J. of Korean Oil Chemists' Soc.,
Vol. 30, No. 2. June 2013. 348~355
ISSN 1225-9098 (Print)
ISSN 2288-1069 (Online)
http://dx.doi.org/10.12925/jkocs.2013.30.2.348

오징어 먹즙 첨가가 저 식염 오징어 젓갈의 단백질분해 특성에 미치는 영향

오성천†

대원대학교 제약식품계열

(2013년 6월 4일 접수; 2013년 6월 28일 수정; 2013년 6월 29일 채택)

Influences of Squid Ink Added to Low-Salted Squid *Jeot-gal* on Its Proteolytic Characteristics

Sung-Cheon Oh†

Dept. of Food & Pharmacy, Daewon University College, Jecheon 390-702, Korea

(Received June 4, 2013 ; Revised June 28, 2013 ; Accepted June 29, 2013)

요 약 : 오징어 젓갈에 오징어 먹즙을 2% 및 4% 농도로 첨가하고 10℃에서 8주일간, 20℃에서 32일간 숙성시키면서 아미노태 질소와 근육단백질 변화를 분석한 결과는 다음과 같다. 오징어 먹즙이 첨가되지 않은 오징어 젓갈의 아미노태 질소는 식염 농도가 낮고 숙성온도가 높을수록 숙성 후반까지 계속 유의성 높게 증가하여 숙성이 촉진되었으며 오징어 근육의 단백질 변화는 myosin heavy chain이 숙성 초반에 현저히 분해되지만 actin의 변화는 거의 없어서 protease에 강하였다. 오징어 먹즙을 첨가한 오징어 젓갈의 아미노태 질소 함량은 숙성후반까지 계속 증가하였으나 증가폭은 무 첨가군에 비하여 적었으며 오징어 근육 단백질 중 myosin heavy chain은 숙성 중반에 현저히 분해되었으며 식염농도가 높고, 온도가 낮은 먹즙 첨가군은 분해 속도가 느렸다.

주제어 : 단백질분해, 오징어 먹즙, 숙성, 아미노태 질소, 전기영동

Abstract : Squid ink was added to the salt fermented squid by 2% or 4% of concentration and ripened at 10℃ for 8 weeks and at 20℃ for 32days. The effects of the squid ink on the amino nitrogen and muscle protein of salt fermented squid were investigated. The results are as follows; As the salt concentration was decreased and the fermentation temperature raised, amino nitrogen in the salt fermented squid without addition of the squid ink was significantly increased to the latter stage of the ripening and hence fermentations were enhanced. From the change of the protein in the squid muscle in the experiments, dissolution of the myosin heavy chain took place conspicuously in the early stage of the ripening while actin was rarely changed which resulted in the strong resistance to protease. The amino nitrogen content in the salt fermented squid addition

†Corresponding author (E-mail : osc5000@mail.daewon.ac.kr)

of the squid ink has increased to the latter part of the ripening but the range was smaller than no treatment groups. The protein in squid muscle, especially the myosin heavy chain was remarkably dissolved in the middle of the ripening whereas the squid ink added groups of high salt concentration and low temperature showed the tendency of slow proteolysis.

Keywords : *proteolytic*, *squid ink*, *fermentation*, *amino nitrogen*, *electrophoresis*

1. 서 론

젓갈은 예로부터 기호식품, 조미료 및 김치의 조미 부재료로 널리 사용되어 왔으며 젓갈을 포함한 일반가공식품에 존재하는 여러 미생물은 저장성에 관여하는 것은 물론 풍미와 색조에도 밀접한 관계를 가지는 것으로 알려져 왔다[1]. 오징어젓갈은 숙성 중 자가분해효소와 미생물이 생산하는 단백질 분해효소의 작용에 의하여 특유의 향미와 성분이 생성된다.

