

발 간 등 록 번 호

11-1541000-001364-01

보안과제(), 일반과제(O) 과제번호 109158-3

폐계육을 이용한 조미소재 개발 및 펩티드 함유
고부가가치 제품 산업화
(Development of Seasoning Materials and High Quality
Products with Functional Peptide Using Underutilized
Poultry Meat)

경남과학기술대학교

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “폐계육을 이용한 조미소재 개발 및 펩티드 함유 고부가가치 제품 산업화” 과제의
보고서로 제출합니다.

2012년 4월 9일

주관연구기관명 : 경남과학기술대학교

주관연구책임자 : 진 상 근

세부연구책임자 : 진 상 근

연 구 원 : 김 일 석, 강 석 남, 정 진 연
신 대 근, 허 인 철

참 여 기 업 : 한성식품(주)

연 구 원 : 김 병 균

협동연구기관명 : 경상대학교

협동연구책임자 : 최 영 준

연 구 원 : 최 병 대, 홍 유 미, 그레이스
이 수 선, 박 은 정

참 여 기 업 : (주)엠에스바이오

연 구 원 : 김 형 식

요 약 문

I. 제 목

폐계육을 이용한 조미소재 개발 및 펩티드 함유 고부가가치 제품 산업화

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

- 가. 단백질 회수방법 최적화
- 나. 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발
- 다. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발
- 라. 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명
- 마. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명
- 바. 합성 펩티드의 안전성 검증

2. 연구개발의 필요성

- 가. 폐계 가슴육 및 MDCM을 활용한 생리활성 단백질 회수기술 개발 및 대량 생산기술 정립 필요
- 나. 100% 수입에 의존하는 연육 대체 원료 개발 필요
- 다. 축육을 함유한 고품질 살아 있는 연제품(계맛살 및 크래미 등) 대량생산기술 정립 필요
- 라. 연육 수입 대체 효과(96억원), 비선호 부위육 부가가치 향상(108억원) 및 생리활성 소재 활용 가치 (59억원/년)
- 마. 어육과 축육 Fusion 제품 보급으로 건강 및 고기 식문화 변화 유도
- 바. 새로운 찢어 먹는 축육제품 보급으로 신규 시장 선도

III. 연구개발 내용 및 범위

제 1 절 단백질 회수방법 최적화 및 고부가가치 제품 산업화(주관기관)

1. 1차년 내용: 단백질 회수방법 최적화

- 가. 폐계 가슴육 회수단백질 제조
- 나. 제조 방법별(pH 조절법, 케이크 여과법 및 커팅법 등) 회수단백질 품질 특성 분석

2. 2차년 내용: 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발

- 가. 폐계 가슴육 회수단백질 및 MDCM 추출 조미소재를 활용한 연제품 개발
- 나. 회수단백질의 적정 첨가 수준 및 이화학적 특성 구명

- 3. 3차년 내용: 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발
 - 가. MDCM 추출 생리활성 펩티드 함유 연제품 및 육제품 개발
 - 나. 기능성 제품의 특성 구명 및 유통기한 설정

제 2 절 회수단백질을 이용한 조미소재 및 생리활성 펩티드 특성 구명(협동기관)

- 1. 1차년 내용: 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명
 - 가. 추출 조건 설정 및 가수분해에 의한 조미제 개발
 - 나. MDCM 가수분해물의 첨가물 특성 구명
- 2. 2차년 내용: 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명
 - 가. 1, 2차 가수분해 조건 설정 및 효소 선정
 - 나. 가수분해물의 생리활성 물질 생산 최적화 조건 정립
 - 다. 가수분해 펩티드 특성(항산화능, ACE 저해능, 간보호능 등)
- 3. 3차년 내용: 합성 펩티드의 안전성 검증
 - 가. 기능성 합성 펩티드 제조
 - 나. 세포독성 조사

IV. 연구개발 결과

제 1 절 단백질 회수방법 최적화 및 고부가가치 제품 산업화(주관기관)

- 1. 1차년 내용: 단백질 회수방법 최적화
 - 가. 폐계 가슴육을 활용한 pH 조절법에 의한 회수단백질 제조시 결착제로서 ISP 첨가는 겔 특성에 도움이 되지 않았으나 소금은 변형값을 약간 낮추기는 했으나 물성 향상에 기여하였으며 특히 저급 연육일수록 첨가 효과가 뚜렷하였다.
 - 나. 케이크 여과법은 플라스틱망과 삼베를 각각 2겹으로 하여 여과시 겔 특성 향상에 기여하였으며, 과다하게 여러 겹으로 여과시는 오히려 가교형성에 필요한 단백질의 부족으로 겔 형성에 도움이 되지 않았다.
 - 다. pH 조절법(40% 수율)과 케이크 여과법(30% 수율)의 단점인 생산성 향상을 위한 커팅법(100% 수율)은 8분 커팅시 가장 겔 특성에 효율적이었으며, pH 조절법보다 겔 향상에 기여하였다.
 - 라. 현장 크래미 시제시 회수단백질을 연육에 대해 15% 대체 시 회수단백질 제조방법(pH 조절법, 케이크 여과법 및 커팅법) 중 커팅법이 가장 품질 특성이 양호하였다.
- 2. 2차년 내용: 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발
 - 가. 크래미 제조시 명태 연육만을 사용한 대조구에 비하여 명태 연육을 커팅한 폐계 가슴육으로 20%

까지 대체시 TBARS 및 VBN 값은 약간 높고 겔 특성에 긍정적인 영향을 끼쳤으며 냉장온도에서 4주간 유통이 가능하였다.

- 나. 유당 **어묵** 제조시 명태 연육만을 사용한 대조구에 비하여 명태 연육을 커팅한 폐계 가슴육으로 10%까지 대체시 품질상에 차이를 보이지 않았다.
- 다. MDCM 가수분해물을 커팅한 폐계 가슴육을 20% 연육 대체한 **게맛살** 제조시 첨가할 경우 gel 특성에 기여하고, POV값이 감소하여 항산화성에 기여하였으며 1.0%까지 첨가시 품질 변화 없이 냉장온도에서 4주간 유통이 가능하였다.
- 라. MDCM 가수분해물을 커팅한 폐계 가슴육을 20% 연육 대체한 **어묵** 제조시 첨가할 경우 gel 특성은 증가하고, 라디컬소거능을 나타내는 DPPH값이 높아 항산화능이 있었으며, 관능 품질상 차이가 없어 0.4%까지 첨가시 냉장온도에서 6주간 유통이 가능하였다.
- 마. MDCM 가수분해물을 **소시지** 제조시 첨가할 경우 gel 형성에 도움이 되며, POV값을 낮추어 1.0%까지 첨가가 가능한 것으로 조사되었다.

3. 3차년 내용: 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발

- 가. MDCM 2단 가수분해물은 항산화성에는 별 영향을 끼치지 않았으나 고혈압과 관련된 **ACE 저해능은 증가**시켰다.
- 나. **기름 제거** MDCM 2단 가수분해물을 **게맛살** 제조시 첨가할 경우 gel 특성에 기여하는 반면 VBN 및 TBARS 값이 상승하는 단점이 있으나 1.0%까지 첨가시 간 보호 활성에는 기여하였다.
- 다. **킹크랩** 제조시 커팅한 폐계 가슴육을 연육 대체시 제품 수분 함량이 높고, TBARS를 낮추는 반면 조직감은 약간 저하하였으나 종합적인 품질 평가 결과 17%까지는 대체가 가능하였다.
- 라. MDCM 2단 가수분해물을 **소시지** 제조시 첨가할 경우 조직 개선 목적으로 ISP보다는 감자전분이 조직감 개선에 유용하였다.
- 마. 동결건조한 MDCM 2단 가수분해물을 **어묵** 제조시 첨가할 경우 gel 특성이 약간 저하되고, POV 값은 낮았으나 관능 검사의 전체적인 기호도면에서 낮은 평가를 받았다. 건조 분말이라 효소의 농도가 높아 품질에 부정적인 영향을 끼친 결과였다.

제 2 절 회수단백질을 이용한 조미소재 및 생리활성 펩티드 특성 구명(협동기관)

1. 1차년 내용: 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명

가. 발골계육 회수단백질을 이용한 효소 가수분해물의 특성

MDCM에서 알칼리 pH 전이공정으로 회수한 단백질의 수율은 56.7%였으며, 가수분해를 위한 최적 효소로 **Protamex**를 선정하였다. 가용성 가수분해물을 최대 생성하는 최적의 반응조건은 최적 효소 대 기질 비 0.06, pH 7.0, 반응온도 43℃, 반응 시간은 6시간이었다. MDCM 회수단백질의 Protamex 가수분해물의 유리아미노산 함량은 428.27±1.1 mg/100 mL였고, 주요 무기질은 인, 칼슘, 나트륨과 칼륨이었다. 카드뮴의 함량이 4 ppm으로 나타나 식품 첨가물로 사용할 때 주의가 필요하다. 용해도는 pH 8까지 증가하였으며, NaCl에 농도에 따른 영향을 받지 않았다. 유효활성 지표는 밀단백질보다 높았으나, 소혈청알부민과 대두단백질 분리물에 비하여 현저히 낮았다. 유효 안정성 역시 비

교 단백질에 비하여 현저히 낮은 것으로 나타났다. 본 연구의 결과, MDCM 회수단백질의 Portamex 가수분해물은 조미 혹은 식품 소재로서 활용 잠재성은 낮기 때문에 조미재료 활용하기 위해서는 다른 효소 화학적 수식이 필요할 것으로 판단하였다.

나. Plastein 반응에 의한 회수단백질 가수분해물의 특성 변화

Gluten 0.7 mL, Protaemx 가수분해물 0.1 mL, pH 완충액 0.4 mL, papain 0.4 mL에서 가장 높은 77.1%의 plastein중합도를 보였다. 최소의 TCA 가용성 물질과 최대의 중합도를 보이는 demaidation gluten과 Protamex 가수분해물의 plastein 반응은 deamidation gluten 0.9 mL, Protamex 가수분해물 1.50 mL, pH 완충액 0.4 mL, papain 0.25 mL인 것으로 나타났다. 전체 아미노산 조성에서 차지하는 glutamic acid의 비는 22.0%로서 가장 높은 비율을 보였고, Plastein 반응물의 유리아미노산 함량은 3226.7 mg/100g로서 glutamic acid의 조성비는 3.5%였다. 용해도는 NaCl 농도와 pH에 영향을 받지 않았다. 유화능과 유화안정성, 수분 및 지방 흡착능은 bovine serum albumin에 비하여 우수하였으나, 비근육 단백질인 대두단백질 단리물과 유장단백질에 비하여 현저히 떨어지는 것으로 나타났다.

2. 2차년 내용: 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명

가. MDCM 회수단백질 2단 가수분해물의 생리활성

2단 가수분해물 제조를 위해 사용한 단백질 분해효소 Alcalase, Neutrase, Flavourzyme과 bromelain 간에 가용성 단백질 농도의 차이는 보이지 않았으나, DPPH 라디칼 소거능은 bromelain 가수분해물에서 현저히 증가하였다. Bromelain 2단 가수분해물 제조를 위한 최적 조건은 효소대 기질비 3.56, 반응 온도 50.2℃, pH 5.06일 때 88.62%의 최대 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 2차 가수분해물의 이취제거를 위한 maillard 반응의 최적 첨가물은 Protamex 가수분해물 95.2%, 닭 혼연액 1.9%, 닭 기름 1.0%, 식물성 단백질 가수분해물 0.5%, glucose 0.5%, xylose 0.5%, 양파즙 0.5%였으며, 반응 온도와 시간은 각각 95℃와 50분이었다. 2차 가수분해물과 탈취 가수분해물의 유리 아미노산 함량은 각각 678.5±1.5와 683.2±6.9 mg/100 g으로써 1차 가수분해물에 비하여 1.58배 증가하였다. 2차 가수분해물과 탈취 가수분해물에서 Na 함량이 현저히 증가한 반면, 칼슘과 인은 오히려 감소하였다. 한편 양쪽 가수분해물에서 Cd는 검출되지 않았다. 2단 가수분해물은 분자량 50 Da에 해당하는 물질이 43.4%를 차지한 반면 탈취 가수분해물은 분자량 260 Da의 물질이 69.1를 차지하였다. 2단 가수분해물과 탈취가수분해물의 DPPH 라디칼 소거능(EC50)과 ACE 저해능(IC50)은 각각 13.0 mg/mL와 0.032 mg/mL 및 5.04 mg/mL와 0.018 mg/mL로서 탈취 가수분해물이 우수하였다. Fe-킬레이트능 및 환원력은 탈취 가수분해물이 우수하였다. 양쪽 가수분해물 모두 linoleic acid 항산화력을 보이고 있었다. 본 연구의 결과 MDCM 회수단백질의 2단 가수분해물은 항산화제로서 보다는 ACE 저해제로서 생물 활성을 기대할 수 있다.

나. MDCM 회수 단백질로 제조한 2단 가수분해물의 생물활성 펩타이드의 정제와 활성

MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질의 Protamex와 bromelain 2단 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 및 ACE 저해 펩타이드를 한외여과, 음이온 교환수지 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 및 역상 크로마토그래피로 정제하였다. 정제한 DPPH 라디칼 소거능을 가진 펩타이드의 아미노산 서열은 K(G)L(G)G(S,L)XX, GGXXX, KG(L,Q)G(Q)G(E)X, XG(L,P)XR(Q)Y, XQPQX, XQPQV로서 분명한 아미노산 서열을 확인하지 못했다. 한편 ACE 저해 펩타이드는 YAK, LTK, LY, TYP 및 FQNPD의 아미노산 서열을 확인하였으며, IC₅₀ 은 각각 0.197 uM, 0.171 uM, 2.344 uM, 22.585 uM 및 1.908 uM 이었다.

3. 3차년 내용: 합성 펩티드의 안전성 검증

가. MDCM 회수 단백질로 제조한 2단 가수분해물과 합성 펩타이드의 안전성

MDCM 알칼리 pH 전이로 회수한 단백질 가수분해물과 이취 제거 가수분해물은 정상 간세포와 RAW 264.7 세포주에 대하여 200 ug/mL의 농도까지 세포 독성을 나타내지 않았다. 그리고 합성 펩타이드 역시 정상 간세포에 대하여 세포 독성을 보이지 않았다. MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질의 2단 가수분해물은 200-300 ug/mL의 처리구에서 약 80%의 세포 회복능을 보였고, 이취제거 가수분해물은 약 90%의 세포 회복능을 보인 반면, 합성 펩타이드는 간세포 회복능을 보이지 않았다. 가수분해물과 합성 펩타이드에서 위암 세포주 AGS와 대장암 세포주 HT 29에 대하여 유의적인 항암 효과를 보이지 않았다. 가수분해물 모두 NO의 생성량에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 효소 대 저해제의 비 12.5에서 **LY와 TYP는 collagenase 활성을 완전히 억제**하였고, **FQNPD는 60.9%를 억제**하였다. 합성 펩타이드는 유의적인 돌연변이원성을 나타내지 않았다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과 실적/목표

(단위 : 건수)

구분	특허		논문		학술발표		포럼발표	수상
	출원	등록	SCI	비SCI	등재	SCI		
1차년도			1/1	0/1	2/0			
2차년도	1/0		2/2	2/2	2/0	4/0		1/0
3차년도	2/1	1/0	5/4	1/2	3/0	7/0	1/0	
계	3/1	1/0	8/7	3/5	7/0	11/0	1/0	1/0
달성도(%)	300	200	114	60	800	1200	200	200

* 특허 등록: “계육 가수분해물을 포함하는 기능성 조성물 및 이의 제조방법”(2012. 2. 3, 10-1115041)

출원: “콜라게나제의 활성 저해 효과를 갖는 신규 펩타이드 및 그의 용도”(2012. 4. 6, 10-2012-0036110)

“안지오텐신 전환효소 저해활성을 갖는 신규 펩타이드 및 그의 용도”(2012. 4. 6, 10-2012-0036109)

* 포럼발표: “폐계육을 이용한 조미소재 개발 및 펩티드 함유 고부가가치 제품 산업화”(2011 범부처 녹색기술 포럼, 2011. 2. 9)

* 수상: 세계 3대 인명사전 Marquis Who's Who 등재(2010. 3. 8)

2. 연구성과 활용 계획

가. 실용화를 위한 in vivo 및 ACE 저해제의 약물 효과 검증 및 구조 개선: 2012년 내

나. 축육 함유 섭취상 연제품 기술이전 및 상품화: 2012-2014년

다. 기 출원 2건 특허 보완 및 추가 특허 출원(계육 가수분해물의 이취제거를 위한 maillard반응 조성물): 2012년 내

라. 전문 학술지 SCI(E) 및 등재지 7편 추가 투고 계획: 2012년 이후 지속 투고

마. 연구결과를 토대로 언론홍보 및 교육시 활용

SUMMARY

Title: Development of Seasoning Materials and High Quality Products with Functional Peptide Using Underutilized Poultry Meat

A. Managerial institution (Gyeongnam national university of science and technology)

The objectives of this study were to develop of optimum method to extract of recovered protein derived using spent laying hens and then apply it to produce valuable products.

1. The first year of the experiments

- 1) Recovery protein was collected due to pH after ISP addition and then cake filtration. After recovery protein was collected, gel characteristics, folding test and texture properties of recovery protein were measured. Generally, gel characteristics, folding test and texture properties were lowered but recovery protein was collected due to pH only had a better value in gel characteristics.
- 2) Redness was lowered when salt was added to recovery protein, however, folding test was improved.
- 3) Lightness, whiteness and folding test was improved when recovery protein showed better properties, also, salt addition to recovery protein improved in gel properties.
- 4) Before and after cake filtration using 5 and 1 mm of sieve and 1 mm stainless filter provided negative effects to recovery proteins, however, using 2 layers of plastic and 2 layers of hemp cloth to recovery protein, the recovery protein had better properties in folding test and gel characteristics.
- 5) The addition of 2, 4 and 6 layers of filter did not affect on the gel characteristics of recovery proteins when salt was added to each treatment, in contrast, gel characteristics of recovery proteins were not improved when salt was not added to recovery proteins and it is because cross-bridges were not completely built up when salt was not added.
- 6) Lightness, whiteness, folding test, breaking force and jelly strength of FA Pollack had higher values, in contrast, redness, yellowness and shear force were not higher as compared to those of KA and FA, and the addition of salt to Pollack provided a positive effect on gel characteristics of Pollack, which is lower in grade.
- 7) The addition of salt to recovery proteins significantly improved the values of breaking force, gel force, folding test and texture properties, however, the value of deformation

was decreased.

