

알칼리 및 효소처리가 멸치추출액의 산도, 점도 및 색에 미치는 영향

박주영 · 김혜경 · 김우정 · 윤숙자*

세종대학교 식품과학과, *춘천간호보건전문대학 전통조리학과

Effects of Alkali-protease Treatments on Acidity, Viscosity and Color of Anchovy Extracts

Joo-Young Park, Hye-Kyung Kim, Woo-Jung Kim and Shuk-Ja Yun*

Department of Food Science, King Sejong University, Seoul

* Department of Korean Cuisine Chunchon Junior College of Nursing and Health, Chunchon

Abstract

The physicochemical properties of viscosity, color, acidity and volume of anchovy extract were measured for their changes during extraction with alkali solution and/or proteolytic enzymes. The dried anchovies were ground in 0.3N NaOH solution followed by hydrolysis with neutral or alkaline protease and centrifuged to obtain anchovy extract. The results showed that the volume of supernatant after centrifugation increased from 70% of water only extraction to 89% by combined alkali-enzyme treatment. Titratable acidity of the extract showed a tendency of a little increase while viscosity decreased with prolonged enzymic hydrolysis. Changes in Hunter value of 'L', 'a', 'b' showed that the extract became darker and less yellowish as protease treatment prolonged.

Key words: anchovy extract, color, viscosity, acidity, alkali - protease hydrolysis

서 론

최근 우리나라의 국민소득 수준이 빠르게 향상되면서 소비자들은 식품의 조리 시간을 단축시키며 조리하기 편리한 가공식품을 요구하고 있다. 이중 천연조미료는 조리 음식에 첨가함으로써 천연의 맛을 향상시킬 수 있는 것으로 그 제품은 분말과 액상형태로 나눌 수 있다. 천연조미료의 가공방법은 조미원료를 건조하여 그대로 분말화 시키는 것과 원료에서 향미물질을 추출하여 이를 농축하거나 분말화하는 방법이 있다. 이중 추출방법은 가용성 물질만을 이용하게 되기 때문에 사용시 찌꺼기가 남지 않고 또한 추출방법을 개선함으로써 맛이나 냄새의 강도를 높일 수 있으며 원료중에 함유된 단백질이나 무기물등 영양성분의 수율을 향상시킬 수 있다는 면에서 연구의 관심이 높아지고 있다.

우리나라에서는 오랫동안 마른 멸치를 국이나 찌개에 첨가하여 끓임으로서 맛을 향상시켜 왔다. 마른 멸치를

이용하여 천연조미료를 제조코저한 연구는 이등⁽¹⁾이 멸치를 분말화 한 뒤 조미료와 향신료를 첨가하여 저장하는 동안 물리화학적 및 관능적 성질의 변화를 측정 한 보고가 있으며, 김⁽²⁾은 마른 멸치를 0.1N-0.5N NaOH의 알칼리 용액으로 마쇄한 뒤 6시간 알칼리 처리하였을 때 추출액에 있는 고형분과 단백질의 수율이 증가하였고, 맛의 강도도 현저히 향상되었다고 보고한 바 있다. 식품가공에서 알칼리^(3,4)와 단백질 분해효소^(5,6)의 이용은 식품가공중 얻어지는 부산물의 활용과 단백질의 기능적 성질을 향상하고자 시도해 왔던 것으로 현재까지 멸치 조미료 제조를 위하여 이 두가지 처리를 함께 이용한 연구 보고는 없다.

그리하여 본 연구에서는 멸치를 알칼리 용액으로 마쇄한 뒤 알칼리처리 시간별로 단백질 분해효소를 첨가하여 효소 반응시간에 따른 멸치추출액의 점도, 색, 산도의 변화를 측정하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 멸치(*Engraulis Japonica*)는 길이

Corresponding author: Woo-Jung Kim, Department of Food Science, King Sejong University, Kunja-dong, Sungdong-gu, Seoul, 133-150

가 5.5-7.0cm 이고, 무게가 2.0-3.0g 인 마른 증멸치를 구입하여 사용하였다. 시료 조제시 사용된 시약은 모두 일급 시약이었으며, 단백질 분해효소는 *Bacillus licheniformis* 에서 추출한 alkaline protease(Alkalase)와 *Bacillus subtilis* 에서 추출한 neutral protease(Neutrase)로서 이들의 최적 pH와 온도는 각각 pH 8.9 및 60°C와 pH 6.0-6.2 및 45°C인 효소들은 Novo Industri-Ltd(Denmark)에서 공급받아 사용하였다.

