 때문이었다.

이상의 결과로 미루어 보아 시판 간장에 젤라틴 소스를 80:20의 비율 (v/v)로 혼합하여 혼합 간장을 제조하는 경우 항산화성 및 ACE 저해 활성이 개선되어 지리라 판단되었다.

혼합 간장의 유리아미노산 및 taste value

젤라틴 소스, 혼합 간장 및 시판 간장의 맛에 크게 관여하는 유리아미노산 조성은 Table 4와 같다. 동정된 유리아미노산의 종류는 젤라틴 소스가 18종이 동정되었고, 혼합 간장이 19종이 동정되었으며, 시판 간장이 hydroxyproline과 hydroxylysine이 제외된 17종이 동정되어 시료 간에 차이가 있었다. 이와 같이 시판 간장에 hydroxyproline과 hydroxylysine이 미검출된 것은 이들 아미노산의 경우 주로 콜라겐 및 그 관련물질에 분포하기 때문이라 판단되었다 (Kim and Park, 2004). 유리아

Table 4. Free amino acid composition of gelatin sauce, blended soy sauce and commercial soy sauce

Amino acid	Gelatin sauce	Soy sauce	
		Blended soy sauce	Commercial soy sauce
Aspartic acid	281.5 (4.1) ¹⁾	463.9 (8.3)	495.0 (9.4)
Hydroxyproline	391.4 (5.7)	61.5 (1.1)	- ²⁾
Threonine	226.6 (3.3)	245.9 (4.4)	246.5 (4.7)
Serine	398.3 (5.8)	313.0 (5.6)	287.1 (5.5)
Glutamic acid	734.7 (10.7)	1073.0 (19.2)	1115.6 (21.3)
Proline	824.0 (12.0)	469.4 (8.4)	376.3 (7.2)
Glycine	1304.6 (19.0)	391.2 (7.0)	214.9 (4.1)
Alanine	927.0 (13.5)	363.3 (6.5)	252.4 (4.8)
Cysteine	-	39.1 (0.7)	59.4 (1.1)
Valine	151.1 (2.2)	262.7 (4.7)	277.0 (5.3)
Methionine	48.1 (0.7)	89.4 (1.6)	94.5 (1.8)
Isoleucine	137.3 (2.0)	245.9 (4.4)	264.3 (5.0)
Leucine	226.6 (3.3)	329.7 (5.9)	345.2 (6.6)
Tyrosine	20.6 (0.3)	100.6 (1.8)	114.6 (2.2)
Phenylalanine	199.1 (2.9)	307.4 (5.5)	330.0 (6.3)
Hydroxylysine	54.9 (0.8)	11.2 (0.2)	-
Histidine	109.9 (1.6)	128.5 (2.3)	136.0 (2.6)
Lysine	281.5 (4.1)	352.1 (6.3)	359.4 (6.9)
Arginine	556.2 (8.1)	340.9 (6.1)	275.2 (5.2)
Total	6873.3 (100)	5588.6 (100)	5343.4 (100)

¹⁾The values in the parenthesis means percent ratio of free amino acid.

²⁾- : not detected.

미노산의 총합량은 젤라틴 소스가 6,873.3 mg/mL로 가장 많았고, 다음으로 혼합 간장 (5,588.6 mg/100 mL) 및 시판 간장 (5,343.4 mg/100 mL)의 순이었다. 유리아미노산의 전함량에 대하여 8% 이상을 차지하는 주요 유리아미노산으로는 젤라틴 소스의 경우 glutamic acid (10.7%), proline (12.0%), glycine (19.0%), alanine (13.5%) 및 arginine (8.1%) 등과 같은 5종이었고, 시판 간장의 경우 aspartic acid (9.4%) 및 glutamic acid (21.3%)와 같은 2종이었으며, 혼합 간장의 경우 aspartic acid (8.3%), glutamic acid (19.2%) 및 proline (8.4%) 등과 같은 3종으로 시료 간에 차이가 있었다. 이와 같이 시판 간장과 혼합 간장 간의 주요 유리아미노산의 종류, 함량 및 조성 간에 차이는 간장을 제조하기 위하여 사용한 단백질 소재의 차이 때문이라 판단되었다.