- 8) Higher grade of recovery protein showed higher values of lightness, whiteness, folding test, breaking force and deformation but had lower values in redness and yellowness. No significant difference was determined in shear force.
- 9) Optimum cutting was conducted when 8 min per Pollack was applied and over 8 min cutting generated the protein denature, thereby, the low level of gel characteristics was determined. The sheet formation was important when cutting was applied to the pollacks. Before the formation of sheet, all materials must be filtered through a 1 mm sieve. Also, cutting method had a high recovery ratio, which was not found in pH and cake filtration methods.
- 10) Better gel characteristics were determined when cutting method was applied to pollacks as compared to that of pH method and shear force and folding test were improved when cutting time was increased. Optimum cutting time was 8 min and it was determined due to the consideration of protein denature of 12 min cutting.
- 11) Cremis from all treatments showed lower values in lightness, moisture content, TBARS and VBN as compared to those of control. Cremis in T2 had high values in whiteness, breaking force, deformation and gel strength of gel characteristics and hardness of texture properties and Cremis from T3 treatment were high in salt soluble protein concentration, cohesiveness of texture properties and shear force. In sensory evaluation, no significant differences were determined, thereby, as the consideration of economical, quality and yield properties, recovery proteins derived using a cutting method may be replaced up to 15% and it may work with normal qualities.

2. The second year of the experiments

- 1) To determine the effects of the recovery protein addition derived using a cutting method on the quality and storage time of Cremis, spent layer recovery protein (SLRP) was added to Pollack and 0 (C), 10 (T1), 20 (T2), 30 (T3) and 40% (T4) of pollack was replaced and Cremis were manufactured and then stored at 10°C for 4 weeks of storage. The addition of SLRP increased the yellowness in color, gel strength and texture properties, however, whiteness was decreased. No significant differences were determined in sensory evaluation, thereby, replacement of 20% Pollack by SLRP maybe economically acceptable and up to 30% replacement maybe considerable.
- 2) To determine the effects of the recovery protein addition manufactured using a cutting

method on the quality and storage time, spent layer recovery protein (SLRP) was added to boiled fish pastes and 0 (C), 10 (T1), 20 (T2), and 30% (T3) of pollack was replaced and boiled fish pastes were processed. Each paste was then stored at 10°C for 6 weeks. The addition of SLRP affected the quality of boiled fish pastes and improved the lightness and yellowness, however, decreased the values in redness and whiteness. Moreover, the addition of SLRP showed positive effects on gel strength and texture properties but no significant difference was observed due to sensory panels. Therefore, the addition of SLRP up to 10% may be considerable to process boiled fish pastes.

- 3) To determine the effects of the MDCM hydrolysates addition up to 0 (C), 0.5 (T1), 1.0 (T2) and 1.5% (T3) on the quality and storage time of imitation crab stick, imitation crab sticks were manufactured and then stored at 10°C for 4 weeks. Lightness and whiteness of imitation crab stick were decreased but had high values in gel characteristics when more MDCM hydrolysates was added. In addition the MDCM addition was not significantly affected on texture properties of imitation crab sticks but showed high values in brittleness, gumminess and chewiness and showed low especially in POV. No significant differences were not determined, thereby, the imitation crab sticks contained 20% of recovery proteins and 1.0% of MDCM hydrolysates may positively be stored up to 4 weeks of storage.
- 4) To determine the effects of the MDCM hydrolysates addition up to 0 (C), 0.4 (T1), and 0.8% (T2) on the quality and storage time of boiled fish pastes, boiled fish pastes were manufactured and then stored at 10°C for 6 weeks. The whiteness was decreased and gel characteristics were increased when MDCM hydrolysates was added and then processed to boiled fish pastes. However, no significant differences were observed in texture properties. Positive effects were determined in DPPH when MDCM hydrolysates was added to boiled fish pastes. No significant differences were observed in sensory evaluation, thereby, boiled fish pastes contained 20% of recovery proteins and 0.4% of MDCM hydrolysates may positively be stored up to 6 weeks of storage.
- 5) To determine the effects of the MDCM hydrolysates addition up to 0 (C), 1 (T1), 2 (T2), 3 (T3), 0.05% vitamin C (T4) and ascorbic acid (T5) on the quality and storage of sausages, sausages were processed and then stored at 10°C for 4 weeks. The lightness, whiteness and gel characteristics of sausages were increased when more MDCM hydrolysates was added but no significant differences were observed in

texture properties. Such effects were influenced on the quality of sausages and significant differences were determined due to panels when sausages were stored after 2 weeks of storage. Therefore, up to 1.0% of MDCM hydrolysates addition to sausages may positively be considerable to manufacture sausages using MDCM hydrolysates.

3. The third year of the experiments

- 1) Second MDCM hydrolysates had low in DPPH, xanthine oxidase inhibitory activity, superoxide scavenging activity and hydroxyl radical scavenging activity. However, ACE inhibitory property related to liver functions was significantly increased as compared to that of control.
- 2) To determine the effects of the double distilled second MDCM hydrolysates addition up to 0, 1.0 and 1.5% on the quality and storage time of imitation crab sticks, imitation crab sticks were manufactured and then stored at 10°C for 6 weeks. pH of imitation crab sticks was significantly increased, in contrast, moisture content was decreased as the double distilled second MDCM hydrolysates concentration was increased. In addition, the addition of double distilled second MDCM hydrolysates concentration in imitation crab sticks CIE L*, a* and b*, chroma and hue values were increased but sometimes decreased depending on the concentration of second MDCM hydrolysates. Also, VBN, TBARS and POV and breaking force, gel strength and jelly strength were increased due to second MDCM hydrolysates concentration was increased. However, no significant differences were observed due to the panels and determined in DPPH, superoxide radical scavenging and hydroxyl radical scavenging properties. Only ACE inhibitory property was significantly differed in the imitation crab sticks of 1.0% second MDCM hydrolysates treatment.
- 3) To determine the effects of the recovery protein addition up to 8 (T1) and 17% (T2) on the quality and storage time of King-crabs, king clicks were manufactured and then stored at 10°C for 3 weeks. The moisture content of two different treatments was increased as storage time was increased and low TBARS values were determined in king clicks derived from T2 as compared to that of T1. The yellowness and redness was increased but decreased respectively when recovery proteins were replaced up to 8 and 17%. Whiteness of king click was significantly decreased. Breaking force and jelly strength of king clicks were significantly affected due to the addition of recovery proteins rather than storage time and such effects were not influenced on sensory evaluation.

- 4) To determine the effects of the second MDCM hydrolysates, ISP and potato starch addition, cooked pork sausages were manufactured and then stored at 10°C for 4 weeks and the quality effects of each sausage were determined on 0, 2 and 4 weeks of storage. The moisture content was the highest and it was 67.67 - 67.90% when 2.0% ISP was added to sausages but significantly high TBARS, VBN and POV values were determined. The addition of ISP to sausages showed effects on texture properties of sausages and the ISP influenced on the deformation, gel strength and jelly strength and had positive effects on hardness, gumminess and adhesiveness. The addition of second MDCM hydrolysates, ISP and potato starch to cooked pork sausages showed negative effects on odor, flavor and tenderness but no significant difference was observed in overall acceptability at 4 weeks of storage.
- 5) To determine the effects of the freeze dried and second MDCM hydrolysates addition up to 1 and 3% on the quality and storage time of boiled fish pastes, boiled fish pastes were manufactured and then stored at 10°C for 4 weeks. The quality of boiled fish pastes was determined on 0, 2 and 4 weeks of storage. The moisture content of boiled fish pastes was 76.33 - 76.80%. The highest moisture content was determined when 3% of second MDCM hydrolysates was added and it is 76.80%. The CIE a* and b* values were increased and moisture content, shear force, TBARS and VBN values were also increased, in contrast, pH and POV were decreased as second MDCM hydrolysates values were increased up to 3% to boiled fish pastes. In addition, gel characteristics and texture properties were decreased when second MDCM hydrolysates addition was increased from 1 to 3%, thereby, such effects were affected to the values derived from sensory panels. Control showed higher sensory values as compared to those of treated groups.

B. Cooperative institution (Gyeongsang national university)

The objectives of this study were to investigate food and bioactive functionalities of the recovered protein hydrolysates from mechanical deboned chicken meat (MDCM), and a potential application.

1. The first year of the experiments

- 1) The yield of recovered protein from MDCM was 56.7% by alkaline pH shifting process. The optimum protease was Protamex in the first step of hydrolysis. The

optimum conditions for hydrolysis were 0.06 for ratio of protease to MDCM, 7.0 for pH, 43°C for temperature, and 6 hr for reaction time, respectively. Free amino acid was 428.27±1.1 mg/100 mL in Protamex hydrolysate. The major minerals were phosphate, calcium, sodium and potassium. The solubility of Protamex hydrolysate increased up to pH 8.0, and did not affected by NaCl concentration. Emulsifying activity index (EAI) of Protamex hydrolysate was higher than that of gluten, but significantly lower than those of bovine albumin and soy protein isolate. The emulsifying stability index (ESI) of Protamex hydrolysate was also much lower than other non-muscle protein. The results suggested that Protamex hydrolysate from MDCM did not have a potential properties for seasoning. Protamex hydrolysate was needed a two step hydrolysis, enzymatic and chemical modification for seasoning source.

- 2) The conditions for plastein reaction were 0.7 mL for deamidated gluten 0.1 mL for Protamex hydrolysate, 0.4 mL of buffer (pH 6.0), and 0.4 mL for papain. Polymerization of plastein material was 77.1%. The minimum TCA soluble index was showed in 0.9 mL for deamidation gluten, 1.5 mL for Protamex hydrolysate, 0.4 mL for buffer (pH 6.0), 0.25 mL for papain, respectively. Glutamic acid was composed of 22.0% in total amino acids. Free amino acid of plastein material was 3226.7 mg/100g. Glutamic acid as taste compound was 3.5% in total free amino acid. Solubilities were not affected by NaCl concentration and pH. EAI, ESI, water and fat adsorption of plastein material were higher than those of bovine serum albumin but much lower than those of non-muscle protein.

2. The second year of the experiments

- 1) The contents of soluble compounds did not depend on proteases such as Alcalase, Neutrase, Flavourzyme and bromelain, significantly ($p < 0.05$). However, DPPH radical scavenging activity was greatly increased in bromelain hydrolysate. Optimum conditions for 2 steps hydrolysis by bromelain were 3.56 for ratio of Protamex hydrolysate to protase, 50.2°C for reaction temperature and 5.06 for pH. DPPH radical scavenging activity of optimum hydrolysate showed 88.62%. Optimum ingredients were 95.2% Protamex hydrolysate, 1.9% chicken smoking solution, 1.0% chicken oil, 0.5% hydrolysed vegetables protein, 0.5% glucose, 0.5% xylose, and 0.5% onion liquid for Maillard reaction to remove chicken odor. Optimum temperature and time were 95°C and 50 min, respectively. Free amino acid content of two step hydrolysate and

deodorizing hydrolysate were 678.5 ± 1.5 mg/100 g and 683.2 ± 6.9 mg/100 g, respectively. Free amino acid was increased up to 1.58 fold compared to one step hydrolysate. Sodium in two step and deodorizing hydrolysate was greatly increased, whereas potassium and phosphate were decreased. Cadmium was not detected in both hydrolysate. Hydrolysate of 500 Da composed of 43.4% of total two step hydrolysate, while hydrolysate of 260 Da composed of 69.1% in deodorizing hydrolysate. DPPH radical scavenging activities (EC_{50}) of the two step and deodorizing hydrolysate were 13.0 mg/mL and 5.04 mg/mL. Angiotension enzyme inhibition (IC_{50}) of the two step and deodorizing hydrolysate were 0.032 mg/mL and 0.018 mg/mL, respectively. Fe-chelating and reducing abilities were high in deodorizing hydrolysate compared to two step hydrolysate. Both hydrolysates showed antioxidant effect against linoleic acid. The results suggested that the two step hydrolysate from recovered MDCM protein had a potential application as angiotension enzyme (ACE) inhibitor.

- 2) The peptides were purified with ion-exchange, size exclusion and reverse-phase chromatography from two step hydrolysate of the recovered MDCM protein to identify ACE inhibitor and DPPH radical scavenger. Amino acid sequences of the purified peptides were K(G)L(G)G(S,L)XX, GGXXX, KG(L,Q)G(Q)G(E)X, XG(L,P)XR(Q)Y, XQPQX and XQPQV for DPPH radical scavenger. Amino acid sequences for ACE inhibitor were YAK, LTK, LY, TYP and FQNPD, and their IC_{50} values were 0.197 μ M, 0.171 μ M, 2.344 μ M, 22.585 μ M and 1.908 μ M, respectively.

3. The third year of the experiments

- 1) Two step and deodorizing hydrolysate did not show the toxicity by 200 μ g/mL against a normal liver and RAW 264.7 cell line. In addition, the toxicities against a normal liver cell line did not detect in the synthetic peptides. Two step and deodorizing hydrolysates showed the protective effect of 80% and 90% against liver cell line treated by ethanol treatment, while synthetic peptides did not show the protective effect. Also, Hydrolysates and synthetic peptides did not reduce a number of AGS and HT 29 cell. The production of NO was not influenced with all hydrolysates. LY and TYP inhibited collagenase type I in the 12.5 fold concentration of protease, while FQNPD inhibited collagenase activities by 60.9% at the same concentration.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction of the research project	21
Part 1. Research goals	21
Part 2. Research necessity	21
Part 3. Research scope	22
1. Project of managerial institution: Development of optimum method to extract protein and industrial value-added products	22
2. Project of cooperative institution: Properties of seasoning and bioactive peptides of recovered protein hydrolysates from mechanical deboned chicken meat	23
Chapter 2. Domestic and international technology developments	25
Part 1. Technical developments in the field of domestic and foreign-related	25
Part 2. The position of research results in domestic and international technology developments	29
Chapter 3. Results of the research project	30
Part 1. Development of optimum method to extract protein and industrial value-added products (Managerial institution)	30
1. Development of optimum method to extract protein (The first year)	30
1) Verification of characteristics of recovered proteins derived due to the addition of ISP, the cake filtration and pH	30

2) Effects of salt addition on the recovered proteins extracted to pH	33
3) Effects of salt addition along with the sort and grade of soft muscle	35
4) Cake filtration filter standard and effects of salt addition on the recovered proteins I	37
5) Cake filtration filter standard and effects of salt addition on the recovered proteins II	40
6) Effects of salt addition along with the pollack class and grade	43
7) Effects of salt addition on the recovered proteins derived due to pH	46
8) Effects of salt addition along with the pollack grade only	48
9) Comparison of cutting method depending on its set up condition	50
10) Method comparison between cutting and cake filtration after pH adjustment	53
11) Comparison of shelf-life and characteristics of Cremi produced due to different generating methods	55
2. Development of products containing seasoning material characteristics using the recovered proteins (The second year)	68
1) Determination of shelf-life of Cremi manufactured due to different levels of recovered proteins	68
2) Determination of shelf-life of boiled fish pastes manufactured due to the use of pollack soft muscle	81
3) Determination of shelf-life of imitation crabs manufactured due to the use of seasoning materials generated from MDCM	92
4) Determination of shelf-life of boiled fish pastes manufactured due to the use of seasoning materials generated from MDCM	103
5) Determination of shelf-life of sausages manufactured due to the use of seasoning materials generated from MDCM	114
3. Development of products containing bioactive peptides using the recovered proteins (The third year)	126
1) Verification of physiological roles of recovered proteins	126
2) Development of imitation crabs containing physiologically valuable peptides	130

3) Development of King-crabs containing recovered proteins	148
4) Development of sausages containing physiologically valuable peptides	158
5) Development of boiled fish pastes containing physiologically valuable peptides	174
Part 2. Properties of seasoning and bioactive peptides of recovered protein hydrolysates	
from mechanical deboned chicken meat (Cooperative institution)	185
1. Verification of characteristics of seasoning materials derived from the recovered proteins (The first year)	185
1) Properties of recovered protein hydrolysates from MDCM	185
2) Properties of MDCM hydrolysates by plastein reaction	202
2. Verification of characteristics of bioactive peptides derived from the recovered proteins (The second year)	217
1) Physiological functionalities of two step hydrolysates	217
2) Purification and functionalities of bioactive peptides from MDCM hydrolysate	238
3. Safety verification of artificial peptide (The third year)	255
1) Safety of two step hydrolysate and synthetic peptides	255
Chapter 4. Attainability of the research goal and contribution to related fields	
267	
Part 1. Achievement of research goals	267
1. Achievement of research outcomes	267
2. Annual achievement of research and development goals	268
Part 2. Contribution of study field related to the research	271
1. The technical aspects	271
2. Economic and industrial aspects	271
3. Industrial and cultural aspects	271

Chapter 5. Application and achievement of research results	272
Part 1. Achievement of research results	272
Part 2. Application of research results	275
1. Plan for commercialization and industrialization	275
2. Plan for education, guidance, promotion and technology diffusion plan	275
3. Securing plan of intellectual property rights such as patents, breed, study publishing	275
4. Plans for further and other research	276
Chapter 6. Scientific and technical information obtained from abroad during conduction of the research	276
Chapter 7. References	277

