

## 참치 가공부산물로부터 단백질 분해효소를 이용한 기능성 천연조미료 제재의 개발

### 3. 분말 참치 가수분해물의 저장중 품질안정성

차용준<sup>†</sup> · 김은정 · 김 훈

창원대학교 식품영양학과

## Development of Functional Seasoning Agents from Skipjack Processing By-product with Commercial Proteases

### 3. Storage Stability of Powdered Skipjack Hydrolysate

Yong-Jun Cha<sup>†</sup>, Eun-Jeong Kim and Hun Kim

Dept. of Food Science and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

#### Abstract

The antioxidative effects of BHT and rosemary on the hydrolysate from skipjack processing by-product (SPB) was evaluated by storing at 30°C for 60 days. Each of 0.02% BHT, 0.01% rosemary, and 0.02% rosemary was added into SPB hydrolysate prior to spray drying and the dried powder was tightly sealed in the laminated film (PET/Al foil/ CPP, 5µm/15µm/70µm) bags for storage. The colorimetric lightness ("L") decreased through the storage period in all treatments while the redness ("a") showed the opposite trend. Changes of pigment were higher in level of hydrophilic brown than in lipophilic brown during storage. The effect of antioxidants, by adding BHT and rosemary, showed in TBA and POV during storage. Especially, the 0.02% rosemary treatment was more effective than 0.02% BHT treated SPB having effect of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibiting.

**Key words:** quality stability, rosemary, BHA, hydrolysate of skipjack by-product

#### 서 론

수산물 가공부산물을 유용한 식량자원으로 이용하고자 하는 연구는 자원의 효율성 측면에서 유용하며, 환경적인 측면에서도 바람직하다. 따라서 수용성 단백질의 회수나 부산물의 식량화 또는 사료화에 대한 연구는 절실하며 이에 대한 많은 연구가 보고되고 있으나(1-4), 대부분이 단백질의 가수분해에 의한 식품소재의 개발이 주류를 이루고 있다. 특히 최근에는 화학조미료의 기피현상으로 인하여 천연 조미료 소재를 선호하고 있으며, 이러한 자원으로부터 식품소재의 개발은 식품이 가지는 정미성 이외에 기능적 특성까지 요구하고 있다. 이에 단백질 가수분해물의 생리활성작용에 관한 연구가 큰 관심의 대상이 되고 있다. 특히 순환기 장애의 대표적인 질환인 본태성 고혈압에서 혈

관 수축에 관여하는 angiotensin converting enzyme (ACE)이 저분자 펩티드나 아미노산에 의해 저해효과가 있다고 보고(5)됨에 따라 이러한 기능적 특성을 가지는 단백질 가수분해물의 제조나 수산발효식품에서의 기능적 특성에 관하여 최근에 많은 연구가 발표되고 있다(6-9).

따라서 본 연구에서는 전보(10,11)에서 제조된 참치 가수분해물을 기능성을 가지는 천연조미료로서의 이용가능성을 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

참치 통조림 가공 도중에 생성되는 부산물중 혈함 육만을 원료로 하여 전보(10)에서 보고된 최적 조건에

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

서 상업용 효소인 Protease P<sup>TM</sup>(Amano International Enzyme Co., 일본)를 이용하여 가수분해물을 제조하였으며, 이들 가수분해물을 총 고형물량에 대해 0.5% glucose를 첨가하고 autoclave(121°C)에서 10분간 효소 불활성화 및 Maillard reaction을 유도하였다. 다음으로 저장중 제품에 대한 항산화능을 보기 위해 0.02% BHT(Butylhydroxytoluene, B), 0.01% rosemary(상품명: Stabex, SKW Trostberg Co., 미국)(R1) 및 0.02% rosemary처리구(R2)를 대조구(C)와 함께 4그룹으로 나누는 다음 각각 maltodextrin을 총 고형분의 2배량 넣고 분무건조하였다. 이때의 첨가량(%)은 참치부산물(혈합육)으로 부터 제조한 참치 가수분해물(5,850ml) 중 분말화하기 직전 제품의 고형분량(1,948g)에 대한 양이다. 분말화된 참치가수분해물은 저층필름(PET/Al foil/ CPP 5µm/15µm/70µm; 15×17cm; 삼아알루미늄사제)에 150g씩 층진포장하여 항온배양기(30±1°C)에 저장하여 두고 저장 중의 산화안정성에 대하여 분석하였다.