Table 5. Taste values of gelatin sauce, blended soy sauce and commercial soy sauce

Amino acid	Taste threshold ¹⁾ (g/100 mL)	Gelatin sauce	Soy sauce	
			Blended soy sauce	Commercial soy sauce
Aspartic acid	0.003	93.8	154.6	165.0
Hydroxyproline	-	-	-	-
Threonine	0.26	0.9	0.9	0.9
Serine	0.15	2.7	2.1	1.9
Glutamic acid	0.005	146.9	214.6	223.1
Proline	0.3	2.7	1.6	1.3
Glycine	0.13	10.0	3.0	1.7
Alanine	0.06	15.4	6.1	4.2
Cysteine	-	-	-	-
Valine	0.14	1.1	1.9	2.0
Methionine	0.03	1.6	3.0	3.2
Isoleucine	0.09	1.5	2.7	2.9
Leucine	0.19	1.2	1.7	1.8
Tyrosine	-	-	-	-
Phenylalanine	0.09	2.2	3.4	3.7
Hydroxylysine	-	-	-	-
Histidine	0.02	5.5	6.4	6.8
Lysine	0.05	5.6	7.0	7.2
Arginine	0.05	11.1	6.8	5.5
Total		302.2	415.8	431.2

¹⁾The data were quoted from Kato et al. (1989).

젤라틴 소스, 시판 간장 및 이들을 배합하여 제조한 혼합 간장의 맛성분 특성을 살펴보기 위하여 검토한 taste value는 Table 5와 같다. 15종의 유리아미노산을 토대로 검토한 total taste value는 젤라틴 소스의 경우 302.2, 시판 간장의 경우 431.2 및 이들을 배합하여 제조한 혼합 간장의 경우 415.8이었다. 일반적으로 단백질 가수분해물의 맛은 유리아미노산에 의하여 지배적으로 영향을 받고, 이것은 단순히 함량에 의한 것보다는 각각 아미노산의 역치를 고려하여 검토되어야 한다 (Kato et al., 1989). 이와 같은 3 시료 간의 taste value에 대한 결과와 맛에 대한 보고로 미루어 보아 전체적인 맛은 taste value가 가장 높은 시판 간장이 가장 농후하리라 판단되었고, 다음으로 혼합 간장 및 젤라틴 소스의 순이라 판단되었다.

Taste value로 살펴 본 젤라틴 소스, 혼합 간장 및 시판 간장의 유리아미노산 중 맛에 가장 크게 영향을 미치는 아미노산으로는 glutamic acid (taste value: 각각 146.9, 214.6 및 223.1)로 판단되었고, 다음으로 aspartic acid (taste value: 각각 93.8, 154.6 및 223.1) 등이었으며, 나머지 아미노산들의 경우 아주 미미하게 영향을 미치리라 판단되었다. 이와 같이 유리아미노산의 총합량은 젤라틴 소스가 가장 많았고 다음으로 혼합 간장 및 시판 간장의 순인데 반하여 총 taste value는 이와 반대의 결과를 나타내는 것은 각 아미노산의 역치가 다르기 때문이고, 특히 맛의 역치가 낮은 aspartic acid와 glutamic acid와 같은 산성 아미노산의 함량에 의한 차이가 컸기 때문이라 판단되었다. 한편, Lee (1973)는 메주, 간장 및 된장에서 glutamic acid가 많이 함유되어 있었다고 보고하였으며, Kim and Kim (1980), Park and Son (1997)은 간장에서 glutamic acid와 aspartic acid의 함량이 많았다고 보고한 바 있으며, Park and Kim (1970)의 경우도 재래식 간장에서 glutamic acid의 함량이 많았다고 보고한 바 있다. 이들 연구자들은 유리아미노산의 함량으로 맛의 강도를 지적한 모순은 있으나, glutamic acid 및 aspartic acid의 역치가 낮아 역치를 고려한 taste value로 환산하여 살펴보는 경우 본 결과와 잘 일치하리라 추정되었다.