목 차

제1장 연구개발과제의 개요	21
제1절 연구개발의 목적	21
제2절 연구개발의 필요성	21
제3절 연구개발의 범위	22
1. 주관기관 과제: 단백질 회수방법 최적화 및 고부가가치 제품 산업화	22
2. 협동기관 과제: 회수단백질을 이용한 조미소재 및 생리활성 펩티드 특성 구명	23
제2장 국내외 기술개발 현황	25
제1절 국내·외 관련분야에 대한 기술개발 현황	25
제2절 연구결과가 국내·외 기술개발 현황에서 차지하는 위치	29
제3장 연구개발수행 내용 및 결과	30
제1절 단백질 회수방법 최적화 및 고부가가치 제품 산업화(주관기관)	30
1. 단백질 회수방법 최적화(1차년)	30
가. ISP 첨가 후 케이크 여과하여 pH 조절법으로 회수한 단백질의 특성 비교	30
나. pH 조절법으로 회수한 단백질에 소금 첨가 효과 규명	33
다. 연육 종류 등급 간에 소금첨가 효과 규명	35
라. 케이크 여과법 여과 규격 및 회수단백질에 소금 첨가 효과 규명 I	37
마. 케이크 여과법 여과 규격 및 회수단백질에 소금 첨가 효과 규명 II	40
바. 명태 연육 종류 등급 간에 소금 첨가 효과 규명	43
사. pH 조절법으로 회수한 단백질에 소금 첨가 효과 추가 규명	46
아. 명태 연육 등급 간에 소금 첨가 효과 규명	48
자. 커팅법의 커팅조건 정립 비교	50
차. 커팅법과 pH 조절법 후 케이크 여과하여 두 방법 간 특성 규명	53

카. 단백질 회수 방법 간 크래미 현장시제품의 특성과 유통기한 설정	55
2. 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발(2차년)	68
가. 커팅법으로 제조한 폐계육의 명태연육 대체 비율에 따른 현장시제 크래미의 품질 특성 및 유통기한 설정	68
나. 커팅법으로 제조한 폐계육의 연육 대체 비율에 따른 현장시제 유당형 어묵의 품질 특성 및 유통기한 설정	81
다. MDCM 추출 조미소재를 첨가한 현장시제 게맛살의 품질 특성 및 유통기한 설정	92
라. MDCM 추출 조미소재를 첨가한 유당형 어묵의 품질 특성 및 유통기한 설정	103
마. MDCM 추출 조미소재를 첨가한 소시지의 품질 특성 및 유통기한 설정	114
3. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발(3차년)	126
가. 회수단백질의 생리활성 검증	126
나. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 게맛살의 개발	130
다. 회수단백질을 이용한 킹크랩의 개발	148
라. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 소시지의 개발	158
마. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 어묵의 개발	174
제2절 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명(협동기관)	185
1. 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명(1차년)	185
가. 발골계육 회수단백질을 이용한 효소 가수분해물의 특성	185
나. Plastein 반응에 의한 회수단백질 가수분해물의 특성 변화	202
2. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명(2차년)	217
가. MDCM 회수단백질 2단 가수분해물의 생리활성	217
나. MDCM 회수단백질로 제조한 2단 가수분해물의 생물활성 펩티드의 정제와 활성	238
3. 합성 펩티드의 안전성 검증(3차년)	255
가. MDCM 회수단백질로 제조한 2단 가수분해물과 합성 펩티드의 안전성	255
제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	267
제1절 연구개발 목표의 달성도	267
1. 연구성과 달성도	267

2. 연도별 연구개발목표의 달성도	268
제2절 관련분야의 기술발전예의 기여도	271
1. 기술적 측면	271
2. 경제·산업적 측면	271
3. 산업·문화적 측면	271
제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	272
제1절 연구개발 성과	272
제2절 연구성과활용 계획	275
1. 실용화·산업화 계획	275
2. 교육·지도·홍보 등 기술 확산 계획	275
3. 특허, 품종, 논문 등 지식재산권 확보 계획	275
4. 추가연구, 타연구에 활용 계획	276
제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	276
제7장 참고문헌	277

제1장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

1. 단백질 회수방법 최적화
2. 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발
3. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발
4. 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명
5. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명
6. 합성 펩티드의 안전성 검증

제2절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

- 가. 폐계 가슴육 및 MDCM을 활용한 생리활성 단백질 회수기술 개발 및 대량 생산기술 정립 필요
- 나. 폐계 가슴육 및 MDCM의 근막이나 육기질단백질 등과 같은 저급 단백질류 제거 기술을 활용한 연육 대체 원료 개발로 축육을 함유한 세계 최초 곁이 살아 있는 연제품(계맛살 및 크래미 등) 대량생산기술 정립 필요
- 다. 폐계 가슴육 및 비선호 부위, MDCM으로부터 회수한 단백질을 찢어 먹을 수 있는 섬유상 기능성 육제품 개발 가능

2. 경제적·산업적 측면 : 1,277억원

가. 연제품 수출 및 수입 대체 효과: 42+96=138억원

(1) 연제품 수출 증대 효과: 국내 연제품 총 수출량(6,393톤)×6,000원/kg×1.1배 증가×10% 적용 =42억원

(2) 연육 수입물량(43천톤/년)×4,455원/kg×5%=96억원

나. 폐계 가슴육 및 MDCM 비선호 부위 부가가치 향상 금액: 786억원+108=894억원

(1) 폐계 가슴육 및 MDCM 생산량(483,540톤/년)×5%×[제품가(7,250원/kg)-원료가(4,000원/kg)]=786억원

(2) 폐계육 생산량(66,150톤/년)×5%×[제품가(7,250원/kg)-원료가(4,000원/kg)]=108억원

폐계육 생산량: 연간 사육두수(4억 5천수)×0.7kg/수×가슴살 21%=66,150톤/년

다. 폐계육으로부터 회수한 생리활성 소재 활용 가치: 60억원/년

(1) 기능성 펩티드 시장(1,176억원/년)의 5% 적용시: 59억원/년

(2) 수입대체 효과: 수입액(12억원/년)의 5% 대체시: 0.6억원/년

라. 무기물 처리로 인한 기능성 제품 대체 효과: 185억원/년

3. 산업적, 문화적 측면

가. 폐계 가슴육 및 MDCM의 선호 부위로 둔갑 판매 억제로 소비자 보호

나. 어육과 축육 Fusion 제품 보급으로 건강 및 고기 식문화 변화 유도

다. 새로운 찢어 먹는 축육제품 보급으로 신규 시장 선도

라. 실질적인 산학 공동연구로 개발제품의 산업화 구현

마. 육가공 기술에 관한 학술 발전에 기여

바. 가장 문제시 되고 있는 비선호 부위를 해결하는 획기적이고 차별화된 방안으로 축산 발전에 지대한 공헌을 할 것으로 기대됨

제3절 연구개발의 범위

1. 주관기관 과제: 단백질 회수방법 최적화 및 고부가가치 제품 산업화

가. 1차년 내용: 단백질 회수방법 최적화

(1) 원료: 폐계 가슴육

(2) 폐계 가슴육 회수단백질 제조

(3) 제조 방법

(가) pH 조절법: 알카리(NaOH) 식용 용액 활용 pH 11에서 단백질 용출, 등전점인 pH 5.0-5.5에서 단백질 침전, 3상 원심분리하여 중간층 회수, 수분 75% 조절 후 냉동변성 방지제(인산염 0.3, 솔비톨 5.0%) 첨가하여 -40℃/36시간 동결 후 -20℃ 냉동 보관 활용

(나) 케이크 여과법(pressure filter): 원료 육의 6배 수돗물과 3회 수세 후 Rotoshear screens, Filter-press(1/2-1mm perforations) 활용 여과 후 수분 75% 조절 후 냉동변성방지제(인산염 0.3, 솔비톨 5.0%) 첨가하여 -40℃/36시간 동결 후 -20℃ 냉동 보관 활용

(다) 커팅법: Silent cutter를 활용하여 커팅 시간을 달리하여 커팅 후 수분 75% 조절 후 냉동변성방지제(인산염 0.3, 솔비톨 5.0%) 첨가하여 -40℃/36시간 동결 후 -20℃ 냉동 보관 활용

(4) 제조 방법별 회수단백질 품질 특성 분석

나. 2차년 내용: 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발

- (1) 원료: 폐계 가슴육 회수 단백질 및 MDCM 추출 조미소재
- (2) 연제품 및 육제품 개발
 - (가) 크래미, 게맛살, 어묵 및 소시지 제품 개발
 - (나) 회수단백질의 적정 첨가 수준 설정
 - (다) MDCM 추출 조미소재의 적정 첨가 수준 설정
 - (라) 개발 제품의 이화학적 특성 및 유통기한 설정

다. 3차년 내용: 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발

- (1) 원료: 폐계 가슴육 회수단백질 및 MDCM 펩티드 물질
- (2) 연제품 및 육제품 개발
 - (가) 킹크랩, 게맛살, 어묵 및 소시지 제품 개발
 - (나) 회수단백질의 적정 첨가 수준 설정
 - (다) MDCM 펩티드의 적정 첨가 수준 설정
 - (라) 개발 제품의 이화학적 특성 및 유통기한 설정

2. 협동기관 과제: 회수단백질을 이용한 조미소재 및 생리활성 펩티드 특성 구명

가. 1차년 내용: 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명

- (1) 원료: MDCM 회수단백질
- (2) 조미소재 개발
 - (가) 추출 방법: 열수추출 및 가수분해
 - (나) 추출 조건 정립: 효소 선정, 효소 대 기질 비, pH 조건, 반응 온도 및 시간
 - (다) MDCM 가수분해물의 첨가물 특성 구명: 수율, 성분, 용해도, 유화능 및 안정성, plastein 중합도

나. 2차년 내용: 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명

- (1) 원료: MDCM 회수단백질
- (2) 2단 가수분해물 제조
 - (가) 1, 2차 가수분해물 효소 선정: Alcalase, Neutrase, Flavourzyme, Bromelain
 - (나) 가수분해 조건 설정

- (다) 가수분해물의 생리활성 물질 생산 최적화 조건 정립
- (3) 가수분해 펩티드 특성 분석: 성분, 분자량, 항산화성(DPPH 라디칼 소거능, Fe-킬레이트 능 및 환원력, Linoleic acid 항산화력), ACE 저해능, 간보호능 등
- (4) 생리활성 펩티드 정제: 한외여과, 음이온 교환수지 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토 그래피 및 역상 크로마토그래피
- (5) 생리활성 펩티드 아미노산 서열
- (6) 가수분해물의 이취 제거 방법 정립: Maillard 반응 재료, 온도 및 시간 설정

다. 3차년 내용: 합성 펩티드의 안전성 검증

- (1) 원료: 합성 펩티드
- (2) 기능성 합성 펩티드 제조
- (3) 세포 회복능: 간세포
- (4) 세포 독성 및 NO 생성량 조사
- (5) 항암 효과: 위암 및 대장암 세포주
- (6) Collagenase 활성 억제 수준 조사
- (7) 돌연변이원성 조사

제2장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내·외 관련분야에 대한 기술개발 현황

1. 특허분석을 통한 국내·외 관련분야 기술개발 현황

가. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr)
검색기간	최근 20년간
검색범위	제목 및 초록

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	케이크여과에 의한 단백질의 회수법	축육 함유 기능성 섬유상 연육 제품 제조법	겉이 살아 있는 Crab analogue 제조법	
Keyword	축육단백질+압착여과	수리미, 회수단백질, 알칼리, 냉동변성방지제, 섬유상 제품	수리미, 회수단백질, 알칼리, 냉동변성방지제, Lobster analogue	
검색건수	한국: 167, 일본: 2, 미국: 1	한국: 19 세계: 72	한국: 12 세계: 54	
유효특허건수	10	5	9	
핵심특허 및 관련성	특허명	Process for manufacture of artificial milk replacer for raising infant pigs and infant animals	단백질조성물 및 근육원으로부터 단백질 조성물을 분리하는 방법	Process for producing surimi
	보유국	미국	한국포함 세계 80여개국	미국
	등록년도	1981	2005	1980
	관련성(%)	30	20	20
	유사점	축육 단백질 원료	축육단백질을 pH 조절법(산용액)으로 추출함	어육 수용성단백질 회수 위해 염이용한 수세 수리미 활용 Kamaboko 제조
차이점	동물사료개발	단백질 회수방법 차이와 이를 이용한 찢어지는 개발 제품 없음	축중, 단백질 회수방법 차이와 이를 이용한 찢어지는 개발 제품 없음	
핵심특허 및 관련성	특허명	바이러스성 설사치료용 조성물	Method for producing an imitation crameat product	Simulated lobster meat and process for preparing same
	보유국	일본	유럽	미국
	등록년도	1994	1990	1987
	관련성(%)	30	20	30
	유사점	가수분해 및 단백질 정제	계살 유사물과 결합제를 이용 Sheet 제작	어육이용 Sheet 형성하는 점
차이점	난황분말을 가수분해하여 가압여과로 단백질 정제	축육단백질 회수방법 차이와 이를 이용한 섬유상 개발 제품 없음	축육단백질 회수방법 차이와 이를 이용한 겉 있는 Mold 개발 제품 없음	
핵심특허 및 관련성	특허명	단백질 가수분해물의 제조방법 및 단백질 가수분해물	수리미유사물을 함유하는 소시지	Washed deboned meat having high protein recovery
	보유국	한국	한국	미국
	등록년도	2006	2004	2005
	관련성(%)	50	10	30
	유사점	축육 및 정육의 잔사를 사용함	축육(돼지 심장근) 수세 수리미를 소시지에 이용한 점	기계발골육단백질을 압력을 이용 회수하는 점
차이점	가수분해 단백질의 회수방법의 차이	단백질 회수방법 차이와 이를 이용한 찢어지는 개발 제품 없음	단백질 회수방법 차이와 이를 이용한 찢어지는 개발 제품 없음	

2. 논문분석을 통한 국내·외 관련분야 기술개발 현황

가. 논문분석 범위

대상국가	세계, 한국
논문 DB	Science Direct(www.sciencedirect.com), pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), 국회도서관(www.nanet.go.kr)
검색기간	최근 20년간
검색범위	제목, 초록 및 키워드

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	케이크여과에 의한 단백질의 회수법	축육 함유 기능성 섬유상 연육 제품 제조법	결이 살아 있는 Crab analogue 제조법	
Keyword	가수분해단백질, 혈장단백질 압착여과	수리미, 회수단백질, 알칼리, 섬유상 제품	수리미, 회수단백질, 알칼리, Lobster analogue	
검색건수	한국: 37, 세계: 2161	한국:54, 세계: 56	한국:54, 세계: 56	
유효논문건수	30	22	8	
핵심논문 및 관련성	논문명	Procine bone marrow	명태, 폐계가슴살 및 기계발골계육을 활용한 수리미의 품질 특성	Color and quality of Mackerel surimi as affected by Alkaline washing and ozonation
	학술지명	Meat Science	한국동물자원과학회지	J. Food Sci.
	저자	Calhoun CM, Schnell TD, Mandigo RW	진상근, 김일석, 양한술, 최영준, 김병균	Jiang, ST, Ho, ML, Jiang, SH, Lo, L, Chen, HC
	게재년도	1998	2007	1998
	관련성(%)	50	70	20
	유사점	축육으로부터 영양소의 추출 방법	축육단백질 회수방법을 알칼리처리 이용	어육수리미 회수방법을 알칼리처리 이용
차이점	가수분해 단백질을 주성분으로 하지 않음	여과법에 의한 축육단백질 대량 회수방법 적용 개발제품	여과법에 의한 축육단백질 대량 회수방법 적용 개발제품	
핵심논문 및 관련성	논문명	In vitro digestibility, amino acid profile and available iron of --	Gelation characteristics of alkaline and acid solubilization of fish muscle proteins	돼지심장에서 획득한 근원섬유단백질 추출물이 유화형 소시지의 품질특성에 미치는 영향
	학술지명	Food Research Inter.	IFT Annual Meeting	한국축산식품학회지
	저자	Oshdi AA, Beames RM, Nakai S	Park JW, Yongsawatdigul J	강근호, 오성현, 양한술, 김진성, 박구부
	게재년도	1997	2001	2003
	관련성(%)	50	40	30
	유사점	소 혈액으로부터 변역단백질을 분리하여 유아용 식품에 활용	어육이용 pH조절법으로 수리미 제조	축육(돼지 심장근) 수세 수리미를 소시지에 이용한 점
차이점	돼지혈액으로부터 단백질의 회수 및 응용	여과법에 의한 축육단백질 대량 회수방법 적용 개발제품	여과법에 의한 축육단백질 대량 회수방법 적용 개발제품	
핵심논문 및 관련성	논문명	소, 돼지 혈액에서의 혈장단백질 분석 및 이들의 유화능	Thermal gelation characteristics of breast and thigh muscles of spent hen and broiler and their surimi	산과 알칼리 pH에서 어육 단백질의 용해를 이용한 수리미 제조
	학술지명	한국식품과학회지	Meat Sci.	한국식품영양학회지
	저자	윤승섭, 이현규, 송은승, 최영준, 정석락	A.A.K.M. Nowsad, S. Kanoh, E. Niwa	박주동, 정춘희, 김진수, 조득문, 최영준
	게재년도	1998	2000	2003
	관련성(%)	40	20	20
	유사점	혈장단백질의 유화능분석	염수세법으로 폐계육을 이용해 수리미유사물을 만든 점	pH 조절법으로 어육 수리미 제조
차이점	혈장단백질의 2단 가수분해물로부터 기능성물질의 정제 및 활용	여과법에 의한 축육단백질 대량 회수방법 적용 개발제품	여과법에 의한 축육단백질 대량 회수방법 적용 개발제품	

3. 제품 및 시장분석을 통한 국내·외 관련분야 기술개발 현황

가. 국내 제품생산 및 시장 현황

(1) 축육 비선호 부위 산업의 현황과 중요성

닭가슴살은 살코기가 많아 딱딱하고 씹기가 없어 국내 소비자들로부터 외면을 당하고 있으나 단백질 보급의 보배이자 건강에 좋은 유용한 지방산을 타 육류에 비해 많이 가지고 있는 특성을 지니고 있다. 폐계육(Spent layer) 생산량(사육두수 4억 5천수의 21%, 0.7kg/수)은 66,150톤/년으로 아주 싼 값에 팔리고 있으며, 질긴 단점이 있어 단순하게 백숙 등과 같이 찜용으로 이용되고 있는 실정이며, 닭뼈에서 분리해낸 MDCM(600원/kg)은 일반 계육에 비해 지방량과 결합조직이 많으며, 기계의 압으로 뼈에 붙어 있는 육을 물리적으로 분리하다보니 뼈내의 골수나 칼슘 등이 혼입되어 있어 저장성이 매우 낮은 단점을 지니고 있다. 이러한 저가 육들로부터 단백질을 회수하여 식품 첨가제나 결착제로 활용한다면 그 부가가치 향상 효과는 매우 클 것으로 기대된다.