시료액의 조제

본 실험의 멸치 추출액 조제는 전보⁽⁷⁾와 같은 방법으로 blender로 멸치를 마쇄할 때 증류수와 0.3N NaOH를 사용하였으며, 이를 다시 단백질 분해효소로 가수분해시켜 얻은 상등액을 -20°C의 냉동고에 저장한 후 이화학적 성질을 측정하였다.

산도측정

총산도⁽⁸⁾는 추출액 20ml를 취한 후 0.01N NaOH로 적정한 후 그 값을 100ml에 대한 0.1N NaOH의 적정값(ml)으로 환산하였다.

색도 및 점도, 상등액량 측정

멸치 추출액의 색도 측정은 Digital Color Measuring/Difference Calculating Meter(Model No-1001 DP, Nippon Denshoku Kogyo Co., Ltd.)를 사용하여 'L', 'a', 'b'의 값을 측정하였다. 점도 측정은 증류수의 흐름시간(flow rate)이 20.0±0.05°C에서 38.4초인 Ostwald 점도계를 사용하여 얻어진 추출액을 5배 희석한 후 6번 흐름시간을 측정하여 그중에서 흐름시간이 근사한 5개만을 취하여 평균값을 계산한 뒤 상대점도로 표시하였다. 한편 상등액의 양은 알칼리와 효소처리 후 원료멸치의 pH인 6.5로 조절하여 원심분리하여 이때 분리된 추출액만을 mess cylinder로 부피를 측정하여 추출용매량에 대한 비율(%)로 표시하였다.

결과 및 고찰

상등액 양과 점도

본 실험에 사용된 마른 증멸치로서 일반성분의 조성은 수분이 20.3%, 단백질이 61.6%, 조지방은 3.0% 그리고 회분이 15.1%이었으며 탄수화물은 측정되지 않았다.

상등액의 양은 추출액의 회수를 위한 작업능률과 관계가 있을 뿐만 아니라 침전물의 수화력과도 관계가 있는 주요 요인이라고 할 수 있다. 그리하여 상등액 량을 마쇄시 첨가한 추출용매의 양에 대한 비율로 나타낸 결과는 Table 1과 같다. 물론만 추출한 경우 상등액은 69.8%이었던 것이 단백질 분해효소로 처리하게 되면 2-3시간까지 증가하여 76.9%에 이른 후 그 이상 증가하지 않았다. 한편 알칼리와 효소로 함께 처리한 추출액들은 전반적으로 80-89%범위의 상등액 비율을 보여 주어 현저한 증가를 보여 주었을 뿐만 아니라 침전된 침전 물은 주어진 조건 하에서 대부분 분해되었음을 나타내고 있다. 이러한 결과는 전보⁽⁹⁾에서 고품분 및 단백질 수율의 변화와 유사한 것이다. alkaline protease와 neutral protease 간에는 상등액량에 큰 차이가 없었으나 alkaline protease 처리가 약간 높은 편이었으며 5시간의 0.3N NaOH 처리와 1-2시간 Alkalase 처리를 함께 하였을 때가 약 89%로 가장 높았다. 그러므로 알칼리나 효소처리로 증가한 높은 상등액량의 비율은 침전물의 수화력이 감소하면서 침전물의 부피도 감소하기 때문이라고 믿어진다.

멸치 추출액의 점도를 Ostwald 점도계로 측정하여 상대점도로 표시하여 비교한 결과는 Table 2와 같다. 물론만 추출하였을 때 흐름시간이 물과 거의 비슷하여 상대점

Table 1. Effect of proteolytic enzymic hydrolysis of alkali-treated anchovy mixture on the volume of the extract (ml/100g)

Hydrolysis	Control*	Alkaline treatment		
		1 hrs	3 hrs	5 hrs
alkaline protease				
0 hrs	69.79	80.21	80.41	80.83
0.5 hrs	73.75	82.71	82.82	88.33
1 hrs	75.00	79.17	83.13	88.75
2 hrs	76.88	80.21	83.13	87.50
3 hrs	76.68	80.62	83.76	83.75
4 hrs	76.67	81.04	83.77	81.87
neutral protease				
0 hrs	69.79	80.21	81.09	80.83
0.5 hrs	72.71	80.29	81.25	82.29
1 hrs	74.38	82.29	82.71	83.09
2 hrs	74.59	78.96	81.87	82.37
3 hrs	76.25	79.17	83.75	81.96
4 hrs	76.13	79.17	83.55	83.46

* The control sample was prepared by extraction of anchovy with distilled water only.