Table 6. Total amino acid composition of gelatin sauce, blended soy and commercial soy sauce (mg/100 mL)

Amino acid	Gelatin sauce	Soy sauce	
		Blended soy sauce	Commercial soy sauce
Aspartic acid	381.2 (3.9) ¹⁾	765.0 (8.4)	856.2 (9.5)
Hydroxyproline	762.4 (7.8)	136.4 (1.5)	-2)
Threonine	322.6 (3.3)	400.7 (4.4)	426.7 (4.7)
Serine	459.4 (4.7)	455.4 (5.0)	454.7 (5.1)
Glutamic acid	1114.3 (11.4)	1712.2 (18.8)	1853.4 (20.6)
Proline	1075.2 (11.0)	801.4 (8.8)	733.7 (8.2)
Glycine	2003.7 (20.5)	683.0 (7.5)	374.1 (4.2)
Alanine	1055.6 (10.8)	555.5 (6.1)	444.1 (4.9)
Cystein	-	45.5 (0.5)	81.0 (0.9)
Valine	263.9 (2.7)	437.2 (4.8)	489.9 (5.4)
Methionine	195.5 (2.0)	127.5 (1.4)	119.1 (1.3)
Isoleucine	185.7 (1.9)	400.7 (4.4)	459.5 (5.1)
Leucine	312.8 (3.2)	555.5 (6.1)	593.0 (6.6)
Tyrosine	19.5 (0.2)	109.3 (1.2)	132.5 (1.5)
Phenylalanine	234.6 (2.4)	496.4(5.5)	583.6 (6.5)
Hydroxylysine	58.6 (0.6)	9.1 (0.1)	-
Histidine	88.0 (0.9)	227.7 (2.5)	267.3 (3.0)
Lysine	430.1 (4.4)	587.5 (6.5)	643.2 (7.2)
Arginine	801.5 (8.2)	592.0 (6.5)	480.4 (5.3)
Total	9764.5 (100)	9098.2 (100)	8,992.4(100.0)

¹⁾The values in the parenthesis means the percent of each amino acid content to total amino acid content.

²⁾- : not detected.

혼합 간장의 총아미노산 함량

혼합 간장의 영양 특성을 살펴보기 위하여 검토한 젤라틴 소스, 혼합 간장 및 시판 간장의 총아미노산 함량은 Table 6과 같다. 아미노산 총합량은 젤라틴 소스가 9,764.5 mg/100 mL로 가장 높았고, 다음으로 혼합 간장 (9,098.2 mg/100 mL) 및 시판 간장 (8,992.4 mg/100 mL)의 순이었다. 동정된 아미노산의 종류는 젤라틴 소스 및 혼합 간장의 경우 19종이, 시판 간장의 경우 17종이 동정되어 혼합 간장과 시판 간장 간에 차이가 있었다. 젤라틴 소스의 주요 구성 아미노산은 주 가수분해물 대상 단백질이 젤라틴임으로 인해 glycine이 20.5%로 절대적으로 높았고, 다음으로 glutamic acid (11.4%), proline (11.0%) 및 alanine (10.8%) 등의 순이었으며, cysteine (미검출), tyrosine (0.2%) 및 histidine (0.9%)의 경우 미검출되거나 1% 이하로 검출되었다. 이와 같이 젤라틴 소스 및 혼합 간장이 시판 간장에 비하여 hydroxyproline 및 hydroxylysine과 같은 2종의 아미노산이 더 동정되고, cysteine, tyrosine 및 histidine 과 같은 아미노산이 미량 또 미검출되는 것은 젤라틴 가수분해물을 소재로 사용하였거나 이를 혼합하였기 때문이라 판단되었다 (Kim and Park, 2004). 시판 간장의 주요 구성아미노산으로는 glutamic acid가 20.6%로 절대적으로 높았고, 다음으로 aspartic acid (9.5%) 및 proline (8.2%) 등이었으며, 젤라틴 소스에 절대적으로 조성비가 높았던 glycine의 조성비가 낮았고, 검출되지 않았던 cysteine이 검출되어 hydroxyproline 및 hydroxylysine이 검출되지 않았던 것 이외에도 상당한 차이가 있었다. 이와 같이 총아미노산의 조성비에 있어 차이가 있었던 젤라틴 소스 및 시판 간장을 배합하여 제조한 혼합 간장의 아미노산 조성은 glutamic acid가 18.8%로 가장 높았고, 다음으로 proline (8.8%) 및 aspartic acid (8.4%)의 순이었고, 젤라틴 소스에 검출되지 않았던 cysteine (0.5%)과 시판 간장에 검출되지 않았던 hydroxyproline (1.5%) 및 hydroxylysine (0.1%)의 경우도 미량이지만 검출되었다. 이와 같은 결과는 혼합 간장의 경우 젤라틴 소스 및 시판 간장의 배합에 의하여 제조되어, 이들의 아미노산 특성을 부분적으로 영향을 받았기 때문이라 판단되었다. Tryptophan을 제외한 7종의 필수 아미노산 조성 및 곡류 제한 아미노산인 lysine (Heu et al., 2005)의 조성은 혼합간장이 각각 33.1% 및 6.5%로 시판 간장의 36.8% 및 7.2%에 비하여 약간 낮았다.