(2) 연육 제품 산업 현황과 중요성

(가) 연육(surimi)의 경우 국내에서는 주로 깡치, 풀치 등을 이용한 어묵용을 극소량 생산하고 있으며, 고급 연제품(크래미 등 맛살류) 생산을 위한 연육은 전량 수입(43천톤, 5,900만불, 해양수산통계연보 2000)에 의존하고 있는 실정이다. 또한 세계적으로 어획량이 줄고 있어 생산량에 비해 연육 수요량(604천톤)이 매우 많아 공급에 차질을 빚고 있어 고급 연제품 생산을 위한 연육값이 매우 치솟고 있다.

(나) '06년 국내 연제품 총생산량은 69,350톤(1,894억원)으로 이 중 어묵 31,883톤(46.0%), 맛살 22,958톤(33.1%, 1,019억원, 4,439원/kg), 어육소시지 13,932톤(20.1%)으로 '01년 생산량 대비 각각 87.0, 59.6 및 100.1% 수준이었으며, 연제품 총생산량은 73.7% 수준이었다. 특히 '07년 게맛살류는 1,139억원, 어묵류 912억원이 판매되었으며, 게맛살류 전체 M/S는 H사(34.7%), D사(20.2%), D사(16.3%) 순이었으나, 일반 게맛살(3,050원/kg)에 비해 프리미엄급(7,250원/원)은 고가이나 소비자의 Needs를 충족하고 있어 H사(M/S 54.6%)가 고품질 시장을 선도하고 있다(식품연감, 2007; 무역협회, 2007). 한편 게맛살 제조시 연육 비율이 35% 정도이며, 게맛살과 몰드제품이 전체 어육연제품의 70%를 차지하고 있다.

(3) 생리활성 단백질 가수분해물질 및 펩티드

(가) 국내 기능성 음료시장 규모는 7,224억원으로 숙취해소, 콜레스테롤 저하, 특정 기능 강화를 위한 제품을 포함하는 기능성 펩티드 시장규모는 이 중 16.3%에 해당하는 연간 1,176억원으로 매년 수입액만 해도 12억원이나 된다. 신약개발에 평균 14.9년, 약 6억\$가 소요되며, 물질특허의 시장지배력은 15-20년이나 되나 그 성공률은 0.01% 이하이다. 일본의 경우 05년 대두 펩티드 시장 규모는 약 80억¥을 상회하고 있다(임과 김, 2006).

(나) 이러한 펩티드를 제조합 기술을 이용하여 식품급 단백분해효소 저해제로 개발하였으나(Abrahamson 등, 1988) 매우 고가로 경제성이 없어 사용을 못하고 있는 실정이다.

나. 국외 제품생산 및 시장 현황

(1) 연육(surimi)의 경우 세계적으로 어획량이 줄고 있어 생산량에 비해 연육 수요량(604천톤)이 매우 많아 공급에 차질을 빚고 있어 고급 연제품 생산을 위한 연육값이 매우 치솟고 있다.

(2) 현재 고급 연제품 제조에 주로 이용되고 있는 명태연육의 등급별 수입가격은 상급 3.3\$, 중급 2.5\$, 하급 1.8\$ 및 이또요리연육은 상급 2.6\$, 중급 2.3\$, 하급 2.1\$ 수준이나 어획량의 급격한 감소로 인해 '08년 2/4분기 연육가는 공히 35% 정도 인상될 것으로 관련 업계에서는 전망하고 있어 원가부담(명태연육 4,200원/kg)이 더욱 가중되고 있는 실정이다.

(3) 세계 주요 국가별 연육 총생산량은 140만톤으로 일본(42.9%), 한국(14.3%), 태국(10.7%), 미국 및 중국(7.1%) 순이었으며(Eurofish, 2007), 게맛살 제조시 연육 비율이 35% 정도, 게맛살과 몰드제품은 전체 어육연제품의 70%를 차지하고 있어 해가 갈수록 연육의 수요와 공급은 차질을 빚을 것으로 예측되기 때문에 이를 대체할 중간 원료육 개발이 절실히 요구되고 있다.

(4) '06년 국내 연제품 총 수출량은 6,393톤(생산량의 9.2%)으로 '01년 대비 26.2% 수준으로 감소하였으나, 이 중 게맛살류가 60.9%를 차지하였다. '06년 연육제품 시장은 EU(연간 수입량 74,675톤)가 큰 시장이어서 '01년 대비 115.1%로 증가한 양으로 주요 수입국은 스페인(23.0%), 프랑스(16.6%), 이태리(14.3%), 영국(13.8%) 순이었으며, 주요 수출국은 중국 19,011톤(25.5%), 태국 15,216톤(20.4%), 벨기에 12,634톤(16.9%) 순으로 한국은 겨우 3,763톤(5.0%)에 불과하여 국내 수출 물량의 58.9%를 차지하였다(Eurofish, 2007).

(5) 기능성 펩티드는 연간 12억원 수입하고 있다. 신약개발에 평균 14.9년, 약 6억\$가 소요되며, 물질특허의 시장지배력은 15-20년이나 되나 그 성공률은 0.01% 이하이다. 일본의 경우 05년 대두 펩티드 시장 규모는 약 80억¥을 상회하고 있다(임과 김, 2006).

다. 국내·외 시장분석

(1) 국내 및 국외시장 분석결과 전 세계적으로 어획량 감소로 인해 연육(Surimi) 수입, 수출 물량에 차질을 보이고 있어 가격이 폭등하고 있는 실정이다. 그리하여 연육을 대체할 수 있는 축육단백질 개발이 어느 때보다도 필요하다.

(2) 국내 및 국외시장 분석결과 국내외 소비자들의 고품질, 차별화 및 건강 기능성 고급 제품인 프리미엄급 연육제품을 선호하고 있어 가장 수요가 많은 명태연육 공급에 차질을 보이고 있는 시장 상황이다.

(3) 전 세계적으로 축육을 함유한 연육제품은 개발되어 생산된 바가 없어 본 연구진에 의해 세계 최초로 생리활성 성분을 갖는 축육단백질이 함유된 기능성 섬유상 연육제품 개발에 성공

한다면 세계적인 이슈가 될 것으로 기대하며, 국내는 물론 국외 수출까지도 다량할 수 있어 수산물 산업 측면에서 크게 기여할 것으로 판단됨.

(4) 국내 및 국외시장 분석결과 수산물을 이용한 수리미제품 등의 생산 및 판매가 이루어지고 있으나, 현재 지구온난화와 같은 자연환경의 변화로 수산물 원료의 지속가능생산에 대한 문제가 제기되고 있어 원료확보에 대한 어려움으로 소비자의 수요에 대응할 수 없는 상황에도래할 수 있으므로, 본 연구과제에서는 축육의 가공에 있어 10.6%밖에 활용되지 못하는 비선호부위의 기능성을 향상하는 방향으로 연구를 추진하여 축육/수산물 Fusion 기능성 단백질 함유제품 등을 생산하여 국내 및 국외에 판매할 계획임.

(5) 국내 및 국외시장 분석결과 기존 제품은 수산물을 이용한 수리미제품 등의 생산 및 판매가 이루어지고 있으나, 국내의 비선호부위인 MDCM의 활용증진을 위해 효소가수분해 조건을 확립하고 기능성 펩티드의 대량생산을 위한 방향으로 연구를 추진하여 MDCM 회수단백질로부터 기능성 펩티드 함유제품 등을 생산하여 국내 및 국외에 판매할 계획임.

제2절 연구결과가 국내·외 기술개발 현황에서 차지하는 위치

1. 국내·외 기술개발 현황

개발 기술 명	세계 최초	국내 최초	외국기술복제	외국기술소화·흡수	외국기술개선·개량
단백질 회수방법 최적화					√
축육 함유 섬유상 연제품 개발	√				
생리활성 펩티드 함유 제품 개발				√	
계육 가수분해물을 포함하는 기능성 조성물 및 이의 제조방법					√
계육 가수분해물 펩티드의 혈압억제 펩티드	√				
계육 가수분해물 펩티드의 collagenase 저해제	√				
계육 가수분해물의 이취제거를 위한 maillard반응 조성물					√

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절: 단백질 회수방법 최적화 및 고부가가치 제품 산업화 (주관기관)

1. 단백질 회수방법 최적화(1차년)

가. ISP 첨가 후 케이크 여과하여 pH 조절법으로 회수한 단백질의 특성 비교

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 폐계닭가슴살

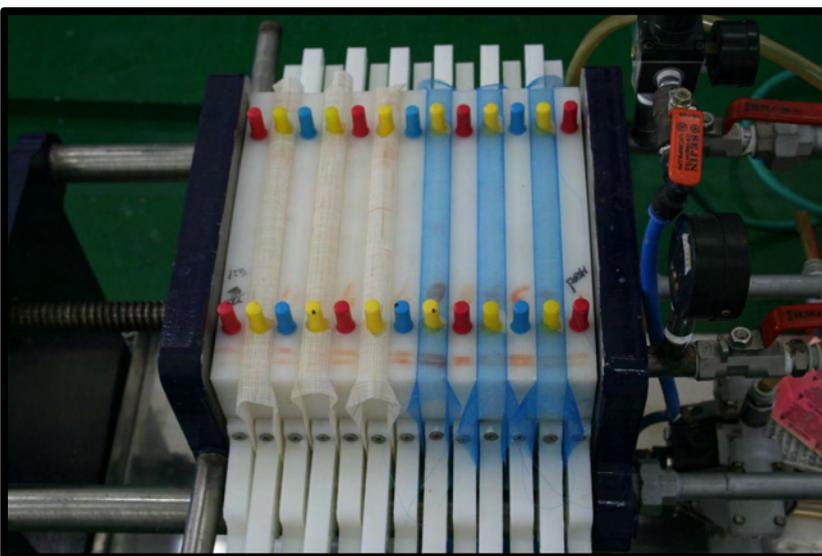
(나) 시험 설계

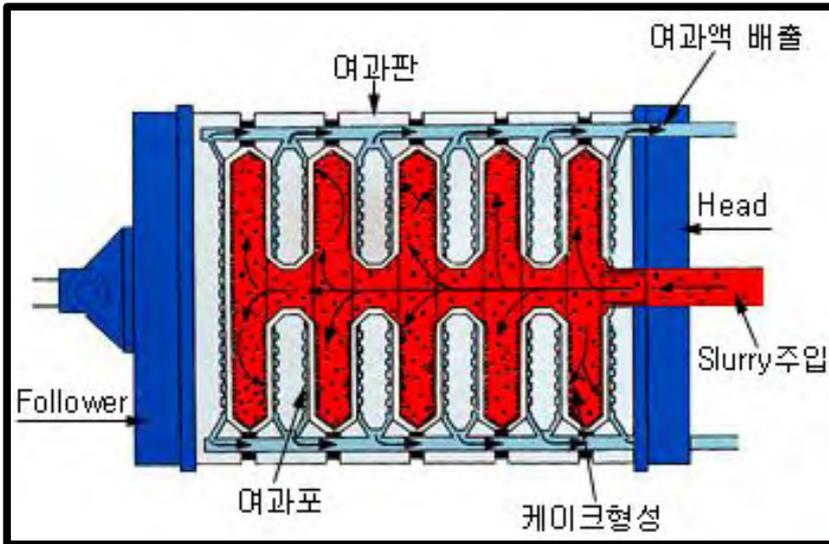
Table 1. Experimental design

구분	C	T1	T2	T3
ISP 첨가	X	X	O	O
pH 조절법	X	O	X	O

(다) 시험 목적: 케이크 여과법에 흡착제로서의 적적성 검토

(라) 케이크 여과기





- ① 여과판을 닫는다.
- ② 여과판 사이로 누수가 되지 않도록 최고 300bar의 압력으로 밀착시킨다.
- ③ 펌프로 여과시킬 액체를 휠타프레스안에 주입시켜서 여과실이 고체로 가득찰 때까지 계속 주입시킨다.
- ④ 여과포를 통과하지 못한 고체는 여과실안에 계속 쌓여서 케이크를 만들고 여액은 파이프를 통하여 한곳으로 배출 된다.
- ⑤ 여과판을 연다.
- ⑥ 대부분 고체 케이크는 여과판을 열때 자동으로 탈리가 된다.

(2) 결과 및 고찰

Table 2는 폐계 가슴육을 이용한 회수단백질의 표면육색을 나타낸 결과로 측정은 반복이 실시하였다. 밝기를 나타내는 명도(L*)는 T2가 가장 높았고, 붉은색 정도를 나타내는 적색도(a*)에서는 C가 가장 높았으나 이와는 다르게 T2에서 가장 낮았다. 또한 노란색을 나타내는 황색도(b*)에서는 T2가 가장 높았고 T1이 가장 낮았다. 하얀색 정도를 나타내는 백색도(W)에 있어서는 C가 가장 높았고 T3가 가장 낮았다. Shear force는 C가 유의적(p<0.05)으로 낮았다.

Table 2. Meat surface color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	88.91	1.44	10.84	56.39	1.71±0.28 ^B
T1	77.55	0.61	8.15	53.10	2.11±0.15 ^A
T2	90.24	-0.42	11.31	56.31	2.15±0.05 ^A
T3	85.75	0.00	10.92	52.99	2.27±0.12 ^A

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 1.

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

Table 3은 회수단백질의 젤 특성을 나타낸 결과로 Breaking force에서는 T1이 유의적으로 높았으며 T2=C>T3순으로 유의적으로 낮게 나타났다 ($p < 0.05$). Deformation에서는 breaking force와 유사한 결과를 나타내었는데 T1이 유의적으로 가장 높았고 T2=C=T3 순으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). Gel strength에서는 T1이 유의적으로 가장 높았고 T2=C>T3 순으로 낮게 나타났으며, 이러한 경향은 Jelly strength에서도 유사하였으며 특히 T1이 유의적($p < 0.05$)으로 가장 높게 나타났고 C=T2>T3 순으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). Folding test에서는 T2와 C가 유의적으로 가장 높았고 T1>T3 순으로 낮게 조사되었다.

Table 3. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treat-ments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	427.33±32.88 ^B	7.22±1.38 ^B	2176.39±167.48 ^B	306.00±45.18 ^B	3.71±0.49 ^A
T1	871.33±41.19 ^A	9.42±0.08 ^A	4437.67±209.76 ^A	820.67±44.41 ^A	3.00±0.00 ^B
T2	450.67±66.15 ^B	6.82±1.38 ^B	2295.23±336.91 ^B	301.67±21.57 ^B	3.86±0.38 ^A
T3	287.33±40.20 ^C	7.10±0.90 ^B	1463.38±204.75 ^C	201.67±11.93 ^C	1.00±0.00 ^C

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.]

¹⁾ Treatments are the same as in Table 1.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

Table 4는 회수단백질의 texture properties를 측정 한 것으로 Hardness에서는 T1이 유의적으로 가장 높았고 C=T1>T3 순으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). Bittleness에서는 T1≥C>T2=T3 순으로 나타났다($p < 0.05$). Cohesiveness는 C=T1=T2>T3순으로 나타났으며($p < 0.05$) springiness는 유의적 차이를 나타내지 않았다. Gumminess는 T1이 유의적으로 높았으며 C=T2>T3 순으로 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$). Chewiness는 T1=T2=C>T3순으로 나타났으며($p < 0.05$) 이러한 경향은 adhesiveness에서도 유사하게 조사되었다($p < 0.05$). Texture properties의 전체적 항목에 있어서는 T1이 유의적으로 가장 높았고 T3가 모든 항목에서 유의적으로 가장 낮게 나타났다($p < 0.05$).

Table 4. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness (kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness (kg,mm)	Adhesiveness
C	0.43±0.02 ^B	0.32±0.12 ^{AB}	0.57±0.03 ^A	1.00±0.00	0.25±0.02 ^B	0.25±0.02 ^A	0.23±0.03 ^A
T1	0.59±0.01 ^A	0.43±0.03 ^A	0.55±0.05 ^A	1.02±0.03	0.33±0.03 ^A	0.33±0.03 ^A	0.22±0.02 ^A
T2	0.42±0.01 ^B	0.23±0.03 ^B	0.59±0.10 ^A	1.11±0.18	0.25±0.03 ^B	0.28±0.09 ^A	0.21±0.01 ^A
T3	0.27±0.05 ^C	0.26±0.07 ^B	0.41±0.04 ^B	1.08±0.07	0.11±0.01 ^C	0.12±0.02 ^B	0.07±0.01 ^B

¹⁾ Treatments are the same as in Table 1.

^{AB} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

(3) 요약

ISP를 첨가한 다음 케이크 여과를 시행하고 이후 pH 조절법으로 회수한 단백질의 겔 특성, 접기시험 및 조직감은 낮았으나 ISP의 첨가 없이 pH 조절만으로 처리한 T1 처리구에서는 가장 양호한 겔 특성을 나타내었다.

나. pH 조절법으로 회수한 단백질에 소금 첨가 효과 규명

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 폐계닭가슴살

(나) 시험 설계

Table 5. Experimental design

구분	C	T1
pH 조절법	O	O
소금(%)	-	1%

(다) 시험 목적: pH 조절법으로 회수한 단백질의 소금 첨가 효과를 규명하여 다른 회수방법과 비교할 기초 데이터로 활용

(2) 결과 및 고찰

pH조절을 통해 회수된 단백질의 육색과 shear force는 Table 6과 같다. 표면 육색의 명도(L*), 적색도(a*) 및 황색도(b*)에서는 유의적 차이가 조사되지 않았으며 더욱이 shear force에서도 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

Table 6. Meat surface color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	81.39±1.21	-0.23±0.08 ^A	11.15±0.23	47.95±1.85	1.16±0.20
T1	81.10±0.16	-0.63±0.06 ^B	10.80±0.26	48.69±0.67	1.41±0.07

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 5.