도가 1.007로 나타났으나 알칼리와 효소처리에 의하여 약간 증가하고 있음을 알 수 있다. 이러한 현상은 상등액에 가용성 물질의 양이 증가하였기 때문이며, 알칼리와 효소처리에 의하여 단백질과 고형분의 수율이 증가하였다는 전보⁽¹⁶⁾의 결과와 일치하고 있다. 그러나 알칼리처리를 오래 한 시료에서 효소처리 후반기에 약간 감소하는 경향은 가용성 단백질이 peptide 분해로 분자량이 감소하면서 점도가 감소될 뿐만 아니라, 산용액의 중화에 의해 만들어진 중성염류나 효소 불활성화 과정의 열처리로 인해 일부 불안정한 단백질이 침전되어 일어나는 것도 또 하나의 원인으로 보여진다. 점도의 경우에서도 상등액의 양과 같이 neutral protease가 alkaline protease 처리시료보다 전반적으로 낮게 나타났는데 이는 용해된 고형분이나 단백질의 양이 낮았다는 결과⁽⁶⁾와 일치한다.

적정산도

Fig. 1과 2는 추출액 100ml에 대해 소비된 0.1N NaOH의 양으로 표시된 적정산도이다. 물론만 추출한 추출액은 0.15ml가 소비되었으며, 알칼리로만 추출했을 경우 1시간에서 5시간까지 0.44~0.48ml가 소비되어 적정산도가 증가하였으나 알칼리처리 시료들간에는

큰 차이를 보이지 않았다. 물론 마쇄한 시료나 시간별로 알칼리처리를 한 멸치마쇄액에 alkaline 또는 neutral protease로 가수분해시키면 30분까지 적정산도가 급격히 증가하였다가 시간이 경과함에 따라 증가속도가 완만하여져서 1시간부터는 거의 직선적인 낮은 증가속도를 보여 주었다. 그러나 알칼리처리를 1시간 한시료에서는 효소처리 1시간까지 감소하였다가 증가하는 경향이었는데 이러한 경향은 neutrase가 더욱 크게 나타났다. 멸치추출액의 산도의 증가는 주로 아미노산과 같은 유기산 형성에 의한다고 믿어지는데, 생성된 유기산은 멸치추출액의 맛에 큰 영향을 주리라 생각된다.

색

Table 3은 멸치추출액의 색을 Hunter 값으로 측정하여 알칼리와 효소처리의 반응시간에 따라 색의 변화를 비교한 결과이다. Hunter 'L'값은 모든 시료가 10-30의 범위에 있어 어두운 색을 갖고 있었으며 반응시간이 경과하면서 초기에 현저한 감소가 있었다가 반응후기에는 비교적 그 감소폭이 완만하여 졌다. 색의 변화는 사용된 단백질 분해효소에 따라 차이가 있어서, neutral protease가 alkaline protease보다 약간 더 큰 색의 변화가 있었

Table 2. Effect of proteolytic enzymic hydrolysis of alkali-treated anchovy mixture on relative viscosity of the extract

Hydrolysis	Control*	Alkaline treatment		
		1 hrs	3 hrs	5 hrs
0 hrs	1.007	1.043	1.063	1.098
0.5 hrs	1.024	1.037	1.041	1.102
1 hrs	1.030	1.042	1.046	1.093
2 hrs	1.020	1.032	1.048	1.081
3 hrs	1.024	1.033	1.040	1.070
4 hrs	1.018	1.032	1.040	1.059
neutral protease				
0 hrs	1.007	1.043	1.063	1.098
0.5 hrs	1.023	1.036	1.025	1.031
1 hrs	1.020	1.027	1.026	1.048
2 hrs	1.019	1.022	1.041	1.046
3 hrs	1.017	1.030	1.035	1.044
4 hrs	1.018	1.031	1.035	1.043