한편, Ko and Chun (1986)은 시판 간장 6종을 시료로 하여 구성 아미노산을 분석한 결과 시판 간장은 glutamic acid의 함량이 가장 높았고, 다음으로 leucine, aspartic acid, isoleucine 등의 순이었으며, methionine이 미량으로 함유되어 있었다고 보고하였다. 이와 같은 결과는 본 실험에서 분석한 시판 간장의 구성아미노산 조성과는 약간의 차이가 있었는데, 이는 원료, 20년 사이의 소비자의 패턴 변화에 따른 간장의 제조방법 및 제조회사의 간장에 대한 취향 차이 때문이라 판단되었다.

참고문헌

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed.

Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, U.S.A., 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.

Cha YJ, Kim H, Jang SM and Park JY. 1999a. Identification of aroma-active compounds in korean salt-fermented fishes by aroma extract dilution analysis. 1. Aroma-active components in salt-fermented anchovy on the market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28, 312-318.

Cha YJ, Kim H and Park JY. 1999b. Identification of aroma-active compounds in korean salt-fermented fishes by aroma extract dilution analysis. 2. Aroma-active components in salt-fermented shrimp on the market. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28, 319-325.

Cheigh HS, Lee JS, Moon GS and Park KY. 1993a. Antioxidative activity of browning products fractionated from fermented soybean sauce. *J Korean Soc Food Nutr* 22, 565-569.

Cheigh HS, Lee JS and Lee CY. 1993b. Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J Korean Soc Food Nutr* 22, 570-575.

Chen HM, Muramoto K and Yamauchi F. 1995. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean β -conglycinin. *J Agric Food Chem* 43, 574-578.

Gimenez B, Gomez-Guillen MC and Montero P. 2005. Storage of dried fish skins on quality characteristics of extracted gelatin. *Food Hydrocolloids* 19, 958-963.

Gudmundsson M. 2002. Rheological properties of fish skin gelatins. *J Food Sci* 67, 2172-2176.

Gudmundsson M and Hafsteinsson H. 1997. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. *J Food Sci* 62, 37-39, 47.

Heu MS, Choi SG and Kim JS. 2005. Preparation and characteristics of patty with red-tanner crab (*Chionoectes japonicus*) paste. *J Korean Fish Soc* 38, 137-142.

Heu MS, Park CH, Kim HJ, Park JW and Kim JS. 2009a. Partial purification of antioxidative peptides from gelatin hydrolysates of Alaska pollock surimi refiner discharge. *Fish Aqua Sci* 11, 249-257.

Heu MS, Ji SG, Koo JG, Kwon JS, Han BW, Kim JG, Kim HJ and Kim JS. 2009b. Improvement on yield and functional properties of salmon frame extracts treated in an autoclave using commercial enzymes.

