

멸치액젓 및 간장 가공부산물을 이용한 기능성 효소분해간장의 제조 1. 반응표면분석법에 의한 가수분해를 제조조건 최적화

김 훈 · 이정석* · 차용준[†]

창원대학교 식품영양학과
*동서바이오텍(주)

Processing of Functional Enzyme-hydrolyzed Sauce from Anchovy Sauce and Soy Sauce Processing By-products 1. Optimization of Hydrolysis Conditions by Response Surface Methodology

Hun Kim, Jung-Suck Lee* and Yong-Jun Cha[†]

Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea
*Dongseo Biotech. Co. Ltd., Busan 608-810, Korea

Abstract

The hydrolysis conditions (enzyme/substrate ratio, time and temperature) of the mixture of anchovy sauce residue (ASR) and soy sauce residue (SSR) after fermentation by Flavourzyme 500MGTM were optimized using response surface methodology (RSM) for pretreatment of processing functional enzyme-hydrolyzed sauce. A model equation obtained from RSM was hydrolysis ratio (%) = 28.157 + 1.929enzyme/substrate ratio + 1.818time + 2.038temperature - 1.093temperature², whose stationary point showed saddle point. From the ridge analysis of the saddle point, the conditions producing the highest hydrolysis ratio was determined as follows: 0.49% enzyme/substrate ratio; 3.55 hr hydrolysis time; 62.5°C hydrolysis temperature. Adding of SSR to the mixture of water and ASR improved sensory qualities of mixture, so it seemed that SSR has masking effects on off-flavor and taste of ASR.

Key words: by-anchovy sauce, soy sauce, RSM

서 론

액젓은 어패류를 주원료로 하여 식염을 가하고, 발효, 숙성 시킨 후 고형물을 여과하여 제거하여 만들어진 우리나라 전통 수산발효식품이다(1,2). 이중 멸치액젓은 김치양념, 간장대용, 무침이나 절임용 등 다양한 용도로 이용되고 있으며, 특히 김치 산업의 신장 추세로 산업적 중요성이 일반 것갈보다 상대적으로 큰 것으로 평가되고 있다(2,3). 하지만 멸치액젓 가공 공정 중에 발생하는 멸치액젓 발효잔사는 높은 식염 함량으로 인해 적절한 전환없이 폐기되거나 방치되어 환경오염의 원인이 되고 있는 실정이다. 멸치액젓에 관한 연구에서도 멸치액젓의 맛 성분이나 이화학적 성분의 분석, 품질표준화, 가공공정(2,4,5) 등에 관해서는 활발한 연구가 진행되어 왔으나 멸치액젓 발효잔사를 이용한 연구는 전무한 실정이다.

한편 간장박은 재래식 간장의 제조공정에서 간장 착즙후 발생하는 가공 부산물로서 멸치액젓 발효잔사와 같이 높은 식염 함량으로 인해 폭넓게 이용되지 못하고 있다. 하지만 간장박은

콩의 특유한 향을 가지고 있으며 비린내를 masking하는 것으로 알려진 3-methyl-1-butanol과 2-phenylethanol(6) 등의 휘발성 화합물도 함유하고 있다(7). 따라서 간장박을 멸치액젓 발효잔사와 혼합하여 사용할 경우 비린내와 같은 불쾌취의 감소와 함께 수산 및 농산가공부산물의 혼합에 의한 영양 및 기능적인 면도 상호보완이 될 것으로 기대된다. 즉 멸치젓과 멸치액젓은 항산화효과(8), 항돌연변이성(9), 혈전용해활성(10), 항암성(11) 등을, 간장의 경우 agiotensin converting enzyme 저해능(12) 등과 같은 생리 기능적 특성이 있는 것으로 알려져 있어, 동일한 식품원료에서 발생한 멸치액젓 잔사와 간장박에서도 위와 같은 기능적 특성을 가질 것으로 예상된다.

이에 본 저자들은 멸치액젓 잔사와 간장박을 원료로 생리 기능적 특성을 가지는 효소분해간장을 제조하고자 하였으며, 본 연구에서는 기능성 효소분해간장 제조를 위한 전처리 과정으로서 상업용 단백질 가수분해효소에 의한 단백질 가수분해물 제조를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 이용하여 최적 제조조건을 설정하고자 하였다.