오징어 간장을 첨가하면 숙성이 촉진되어 아미노산의 생성이 빨라지며, cathepsin계의 단백질 분해효소[2-6]가 존재하고 있어 육단백질의 자가분해가 촉진되며 감미와 지미가 개선된다[7]. 오징어 젓갈은 첨가하는 식염농도나 숙성온도에 따라 풍미성분의 생성패턴과 저장성이 달라져서 아미노산과 젖산의 생성속도는 식염농도가 낮고 숙성온도가 높을수록 증가하고 부패취의 발생속도는 빠르다[8]. 하지만 숙성온도의 영향은 원료의 수분함량에 대한 포화량 이상의 식염농도에서는 적다[9]. 오징어 젓갈의 구성아미노산의 비율은 숙성 전 단계에서 변화가 적으며 mono-amino-nitrogen이 현저하게 증가되므로 오징어 젓갈의 맛에 관련된 일차적 화학성분이라 보고되고 있다[10]. 또한 Konno 등[11]은 오징어 근육단백질의 자가분해는 저장 온도와 식염 농도 등에 영향을 받으며 자가분해시 주로 myosine이 heavy chain과 light chain으로 분해가 일어난다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 오징어 먹즙을 이용한 오징어 젓갈의 저장성과 품질향상과 전통발효식품의 소비를 확대에 기여할 목적으로 5%, 7%, 9%의 식염 및 오징어 먹즙 2%, 4%를 첨가한 저식염 젓갈을 시험 제조하여 실온인 20℃ 및 저온인 10℃에서 숙성시켰을 때 단백질 분해 특성에 대해 분석하였다.

2. 실 험

2.1. 재료

오징어 젓갈의 원료는 동결상태의 연안산 오징어(Squid, *Todarodes pacificus*)를 구입하여 사용하였으며 Fig 1과 같이 냉동된 오징어를 4℃에서 해동 후 내장, 머리, 다리와 지느러미를 분리하고 몸통 육을 사용하였으며, 저식염 오징어 젓갈은 Table 1과 같은 조성에 따라 제조하였다. 오징어 먹즙은 첨가하지 않은 것, 2%, 4%를 첨가한 것을 10℃와 20℃에서 각각 숙성 유지시켰다. 10℃에서 숙성시킨 것은 1주일 간격으로, 20℃는 4일 간격으로 꺼내어 분석용 시료로 사용하였다.

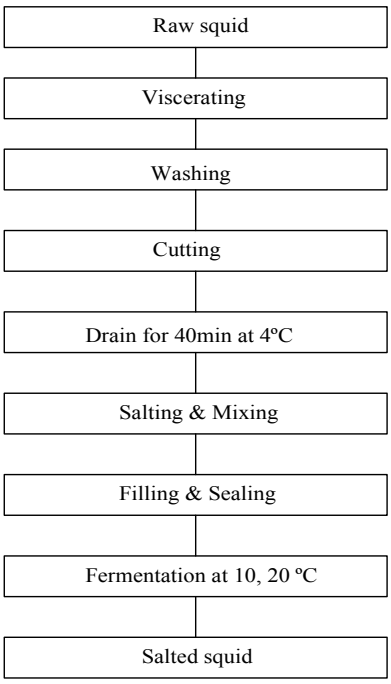

Fig. 1. Flow diagram of preparation of salt fermented squid.

Table 1. The compositions of salt squid samples with squid ink before fermented.

Fermentation temperature (℃)	Composition (%)		
	Squid meat	Squid ink	Sodium chloride
10	95	0	5
	93	0	7
	91	0	9
	93	2	5
	91	2	7
	89	2	9
	91	4	5
	89	4	7
	87	4	9
20	95	0	5
	93	0	7
	91	0	9
	93	2	5
	91	2	7
	89	2	9
	91	4	5
	89	4	7
	87	4	9

2.2. 실험방법

2.2.1. 일반성분

일반성분은 A.O.A.C.법[12-13]에 따라 측정하였다. 즉, 수분은 상압가열건조법(105℃ 건조법), 조단백질은 Micro-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 회분은 직접회화법으로 정량하였다.

2.2.2. 아미노태 질소(NH_2-N)

Formol 적정법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉, 시료 5g에 증류수 200ml를 넣고 균질화하여 250ml로 한 후 여과하였다. 여과액 20ml를 취하여 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.5로 맞추어 적정한 양과 여과액 20ml와 미리 pH 8.5로 조절하여 둔 formalin 용액 25ml를 가하고 다시 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.5가 될 때까지 적정하여 소비된 양의 차이 값으로 아미노태 질소 함량을 계산하였다.