* The control sample was prepared by extraction of anchovy with distilled water only

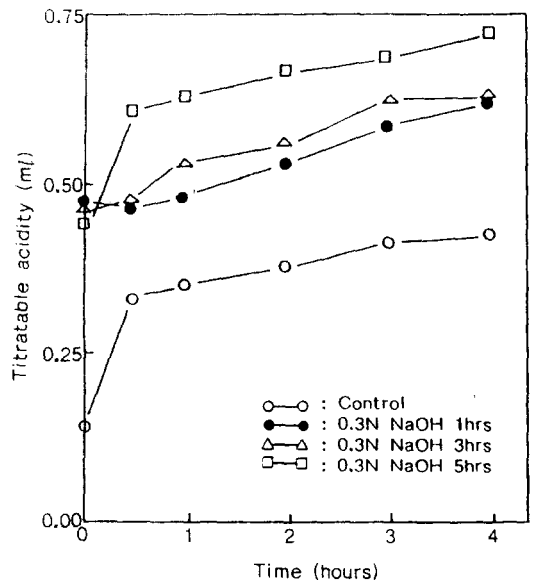


Fig. 1. Effect of Alkalase addition to alkali-treated anchovy solution in titratable acidity of centrifuged supernatant during incubation at 60°C.

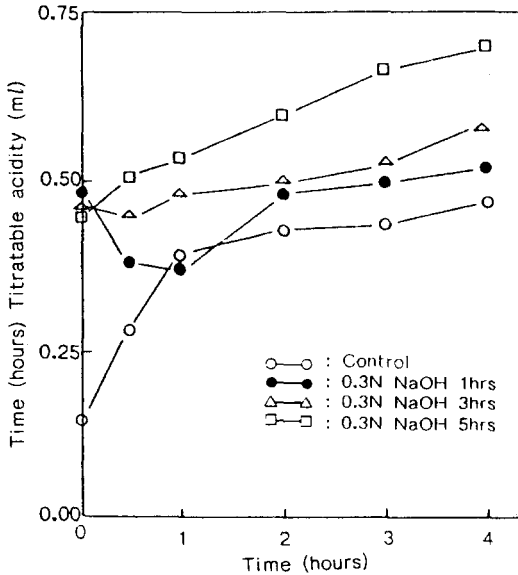


Fig. 2. Effect of Neutrase addition to alkali-treated anchovy solution in titratable acidity of centrifuged supernatant during incubation at 40°C.

다. 추출시 알칼리를 사용하지 않았을 경우 alkaline protease의 처리는 L값의 변화가 거의 없었으나 알칼리로 추출한 추출액을 효소처리하였을 때에는 L값의 감소가 현저하였다. 한편 적색과 녹색을 나타내는 Hunter 'a'값은 물로만 추출한 경우 모두 (-)값을 가져 적색보다는 옅은 녹색이었음을 알 수 있었으며 알칼리처리를 하게 되면 a값이 약간 증가하여 1~5(+)의 값을 갖게 되어 옅은 붉은 색을 나타내었다. 효소처리에 의한 a값은 변화가 있었으나 일정한 경향을 보이지 않았다. Hunter 'b'값(청색-황색)은 알칼리 처리하지 않았을 때에는 효소의 분해작용에 의하여 b값의 증가가 뚜렷하였으나 그 외에는 감소하는 경향이였다. 그러므로 멸치를 추출할 때 알칼리와 단백질 분해효소를 병용할 경우 추출액의 색은 검은색이 전해지고 옅은 적색과 황색이 나타나게 됨을 알 수 있었다.