[†]Corresponding author. E-mail: yjcha@sarim.changwon.ac.kr
Phone: 82-55-279-7485, Fax: 82-55-281-7480

재료 및 방법

실험재료

멸치액젓잔사는 경남 마산시 및 삼천포시에 소재한 동진식품과 천가식품으로부터 3종의 멸치액젓 발효잔사를 공급받은 후 동일한 양으로 혼합·균질화한 후 저온실(4°C)에 보관하며 실험에 사용하였다. 간장박은 경남 창원시에 소재한 몽고식품(주)에서 공급받았으며, 이때 간장박은 콩간장 특유의 향을 유지하기 위해 최근에 발생한 것을 공급받아 저온실(4°C)에 보관하며 실험에 사용하였다.

단백질 가수분해 효소는 Flavourzyme 500MGTM(Novo, Denmark)를 제공받아 사용하였다.

일반성분, 아미노질소, 염도 및 pH 분석

일반성분은 AOAC법(13)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 회분은 건식회화법, 총질소량은 semi micro Kjeldahl법에 의하였고 아미노질소는 Formol법(14)으로 측정하였다. 염도는 염도계(TM-30D, Takemura Electric Works LTD., Japan)로 측정하였으며 pH는 pH meter(DP-880, Dongwoo Medical System, Korea)를 이용하여 측정하였다.

관능검사

각 시료의 냄새, 맛 및 종합적 기호도에 대해 9점 평점법(1점: 매우 나쁘다, 5점: 보통, 9점: 매우 좋다)으로 기호도 검사를 수행하였으며, 관능검사요원은 8명으로 구성하여 3회 반복하였다. 관능검사결과는 SPSS(Version 7.5K)를 이용하여 ANOVA test 및 Duncan's multiple test(p<0.05)를 실시하여 유의성 검정을 하였다.

가수분해 및 가수분해율 측정

이중 자켓으로 된 반응조(200 mL, Wheaton Co., USA)에 기질, 즉 증류수, 멸치액젓 발효잔사 및 간장박을 4.0:1.0:0.5의 비율로 혼합한 시료 150 g을 넣고, 온도를 일정하게 유지시킨 뒤 단백질 가수분해효소를 첨가하여 가수분해시켰다. 이때 가수분해율은 Kim의 방법(15)을 변형하여 다음과 같이 환산하였다.

여기서 N_H: 가수분해물의 아미노질소 함량(mg%), N_S: 가수분해전 기질의 아미노질소 함량(mg%), N_T: 기질의 총질소량

$$\text{Hydrolysis ratio (HR, \%)} = \frac{N_H - N_S}{N_T - N_S} \times 100$$

(mg%)을 각각 나타낸다.

최적 가수분해조건 설정 및 통계분석

예비실험을 통하여 기질에 대한 효소의 농도(E/S, %), 가수분해 시간(Time, hr) 및 반응온도(Temp, °C) 등 3개의 독립변수를 설정하였으며 실험영역으로서는 Table 1과 같이 5수준(-2, -1, 0, +1, +2)으로 code화하였다. 이러한 독립변수들과 code를 이용하여 반응표면 실험계획을 중심합성계획(central composite design)에 따라 작성하였다(16). 즉, fractional 2³ factorial design(8개), star points(6개) 및 central points(4개)로 총 18개의 실험을 무작위로 수행하였으며 반응변수는 가수분해율(HR, %)로 하였다. 모든 실험결과는 Statistical Analysis System(Version 6.12, SAS Institute Inc., USA)의 RSREG를 이용하여 통계분석하였으며, SAS/GRAPH(SAS Institute Inc., USA)로서 3차원도를 작성하여 zero level에서 두 독립변수간의 상관성을 검토하였다.