2.2.3. SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)에 의한 근육단백질의 조성

마쇄한 시료 0.4g을 정확히 달아 7.5ml의 8M urea - 2% mercaptoethanol - 2% SDS-20mM Tris-HCl(pH 8.0) 용액을 첨가하여 100℃에서 2분간 가열한 후 실온에서 20시간 교반시키면서 가용화시켰다. 가용화된 용액의 단백질은 Biuret법[14]에 의하여 정량하였으며 20μl를 취하여 전기영동실험에 사용하였다. 전기영동은 Laemmli 방법[15]에 따라 10% polyacrylamide gel을 제조하여 Mini-Protein II Kit(Biorad사)를 이용하여 200V에서 45분간 전개하였다. 염색은 Coomassie brilliant blue R을 사용하였으며 탈색은 50% methanol - 7% acetic acid로 30분간 시킨 후 7% acetic acid로 gel의 배경이 투명해질 때까지 탈색시켰다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 일반성분

본 실험에 사용한 원료 오징어의 일반성분 분석결과는 Table 2와 같다.

원료 오징어의 수분함량은 78.3%, 조단백질, 조지방, 조회분 함량은 각각 18.1%, 1.1%, 1.7%로 구성되어 있는데, 원료의 산지, 어획시기 등에 따라 차이가 있을 것으로 생각된다. 오징어 젓갈 제조 시 내장을 제거한 원료 오징어의 어육인 몸통부분에 식염만을 첨가해서 제조하였기 때문에 지방함량이 적고 단백질함량이 비교적 높은 것을 알 수 있다. 이 결과는 Lee 등[16]의 결과와 유사하였다.

3.2. 아미노태 질소(NH_2-N)의 변화

젓갈 중 아미노태 질소 함량은 숙성도의 지표로 사용될 뿐 아니라 향미와 깊은 관련이 있기 때문에 중요한 품질 지표로 인식되고 있다.

오징어 먹즙 농도를 달리하여 제조한 저염 오징어 젓갈을 10°C에 저장하면서 아미노태 질소 함량의 변화를 측정한 결과는 Fig. 2, 3 및 4와 같다. 모든 처리구에서 숙성이 진행되면서 아미노태 질소 함량은 점차 증가하였으며, 10°C에서 숙성 8주 후에 식염 농도 5, 7, 9%에서 각각 0.71%, 0.60%, 0.47%를 나타냈다. 2% 오징어 먹즙 첨가군은 0.62%, 0.53%, 0.42%, 4% 오징어 먹즙 첨가군은 0.60%, 0.51%, 0.41%로 나타나 식염농도가 낮을수록 아미노태 질소 함량이 증가하였다.

또한 20°C에 저장하면서 아미노태 질소 함량의 변화를 측정한 결과는 Fig. 5, 6 및 7과 같다. 20°C에서는 숙성 4주 후에 식염 농도 5, 7, 9%에서 각각 0.77%, 0.71%, 0.62%를 나타냈다. 2% 오징어 먹즙 첨가군의 경우는 0.71%, 0.68%, 0.60%, 4% 오징어 먹즙 첨가군의 경우는 0.68%, 0.63%, 0.54%로 나타나 식염 농도가 낮을수록, 숙성 온도가 높을수록 아미노태 질소 함량의 증가속도가 빨랐다. 즉, 오징어 먹즙 첨가군과 먹즙 첨가 농도가 클수록 아미노태 질소 함량이 감소되었다.