#### 일반성분, 색도 및 갈변도 실험

일반성분은 A.O.A.C.법(12)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 지방은 Soxhlet법, 회분은 건식회화법에 따라 측정하였으며, 염도는 Mohr법(13)으로 측정하였다. 색도는 분말화한 시료를 standard plate(L: 91.6, a: 0.28, b: 2.69)를 이용하여 직시색차계(Yasuda Seiki Co. 600-1-R, Japan)에서 L값, a값 및 b값을 측정하였다. 갈변도 실험은 김 등의 방법(14)에 따라 시료 1.5g을 취하여 지용성 획분과 수용성 획분으로 구분하여 추출하였으며 460 nm에서의 흡광도값으로 표시하였다.

#### 유지특가 실험

TBA값은 시료 1g을 정칭하여 Tarladgis 등의 수중기 증류법(15)으로 분석하였으며 과산화물가(POV)는 A.O.C.S.법(acetic acid-chloroform method)(16)에 의하여 분석하였다.

#### Angiotensin-I converting enzyme(ACE) 저해작용의 측정

Angiotensin-I converting enzyme(ACE)은 rabbit lung acetate(Sigma Co.) 1g에 sodium borate buffer(pH 8.3) 10ml를 가하여 3°C에서 24시간 교반하며 추출한 후 저온원심분리(3°C, 10,000rpm, 10min)하여 얻은 상층액을 조효소액으로 하였으며, 기질용액으로는 Hippuryl-His-Leu(Sigma Co.) 25mg을 2.5ml sodium borate buffer에 녹여 사용하였다. ACE 저해능 실험은 Cushman 및 Cheung의 방법(17)에 따라 실험하였다. 즉 생시료(혈합육)와 참치가수분해물 50µl에 ACE 조효소액 200µl와 sodium borate buffer(pH 8.3) 200µl를 가한 후, 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 기질용액을 100µl 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl을 500µl 가하여 반응을 정지시켰다. 다음으로 ethylacetate 1.5ml를 가하여 15초간 교반 및 원심분리(10,000rpm, 8min)한 후 상층액을 1ml 취하여 완전히 건조시킨 다음 증류수 3ml를 가하여 용해시키고 228nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해율을 구하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 참치 가수분해물의 일반성분 및 Angiotensin-I converting enzyme(ACE) 저해효과

전보(10)에서 제조한 참치 가수분해물의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 수분 함량은 2.59%, 단백질은 23.82%, 지방은 0.88%, 회분은 3.26%였다. 그리고 염도는 2.59%로서 원료 1.24%에 비하여 건물량 기준으로 환산하여 볼 때 약간의 감소가 있었다. 이것은 분말화할 때 향미 포집제의 목적으로 첨가하였던 maltodextrin에 의해 상대적으로 감소한 것으로 생각된다.

참치 가수분해물의 기능성을 검토하기 위하여 ACE(Angiotensin-I converting enzyme) 저해효과를 분석한 결과는 Table 2와 같다. 생시료의 경우 2.8%의 낮은 효과를 보인 반면에, 가수분해물에서는 72.2%의 저해

Table 1. Proximate composition and salinity of raw and hydrolysate of skipjack processing by-product (g/100g)

	Moisture	Protein	Lipid	Ash	Salinity
Raw	66.23±0.01 <sup>1)</sup>	26.72±0.03	2.93±0.05	2.04±0.02	1.24±0.00
Hydrolysate	2.59±0.02	23.82±0.01	0.88±0.06	3.26±0.04	2.59±0.00

<sup>1)</sup>Average±Standard deviation(n=3)

**Table 2. Angiotensin-I converting enzyme(ACE) inhibition effect and IC<sub>50</sub> in raw and hydrolysate of skipjack processing by-product(dark muscle)**