결과 및 고찰

일반성분, 아미노질소, 염도 및 pH

멸치액젓 발효잔사(이하 액젓잔사), 간장박 그리고 증류수, 멸치액젓 발효잔사 및 간장박 혼합액(4.0:1.0:0.5 w/w, 이하 혼합액)의 일반성분, 아미노질소, 염도 및 pH 분석결과는 Table 2에 나타내었다. 액젓잔사 및 간장박의 총질소 함량은 각각 1,929.24 mg%와 2,355.09 mg%를 함유하고 있어 우수한 단백질원임을 나타내고 있었다. 염도는 액젓잔사와 간장박이 각각 13.11%와 10.00%를 나타내어 예상과 같이 높은 식염함량을 나타내고 있으며 회분함량의 대부분을 차지하고 있었다. 혼합액의 경우 증류수와 혼합에 의해 식염함량이 약 1/4로 감소되었으며, pH는 5.52범위를 나타내고 있었다. 이러한 pH범위

Table 1. Coded level of independent variables in experimental design

Independent variables	Coded level				
	-2	-1	0	+1	+2
E/S (%) ¹⁾	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Time (hr)	1	2	3	4	5
Temp (°C)	50	55	60	65	70

¹⁾Ratio (w/w) of Flavourzyme 500MGTM to substrate, Substrate = the mixture of distilled water, anchovy sauce residue and soy sauce residue by 4.0:1.0:0.5 ratio (w/w).

Table 2. Proximate compositions, amino-N, salinity and pH of soy sauce residue (SSR), anchovy sauce residue (ASR) and mixture (Mix)

Sample	Moisture (%)	Crude lipid (%)	Crude ash (%)	Total-N (mg%)	Amino-N (mg%)	Salinity (%)	pH
ASR	43.49±0.05	23.04±0.29	19.00±0.07	1,929.24±7.92	572.37±0.39	13.11	5.84
SSR	47.10±0.03	1.05±0.00	10.86±0.05	2,355.09±7.90	540.58±3.54	10.00	4.78
Mix ¹⁾	91.37±0.03			566.69±2.18	158.34±3.46	2.90	5.52

¹⁾Mix: mixture of distilled water, ASR and SSR by 4.0:1.0:0.5 ratio (w/w).

는 Flavourzyme 500MGTM의 최적 pH범위(5.5~6.5, Novo, Denmark)에 포함되며, 예비실험 결과에서도 혼합액의 pH를 5.5~6.5범위로 조절한 경우 단백질 가수분해율이 26% 이상을 나타내어 다른 pH범위보다 높은 가수분해율을 나타내고 있었다(분석결과 미제시). 따라서 단백질 가수분해전 pH의 조절과정을 생략함으로써 공정상의 간편성을 유도하였다.

혼합액의 가수분해율에 대한 자가소화 효소의 영향

단백질 가수분해 효소에 의한 최적 가수분해조건을 설정하기 전에 혼합액의 자가소화 효소의 영향을 검토하였다(Fig. 1). 즉 단백질 가수분해효소 첨가구(Flavourzyme, E/S 0.3%)와 무첨가구(Control)를 60°C에서 6시간 동안 반응시킨 결과 첨가구는 3시간 이후부터 약 28%의 가수분해율 범위를 나타낸 반면 무첨가구는 6시간 반응 동안 약 2% 미만의 가수분해율을 나타내었다. 이는 정어리 잔사의 경우 자가소화 효소에 의해 약 80%이상의 가수분해율(17)을 나타낸 것과 비교할 때 액젓 잔사와 간장박 혼합액 자체의 자가소화 효소에 의한 가수분해 효과는 무시할 정도였다.

반응표면분석법에 의한 최적 가수분해조건 설정

Table 1과 Table 3에서 디자인한 중심합성계획에 따라 얻어진 18개의 실험값(dependent variable)을 SAS 통계프로그램을 이용하여 RSREG를 행한 후, 두 독립변수 상호간의 관계를 나머지 변수는 zero level로 놓고 3차원 도식화하였다. Fig. 2는 E/S(%)와 Time(hr)의 관계를 나타낸 것으로 가수분해시간 1~2 hr 영역에서는 E/S 0.30% 범위까지 E/S의 농도를 증가시키더라도 가수분해율(HR)은 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. E/S와 Temp(°C)(Fig. 3) 및 Time과 Temp(Fig. 4)의 3차원 도식은 안장형태를 나타내고 있었다. E/S와 Temp의 관계에서 60~65°C 범위에서는 E/S 0.30% 범위까지 E/S의 농도에 관계없이 가수분해율이 일정하다가 E/S 0.30% 이상에서 가수분해율이 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3). Time과 Temp