이와 같이 염도를 달리한 오징어 젓갈의 숙성 중 아미노태 질소의 함량변화에 관한 기존 연구가 많지 않아 직접 비교 고찰하기가 어려우나 일부 보고가 있는데 김 등[17]은 7%및 10% 식염을 첨가한 오징어 젓갈을 10°C에서 숙성 하였을 때 유리아미노산 함량은 7% 식염 첨가 처리구에서는 증가속도가 빨랐으나 10% 식염 첨가처리구에서는 증가속도가 늦었다고 하여 본 연구결과와 유사한 결과를 보고한 바 있다. 또한 식염 농도가 다른 오징어 젓갈의 숙성 중 식염 농도가 높을수록 아미노태 질소의 함량이 낮았다고 한 Shimata와 Baba[8], Nagasaki와 Yamamoto등[9]의 보고와 경향을 같이 하는 것으로, 식염 농도의 증가가 오징어 근육에 존재하는 자가 효소나 미생물이 생산하는 단백질 분해효소의 활성을 저하시키는데 기인하는 것으로 생각된다.

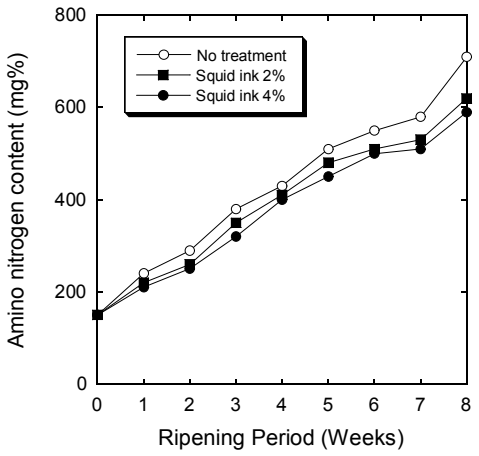

Fig. 2. The influences of squid ink on amino nitrogen(NH_2-N) content of 5% salt fermented squid during fermentation at 10°C

Table 2. Proximate composition of raw squid (%).

Components	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude ash	Carbohydrate
Raw squid	78.3	18.1	1.1	1.7	0.8

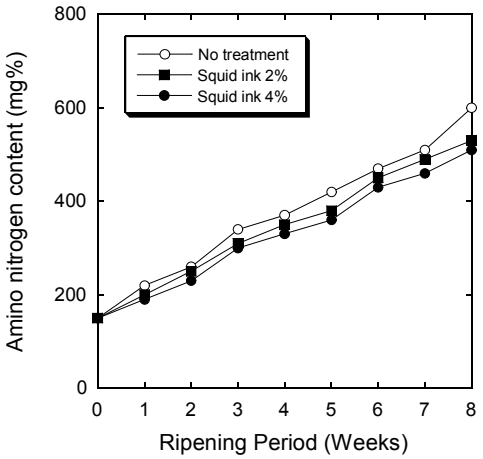

Fig. 3. The influences of squid ink on amino nitrogen(NH_2-N) content of 7% salt fermented squid during fermentation at 10°C

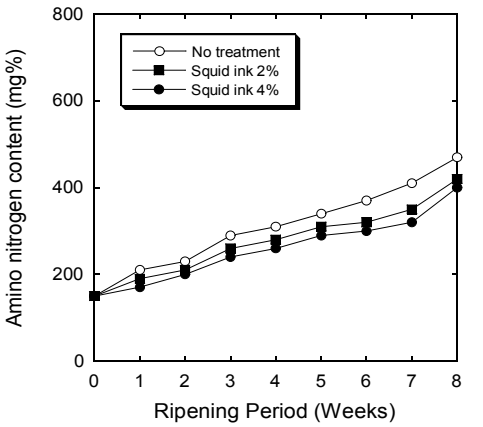

Fig. 4. The influences of squid ink on amino nitrogen(NH_2-N) content of 9% salt fermented squid during fermentation at 10°C

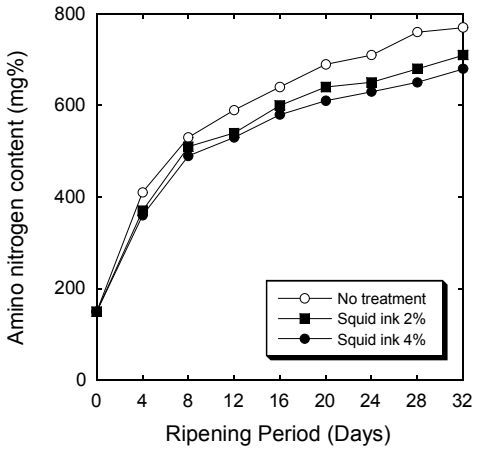

Fig. 5. The influences of squid ink on amino nitrogen(NH_2-N) content of 5% salt fermented squid during fermentation at 20°C