	ACE(%)	IC <sub>50</sub> (mg)
Raw	2.8	N.D.
Hydrolysate	72.2	1.124

을 나타내었다. 이것은 단백질 분해효소에 의한 가수분해 도중에 생성된 저분자 peptide 및 아미노산에 의한 것으로 추정된다. 受田 등(18)은 정어리 단백질 가수분해시 ACE 저해작용을 갖는 peptide류가 생성됨을 보고하였고, 아울러 아미노산 조성을 검토한 결과 lysine의 함량은 적고 tyrosine, leucine 및 phenylalanine 등의 소수성 아미노산 함량이 많은 것으로 보고 하였다. Cheung 등(19)도 tryptophan, phenylalanine, tyrosine, proline, valine, isoleucine을 가지는 dipeptide가 높은 ACE 저해효과를 가진다는 것을 밝혀, 일반적으로 ACE 저해활성의 발현에 있어서 방향족 및 소수성 아미노산 잔기의 중요성을 확인할 수 있었다. 본 실험의 경우도 전보(11)에서 밝혀진 질소화합물의 조성고 비교하여 볼 때 비슷한 결과를 보였는데 생시료에 비해 가수분해물에서는 phenylalanine, leucine, tyrosine, isoleucine, valine이 각각 26.5, 22.0, 20.0, 16.8, 16.6배의 함량의 증가를 나타냄으로서 방향족 화합물 및 소수성 아미노산의 기여도가 유의성이 있는 것으로 사료되었다. 그리고 ACE 저해능이 50%가 되는 단백질 농도를 표시하는 IC<sub>50</sub>을 조사한 결과 1.124 mg을 나타내었는데, 분말 제품인 경우 단백질 농도가 23.82%이므로 4.719mg 섭취할 경우 ACE 저해능이 50%를 나타낼 가능성이 있다는 것을 의미하였다.

**저장중의 색도 및 갈변도 변화**

분말 참치 가수분해물의 저장 중의 색도변화는 Table 3

에 표시하였다. 대조구의 경우 저장 초기에 L값(명도)은 48.7에서 저장함에 따라 점차 감소하였으며 상대적으로 a값(적색도) 및 b값(황색도)은 증가하였다. 그리고 BHT를 첨가한 제품 B에서는 대조구와 비슷한 경향이었으나 저장 60일경에 명도는 대조구에 비해 약간 높았다. Rosemary를 첨가한 제품 R1 및 R2에서 저장 중 색도변화는 제품 C 및 제품 B에 비하여 변화폭이 적었으나 그 차이는 아주 적었다. 오(20)는 가스오부시 제품 저장 중의 색도변화에서 질소 치환포장이나 탈산 소제봉입제품이 합기포장 보다 색도의 변화가 적었다고 하였는데 본 실험의 경우는 모두 합기포장한 제품이었으며 전체적으로 불적에 항산화제 처리에 의한 제품 색도의 안정성에는 효과가 없는 것으로 판정되었다. 그리고 시판 참치 조미료를 선정하여 비교한 결과 본 실험의 4제품이 모두 명도, 적색도 및 황색도가 높았다. 이러한 결과는 명도는 부원료로 첨가된 maltodextrin의 영향이라 생각되며 적색도 및 황색도는 원료육(혈합육) 자체의 색깔에 기인된 결과라 생각된다.

저장 중의 갈변도 변화를 수용성 부분과 지용성 부분으로 나누어 실험한 결과는 Fig. 1 및 2와 같다. 저장 중 수용성 갈변도는 4제품 모두 증가하는 경향이였다. 특히 저장 30일까지는 rosemary를 처리한 제품 R1 및 R2가 대조구 및 제품 B에 비하여 증가폭이 낮았으나 그 이후로는 제품 R2를 제외하고는 비슷하게 증가하였다. 지용성 갈변도의 경우는 수용성 갈변도에 비하여 저장 중의 변화폭은 4제품 모두 낮았다. 저장 30일까지는 대조구가 증가폭이 가장 컸으며 나머지 3제품은 낮았으나 저장 45일 이후에는 rosemary를 첨가한 제품들(R1, R2)은 갈변도가 감소하는 반면에 제품 B는 대조구와 함께 증가하는 경향이였다. 김 등(14)은 마른 명태 저장 중의 갈변도에서 수용성 갈변도는 당아미노반응에 의하여 기인된다고 하였으며 RH(relative humidity)가 낮을수록 저장 중 변화폭이 적다고 하였다.