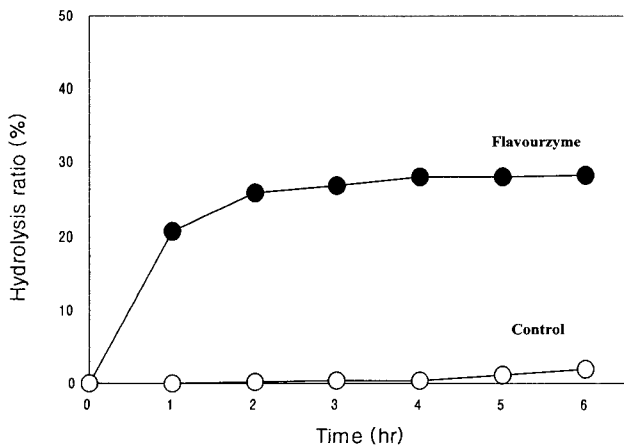


Fig. 1. Hydrolysis ratio of Mix¹⁾ with (Flavourzyme) and without Flavourzyme 500MGTM (Control) during hydrolysis at 60°C.
¹⁾Refer to comment in Table 2.

Table 3. Responses of dependent variable to hydrolysis conditions for independent variables

Treatment No.	Independent variables ¹⁾			Dependent variables
	X1 (E/S)	X2 (Time)	X3 (Temp)	HR (%) ²⁾
1	-1	-1	-1	20.31
2	+1	-1	-1	23.63
3	-1	+1	-1	24.41
4	+1	+1	-1	26.35
5	-1	-1	+1	26.61
6	+1	-1	+1	29.82
7	-1	+1	+1	29.76
8	+1	+1	+1	30.96
9	+2	0	0	34.67
10	-2	0	0	24.07
11	0	+2	0	32.44
12	0	-2	0	23.45
13	0	0	+2	26.88
14	0	0	-2	21.80
15	0	0	0	28.34
16	0	0	0	28.53
17	0	0	0	28.84
18	0	0	0	28.03

¹⁾The coded levels of independent variables are same as represented in Table 1.
²⁾Hydrolysis ratio (%).

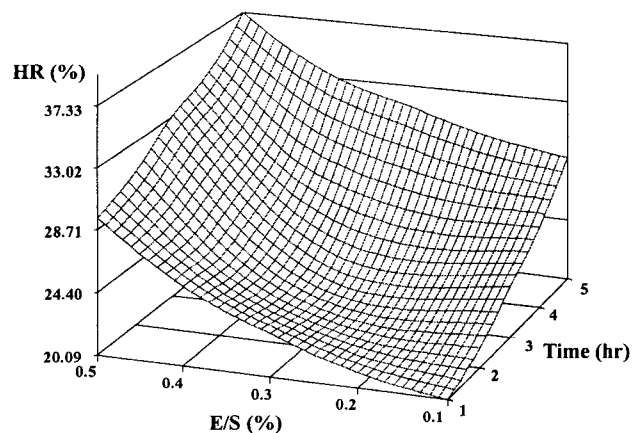


Fig. 2. Response surface plot for the effect of E/S and Time on the hydrolysis of Mix¹⁾. (Temp = 60°C)
¹⁾Refer to comment in Table 2.

의 관계는 Temp 60~65°C 범위에서 Time에 관계없이 가수분해율이 일정하다가 2.5시간 이후에 증가하는 경향을 나타내었다. 이처럼 변수 상호간에는 상관성이 크게 나타나지 않았으며, 이는 RSREG 결과에서 교차항(cross product)이 유의성이 나타나지 않았던 것과 동일한 결과였다(Table 4). 한편 적합 검역 검증(lack of fit test)에서 0.05보다 낮은 값을 나타내어 설계된 반응모형이 완전하지 않은 것으로 나타났다. 하지만 결정계수(R²)가 0.893으로서 1에 가까우며, 전체적인 모형(total regression)이 0.05보다 낮으므로(p<0.05) 가정된 반응모형이 자료에 완전하지 않지만 적합한 것으로 판단되었다. 따라서 반응모형 방정식을 작성하면