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

Table 7은 회수단백질의 gel 특성을 나타낸 결과로 folding test를 제외한 모든 항목에서 유의적 차이가 조사되지 않았다. Folding test의 경우 대조구 C에 비해 T2가 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 7. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	960.33±208.57	8.83±0.95	4890.94±1062.23	849.52±208.47	2.80±0.56 ^B
T1	1015.86±93.66	8.56±0.87	5173.72±477.02	865.85±85.35	3.67±0.62 ^A

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 5.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

Table 8은 회수된 단백질의 texture properties 결과로 C와 T1간에 유의적 차이는 조사되지 않았다.

Table 8. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness (kg)	Brittle-ness(kg)	Cohesive-ness(%)	Springi-ness(mm)	Gummi-ness(kg)	Chewiness (kg,mm)	Adhesive-ness
C	0.57±0.12	0.38±0.12	0.52±0.02	1.04±0.06	0.30±0.07	0.31±0.09	0.19±0.04
T1	0.70±0.10	0.58±0.11	0.53±0.08	1.05±0.07	0.37±0.08	0.39±0.09	0.18±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 5.

(3) 요약

소금을 첨가는 회수단백질의 적색도를 낮추었으며 특히 접기시험에서 물성을 향상시키는 결과를 나타내는 것으로 조사되었다.

다. 연육 종류 등급 간에 소금 첨가 효과 규명

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 연육

(나) 시험 설계

Table 9. Experimental design

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
원료(등급)	연육(상)		연육(중)		연육(하)	
Silent cutting	15분					
소금(%)	-	1.00	-	1.00	-	1.00

(다) 시험 목적: 연육 등급별 소금 첨가 효과를 규명하여 폐계담가슴살 회수단백질과 비교를 위한 기초 연구

(2) 결과 및 고찰

연육에서 회수된 단백질의 육색 및 shear force를 측정된 결과는 Table 10과 같으며 육색의 명도(L*)는 T1이 유의적으로 높았으며 이후 C>T3>T2=T5>T4 순인 것으로 조사되었다(p<0.05). 적색도(a*)는 T5가 유의적으로 높게 나타났고 T4>T3>T2>T1=C 순으로 유의차를 보였다. 그리고 황색도(b*)에서는 T3가 유의적으로 가장 높았고 T5≥T4>T2>C>T1 순으로 황색도가 높은 것으로 나타났으며(p<0.05) 백색도(W)에서는 T1>C>T3≥T5>T4 순으로 유의적인 차이를 보이는 것으로 나타났다(p<0.05). Shear force에서는 유의적 차이가 조사되지 않았다. 본 실험에서의 회수단백질 gel 특성은 측정하지 못하였으나 folding test에서는 C, T1 그리고 T3가 유의적으로 높았으나 세 처리구 사이에서는 유의적 차이가 조사되지 않았다.

Table 10. Meat color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)	Folding test ²⁾
	L*	a*	b*	W		
C	86.32±0.72 ^B	-3.09±0.10 ^E	3.74±0.25 ^D	75.10±0.52 ^B	0.98±0.36	4.13±0.52 ^A
T1	89.88±0.21 ^A	-2.99±0.02 ^E	2.71±0.06 ^E	81.76±0.16 ^A	0.78±0.05	4.27±0.46 ^A
T2	78.19±2.06 ^D	-2.40±0.06 ^D	5.61±0.27 ^C	61.37±2.88 ^{CD}	0.95±0.07	3.13±0.35 ^B
T3	83.17±0.36 ^C	-1.88±0.10 ^C	6.52±0.09 ^A	63.62±0.38 ^C	0.85±0.04	4.00±0.53 ^A
T4	74.18±0.43 ^E	-0.93±0.04 ^B	5.82±0.04 ^{BC}	56.73±0.42 ^E	0.87±0.06	1.80±0.56 ^C
T5	77.79±0.72 ^D	-0.66±0.04 ^A	6.05±0.25 ^B	59.65±0.95 ^D	0.75±0.06	3.13±0.74 ^B

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 9.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

회수단백질의 Texture properties 중 cohesiveness, springiness, chewiness를 제외한 이외의 항목들인 hardness, brittleness, gumminess와 adhesiveness에서는 유의적인 차이가 보고되었다(Table 11). Hardness에서는 T5와 T1이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높았고 T3, T4>C>T2순으로 유의적 차이를 나타내었다($p < 0.05$). Brittleness는 T5, T1이 유의적으로 높았으며 C와 T2가 유의적으로 낮은 것으로 나타났다($p < 0.05$). Gumminess 항목에서는 다른 처리구들에 비해 T1이 가장 높았으며, adhesiveness에서는 T5가 유의적으로 높은 것으로 조사되었다.

Table 11. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness (kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness (kg,mm)	Adhesiveness
C	0.09±0.02 ^C	0.07±0.01 ^C	0.46±0.04	1.05±0.07	0.04±0.02 ^B	0.04±0.02	0.03±0.01 ^D
T1	0.20±0.02 ^A	0.19±0.02 ^A	0.85±0.54	1.44±0.66	0.16±0.09 ^A	0.28±0.28	0.07±0.01 ^{AB}
T2	0.06±0.01 ^D	0.05±0.02 ^C	0.42±0.03	1.00±0.01	0.02±0.01 ^B	0.02±0.01	0.02±0.01 ^E
T3	0.14±0.01 ^B	0.10±0.01 ^B	0.48±0.04	1.02±0.03	0.07±0.01 ^B	0.07±0.01	0.06±0.02 ^{BC}
T4	0.12±0.02 ^B	0.12±0.02 ^B	0.43±0.01	1.05±0.09	0.05±0.01 ^B	0.05±0.01	0.05±0.01 ^{CD}
T5	0.21±0.01 ^A	0.21±0.01 ^A	0.46±0.01	1.00±0.00	0.10±0.01 ^{AB}	0.10±0.01	0.08±0.01 ^A

¹⁾ Treatments are the same as in Table 9.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

(3) 요약

회수단백질의 경우에는 고급 연육일수록 명도, 백색도 및 접기시험의 결과가 향상되었으나 적색도와 황색도는 저하되었다. 특히 소금의 첨가는 겔특성을 향상시키는 것으로 조사되었다.

라. 케이크 여과법 여과 규격 및 회수단백질에 소금 첨가 효과 규명 I

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 폐계닭가슴살

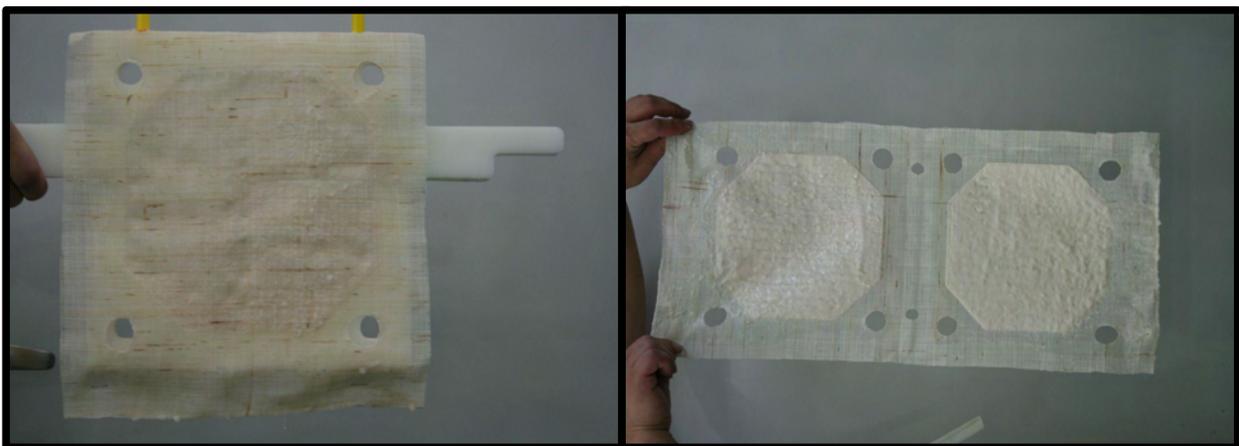
(나) 시험 설계

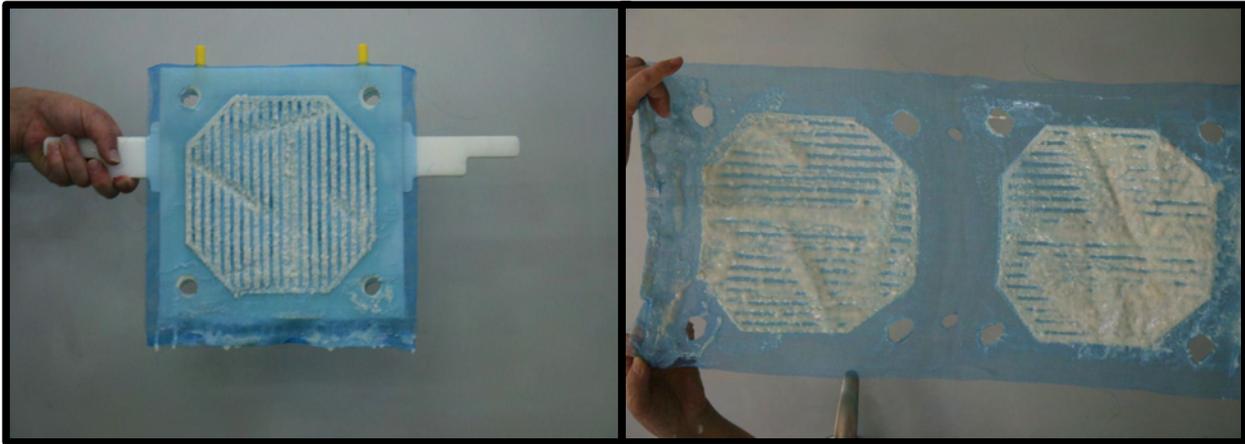
Table 12. Experimental design

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
원통체 통과	5mm 및 1mm		5mm		체 통과 안함			
케이크 여과지 (1mm×1mm)	플라스틱2, 삼베1		철망2, 플라스틱2, 삼베1		플라스틱2, 삼베1		플라스틱2, 삼베2	
소금(%)	-	1.00	-	1.00	-	1.00	-	1.00

(다) 시험 목적: 케이크 여과법 규격을 설정하기 위한 시험과 회수단백질을 활용한 소금 첨가 효과 규명

(라) 여과 결과





(2) 결과 및 고찰

다음은 여과법에 따른 회수된 단백질의 특성을 나타낸 것으로 육색 및 shear force의 결과이다(Table 13). 회수단백질의 명도(L*)값에서는 대조구 C가 유의적으로 높았으며 이후 T6,T1,T4,T2 > T5,T3순으로 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 적색도(a*)에서는 대조구 C가 유의적으로 높았으며 다른 처리구들은 T5,T4,T6>T2,T1,T7>T3순으로 유의적인 차이를 나타냈다(p<0.05). 황색도(b*)는 처리구 T4에서 유의적으로 높았으며, 이에 반하여 대조구 C에서 유의적으로 낮은 황색도를 나타내는 것으로 조사되었다. 백색도(W)에서는 대조구 C가 유의적으로 높았으며 처리구인 T2와 T4가 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮았다. 회수단백질의 Shear force는 처리구인 T2가 유의적으로 높았으나 대조구인 C에서는 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

Table 13. Meat color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	90.31±0.15 ^A	1.92±0.03 ^A	10.43±0.12 ^E	59.01±0.51 ^A	0.35±0.08 ^D
T1	88.19±0.53 ^B	1.26±0.06 ^C	11.38±0.15 ^D	54.06±0.96 ^B	0.61±0.05 ^C
T2	87.87±0.21 ^B	1.34±0.09 ^C	12.25±0.12 ^{AB}	51.12±0.51 ^C	0.72±0.01 ^A
T3	86.37±0.24 ^C	1.11±0.08 ^D	11.65±0.05 ^{CD}	51.43±0.34 ^{BC}	0.65±0.04 ^{ABC}
T4	87.88±1.16 ^B	1.70±0.06 ^B	12.54±0.57 ^A	50.26±2.86 ^C	0.63±0.01 ^{BC}
T5	86.70±0.84 ^C	1.72±0.10 ^B	11.77±0.49 ^{BCD}	51.39±2.32 ^{BC}	0.71±0.00 ^{AB}
T6	88.57±0.52 ^B	1.63±0.04 ^B	12.17±0.18 ^{ABC}	52.07±1.04 ^{BC}	0.62±0.05 ^C
T7	86.79±0.30 ^C	1.23±0.02 ^C	11.80±0.10 ^{BCD}	51.40±0.55 ^{BC}	0.60±0.03 ^C

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 12.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

Table 14는 회수된 단백질의 gel 특성을 나타낸 결과로 Breaking force에서는 처리구인 T4가 유의적으로 높았으며 이후 T6≥T2,T5>T4>T1,C,T3순으로 나타났다(p<0.05). 이러한 결과는 gel strength에서도 동일하게 나타났다(p<0.05). Deformation은 T3가 유의적으로 낮았으며 나머지 대조구와 처리구들은 유의적으로 높게 나타났다. Jelly strength는 T4와 T6가 유의적으로 높게 나타났으며, T3가 유의적으로 낮게 나타났고 나머지 처리구들은 T2,T5≥T7≥T1,C순으로 유의적인 차이가 조사되었다(p<0.05). Folding test에서는 T7이 가장 높게 나타났으며 대조구인 C가 가장 낮게 나타났다(p<0.05).

Table 14. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	275.50±13.33 ^D	12.33±0.98 ^A	1403.11±67.88 ^D	338.72±14.30 ^{CD}	3.13±0.83 ^E
T1	299.00±3.61 ^D	12.46±0.97 ^A	1522.79±18.36 ^D	372.68±33.04 ^{CD}	3.73±0.46 ^{CD}
T2	526.50±19.00 ^B	12.32±1.77 ^A	2681.44±96.76 ^B	646.73±82.60 ^{AB}	3.33±0.62 ^{DE}
T3	273.67±102.75 ^D	8.34±3.26 ^B	1393.77±523.32 ^D	250.26±193.71 ^D	4.13±0.35 ^{BC}
T4	603.50±36.37 ^A	11.97±1.81 ^A	3073.60±185.25 ^A	726.14±146.45 ^A	3.80±0.41 ^C
T5	468.00±38.31 ^B	13.54±0.41 ^A	2383.50±195.13 ^B	632.65±32.53 ^{AB}	4.33±0.62 ^{AB}
T6	541.50±55.90 ^{AB}	12.92±0.49 ^A	2757.83±284.67 ^{AB}	700.00±85.09 ^A	3.87±0.52 ^C
T7	387.33±4.04 ^C	12.72±0.20 ^A	1972.66±20.58 ^C	492.81±8.69 ^{BC}	4.67±0.49 ^A

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 12.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

Table 15는 회수단백질의 texture properties를 나타낸 결과로 sprininess를 제외한 모든 항목에서 유의적인 차이가 조사되었다. Hardness에서는 처리구인 T4가 유의적으로 높았던 반면, 대조구인 C와 처리구인 T1에서 유의적으로 낮게 나타났다. 이러한 경향은 brittleness에도 동일하게 나타났다. Cohensiveness에서는 처리구인 T5가 유의적으로 높게 나타났으며 대조구인 C가 유의적으로 낮게 나타났다. Gumminess와 Chewiness 두 항목에서도 동일한 경향을 나타내었는데 처리구인 T4가 유의적으로 높게 나타났으며 대조구인 C와 처리구인 T1이 낮게 나타나는 것으로 조사되었다(p<0.05). Adhesiveness에서는 처리구인 T4가 유의적으로 높게 나타났고 대조구인 C와 처리구인 T1이 낮게 나타났다.

Table 15. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness (kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness (kg,mm)	Adhesive-ness
C	0.18±0.02 ^D	0.16±0.03 ^D	0.45±0.03 ^D	1.06±0.10	0.08±0.00 ^E	0.08±0.01 ^E	0.08±0.01 ^D
T1	0.21±0.02 ^D	0.18±0.03 ^D	0.47±0.02 ^{CD}	1.03±0.04	0.10±0.01 ^E	0.10±0.01 ^E	0.09±0.01 ^D
T2	0.44±0.02 ^B	0.44±0.02 ^B	0.48±0.01 ^{CD}	1.00±0.01	0.21±0.01 ^{BC}	0.21±0.01 ^{BC}	0.18±0.03 ^{BC}
T3	0.35±0.01 ^C	0.35±0.01 ^C	0.49±0.02 ^{BCD}	1.00±0.00	0.17±0.01 ^D	0.17±0.01 ^D	0.15±0.00 ^C
T4	0.55±0.03 ^A	0.55±0.03 ^A	0.53±0.03 ^{AB}	1.02±0.02	0.29±0.02 ^A	0.29±0.01 ^A	0.22±0.02 ^A
T5	0.43±0.04 ^B	0.43±0.04 ^B	0.54±0.02 ^A	1.00±0.01	0.23±0.03 ^B	0.23±0.03 ^B	0.20±0.04 ^{AB}
T6	0.46±0.03 ^B	0.46±0.03 ^B	0.47±0.03 ^{CD}	1.00±0.00	0.22±0.02 ^{BC}	0.22±0.02 ^{BC}	0.17±0.01 ^{BC}
T7	0.38±0.04 ^C	0.38±0.04 ^C	0.51±0.04 ^{ABC}	1.01±0.02	0.19±0.02 ^{CD}	0.20±0.03 ^C	0.17±0.02 ^{BC}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 12.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

(3) 요약

케이크 여과 전 5와 1mm의 체 그리고 케이크 여과시 1mm 스테인레스 여과지의 경우에는 단백질 회수에 긍정적인 영향을 미치지 못하는 것으로 조사되었으나 소금 첨가와는 상관없이 플라틱 2겹과 삼베 2겹 여과지를 이용할 경우에는 접기시험 등의 물성과 겔 특성 향상에 상당히 기여하는 것으로 나타났다.