**Table 3. Changes of color values in hydrolysate of skipjack processing by-product with antioxidant treatment during storage at 30°C**

Storage time (days)	C <sup>1)</sup>			B <sup>1)</sup>			R1 <sup>1)</sup>			R2 <sup>1)</sup>		
	L <sup>3)</sup>	a <sup>4)</sup>	b <sup>5)</sup>	L <sup>3)</sup>	a <sup>4)</sup>	b <sup>5)</sup>	L <sup>3)</sup>	a <sup>4)</sup>	b <sup>5)</sup>	L <sup>3)</sup>	a <sup>4)</sup>	b <sup>5)</sup>
0	48.7	8.7	20.4									
15	47.5	9.1	21.4	47.8	9.2	22.0	48.1	8.8	21.6	48.0	9.0	21.6
30	47.7	9.1	21.6	47.2	9.7	21.6	47.0	9.7	21.8	47.2	9.6	21.5
45	47.2	9.8	21.2	46.6	9.9	21.0	46.1	9.7	22.2	46.8	9.5	21.5
60	43.6	10.5	21.5	45.4	10.8	21.4	45.9	9.9	22.2	45.2	9.8	21.2
R <sup>2)</sup>	43.5	7.9	18.5									

<sup>1)</sup>Codes C, B, R1 and R2 are the same as expressed in Table 1

<sup>2)</sup>Reference, commercially available powdered kasuobushi

<sup>3)</sup>Lightness, 100: perfect white, 0: black

<sup>4)</sup>Redness, +: red, 0: gray, -: green

<sup>5)</sup>Yellowness, +: yellow, 0: gray, -: blue

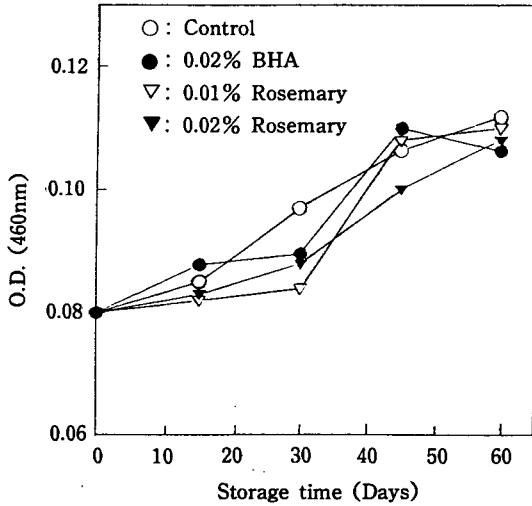


Fig. 1. Changes of hydrophilic brown pigment in hydrolysates of skipjack processing by-product with antioxidant treatment during storage at 30°C.

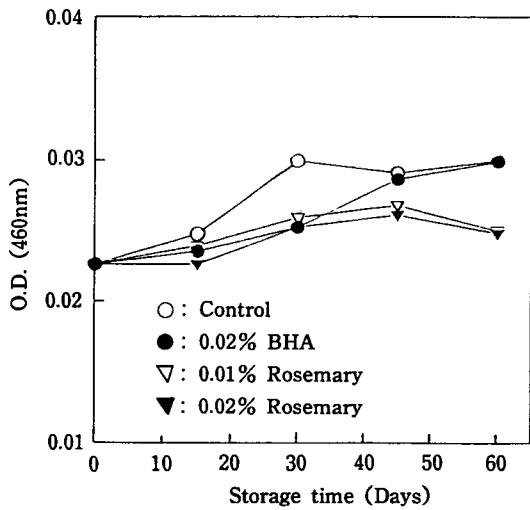


Fig. 2. Changes of lipophilic brown pigment in hydrolysates of skipjack processing by-product with antioxidant treatment during storage at 30°C.

한편 Hoyle와 Merritt(21)는 청어로 부터 제조한 가수분해물의 경우 저장 중 비효소적 갈변도는 큰 영향을 받지 않는다고 보고하였으며, 김 등(14)은 지질산화 및 carbonyl 화합물의 생성에 의한 지용성 갈변도는 RH가 35~45%인 범위에서 가장 안정하다고 하였는데, 본 실험의 경우 제품의 수분 함량이 2.6% 이하인 것을 감안하면 저장 중의 갈변도 변화에서 대조구에 비하여 항산화제를 처리한 제품 B, R1 및 R2이 효과가 있었으며