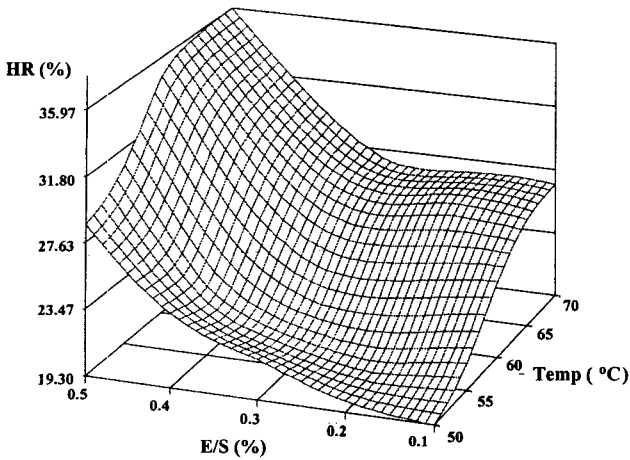


Fig. 3. Response surface plot for the effect of E/S and Temp on the hydrolysis of Mix¹⁾. (Time = 3 hr)
¹⁾Refer to comment in Table 2.

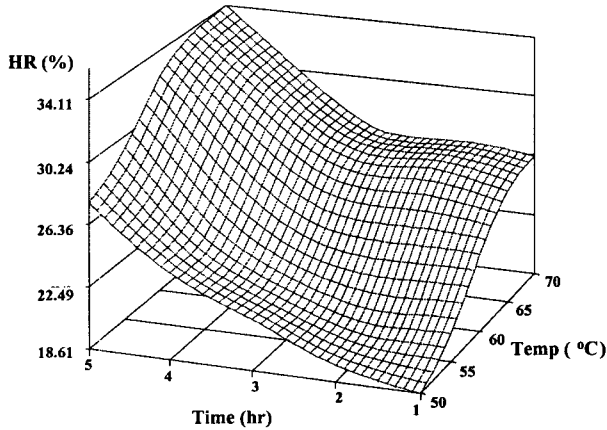


Fig. 4. Response surface plot for the effect of Time and Temp on the hydrolysis of Mix¹⁾. (E/S = 0.3%)
¹⁾Refer to comment in Table 2.

$$HR (\%) = 28.157 + 1.929E/S + 1.818Time + 2.038Temp + 0.164E/S^2 - 0.192Time^2 - 1.093Temp^2 - 0.424E/S \times Time - 0.106E/S \times Temp - 0.316Time \times Temp$$

로 나타낼 수 있으며 이때의 최대 가수분해율은 32.54%로 예상되었다. 하지만 반응모형 중에서 일차항(linear)만이 유의한 것 ($p < 0.05$)으로 나타나 위의 회귀방정식에서 일차항을 제외하고는 불필요하다고 할 수 있으나 전체적인 모형에서 유의하다는 결과를 나타내었으므로 각 변수간의 상관관계도 인정할 수 있었다. 따라서 일차항과 함께 이차항(quadratic) 중 유의한($p < 0.05$) 것으로 나타난 $Temp^2$ 을 이용하여 방정식을 다시 작성하면

$$HR (\%) = 28.157 + 1.929E/S + 1.818Time + 2.038Temp - 1.093Temp^2$$

으로 나타낼 수 있으며, 이때 최대 가수분해율은 32.52%로 나타나 위 반응모형에서 예상된 결과와 0.02%만이 차이가 났다. 이는 반응모형 중 유의적인 항만을 이용하여 방정식을 작성하더라도 예상 가수분해율의 추정에는 무리가 없는 것으로 나타

Table 4. Model coefficients estimated by multiple linear regression for hydrolysis ratio

Factor	Coefficient
Constant	28.157
Linear	
E/S	1.929*
Time	1.818*
Temp	2.038*
Quadratic	
E/S^2	0.164
$Time^2$	-0.192
$Temp^2$	-1.093*
Crossproduct	
$E/S \times Time$	-0.424
$E/S \times Temp$	-0.106
$Time \times Temp$	-0.316
Model	
Linear	0.001*
Quadratic	0.075
Crossproduct	0.865
R^2	0.893
Total regression (>F)	0.005
Lack of fit	0.005

* $p < 0.05$.