마. 케이크 여과법 여과 규격 및 회수단백질에 소금 첨가 효과 규명 II

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 폐계닭가슴살

(나) 시험 설계

Table 16. Experimental design

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
케이크 여과지 (1mm×1mm)	플라ستيك망3개, 삼베3 통과		플라ستيك망2개, 삼베2 통과		플라ستيك망1개, 삼베1 통과		통과 안함	
소금(%)	-	1.0	-	1.0	-	1.0	-	1.0

(다) 시험 목적: 케이크 여과법 규격을 설정하기 위한 시험 4에 이어 추가 규명 시험과 회수단백질을 활용한 소금 첨가 효과 규명

(2) 결과 및 고찰

Table 17은 폐계 가슴육에서 회수된 단백질의 육색과 shear force를 나타낸 결과이다. 회수된 단백질의 명도(L*)는 처리구 T2에서 유의적으로 높았으며 T6에서 유의적으로 낮았다(p<0.05). 적색도(a*)의 경우에는 처리구인 T6에서 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 T5에서 낮게 나타났다. 황색도(b*)에서는 처리구인 T2, T3, T4와 T6가 유의적으로 높게 나타났으며 C, T1, T5와 T7에서 유의적으로 낮게 나타났다. 백색도(W)에서는 대조구인 C가 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높았으며 T6에서 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). Shear force에서는 대조구인 C에서 유의적으로 높았으며 T1, T5와 T7에서 유의적(p<0.05)으로 낮은 것으로 조사되었다.

Table 17. Meat color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	88.85±0.83 ^{AB}	1.52±0.10 ^{AB}	12.07±0.11 ^B	52.64±1.16 ^A	1.09±0.22 ^A
T1	87.70±0.83 ^{BC}	1.29±0.15 ^{BCD}	12.11±0.14 ^B	51.38±1.07 ^{AB}	0.89±0.07 ^B
T2	89.36±0.65 ^A	1.38±0.16 ^{ABC}	12.38±0.09 ^A	52.23±0.66 ^{AB}	0.99±0.11 ^{AB}
T3	87.61±1.05 ^{BC}	1.19±0.13 ^{CD}	12.40±0.19 ^A	50.42±1.59 ^B	0.94±0.03 ^{AB}
T4	88.13±0.29 ^{ABC}	1.41±0.22 ^{ABC}	12.56±0.27 ^A	50.45±1.09 ^B	0.96±0.10 ^{AB}
T5	87.22±1.06 ^{CD}	1.11±0.06 ^D	11.93±0.10 ^B	51.42±0.86 ^{AB}	0.87±0.02 ^B
T6	85.99±0.47 ^D	1.56±0.12 ^A	12.48±0.18 ^A	48.56±0.41 ^C	0.98±0.04 ^{AB}
T7	87.60±0.96 ^{BC}	1.18±0.11 ^{CD}	12.01±0.06 ^B	51.57±1.01 ^{AB}	0.84±0.05 ^B

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 16.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

Table 18은 회수 단백질의 Gel 특성으로 deformation을 제외한 모든 항목에서 유의적인 차이가 조사되었다. Breaking force에서는 처리구인 T6, T2 및 대조구인 C가 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 처리구인 T5에서 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 이러한 경향은 gel strength에서도 동일하게 나타났으며 Jelly strength에서는 T6에서 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 T5가 유의적으로 가장 낮은 것으로 조사되었다. Folding test에서는 처리구 T7과 T1 그리고 T3가 유의적으로 높았으며 대조구 C와 T3가 낮았다(p<0.05).

Table 18. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	567.33±8.74 ^A	12.86±0.42	2889.40±44.50 ^A	729.40±26.00 ^{AB}	3.67±0.49 ^C
T1	473.67±35.12 ^{BC}	13.26±0.08	2412.36±178.86 ^{BC}	627.88±45.66 ^{BC}	4.27±0.59 ^A
T2	570.67±35.73 ^A	12.77±0.64	2906.37±181.95 ^A	697.07±137.74 ^{BC}	3.53±0.52 ^C
T3	468.00±1.73 ^{BC}	13.27±0.68	2383.50±8.82 ^{BC}	621.23±32.87 ^{BC}	4.27±0.46 ^A
T4	504.00±21.28 ^B	13.74±0.05	2566.84±108.40 ^B	659.21±71.39 ^{BC}	3.73±0.46 ^{BC}
T5	442.33±19.66 ^C	13.37±0.23	2252.78±100.10 ^C	591.58±29.34 ^C	4.33±0.49 ^A
T6	594.00±8.54 ^A	13.64±0.09	3025.21±43.51 ^A	810.28±13.07 ^A	4.07±0.46 ^{AB}
T7	482.33±9.29 ^B	13.64±0.52	2456.50±47.32 ^B	658.22±37.48 ^{BC}	4.33±0.49 ^A

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 16.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

Table 19는 회수단백질의 texture properties 결과로 springiness를 제외한 모든 항목에서 유의적인 차이가 조사되었다. Hardness는 처리구인 T6에서 다른 처리구들에 비해 높았으며 brittleness에서도 역시 유의적으로 높은 것으로 조사되었다(p<0.05). Cohesiveness에서는 처리구인 T7이 유의적으로 높았으며 처리구인 D에서 유의적으로 낮은 것으로 나타났다. Gumminess와 chewiness에서는 동일한 결과를 조사되었으며 일반적으로 T6에서 유의적으로 높았던 반면 T1에서 유의적으로 낮게 나타났다. Adhesiveness에서는 처리구인 T6에서 높게 나타났다(p<0.05). 일반적으로 조직감에 있어서는 T6 처리구에서 전반적으로 높은 조직적 특성을 갖는 것으로 조사되었던 반면 T1에서는 낮은 것으로 나타났다(p<0.05).

Table 19. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness(kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness(kg,mm)	Adhesive-ness
C	0.49±0.02 ^C	0.50±0.03 ^B	0.49±0.03 ^{BCD}	1.00±0.00	0.24±0.02 ^{BC}	0.24±0.02 ^{BC}	0.19±0.02 ^{BC}
T1	0.40±0.02 ^E	0.40±0.02 ^D	0.51±0.02 ^{ABC}	1.02±0.03	0.20±0.01 ^D	0.20±0.01 ^D	0.19±0.01 ^{BC}
T2	0.51±0.03 ^{BC}	0.51±0.03 ^B	0.46±0.01 ^D	1.00±0.00	0.24±0.02 ^{BC}	0.24±0.02 ^{BC}	0.19±0.02 ^{BC}
T3	0.43±0.01 ^{DE}	0.43±0.01 ^{CD}	0.51±0.04 ^{ABC}	1.00±0.00	0.22±0.02 ^{CD}	0.22±0.02 ^{CD}	0.18±0.01 ^{BC}
T4	0.53±0.04 ^B	0.53±0.04 ^B	0.47±0.01 ^{CD}	1.00±0.00	0.25±0.02 ^B	0.25±0.02 ^B	0.21±0.01 ^B
T5	0.41±0.01 ^E	0.41±0.01 ^D	0.53±0.03 ^{AB}	1.01±0.02	0.22±0.01 ^{CD}	0.22±0.00 ^{CD}	0.17±0.01 ^C
T6	0.60±0.00 ^A	0.60±0.00 ^A	0.51±0.02 ^{ABC}	1.00±0.01	0.31±0.01 ^A	0.31±0.01 ^A	0.23±0.02 ^A
T7	0.45±0.01 ^D	0.45±0.01 ^C	0.54±0.02 ^A	1.00±0.00	0.24±0.01 ^{BC}	0.24±0.01 ^{BC}	0.19±0.01 ^{BC}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 16.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

(3) 요약

각 처리구마다 소금을 첨가한다면 2, 4, 6점의 여과지는 겔 특성상 큰 영향을 미치지 않는 것으로 오하러 처리구에 소금을 첨가하지 않는다면 여과지 점이 증가할수록 접기시험 등과 같은 겔 특성에서 점차 감소하는 결과를 나타내어 소금을 첨가하지 않는다면 과도한 여과로 인하여 가교형성이 제대로 이루어지지 않는 것으로 판단된다.

바. 명태 연육 종류 등급 간에 소금 첨가 효과 규명

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 명태 연육

(나) 시험 설계

Table 20. Experimental design

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
원료(등급)	연육(FA)		연육(KA)		연육(RA)	
소금(%)	-	1.00	-	1.00	-	1.00

(다) 시험 목적: 명태 연육 등급별 소금 첨가 효과를 규명하여 폐계닭가슴살 회수단백질과 현장시험 비교를 위한 기초 연구

(2) 결과 및 고찰

Table 21은 연육 회수 단백질의 육색과 shear force에 관한 결과이다. 명도(L*)에서는 C와 T1에서 유의적으로 높았던 반면에 T4와 T5가 유의적으로 낮았다. 이러한 결과와는 달리 적색도(a*)에서는 T4와 T5가 유의적으로 높은 것으로 조사되었으며 대조구인 C와 T1이 낮게 나타났다(p<0.05). 황색도(b*)에서는 T4가 가장 높았으며 T1이 가장 낮게 나타났으며 백색도(W)에서는 T1이 가장 높았고 T4가 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). Shear force에서는 T5가 유의적으로 가장 높았던 반면 T1이 가장 낮은 것으로 조사되었다.

Table 21. Meat color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	91.38±0.47 ^A	-2.54±0.12 ^C	4.36±0.19 ^D	78.31±0.61 ^B	4.09±0.18 ^{DE}
T1	91.13±0.73 ^A	-2.61±0.14 ^C	3.77±0.10 ^E	79.81±1.03 ^A	3.92±0.09 ^E
T2	87.87±0.29 ^B	-1.76±0.04 ^B	6.38±0.13 ^A	68.74±0.11 ^C	4.80±0.56 ^{BC}
T3	87.39±0.21 ^B	-1.89±0.01 ^B	5.90±0.06 ^B	69.69±0.37 ^C	4.49±0.11 ^{CD}
T4	83.98±0.93 ^C	-0.96±0.13 ^A	6.27±0.09 ^A	65.18±1.18 ^E	5.03±0.07 ^{AB}
T5	83.39±1.05 ^C	-0.96±0.04 ^A	5.51±0.05 ^C	66.86±0.89 ^D	5.31±0.06 ^A

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 20.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

회수단백질의 gel 특성 중 deformation를 제외한 모든 항목에서는 처리구간 유의적인 차이가 조사되었다(Table 22). Breaking force에서는 처리구인 T1이 유의적으로 높았고 T4가 낮게 나타났으며 gel strength에서는 T1이 높게 나타난 반면 T4에서 유의적으로 낮게 나타났다. Jelly strength 항목에서는 대조구인 C가 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 T4가 낮게 나타났다(p<0.05). Folding test에서는 T1, T3, C와 T2가 유의적으로 높았던 반면 T4에서 유의적으로 낮았다.

Table 22. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	100.67±5.13 ^B	12.11±0.98	512.69±26.14 ^B	121.95±13.03 ^A	4.33±0.49 ^A
T1	147.00±10.00 ^A	6.72±1.11	748.66±50.93 ^A	98.25±11.07 ^{AB}	4.40±0.51 ^A
T2	79.25±8.50 ^C	9.45±3.35	403.62±43.29 ^C	74.53±26.80 ^B	4.00±0.00 ^A
T3	98.50±6.56 ^B	10.97±2.26	501.66±33.39 ^B	107.42±19.96 ^{AB}	4.27±0.46 ^A
T4	46.67±8.16 ^D	7.84±3.89	237.67±41.58 ^D	39.01±22.68 ^C	2.47±0.92 ^C
T5	94.67±11.68 ^B	10.67±1.44	482.13±59.47 ^B	101.24±19.59 ^{AB}	3.53±0.52 ^B

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 20.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

회수단백질의 texture properties에 관한 결과중 hardness와 brittleness는 모두 동일한 결과가 조사되었다(Table 23). 처리구인 T1이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높았으며 T4가 가장 낮았다. Cohesiveness에서는 처리구인 T1이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). Springiness는 T4에서 이외의 처리구들에 비해 높게 나타났으나 T4를 제외한 다른 처리구들 사이에서는 유의적인 차이가 조사되지 않았다. Gumminess 항목에서는 처리구인 T1이 유의적으로 높았으며 T4가 유의적으로 낮았다. 그리고 chewiness와 adhesiveness 두 항목에서도 동일한 결과가 나타났다. 즉 모든 항목에서 처리구인 T1이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 T4가 낮게 나타났다.

Table 23. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness(kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness (kg,mm)	Adhesiveness
C	0.08±0.01 ^B	0.08±0.01 ^B	0.46±0.03 ^B	1.00±0.00 ^B	0.04±0.01 ^{BC}	0.04±0.01 ^{BC}	0.03±0.01 ^B
T1	0.12±0.01 ^A	0.12±0.01 ^A	0.56±0.08 ^A	1.02±0.03 ^B	0.07±0.01 ^A	0.07±0.01 ^A	0.06±0.01 ^A
T2	0.06±0.01 ^C	0.06±0.01 ^C	0.46±0.01 ^B	1.02±0.05 ^B	0.03±0.00 ^C	0.03±0.00 ^{BC}	0.03±0.01 ^{BC}
T3	0.09±0.01 ^B	0.09±0.01 ^B	0.52±0.02 ^{AB}	1.00±0.00 ^B	0.04±0.01 ^B	0.04±0.01 ^B	0.04±0.01 ^B
T4	0.04±0.01 ^D	0.04±0.01 ^D	0.46±0.05 ^B	1.12±0.09 ^A	0.02±0.01 ^D	0.02±0.01 ^C	0.02±0.01 ^C
T5	0.07±0.01 ^{BC}	0.07±0.01 ^{BC}	0.45±0.06 ^B	1.04±0.06 ^{AB}	0.03±0.01 ^{BC}	0.03±0.01 ^{BC}	0.03±0.00 ^{BC}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 20.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

(3) 요약

명태의 FA급은 KA나 RA급에 비하여 명도, 백색도, 접기시험 결과, 파괴강도 및 겔강도에서 높은 값을 나타낸 반면 적색도, 황색도 및 전단가에서는 낮은 수치를 나타내었다. 소금의 첨가 효과는 낮은 등급의 명태 연육일수록 겔 특성에 긍정적인 영향을 미칠 수 있는 것으로 조사되었다.

사. pH 조절법으로 회수한 단백질에 소금 첨가 효과 추가 규명

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 폐계닭가슴살

(나) 시험 설계

Table 24. Experimental design

구분	C	T1
pH 조절법	O	O
소금(%)	x	1.00

(다) 시험 목적: pH 조절법으로 회수한 단백질의 소금 첨가 효과를 추가 규명하여 다른 회수방법과 비교할 현장 기초 데이터로 활용

(2) 결과 및 고찰

Table 25는 폐계 가슴육을 이용한 회수단백질의 표면육색을 나타낸 결과로 명도(L*), 적색도(a*), 황색도(b*)에서는 유의적 차이가 조사되지 않았다. Shear force에서도 역시 유의적 인 차이가 없었다(p>0.05).

Table 25. Meat color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	86.27±0.76	-0.18±0.16	13.02±0.07	47.21±0.79	1.96±0.29
T1	86.80±0.20	-0.26±0.06	12.77±0.42	48.48±1.32	2.19±0.11

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 24.

회수단백질 gel 특성을 나타낸 결과(Table 26) 중 거의 모든 항목들에서는 유의적인 차이가 나타나지 않은 반면 folding test의 경우에는 대조구인 C에 비해 T2가 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$).

Table 26. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treat-ments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	478.00±71.19 ^B	13.26±0.54 ^A	2434.43±362.57 ^B	634.21±105.09	3.47±0.52 ^B
T1	748.00±59.10 ^A	7.37±0.16 ^B	3809.52±301.00 ^A	636.94±165.32	4.07±0.26 ^A

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 24.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p<0.05$.

회수된 단백질의 texture properties의 결과로 cohesiveness와 springiness를 제외한 모든 항목에서 유의차적인 차이가 조사되었다(Table 27). 모든 항목(hardness, brittleness, gumminess, chewiness, adhesiveness)에서 T1이 유의적으로 높았으나 상대적으로 대조구인 C에서 유의적으로 낮은 것으로 나타났다.

Table 27. Texture properties of spent layer breast meat

Treat-ments ¹⁾	Hard-ness(kg)	Brittle-ness(kg)	Cohesive-ness(%)	Springi-ness(mm)	Gummi-ness(kg)	Chewiness (kg,mm)	Adhesive-ness
C	0.40±0.05 ^B	0.40±0.05 ^B	0.48±0.08	1.08±0.13	0.19±0.03 ^B	0.21±0.05 ^B	0.13±0.02 ^B
T1	0.62±0.04 ^A	0.62±0.04 ^A	0.48±0.03	1.00±0.01	0.30±0.03 ^A	0.30±0.03 ^A	0.20±0.03 ^A

¹⁾ Treatments are the same as in Table 24.

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p<0.05$.

(3) 요약

회수단백질에 대한 소금의 첨가는 파괴강도, 젤강도, 접기시험 및 조직감등의 특성을 증가시키나 변형값은 감소시키는 것으로 조사되었다.

아. 명태 연육 등급 간에 소금 첨가 효과 규명

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 명태 연육

(나) 시험 설계

Table 28. Experimental design

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
원료(등급)	연육(상)		연육(중)		연육(하)	
소금(%)	-	1.00	-	1.00	-	1.00

(다) 시험 목적: 명태 연육 등급별 소금 첨가 효과를 규명하여 폐계닭가슴살 회수단백질과 현장시험 비교를 위한 추가 연구

(2) 결과 및 고찰

회수 단백질의 육색과 shear force에 관한 결과는 Table 29와 같다. 명도(L*)에서는 C와 T1이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타난 반면에 T4와 T5가 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 이러한 결과와는 달리 적색도에서는 대조구 T4 그리고 T5가 유의적으로 높게 나타났고 C와 T1이 낮게 나타났다(p<0.05). 황색도의 경우에는 T4에서 가장 높았으며 T1에서 가장 낮았다(p<0.05). 백색도에서는 T1이 가장 높았고 T4가 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). Shear force는 처리구간 유의적인 차이가 조사되지 않았다.