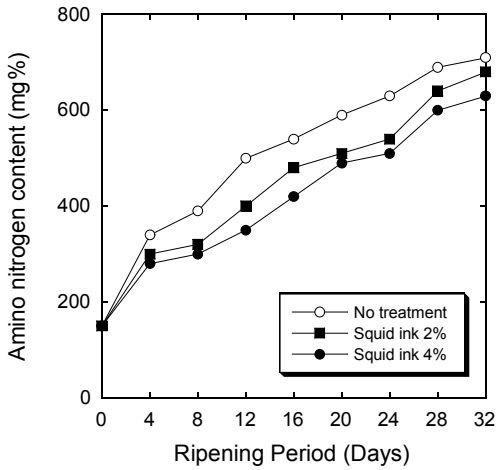

Fig. 6. The influences of squid ink on amino nitrogen(NH_2-N) content of 7% salt fermented squid during fermentation at 20°C

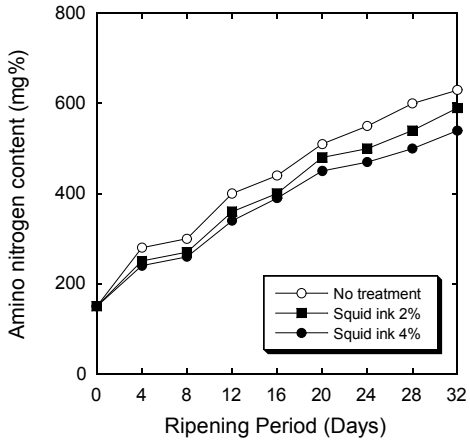

Fig. 7. The influences of squid ink on amino nitrogen(NH_2-N) content of 9% salt fermented squid during fermentation at 20°C

3.3. SDS-PAGE에 의한 근육단백질의 조성

젓갈은 어체의 자가소화 효소와 숙성시 관여하는 미생물의 단백질 분해에 의해 숙성이 이루어진다고 할 수 있다.

Fig. 8은 5% 식염 첨가처리구와 9% 식염 첨가처리구를 10°C에서 숙성시키면서 오징어 젓갈의 SDS-PAGE에 의한 근원섬유 단백질의 경시적인 분해양상을 관찰한 결과이다. 대조구는 신선한 오징어근육으로 제조하였으며 Lane 1에 해당된다. 결과는 전형적인 근원섬유 단백질의 pattern을 보이고 있으며 주요단백질인 myosin heavy chain(MHC), actin(A), tropomyosine (TM)과 myosin light chains(MLC)에 상당하는 band가 관찰되었다. 그러나 숙성중 myosin heavy chain의 감소가 현저하여 5% 식염 첨가처리구에서는 1주일째에, 9% 식염 첨가처리구에서는 2주일째에 이미 근조직중 비교적 분해가 쉬운 myosin heavy chain이 대부분 완전히 소실되었다. 이후 숙성 기간의 경과와 더불어 150kDa, 100kDa 와 tropomyosine에 상당하는 성분들이 감소하였으나 근원섬유 단백질중의 주요성분인 actin은 거의 변화를 보이지 않아서 protease에 강한 내성을 나타냈다. 식염 농도별 단백질 분해 pattern을 보면 5% 식염첨가처리구에 비해 9% 식염 첨가처리구에서 단백질의 분해가 느리게 진행되었다.