- Kor J Fish Aquat Sci 42, 537-544.
- Hirano T, Suzuki T. and Suyama M. 1987. Changes in extractive components of bigeye tuna and Pacific halibut meats by thermal processing at high temperature of F_0 values of 8 to 21. Bull Japan Soc Sci Fish 53, 1457-1461.
- Hamada H. 1990. Effects of the preparation conditions on the physical properties of shark-skin gelatin gels. Nippon Suisan Gakkashi 56, 671-677.
- Horiuchi M, Fujimura KI, Terashima T and Iso T. 1982. Method for determination of angiotensin- I converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr 233, 123-130.
- Ji-Gu Publishing Co. 2001. Related regulation of food sanitation. Ji-Gu Publishing Co. Seoul, Korea, 375-376.
- Kato H, Rhue MR. and Nishimura, T. 1989. Role of free amino acids and peptides in food taste. In Flavor Chemistry:Trends and developments. American Chemical Society, Washington, DC, U.S.A., 158-174.
- Kim JS, Ihm CW and Kim PH. 1996. Preparation and properties of gelatin from conger eel skin. J Agric Chem Biotechnol 39, 274-281.
- Kim JK and Kim CS. 1980. The taste components of ordinary Korean soy sauce. J Korean Agri Chem. Soc 23, 89-105.
- Kim JS and Park JW. 2004. Characterization of acid-soluble collagen from Pacific whiting surimi processing byproducts. J Food Sci 69, 637-642.
- Kim SK, Ahn CB and Kang OJ. 1993. Preparation of imitation sauce from enzymatic hydrolysate of cod skin gelatin. J Korean Soc Food Nutr 22, 470-475.
- Kim SK and Byun HG. 1994. Development of optimum process of continuous hydrolysis of fish skin gelatin using a three-step recycle membrane reactor. J Korean Ind Eng Chem 5, 681-697.
- Kim SK, Byun HG, Park PJ and Shahidi F. 2001a. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. J Agric Food Chem 49, 2992-2997.
- Kim SK, Kim YT, Byun HG, Nam KS, Joo DS and Shahidi F. 2001b. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollack skin. J Agric Food Chem 49, 1984-1989.
- Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T and Tanaka M. 2005. Characterization of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthustayenus*). Food Chem 89, 363-372.
- Lee CH. 1973. Studies on the amino acid composition of Koran fermented soybean meju products and the evaluation of the protein quality. Kor J Food Sci Technol 5, 210-214.
- Ko YS and Chun MJ. 1986. Studies on the chemical and amino acid components of commercial and homemade soy sauce. Korean Home Economic Asso 24, 105-116.
- Mendis E, Rajapakse N and Kim SK. 2005. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. J Agric Food Chem 53, 581-587.
- Mitsuda H, Yasumoto K and Iwami K. 1996. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. Eiyoto Shokuryo 19, 210-214.
- Morrissey MT, Lin J and Ismond A. 2005. Waste management and byproduct utilization. In Park, J.W. Ed. Surimi and Surimi Seafood. Boca Raton, London, New York, Singapore: CRC Press p. 279-323.
- Muyonga JH Cole CGB and Duodu KG. 2004. Extraction and physico-chemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. Food Hydrocollids 18, 581-592.
- Nagai T Izumi M and Ishii M. 2004. Fish scale collagen preparation and partial characterization. Int J Food Sci Technol 39, 239-244.
- National Rural Resources Development Institute, 2007. Food Composition Table. 7th edition. National Rural Resources Development Institute. Seoul, Korea, 372-373.
- Ogawa M, Portier RJ, Moody MW, Bell J, Schexnayder MA and Losso JN. 2004. Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonias cromis*) and sheeps head seabream (*Archosargus probatocephalus*). Food Chem 88, 495-501.
- Park CH. 2006. Functional Properties and Utilization of Collagen and Gelatin from Surimi Byproducts, Refiner Discharge. MS thesis. Gyeongsang National University, Jinju, Korea.
- Park CH, Kim HJ, Kang KT, Park JW and Kim JS. 2009. Fractionation and angiotensin- I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of gelatin hydrolysates from by-products of Alaska pollock surimi. Fish Aqua Sci 11, 79-85.
- Park KI and Kim KJ. 1970. Studies on manufacturing of the Korean soy sauce. The report of NIRI 20, 89-98.
- Park HK and Shon KH. 1997. Analysis of significant

factors in the flavor of traditional Korean soy sauce (II)-Analysis of nitrogen compounds, free amino acids and nucleotides and their related compounds. Kor J Dietary Culture 12, 63-69.

Steel RGD and Torrie JH. 1980. Principle and procedures of statistics. 1st ed. Tokyo, Japan, McGraw-Hill Kogakusha, 187-221.

Wendel AP. 1999. Recovery and utilization of Pacific

whiting frame meat for surimi production. MS thesis. Oregon State University, Corvallis, Oregon, U.S.A.

2010년 2월 4일 접수
 2010년 5월 4일 수정
 2010년 6월 10일 수리