Table 29. Meat surface color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color			W	Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*		
C	91.96±0.45 ^A	-2.53±0.06 ^C	4.35±0.16 ^D	78.92±0.16 ^B	1.38±0.50
T1	92.58±0.11 ^A	-2.60±0.01 ^C	3.74±0.03 ^E	81.35±0.06 ^A	1.41±0.52
T2	87.15±0.66 ^B	-1.80±0.12 ^B	6.04±0.14 ^A	69.02±0.47 ^C	1.77±0.34
T3	87.32±0.68 ^B	-1.75±0.04 ^B	5.96±0.14 ^A	69.43±0.81 ^C	1.68±0.39
T4	82.10±0.87 ^C	-1.09±0.06 ^A	5.75±0.05 ^B	64.86±0.98 ^E	1.86±0.21
T5	82.78±0.15 ^C	-1.03±0.01 ^A	5.53±0.11 ^C	66.18±0.48 ^D	1.86±0.11

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 28.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

회수단백질의 gel 특성은 Table 30과 같다. Breaking force에서는 다른 처리구들에 비해 T1이 유의적으로 높았으며 deformation에서는 처리구인 T3가 유의적으로 낮은 것으로 나타났다. gel strength에서는 T1이 높았으며 T4가 유의적으로 낮게 나타났다. Jelly strength 항목에서는 대조구인 C가 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 T4가 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). Folding test에서는 T1이 다른 처리구들에 비해 높았으며 T4가 낮았다(p<0.05).

Table 30. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	99.67±2.52 ^B	11.91±0.46 ^A	507.60±12.81 ^B	118.74±7.41 ^B	4.07±0.26 ^B
T1	120.00±8.66 ^A	11.94±0.30 ^A	611.15±44.11 ^A	143.21±9.49 ^A	4.67±0.49 ^A
T2	67.33±2.52 ^C	11.27±0.23 ^A	342.93±12.82 ^C	75.88±1.83 ^C	3.80±0.56 ^B
T3	73.33±13.87 ^C	9.24±1.15 ^B	373.48±70.63 ^C	76.18±11.70 ^C	3.93±0.26 ^B
T4	61.33±1.15 ^C	10.69±0.87 ^A	312.37±5.88 ^C	65.58±5.74 ^C	2.27±0.88 ^D
T5	102.33±6.81 ^B	11.96±0.62 ^A	521.18±34.66 ^B	122.08±2.09 ^B	2.80±0.56 ^C

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 28.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

회수단백질의 texture properties에 관한 결과는 cohesiveness와 springiness를 제외한 모든 항목에서 처리구간 유의적인 차이를 나타내었다(Table 31). Hardness에서는 처리구인 T1이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높았던 반면 T4가 유의적으로 낮았다. Brittleness에서는 T1이 다른 처리구들에 비해 높았으며 T2와 T4가 낮았다. Gumminess 항목에서는 처리구인 T1이 유의적으로 높았고 T4가 낮게 나타났다(p<0.05). Chewiness와 adhesiveness 두 항목에서도 동일한 결과가 조사되었다. 처리구인 T1이 다른 처리구에 유의적으로 높게 나타났으며 T4가 낮게 나타났다. Hardness, brittleness, gumminess, chewiness, adhesiveness 항목에서는 T1이 다른 처리구들에 비해 높았으며, T4가 유의적으로 낮았다(p<0.05).

Table 31. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness(kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness(kg,mm)	Adhesiveness
C	0.07±0.01 ^C	0.07±0.01 ^B	0.44±0.05	1.01±0.01	0.03±0.01 ^B	0.03±0.01 ^{BC}	0.03±0.00 ^{BC}
T1	0.11±0.01 ^A	0.11±0.01 ^A	0.49±0.01	1.02±0.03	0.05±0.01 ^A	0.06±0.00 ^A	0.05±0.01 ^A
T2	0.05±0.00 ^D	0.05±0.00 ^C	0.47±0.03	1.00±0.00	0.03±0.01 ^{BC}	0.03±0.01 ^{CD}	0.03±0.01 ^{CD}
T3	0.07±0.01 ^C	0.07±0.01 ^B	0.48±0.03	1.02±0.04	0.03±0.00 ^B	0.03±0.00 ^{BCD}	0.04±0.01 ^B
T4	0.05±0.00 ^D	0.05±0.00 ^C	0.40±0.09	1.02±0.04	0.02±0.00 ^C	0.02±0.01 ^D	0.02±0.00 ^D
T5	0.08±0.01 ^B	0.07±0.01 ^B	0.48±0.07	1.09±0.09	0.03±0.01 ^B	0.04±0.01 ^B	0.03±0.01 ^{BC}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 28.

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

(3) 요약

회수단백질의 등급이 상등급일수록 명도, 백색도, 접기시험, 파괴강도 및 변형값은 높았던 반면, 적색도 및 황색도는 낮았으나 전단가에서는 유의적인 차이가 조사되지 않았다.

자. 커팅법의 커팅조건 정립 비교

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 폐계가슴육

(나) 시험 설계

Table 32. Experimental design

구분	C	T1	T2
Silent cutting 시간	4분	8분	12분

(다) 시험 목적: 폐계 가슴육을 pH 조절법과 케이크 여과법으로 시행시 수율이 매우 낮고 대량 생산에 한계점을 극복하기 위한 새로운 대안으로 커팅법을 활용한 회수단백질 효과 규명

(2) 결과 및 고찰

Table 33은 회수단백질의 육색과 shear force에 관한 결과이다. 명도(L*), 적색도(a*) 및 백색도(W)에서는 유의적인 차이가 조사되지 않았으나 황색도(b*)에서는 처리구인 T2에서 다른 처리구들에 비해 높게 나타났고(p<0.05) shear force에서는 대조구인 C와 처리구인 T2가 유의적으로 높았다(p<0.05).

Table 33. Meat color and shear force of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	89.02±0.31	1.18±0.06	13.68±0.10 ^{AB}	47.98±0.60	1.25±0.03 ^A
T1	87.14±3.08	1.54±0.29	13.04±0.40 ^B	48.02±2.53	1.16±0.04 ^B
T2	89.72±1.43	0.74±0.72	13.77±0.39 ^A	48.40±2.58	1.27±0.03 ^A

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 32.

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

회수된 단백질의 gel 특성은 Table 34와 같다. Deformation을 제외한 모든 항목에서는 유의적인 차이가 조사되었으며, breaking force에서는 대조구인 C에서 다른 처리구들에 비해 높게 나타났고 T2 처리구에서는 유의적으로 낮은 것으로 나타났다. 이러한 경향은 gel strength와 jelly strength에서 동일하게 나타났다. Folding test에서는 처리구인 T2에서 다른 처리구들에 비해 높게 나타났으며 처리구인 T1이 다른 처리구들에 비해 낮은 경향을 나타내는 것으로 조사되었다($p < 0.05$).

Table 34. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	328.00±15.10 ^A	13.06±0.08	1670.49±76.90 ^A	428.30±21.27 ^A	3.73±0.46 ^B
T1	284.00±3.61 ^B	12.91±0.28	1446.40±18.37 ^B	366.61±12.33 ^B	3.27±0.70 ^C
T2	247.00±10.00 ^C	12.29±0.71	1257.96±50.93 ^C	303.85±27.10 ^C	4.13±0.35 ^A

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 32.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

회수단백질의 texture properties를 나타낸 결과는 Table 35와 같으며 cohesiveness와 springiness를 제외한 모든 항목에서 처리구간 유의적인 차이가 조사되었다. Hardness에서는 C와 T1이 유의적으로 높게 나타났으며 brittleness에서는 T1이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 반면 T2는 두 항목 모두에서 유의적으로 낮은 것으로 조사되었다. Gumminess, chewiness 및

adhesiveness의 항목 모두에서는 동일한 결과 즉, C과 T1 처리구에서는 유의적으로 높은 값이 그리고 T2에서는 낮은 값이 나타났다($p < 0.05$). 일반적으로 T1의 처리구에서는 모든 항목에서 유의적으로 높은 값을 나타낸 반면 T2에서는 낮게 나타났다($p < 0.05$).

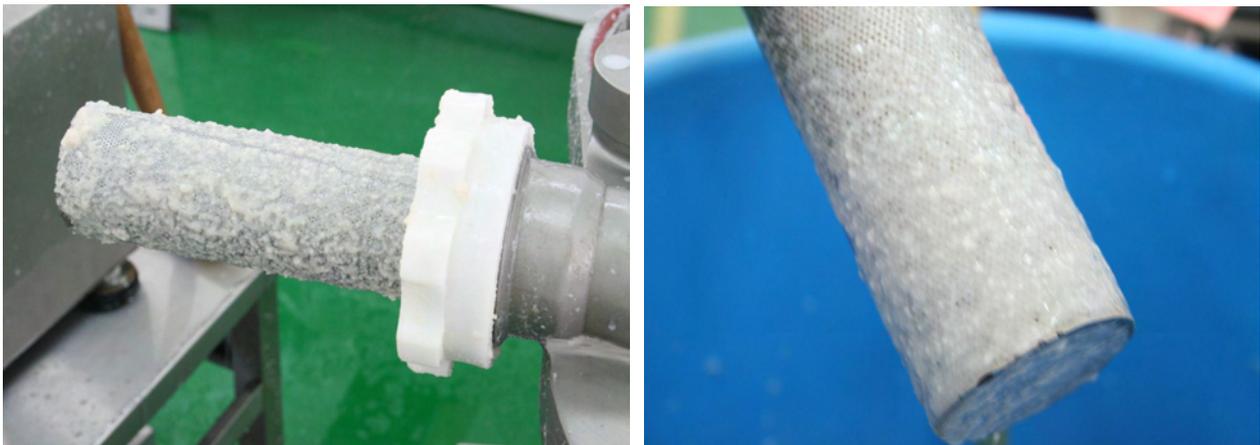
Table 35. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness(kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness(kg,mm)	Adhesiveness
C	0.27±0.01 ^A	0.24±0.03 ^{AB}	0.48±0.02	1.01±0.01	0.13±0.01 ^A	0.13±0.01 ^A	0.10±0.00 ^A
T1	0.27±0.01 ^A	0.27±0.02 ^A	0.46±0.01	1.00±0.00	0.13±0.00 ^A	0.13±0.00 ^A	0.10±0.01 ^A
T2	0.21±0.00 ^B	0.21±0.00 ^B	0.43±0.03	1.00±0.00	0.09±0.01 ^B	0.09±0.01 ^B	0.08±0.00 ^B

¹⁾ Treatments are the same as in Table 32.

^{A,B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

(3) Sheet 형성을 위해 통과해야할 체 시험 과정



(4) 요약

최적의 커팅시간은 8분으로 초과 커팅시 온도상승 등으로 인한 단백질 변성으로 겔 특성이 오히려 낮아지는 결과가 나타났다. 커팅육을 활용할시에는 섬유상의 찢어지는 조직으로 인하여 sheet의 형성이 가장 중요하였으며 커팅법에 의한 적절한 커팅은 sheet 형성 전에 1mm 체를 통과해야만 하는 공정상의 어려움을 해결할 수 있었다. 또한 커팅법(100%)은 pH 조절법(40%)이나 케이크 여과법(30%)이 갖고 있는 가장 큰 단점인 저 수율을 극복할 수가 있었다.

차. 커팅법과 pH 조절법 후 케이크 여과하여 두 방법 간 특성 규명

(1) 재료 및 방법

(가) 원료: 폐계닭가슴살

(나) 시험 설계

Table 36. Experimental design

구분	C	T1	T2	T3
Cutting시간	4분	8분	12분	4분
제조법	Silent cutting			기존 pH조절법
여과지	1mm×1mm 플라스틱망 3겹 및 삼베 3겹			

(다) 시험 목적: 기존의 pH 조절법과 비교하여 최적 커팅조건을 정립하여 현장시제를 위한 기초 시험

(2) 결과 및 고찰

Table 37은 회수된 단백질의 육색과 shear force에 관한 결과이다. 백색도를 제외한 명도, 적색도 및 황색도에서는 유의적인 차이가 조사되었으며 명도에서는 처리구인 T3가 유의적으로 높게 나타난 반면 대조구인 C에서 낮게 나타났다. 적색도에서는 T3가 유의적으로 낮게 나타났으며 황색도에서는 T3 처리구에서 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). 회수단백질의 shear force에서는 대조구인 C와 처리구인 T1에서 유의적으로 낮은 shear force 값을 나타내는 것으로 조사되었으며 이에 반하여 T2, T3에서는 유의적으로 높게 나타내는 것으로 조사되었다(p<0.05).

Table 37. Meat color and fat color of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Meat color				Shear force (kg/cm ²)
	L*	a*	b*	W	
C	88.59±0.22 ^C	1.23±0.10 ^A	11.98±0.10 ^{AB}	52.65±0.47	0.81±0.03 ^B
T1	89.84±0.06 ^{AB}	1.33±0.16 ^A	11.56±0.15 ^{BC}	55.16±0.41	0.79±0.01 ^B
T2	89.50±0.81 ^{BC}	1.38±0.05 ^A	11.47±0.23 ^C	55.08±1.48	0.97±0.06 ^A
T3	90.82±0.64 ^A	-0.27±0.13 ^B	12.02±0.35 ^A	54.75±1.67	0.98±0.04 ^A

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 36

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

Table 38은 회수된 단백질의 gel 특성을 나타낸 것으로 deformation을 제외한 모든 항목에

서 유의적인 차이가 조사되었다($p < 0.05$). Breaking force 항목에서는 T3가 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮았으나 T2에서는 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 이러한 경향은 gel strength에서도 동일하게 나타났으며 jelly strength에서는 T3 처리구에서 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높은 jelly strength 값을 나타내었다. Folding test에서는 처리구인 T1와 T2에서 유의적으로 높았으며 대조구인 C와 처리구인 T3에서 유의적으로 낮았다($p < 0.05$).

Table 38. Gel characteristics of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Gel strength (g/cm ²)	Jelly strength (g*mm)	Folding test ²⁾
C	468.33±2.89 ^B	12.59±1.54	2385.19±14.70 ^B	589.53±71.20 ^B	4.13±0.64 ^B
T1	410.00±15.00 ^C	12.64±0.22	2088.11±76.40 ^C	518.42±26.82 ^B	4.67±0.49 ^A
T2	363.67±20.82 ^D	12.04±0.43	1852.13±106.02 ^D	437.65±24.51 ^C	4.67±0.49 ^A
T3	679.00±7.94 ^A	13.51±0.16	3458.11±40.43 ^A	917.15±18.96 ^A	4.13±0.74 ^B

* Jelly strength= Breaking force*Deformation.

¹⁾ Treatments are the same as in Table 36.

²⁾ 5 (no crack showing after folding twice), 4 (no crack showing after folding in half), 3 (cracks gradually when folded in half), 2 (cracks immediately when folded in half), 1 (breaks by finger pressure).

^{A-D} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

회수단백질의 texture properties와 관련한 결과는 Table 39와 같다. Springiness와 adhesiveness를 제외한 모든 항목에서는 유의적인 차이가 나타났다($p < 0.05$). Hardness에서는 처리구인 T3에서 유의적으로 높게 나타났으며 T2에서 낮은 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 brittleness에서도 동일하게 나타났으며 cohesiveness에서는 처리구인 T3와 대조구인 C에서 모두 다른 두 처리구들에 비해 유의적으로 높은 것으로 나타났다($p < 0.05$). Gumminess는 처리구인 T3와 대조구인 C가 다른 두 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 chewiness에서는 T3가 다른 세 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 39. Texture properties of spent layer breast meat

Treatments ¹⁾	Hardness(kg)	Brittleness(kg)	Cohesiveness(%)	Springiness(mm)	Gumminess(kg)	Chewiness (kg,mm)	Adhesiveness
C	0.44±0.03 ^{AB}	0.44±0.03 ^{AB}	0.50±0.05 ^A	1.02±0.03	0.22±0.01 ^A	0.22±0.01 ^B	0.17±0.01
T1	0.38±0.02 ^{BC}	0.38±0.02 ^{BC}	0.42±0.03 ^B	1.00±0.00	0.16±0.02 ^B	0.16±0.02 ^C	0.15±0.03
T2	0.34±0.00 ^C	0.34±0.00 ^C	0.49±0.03 ^{AB}	1.02±0.03	0.17±0.01 ^B	0.17±0.01 ^C	0.15±0.01
T3	0.46±0.06 ^A	0.46±0.06 ^A	0.54±0.04 ^A	1.07±0.12	0.25±0.03 ^A	0.26±0.03 ^A	0.18±0.05

¹⁾ Treatments are the same as in Table 36.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

(3) 요약

회수단백질을 이용할때는 pH 조절법보다 커팅방법이 겔 특성의 향상에 도움이 되었으며, 커팅시간이 증가할수록 전단가 및 접기시험 결과는 증가하였으며, 8분과 12분 커팅 시간 간에서는 유의적인 차이가 조사되지 않아 변성 등을 고려한다면 8분의 커팅이 가장 적절할 것으로 판단된다.

카. 단백질 회수 방법 간 크래미 현장시제품의 특성과 유통기한 설정

(1) 재료 및 방법

(가) 시험 설계

Table 40. Experimental design

C	T1	T2	T3
기존 크래미	pH 조절법	케이크 여과법	커팅법

① pH 처리법: 폐계가슴살의 6배 중량의 증류수를 넣고 균질기에서 8,000 rpm으로 30초간 균질한 후 1N HCl을 이용하여 pH를 3.0으로 조절한 후 10,000×g에서 25분간 원심분리하고 최상층(중성지방 및 유화층)과 최저층(결체조직, 막지질 등)을 버리고 중간층(염용성 및 수용성 단백질을 회수하였다. 회수된 시료는 1N HCl를 이용하여 pH 5.0~5.5로 조절하고 30분간 방치한 후 10,000×g에서 25분간 원심분리로 침전하여 하층의 단백질을 회수하였다.