Fig. 9는 5% 식염 첨가처리구와 9% 식염 첨가처리구에 오징어 먹즙 4%를 첨가하여 10°C에서 숙성시키면서 오징어 젓갈의 SDS-PAGE에 의한 근원섬유 단백질의 경시적인 분해양상을 관찰한 결과로 오징어 먹즙을 첨가하지 않은 것에 비해 단백질 분해가 느렸으며, 숙성 중 myosin heavy chain의 감소가 현저하여 5% 식염 첨가처리구에서는 2주일째에, 9% 식염 첨가처리구에서는 3주일째에 근조직중 비교적 분해가 쉬운 myosin heavy chain이 대부분 완전히 소실되었다. 이후 숙성 기간의 경과와 더불어 150kDa, 100kDa 와 tropomyosine에 상당하는 성분들이 감소하였으나 비교적 안정하다고 알려진 actin은 전 숙성기간 동안 큰 변화를 보이지 않았다. 이들 주요 단백질이 분해되어 저분자화되면 근육의 구조가 없어져서 근육의 조직감도 소실될 것이다.

이상의 결과를 정리하면 숙성 기간 중 오징어 근단백질이 분해되는 것은 자체에 존재하는 protease 및 미생물의 protease에 의한 것으로 보인다. 식염 농도가 높고, 온도가 낮게 숙성시키면 오징어 근단백질의 분해 속도가 느려졌는데, 이는 저온에 따라 미생물 생육이 억제되어 미생물 protease의 생성이 저하괴고 자체의 protease 활성도 억제내지 저해되기 때문으로 보인다.

또한 Konno 등[11]은 오징어 근육단백질의 autolysis는 저장 온도와 식염농도 등에 영향을 받으며 autolysis시 주로 myosine이 heavy chain과 light chain으로 분해가 일어난다고 보고하였다.

4. 결 론

오징어 젓갈에 오징어 먹즙을 2% 및 4% 농도로 첨가하고 10℃에서 8주일간, 20℃에서 32일간 숙성시키면서 아미노태 질소와 근육단백질 변화를 분석한 결과는 다음과 같다. 오징어 먹즙이 첨가되지 않은 오징어 젓갈의 아미노태 질소는 식염 농도가 낮고 숙성온도가 높을수록 숙성 후반까지 계속 유의성 높게 증가하여 숙성이 촉진되었으며 오징어 근육의 단백질 변화는 myosin heavy chain이 숙성 초반에 현저히 분해되지만 actin의 변화는 거의 없어서 protease에 강하였다.

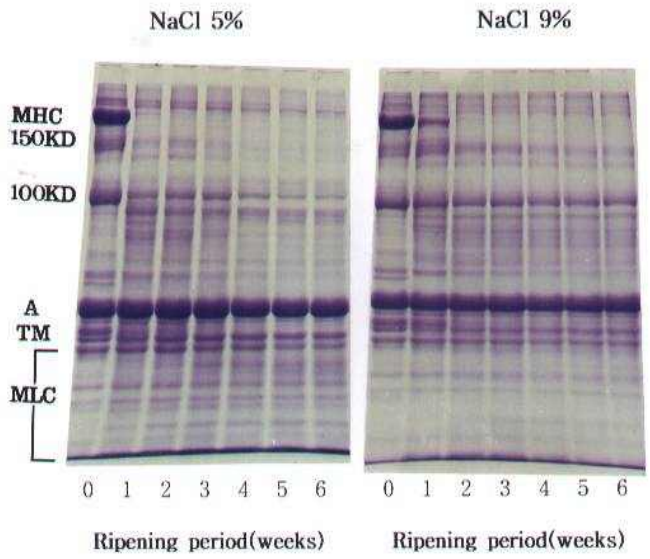

Fig. 8. SDS-PAGE patterns of salted squid mantle protein during fermentation at 10°C
MHC : Myosine heavy chain A : Actin
MLC : Myosine light chains TM : Tropomyosine