났다.

한편 위의 반응모형 방정식을 정준 형식(canonical form)으로 변환시켰을 경우 다음과 같은 형식을 얻을 수 있었다.

$$\hat{y} = 32.539 + 1.053w_1^2 - 1.031w_2^2 - 4.505w_3^2$$

위 정준형식에서 세 고유값들(eigenvalues)의 부호가 양수와 음수가 같이 존재하고 있어, 위 반응모형 방정식에서 얻어진 정상점(stationary point)은 안장점(saddle point)을 나타내고 있었다. 따라서 위에서 얻어진 예상 가수분해율은 최고점이라 할 수 없었으며, 최대의 가수분해율을 얻을 목적으로 능선분석(ridge analysis)을 수행하였다. 그 결과 본 실험에서 설정한 영역내에서의 추정되는 최대점은 반경(coded radius) 1.0에서 33.38%의 가수분해율이 예상되었으며, 이 조건에서 실제 가수분해율은 34.20%로서 실측치가 약간 높은 값으로 나타났다. 따라서 이 점을 반응표면분석에 의한 최대의 가수분해율을 나타내는 조건으로 설정하였으며, 이 최대점을 만족하는 각 변수의 조건은 기질에 대한 효소의 농도(E/S) = 0.49%, 가수분해 시간(Time) = 3.55 hr 및 가수분해 온도(Temp) = 62.5°C로 결정되었다.

관능검사 결과

액젓잔사에 간장박을 혼합함으로써 유도된 관능적 특성의 변화와 가수분해에 의한 영향을 비교하기 위해 액젓잔사만을 증류수와 혼합한 경우(A), 액젓잔사 및 간장박을 혼합한 경우(혼합액, C) 그리고 반응표면분석에 의해 얻어진 최적 가수분해조건에서 제조된 가수분해물(H) 등 3종의 시료에 대한 기호도 검사를 수행하였다(Table 5). 그 결과 액젓잔사만을 혼합한 경우 관능적 평점이 모든 항목에서 다른 2종의 시료에 비해

Table 5. Sensory evaluation of A, C and H¹⁾ (n = 18)

Sample ²⁾	Taste ³⁾	Odor ³⁾	Overall ³⁾ acceptance
A	3.09 ^a	4.09 ^a	3.27 ^a
C	5.17 ^b	6.20 ^b	5.42 ^b
H	5.23 ^b	6.12 ^b	5.33 ^b

¹⁾Sensory evaluation was performed by 18 panelists with 9 hedonic scale (1: dislike extremely, 5: neither like nor dislike, 9: like extremely).

²⁾A = DW + anchovy sauce residue (4:1 ratio, w/w) C (Mix) = DW + anchovy sauce + soy sauce residue (4.0:1.0:0.5 ratio, w/w) H = hydrolysate on optimal conditions determined by RSM.

³⁾Means with the same letter in column of each sample are not significantly different (p<0.05).

유의적(p<0.05)으로 낮았으며, 모두 3~4점의 낮은 평점을 나타내었다. 반면 간장박이 첨가된 혼합액의 경우 평점이 모두 5점(보통) 이상을 나타내어 액젓잔사만을 시료로 사용한 경우보다 유의적으로 관능적 특성이 향상되는 경향을 나타내었다. 이는 기대한 바와 같이 간장박에 의한 액젓잔사의 불쾌취 및 맛의 masking 효과를 간접적으로 보여주었다. 한편 가수분해물의 경우 혼합액과는 관능적으로 유의적인 차이를 보이지 않아 혼합액과 거의 유사한 관능적 특성을 가지고 있는 것으로 나타났다. 따라서 혼합액의 가수분해에 의한 관능적 특성은 큰 변화가 없는 것으로 판단되었다. 하지만 가수분해물 자체만으로는 제품으로 이용되기에는 관능적 특성이 다소 낮은 상태를 보이고 있어, 효소분해간장을 제조하기 위해서는 가수분해물을 제조한 후 부가적인 가공공정 및 첨가물의 혼합에 의한 관능적 품질을 향상시키는 과정이 필요할 것으로 판단되었다.