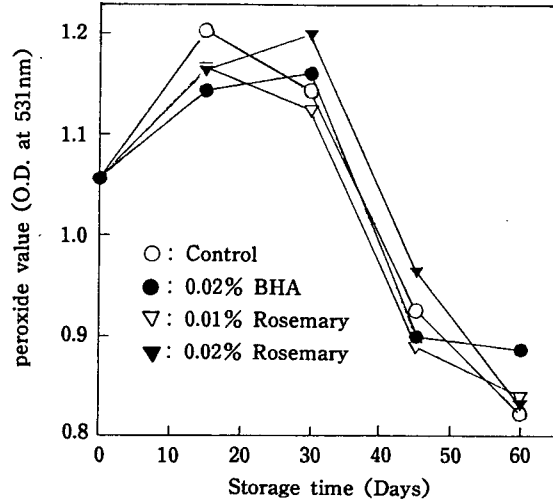


Fig. 3. Changes of TBA value in hydrolysates of skipjack processing by-product with antioxidant treatment during storage at 30°C.

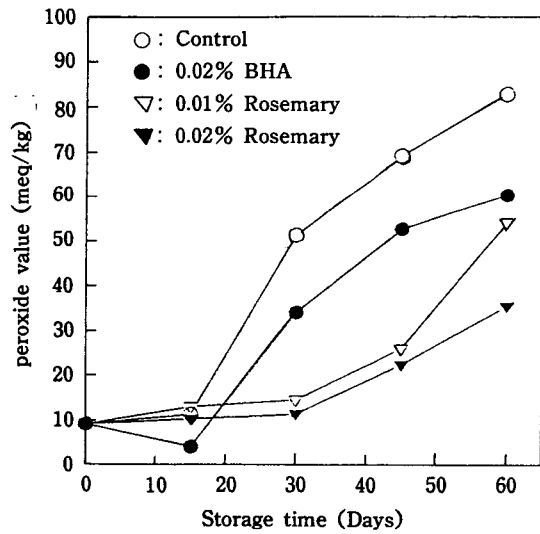


Fig. 4. Changes of POV value in hydrolysate of skipjack processing by-product with antioxidant treatment during storage at 30°C.

특히 rosemary 첨가제품이 BHT 첨가제품 보다 우수하였다.

#### 저장중 TBA값 및 과산화물가(POV)의 변화

저장 중 제품의 TBA값을 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. 대조구인 제품 C 및 제품 R1은 저장 15일경에 각각 1.20 및 1.15로 증가하였다가 그후로는 감소하였으며 제품 B 및 R2는 저장 30일경에 최대로 증가하였

다가 그후로는 계속 감소하여 저장 초기의 지방산화 억제효과가 있었다. 그리고 0.01% rosemary를 첨가한 경우(제품 R1) 보다는 0.02%를 첨가할 경우(제품 R2)가 BHT를 첨가한 제품 B 보다 더 효과적이었다. 그러나 저장 중의 과산화물가를 측정한 결과(Fig. 4)를 보면 저장 15일경까지는 제품 B가 가장 낮은 값이었으나 그후로는 대조구와 비슷한 경향으로 증가한 반면에 rosemary를 첨가한 제품들(R1, R2)은 저장 30일까지는 안정하다가 그후로 서서히 증가하는 경향을 보였다. 그리고 제품 R2가 제품 R1 보다는 더 효과적인 것을 알 수 있었다.

따라서 본 실험에서 천연 항산화제인 rosemary 0.02%를 첨가하여 제조한 분말 참치 가수분해물은 저장중의 지방산화 억제능이 있었으며, 천연 향미제로서 기능성 효과를 가지는 훌륭한 식품 소재가 될 것으로 사료되었다.

### 요 약

참치 가수분해물을 항산화제인 BHT 0.02% 첨가구와 rosemary 0.01% 및 0.02%를 첨가한 제품을 대조구와 함께 30°C에서 저장하면서 검사한 결과 색도에서 대조구 및 항산화제 처리한 4제품 모두 명도는 감소하는 반면에 적색도는 증가하는 경향이 있었다. 그리고 수용성 갈변물질이 지용성 갈변물질 보다 함량이 많았으며 저장 중 증가폭도 컸다. 지방산화 억제능에서는 0.02% BHT 첨가구 보다 0.02% rosemary 첨가구에서 효과가 있었고, ACE 저해능에서는 생시료에서 3% 미만의 낮은 효율을 보인 반면에 가수분해물에서는 72.2%를 나타내었으며, IC<sub>50</sub>은 1.124mg이었다.