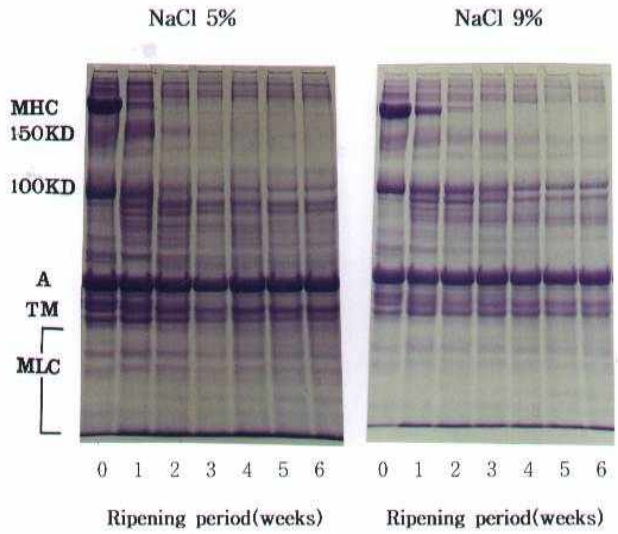

Fig. 9. SDS-PAGE patterns of salted squid mantle protein with 4% squid ink during fermentation at 10°C
MHC : Myosine heavy chain A : Actin
MLC : Myosine light chains TM : Tropomyosine

오징어 먹즙을 첨가한 오징어 젓갈의 아미노태 질소 함량은 숙성후반까지 계속 증가하였으나 증가폭은 무 첨가군에 비하여 적었으며 오징어 근육 단백질 중 myosin heavy chain은 숙성 중반에 현저히 분해되었으며 식염농도가 높고, 온도가 낮은 먹즙 첨가군은 분해 속도가 느렸다.

References

1. H. Shinano, M. Sato and M. Akiba, Studies on the microorganisms in food, *Rep. Fac. Fish, Hokkaido Univ.* **26**(2), 207 (1975).
2. G. Siebert and A. Schemitt, Fish tissue enzyme and their role in deteriorative change in fish. In "FAO international symposium on the technology of fish utilization" Ed. Kreuzer, R., Fishing News Ltd, London. 47 (1965).
3. G. Siebert, Enzyme of marine fish muscle and their role in fish spoilage. In "FAO international symposium on fish in nutrition" Ed. Heen, E. and Kreuzer, R., Fishing News Ltd, London. 80 (1962).
4. T. Inaba, N. Shindo and M. Fuji, Purification pf cathepsin B from squid liver. *Agr. Biol. Chem.* **40**(6), 1159 (1976).
5. T. Takahashi, Biochemical studies on the viscera of cuttlefish, *Ommastrephes sloani pacificus*—III. On the proteolytic enzymes of viscera. *Bull. Jap. Soc. Sci.* B. K. *Fish.* **26**(5), 500 (1960).
6. T. Takahashi,Biochemical studies on the viscera od cuttlefish, *Ommastrephes sloani pacificus*—VI. On the some properties of proteolytic enzymes of the liver. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **27**(1), 500 (1960).
7. L Y. Z.ee and B. K. Simpson, Supplementation of squid fermenteation with proteolytic enzymes. *J. Food Biochem.* **6**, 127 (1982).
8. K. Shimada and R. Baba, The relation between the chemical changes and the salt content in ripening of "Ika-Shiokara". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **1**(6), 287 (1932).
9. S. Nagasaki and T. Yamamoto, Studies on the influences on salt on microbial metabolism—III. On the relation of salt concentration to the putrefaction of fish muscle and to ripening of "Ika-Shiokara". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **20**(7), 613 (1954).
10. S. Nagasaki and T. Yamamoto, Studies on the influences on salt on microbial metabolism—IV. Some chemical observations in the course of ripening of "Ika-Shiokara". *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **20**(7), 617 (1954).
11. K. Konno and C. Fukazawa, Autolysis of squid mantle muscle protein as affected by storage conditions and inhibitors. *J. Food Sci.* **58**(6), 1198 (1993).
12. A.O.A.C. : Official Methods of Analysis, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1980).
13. A.O.A.C. : Official Methods of Analysis, 11th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1970).
14. A. G. Gornall, C. J. Bradawill and M. M. David, Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177, 751 (1949).
15. U. K. Laemmli, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 751 (1970).
16. K. G. Lee and S. M. Kim, Quality Changes in Low-Salted Squid *Jeot-gal* during Fermentation and Determination of Shelf-life. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**(5), 687-694 (2012).
17. D. S. Kim, Y. M. Kim, J. G. Koo, Y. C. Lee and J. R. Do, A study on self-life of seasoned and fermented squid. *Bull. Korean Fish. Soc.* **26**(1), 13 (1993).