요 약

멸치추출액의 제조과정중 멸치를 0.3N NaOH 용액으로 마쇄하여 1, 3, 5시간 동안 알칼리 처리한 뒤 알칼리

Table 3. Effect of proteolytic enzymic hydrolysis of alkali-treated anchovy mixture on Hunter 'L', 'a', 'b' value of the extract

Hydrolysis	Alkaline treatment											
	Control*			1 hrs			3 hrs			5 hrs		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
alkaline protease												
0 hrs	26.6	-1.7	2.8	26.4	0.2	8.2	27.0	5.4	10.2	26.8	2.7	10.7
0.5 hrs	28.8	-0.8	7.9	26.0	1.0	9.9	25.5	4.8	10.0	17.0	2.2	6.5
1 hrs	28.0	-0.9	8.5	22.6	3.5	9.0	22.6	3.5	8.3	13.4	3.1	4.8
2 hrs	27.2	-0.9	9.3	23.5	3.3	9.3	18.6	3.2	7.2	13.9	4.7	5.3
3 hrs	27.1	-0.8	8.2	24.6	2.3	9.9	18.2	4.6	6.8	12.8	3.3	5.4
4 hrs	26.5	-0.8	8.7	22.9	1.4	9.0	18.6	3.2	7.2	14.4	2.8	6.8
netral protease												
0 hrs	26.6	-1.7	2.8	26.4	0.2	8.2	27.0	5.4	10.2	26.8	2.7	10.7
0.5 hrs	17.0	-0.5	2.9	23.8	-0.7	7.0	13.4	4.2	2.9	10.5	1.3	5.9
1 hrs	18.6	-0.5	3.9	21.0	1.6	7.4	22.0	1.9	2.9	10.5	3.6	9.8
2 hrs	17.4	-1.8	3.4	23.5	2.3	9.3	17.0	1.5	4.9	12.3	4.4	8.3
3 hrs	17.6	-0.8	3.4	18.9	1.9	6.8	12.8	4.5	3.7	9.8	3.3	5.4
4 hrs	16.6	-0.9	3.3	20.7	0.5	7.8	18.9	5.9	7.3	14.8	3.1	8.4

* The control sample was prepared by extraction of anchovy with distilled water only.

와 중성 단백질 분해효소로 4시간 가수분해하면서 얻어진 멸치마쇄액의 물성을 측정하였다. 멸치추출액의 물리적 품질로서 점도, 색, 총산도, 및 상등액의 양을 측정하여 비교하였다. 그 결과 효소처리한 멸치 마쇄액의 상등액량을 전체무게에 대하여 89%로서 70%인 비교구보다 약 20%증가되는 결과를 보여 주었으며, 상대점도는 효소처리 시간이 경과함에 따라 약간 감소하는 경향이였다. 총산도는 반응초기에 현저히 증가하였다가 그 후 완만하여 졌으며 Hunter 값으로 표시된 색의 변화는 'L'값이 점점 감소하여 어두워졌으며 이러한 현상은 알칼리처리를 많이한 시료일수록 더욱 현저하였다. 한편 'a'값의 변화는 효소를 반응시키는 동안 일정한 변화경향은 없었으나 엷은 붉은색 범위를 보여 주었고 'b'값은 효소처리에 의하여 감소하는 경향이 뚜렷하였다.

문 헌

1. 이응호, 하재호, 차용준, 오광수, 권철성 : 진주담치 및 마른멸치의 분말스우프의 제조, 한국수산학회지, 17(4), 229(1984)
2. 김혜경 : 알칼리 처리가 멸치추출액의 품질에 미치는 영향, 세종대학원 석사학위 논문 (1986)
3. Montecalvo, J.Jr., Constantinides, S.M. and Yang, C. S.T. : Optimization of processing parameters of the preparation of flounder frame protein product. *J. Food Sci.* 49, 172(1984)
4. Tannenbaum, S.R., Ahern, M. and Bates, R.P. : Solubilization of fish protein concentrate. *Food Technol.*, 24(5), 604(1970)
5. 이응호, 박향숙, 안창범, 황규철 : 크릴간장 제조에 관한 연구, 한국영양 식량학회지, 13(1), 97(1984)
6. 이응호, 조인영, 하재호, 오광수, 이장상 : 정어리 잔사물 이용한 정어리 간장의 제조. 한국수산학회지, 17(2), 117(1984)
7. 김혜경, 박주영, 김우정 : 알칼리 처리가 멸치 추출액의 품질에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 20(3), 441(1988)
8. A.O.A.C. : *Official methods of analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, 22. 058(1984)
9. 김우정, 박주영 : 알칼리와 효소처리에 의한 멸치 추출액의 수율 및 관능적 성질의 향상, 한국식품과학회지, 20(3), 433 (1988)

(1988년 3월 11일 접수)