### 감사의 글

이 논문은 1995년도 한국학술진흥재단의 자유공모 과제 연구비 지원에 의한 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

### 문 헌

1. 김세권, 양현필, 이응호 : 어피의 효소적 가수분해물을 이용한 천연조미료의 개발. 한국생물공학회지, 6, 327 (1991)
2. 이응호, 이태현, 김진수, 안창범 : 가다랑어잔사를 이용한 어간장제조 및 정미성분. 한국수산학회지, 22, 25(1989)
3. 김성민, 하정옥 : 가다랑어 내장 단백질 가수분해물의 이용. 한국식품과학회지, 27, 141(1995)

4. Uchida, Y., Hukuhara, H., Shirakawa, Y. and Shoji, Y. : Bio-fish flour. In "Making profits out of seafood wastes" Keller, S.(ed.), p.95(1990)
5. Manjusri, D. and Richard, L. S. : Pulmonary angiotensin converting enzyme. *J. Biol. Chem.*, 250, 6762 (1975)
6. 염동민, 이태기, 변한석, 김선동, 박영호 : 효소에 의한 고등어 근육단백질 가수분해물의 Angiotension-I 전환 효소 저해작용. 한국수산학회지, 25, 229(1992)
7. 김선봉, 이태기, 박영범, 염동민, 김외경, 변한석, 박영호 : 멸치젓갈 중의 angiotensin-I 전환효소 저해제의 특성. 한국수산학회지, 26, 321(1993)
8. 염동민, 이태기, 도정룡, 김외경, 박영범, 김선봉, 박영호 : 정어리어간장 중의 angiotensin-I 전환효소 저해제의 특성. 한국수산학회지, 26, 416(1993)
9. Suzuki, T., Ishikawa, N. and Meguro, H. : Angiotensin-I converting enzyme inhibiting activity in foods. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 57, 1143(1983)
10. 김은정, 차용준 : 참치 가공부산물로부터 단백질 분해효소를 이용한 기능성 천연조미료 제제의 개발. 1. 참치 가공부산물로부터 단백질 가수분해물의 제조. 한국영양식량학회지, 25, 608(1996)
11. 김은정, 차용준 : 참치 가공부산물로부터 단백질 분해효소를 이용한 기능성 천연조미료 제제의 개발. 2. 분말 참치 가수분해물의 향미성분. 한국영양식량학회지, 25, 617(1996)
12. A.O.A.C. : *Official methods of analysis*. 13th ed., Association of official analytical chemists. Washington, D.C., p.285(1980)
13. 日本藥學會編 : 衛生試驗法注解. 金原出版, p.62(1980)
14. 김무남, 최호연, 이강호 : 마른 명태 저장중의 수분활성과 갈변반응. 한국영양식량학회지, 2, 41(1973)
15. Tarladgis, B. G., Watts, B. M. and Younathan, M. T. : A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid food. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 37, 44(1960)
16. A.O.C.S. : *Official methods and recommended practices*. 4th ed., American oil chemists' society, p.413 (1990)
17. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. : Spectrometric assay and properties of angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, 20, 1637(1971)
18. 受田浩之, 松田秀喜, 箴島克裕, 松藤 寛, 松井利郎, 箴島豊 : 加熱イワシ筋肉のヘフシン加水分解物中に存在するアンジオテンシンI變換酵素阻害ヘフチト. 日農化誌, 66, 25(1992)
19. Cheung, H. S., Wang, F. L., Ondetti, E. F., Sabo, E. F. and Cushman, D. W. : Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Importance of the COOH-terminal dipeptide sequence. *J. Biol. Chem.*, 255, 401(1980)
20. 오광수 : 분말 가쓰오부시의 제조 및 풍미성분에 관한 연구. 부산수산대학교 대학원 박사학위논문(1989)
21. Hoyle, N. T. and Merritt, J. H. : Quality of fish protein hydrolysates from Herring(*Clupea harengus*). *J. Food Sci.*, 59, 76(1994)

(1996년 2월 21일 접수)