요 약

멸치액젓 발효잔사 및 간장박을 원료로 하여 기능성 효소분해간장을 제조하기 위한 전처리 과정으로서 단백질 가수분해 효소인 Flavourzym 500MGTM에 의한 단백질 가수분해물의 제조를 위하여 반응표면분석법 이용하여 최적 제조조건을 설정하고자 하였다. 그 결과 HR (%) = 28.157 + 1.929E/S + 1.818 Time + 2.038Temp - 1.093Temp²와 같은 회귀방정식 모형을 얻었으나 정상점이 안장점을 나타내어 능선분석(반경 1.0)을 수행하였고, 최적조건은 기질에 대한 효소의 농도(E/S) = 0.49 %, 가수분해 시간(Time) = 3.55 hr 및 가수분해 온도(Temp) = 62.5°C로 설정되었다. 간장박은 멸치액젓 발효잔사의 불쾌취와 맛을 masking시키는 효과가 있는 것으로 나타났으나 가수분해물 자체만으로는 제품으로 이용되기에는 관능적 특성이 다소 낮은 상태를 보이고 있었다.

감사의 글

본 연구는 경상남도 생명공학산업화 기술개발과제(2000년)

수행에 의한 연구 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Han GH, Kim BY, Lee JK. 2002. Production of extrudes formulated from pacific sand lance sauce by-product and dried biji. *Korean J Food Sci Technol* 34: 186-193.
- Park CK. 1995. Extractive nitrogenous constituents of anchovy sauce and their quality standardization. *Korean J Food Sci Technol* 27: 471-477.
- Kim JH, Ryu GH, Ahn HJ, Lee KH, Lee HJ, Byun MW. 2000. Quality evaluation of commercial salted fermented anchovy sauce. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 837-842.
- Lee DS, Suh ES, Lee KH. 1996. Processing and packaging of anchovy sauce. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 1087-1093.
- Cho YJ, Im YS, Park HY, Choi YJ. 2000. Changes of components in salt-fermented anchovy, *Engraulis japonicus* sauce during fermentation. *J Korean Fish Soc* 33: 9-15.
- Cha YJ, Lee GH, Cadwallader KR. 1997. Aroma-active compounds in salt-fermented anchovy. In *Flavor and lipid chemistry of seafoods*. Shahidi F, Cadwallader KR, eds. ACS Symposium series 674. American Chemical Society, Washington DC. p 131-147.
- 차용준, 박승영, 김훈, 김소정, 윤성숙. 2000. 간장박의 휘발성 향기성분에 관한 연구. 2000년도 추계 한국식품영양과학회, 한국산업식품공학회, 한국식품과학회 연합심포지움·학술발표회 p 1-06. 건국대학교, 서울.
- Park JO, Yoon MS, Cho EJ, Kim HS, Ryu BH. 1999. Antioxidant effects of fermented anchovy. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1378-1385.
- Jung KO, Kang KS, Park KY. 2000. Effect of fermented anchovy extracts on the N-methyl-N'-nitrosoguanidine-induced mutagenicities. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1426-1432.
- Lee SS, Kim SM, Park UY, Kim HY, Shin IS. 2002. Studies on proteolytic and fibrinolytic activity of *Bacillus subtilis* JM-3 isolated from anchovy sauce. *Korean J Food Sci Technol* 34: 283-289.
- 김우재, 김상무. 2001. 멸치액젓으로부터 추출한 펩타이드의 항암작용. 2001년도 추계 수산관련학회 공동학술대회 발표요지집. p 131-132.
- Cha MH, Park JR. 2001. Isolation and characterization of the strain producing angiotensin converting enzyme inhibitor from soy sauce. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 594-599.
- AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC.
- 日本醬油研究所. 1985. しょうゆ試験法. 三雄印. p 9.
- Kim SH. 1998. Mutistage type hydrolysis of fish protein by immobilized proteolytic bacteria and development of new product. *PhD Dissertation*. Pukyong National University, Busan.
- Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. 1992. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J Food Sci* 57: 190-195, 199.
- Lee EH, Cho SY, Ha JH, Oh KS, Kim CY. 1984. Processing of sardine sauce from sardine scrap. *Bull Korean Fish Soc* 17: 117-124.

(2002년 5월 21일 접수; 2002년 7월 30일 채택)