② Filter cake법: Filter cake[STS304, (주)한국필터, 대한민국]를 활용하여 stainless filter(ø 0.7mm) 3개 및 무명천(ø 0.7mm) 3개를 통하여 여과한 이후 대형원심분리기 (J-1260T, (주)한일과학, 한국)를 이용하여 10,000rpm에서 25분 원심부리 다음 상층액

- 을 버리고 잔사를 활용하였다.
- ③ 커팅법: Silent cutter를 활용하여 8분간 cutting한 이후에 활용하였다.
- 세 처리구는 공히 최종 수분 함량을 75%로 조정하였다
- (나) 시험 목적: 폐계가슴살 단백질 회수 방법에 따라 명태 연육 대비 15%씩 대체로 현장 시제 가능 여부 판단과 그 품질 특성을 규명하고 유통기한을 설정하는데 있다.
- (다) 배합비: 명태 연육 대비 15% 대체

Table 41. Formula of Cremi

품 명	C	T1-T3
명태 FA	52.78	44.86
폐계닭가슴살 회수단백질	-	7.92
감자전분	2.64	2.64
소맥전분	2.64	2.64
정백당	1.40	1.40
정제소금	1.29	1.29
크렘엑기스	1.17	1.17
조미액	0.86	0.86
카라기난	0.59	0.59
다시마엑기스	0.40	0.40
난백	0.41	0.41
탄산칼슘	0.66	0.66
계향	0.29	0.29
대두유	0.33	0.33
복합조미분	0.29	0.29
아쿠아칼	0.22	0.22
씨엠이	0.53	0.53
인산염	0.20	0.20
리드세이프티	0.26	0.26
레드칼라DW	0.03	0.03
케이텐비	0.01	0.01
정제수	33.00	33.00
합계	100	100

(2) 결과 및 고찰

일반성분 중 수분은 대조구에 비하여 T3가 높게 나타났으며, T1과 T2는 유의적으로 낮게 나타났다(Table 42). 조단백질, 조지방 그리고 조회분의 함량은 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 염용성단백질 함량은 대조구와 T3 처리구에서는 유의적인 차이가 조사되지 않았으며 이는 커팅으로 인해 충분한 염용성 단백질이 추출된 결과로 판단된다. 대조구에 비하여 T2, T1은 유의적으로 낮게 나타났다. 콜레스테롤 함량은 대조구와 T2에서 유사하였으며 이는 케이크 여과법에 의해 지방과 더불어 콜레스테롤이 일부 여과된 결과로 판단된다.

Table 42. Proximate compositions of Cremi (%)

Treat-ments ^{D)}	Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude ash	Salt soluble protein	Colesterol (mg/100g)
C	74.26±0.06 ^B	10.98±0.26	1.18±0.23	3.27±0.07	36.18±0.66 ^A	10.70
T1	73.85±0.18 ^C	11.14±0.19	1.18±0.30	3.29±0.10	33.61±0.24 ^B	16.10
T2	73.67±0.21 ^C	11.18± 0.31	1.25±0.11	3.29±0.06	34.82±1.49 ^{AB}	11.63
T3	74.60±0.12 ^A	11.23±0.37	1.41±0.07	3.26±0.03	35.72±0.19 ^A	15.44

^{D)} Treatments are the same as in Table 40.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

육색의 경우 L*값은 대조구에 비하여 모든 처리구들에서 유의적으로 낮게 나타났으며 이는 축육 고유의 색에 의한 영향인 것으로 판단되며, 저장기간 중에는 서서히 감소하다 다시 증가하는 경향을 나타내었다(Table 43). a*값은 T1이 다른 세 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. b*값은 저장 초기에는 T3가 가장 높았고 T2에서 가장 낮았으나 저장 말기에는 대조구가 다른 세 처리구들에 비해 가장 높게 나타나 품질 저하가 되는 결과가 나타났다. W값은 b*값과 반대로 저장초기에는 대조구가 다른 세 처리구들에 비해 높았으나 저장 말기에는 가장 낮은 것으로 조사되었다. Mb 함량은 T3가 다른 세 처리구들에 비해 유의적으로 낮았으나 저장기간 간에는 유의적인 차이가 조사되지 않았다. Oxy-Mb 함량은 T1과 T2가 대조구와 T3에 비해 높게 나타났다. Met-Mb 함량은 산화 정도를 나타내는 지표로 T3구가 다른 세 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 저장기간 중에는 증가하였으나 점차 다시 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 43. Meat color of Cremi

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
L*	C	79.00±0.83 ^{Aa}	77.55±0.14 ^b	77.12±0.72 ^b	79.36±0.22 ^{Aa}
	T1	77.07±0.71 ^B	77.28±0.28	77.28±0.13	77.47±0.14 ^B
	T2	76.95±0.49 ^B	76.77±0.51	77.08±0.62	78.01±0.54 ^B
	T3	77.30±0.26 ^B	77.35±0.49	77.06±0.49	77.85±0.26 ^B
a*	C	-1.51±0.11 ^b	-1.34±0.06 ^{Ba}	-1.21±0.12 ^a	-1.60±0.05 ^{Bb}
	T1	-0.40±1.54	-0.62±0.43 ^A	-1.03±0.22	-0.70±0.30 ^A
	T2	-1.44±0.23 ^b	-1.23±0.02 ^{Bab}	-1.19±0.05 ^a	-1.70±0.10 ^{Bc}
	T3	-0.45±1.51	-1.00±0.12 ^{AB}	-1.03±0.17	-1.46±0.09 ^B
b*	C	8.07±0.17 ^{Bb}	7.37±0.18 ^{Cc}	7.46±0.17 ^{BCc}	9.53±0.09 ^{Aa}
	T1	8.32±0.04 ^{Ba}	7.73±0.07 ^{Bb}	7.71±0.07 ^{Bb}	7.87±0.23 ^{Cb}
	T2	7.56±0.18 ^{Ca}	7.10±0.15 ^{Db}	7.06±0.18 ^{Cb}	7.53±0.08 ^{Ca}
	T3	8.59±0.12 ^A	8.25±0.07 ^A	8.37±0.42 ^A	8.59±0.26 ^B
W	C	54.80±0.32 ^{Aa}	55.43±0.42 ^{Aa}	54.73±0.66 ^{Ba}	50.76±0.31 ^{Db}
	T1	52.11±0.78 ^{Bb}	54.08±0.50 ^{Ba}	54.15±0.31 ^{Ba}	53.85±0.72 ^{Ba}
	T2	54.27±0.29 ^{Ab}	55.46±0.73 ^{Aa}	55.89±0.32 ^{Aa}	55.41±0.46 ^{Aa}
	T3	51.53±0.29 ^B	52.59±0.40 ^C	51.94±0.77 ^C	52.09±0.79 ^C
Mb (mg/g)	C	0.39±0.01	0.40±0.01 ^A	0.39±0.00	0.39±0.01
	T1	0.39±0.01	0.39±0.01 ^A	0.39±0.00	0.39±0.01
	T2	0.39±0.00	0.39±0.01 ^A	0.39±0.01	0.38±0.01
	T3	0.39±0.00	0.36±0.02 ^B	0.39±0.00	0.39±0.00
Oxy-Mb (%)	C	0.03±0.01	0.02±0.00 ^B	0.02±0.01	0.03±0.01
	T1	0.02±0.01	0.03±0.00 ^A	0.02±0.01	0.03±0.01
	T2	0.02±0.01	0.03±0.01 ^A	0.02±0.01	0.02±0.01
	T3	0.02±0.01	0.02±0.00 ^B	0.03±0.01	0.03±0.00
Met-Mb (%)	C	0.47±0.01	0.47±0.01 ^B	0.48±0.01	0.47±0.01
	T1	0.48±0.01	0.48±0.01 ^B	0.48±0.01	0.48±0.01
	T2	0.47±0.01	0.48±0.01 ^B	0.48±0.01	0.49±0.01
	T3	0.47±0.01 ^b	0.52±0.02 ^{Aa}	0.46±0.02 ^b	0.47±0.00 ^b

* $W = L^* - 3b^*$

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a,b} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

과괴강도와 켈강도는 대조구에 비해 T1과 T2에서 높게 나타났으며, T3는 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 44)($p < 0.05$). 변형값은 저장 말기에 세 처리구 모두에서 대조구에 비해 낮게 나타났으나 저장기간 중에는 큰 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 켈리강도는 저장 말기에 대조구에 비해 세 처리구 모

두에서 낮게 나타났다.

Table 44. Gel characteristics of Cremi

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Breaking force (g)	C	137.33±8.74 ^b	187.33±4.04 ^a	160.67±14.01 ^{Bab}	169.67±22.50 ^a
	T1	155.67±12.90	178.00±13.89	174.67±2.52 ^{AB}	158.67±20.82
	T2	140.00±5.00 ^c	170.00±15.00 ^b	192.00±10.00 ^{Aa}	175.00±5.00 ^{ab}
	T3	143.00±5.29 ^b	171.33±9.02 ^a	159.67±15.04 ^{Bab}	155.33±7.64 ^{ab}
Deformation (mm)	C	9.59±1.45 ^b	6.51±0.35 ^{Cc}	6.52±0.21 ^{Dc}	13.18±0.46 ^{Aa}
	T1	8.74±1.78	10.79±0.26 ^A	10.22±0.45 ^C	9.79±0.65 ^C
	T2	10.34±1.65 ^a	8.64±0.36 ^{Bb}	11.71±0.51 ^{Ba}	10.87±0.28 ^{Ba}
	T3	9.37±0.88 ^b	10.24±0.20 ^{Ab}	13.01±0.23 ^{Aa}	5.32±0.08 ^{Dc}
Gel strength (g/cm ²)	C	700.68±44.57 ^b	955.78±20.62 ^a	819.73±71.49 ^{Bab}	865.65±114.80 ^a
	T1	794.22±65.80	908.16±70.88	891.16±12.84 ^{AB}	809.52±106.21
	T2	714.29±25.51 ^c	867.35±76.53 ^b	979.59±51.02 ^{Aa}	892.86±25.51 ^{ab}
	T3	729.59±27.00 ^b	874.15±46.01 ^a	814.63±76.76 ^{Bab}	792.52±38.97 ^{ab}
Jelly strength (g*mm)	C	130.88±11.99 ^b	121.87±6.66 ^{Cb}	106.22±8.14 ^{Cb}	223.33±25.56 ^{Aa}
	T1	134.57±18.19 ^c	192.00±14.66 ^{Aa}	178.53±7.01 ^{Bab}	154.47±10.29 ^{Cbc}
	T2	145.23±27.13 ^c	147.13±17.50 ^{Bc}	224.79±4.83 ^{Aa}	190.33±8.94 ^{Bb}
	T3	133.74±7.71 ^c	175.51±11.39 ^{Ab}	207.80±21.89 ^{Aa}	82.72±5.02 ^{Dd}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a,b,c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

표면강도, 경도, 씹힘성은 T2에서 다른 세 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 응집성과 검성은 T3에서 가장 높고 T1에서 가장 낮은 것으로 조사되었다(Table 45)(p<0.05). 탄력성과 부착성은 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으며 저장기간 중에는 부착성을 제외한 모든 항목에서 점차 수치적으로 증가하다 저장 4주 이후에는 다시 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 45. Texture properties of Cremi

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Brittleness (kg)	C	0.09±0.00 ^{Bc}	0.10±0.01 ^{ABb}	0.13±0.00 ^a	0.09±0.01 ^{bc}
	T1	0.09±0.00 ^{Bb}	0.09±0.01 ^{Bb}	0.14±0.01 ^a	0.10±0.02 ^b
	T2	0.11±0.01 ^{Ab}	0.12±0.01 ^{Ab}	0.14±0.01 ^a	0.11±0.02 ^b
	T3	0.09±0.00 ^{Bc}	0.12±0.01 ^{Ab}	0.15±0.01 ^a	0.11±0.02 ^{bc}
Hardness (kg)	C	0.07±0.01 ^{Bb}	0.09±0.01 ^b	0.12±0.01 ^{Ba}	0.08±0.02 ^b
	T1	0.07±0.00 ^{Bc}	0.09±0.01 ^b	0.13±0.01 ^{Ba}	0.09±0.02 ^b
	T2	0.09±0.01 ^{Ac}	0.12±0.02 ^{ab}	0.13±0.01 ^{Ba}	0.10±0.02 ^{bc}
	T3	0.08±0.00 ^{ABb}	0.10±0.01 ^b	0.15±0.01 ^{Aa}	0.10±0.04 ^b
Cohesiveness (%)	C	0.48±0.10	0.61±0.04	0.48±0.05 ^{AB}	0.42±0.12
	T1	0.46±0.05 ^{ab}	0.63±0.14 ^a	0.40±0.05 ^{Bb}	0.33±0.09 ^b
	T2	0.45±0.08 ^b	0.65±0.06 ^a	0.52±0.03 ^{ABb}	0.48±0.03 ^b
	T3	0.39±0.04 ^b	0.45±0.05 ^b	0.64±0.15 ^{Aa}	0.48±0.01 ^b
Springiness (mm)	C	1.16±0.14	1.19±0.08 ^{AB}	1.21±0.10 ^B	1.16±0.15
	T1	0.97±0.09 ^b	1.39±0.18 ^{Aa}	1.01±0.08 ^{Bb}	0.96±0.08 ^b
	T2	1.03±0.02 ^b	1.41±0.10 ^{Aa}	1.13±0.08 ^{Bb}	1.38±0.05 ^a
	T3	1.00±0.08 ^b	1.06±0.03 ^{Bb}	1.68±0.30 ^{Aa}	1.22±0.30 ^b
Gumminess (kg)	C	0.04±0.01 ^b	0.06±0.01 ^{Ba}	0.06±0.00 ^{Ba}	0.04±0.01 ^{BCb}
	T1	0.04±0.01 ^b	0.06±0.01 ^{Ba}	0.06±0.01 ^{Ba}	0.03±0.01 ^{Cb}
	T2	0.05±0.01 ^b	0.08±0.00 ^{Aa}	0.07±0.01 ^{Ba}	0.05±0.01 ^{ABb}
	T3	0.03±0.01 ^c	0.05±0.01 ^{Bbc}	0.10±0.02 ^{Aa}	0.06±0.01 ^{Ab}
Chewiness (kg,mm)	C	0.05±0.02	0.07±0.01 ^{BC}	0.07±0.01 ^B	0.04±0.02 ^{AB}
	T1	0.04±0.01 ^b	0.08±0.03 ^{Ba}	0.05±0.01 ^{Bb}	0.03±0.01 ^{Bb}
	T2	0.05±0.01 ^c	0.11±0.01 ^{Aa}	0.08±0.02 ^{Bb}	0.08±0.01 ^{Ab}
	T3	0.04±0.01 ^b	0.05±0.01 ^{Cb}	0.17±0.06 ^{Aa}	0.07±0.03 ^{Ab}
Adhesiveness	C	0.02±0.00	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.00
	T1	0.02±0.00	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
	T2	0.02±0.00	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.00
	T3	0.02±0.00	0.03±0.01	0.03±0.00	0.02±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a,b,c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

적외선 측정기를 이용하여 측정한 수분 함량은 대조구가 다른 세 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으나 저장기간에 따라 점차 감소하다 4저장 4주 이후 다시 증가하는 경향을 나타내었다(Table 46). pH는 T1이 가장 높았고 대조구에서 가장 낮게 나타났다. 전단가는 T3 처리구가 다른 세 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05).

Table 46. Physico-chemical characteristics of Cremi

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Infrared Moisture (%)	C	73.26±0.41 ^{Aa}	72.59±0.34 ^{ABc}	72.37±0.13 ^{Ac}	72.99±0.29 ^{ab}
	T1	72.70±0.30 ^{Ba}	71.91±0.20 ^{Cb}	71.98±0.29 ^{Bb}	72.46±0.18 ^a
	T2	72.20±0.05 ^{Bb}	72.13±0.18 ^{BCb}	71.86±0.10 ^{Bb}	72.67±0.44 ^a
	T3	72.51±0.31 ^B	72.56±0.19 ^{AB}	72.69±0.08 ^A	72.48±0.20
pH	C	7.28±0.03 ^C	7.42±0.07 ^B	7.33±0.07 ^C	7.13±0.30 ^C
	T1	7.68±0.02 ^{Ac}	7.82±0.03 ^{Ab}	7.89±0.03 ^{Aa}	7.93±0.03 ^{Aa}
	T2	7.35±0.01 ^{Bd}	7.44±0.01 ^{Bc}	7.50±0.02 ^{Bb}	7.54±0.03 ^{Ba}
	T3	7.36±0.01 ^{Bd}	7.39±0.00 ^{Bc}	7.44±0.01 ^{Bb}	7.50±0.03 ^{Ba}
Shear force (kg/cm ²)	C	1.04±0.01 ^c	1.21±0.10 ^{Cb}	1.79±0.13 ^{Aa}	1.11±0.02 ^{Bbc}
	T1	1.20±0.10 ^c	1.68±0.16 ^{Aa}	1.43±0.04 ^{BCb}	1.11±0.02 ^{Bc}
	T2	1.19±0.05 ^b	1.28±0.02 ^{BCa}	1.32±0.03 ^{Ca}	1.12±0.02 ^{Bc}
	T3	1.17±0.06 ^b	1.45±0.08 ^{Ba}	1.50±0.02 ^{Ba}	1.46±0.03 ^{Aa}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a,b,c,d} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

TBARS는 대조구에서 다른 세 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 저장 4주차에 가장 높은 TBARS 값을 나타내는 것으로 조사되었다(Table 47)(p<0.05). VBN 값은 일정한 경향은 조사되지 않았으나 대조구와 T2에서 다른 두 처리구들에 비해 높은 경향을 나타내었다. 수분활성도는 T3에서 가장 높고 대조구에서 가장 낮게 나타났으며 저장 4주차까지는 점차 증가하다가 다시 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 47. TBARS , VBN and aw of Cremi

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
TBARS (mg/100g)	C	0.64±0.02 ^{Ac}	0.58±0.01 ^c	1.60±0.13 ^a	0.83±0.05 ^{Ab}
	T1	0.55±0.03 ^{Bc}	0.59±0.05 ^c	1.61±0.12 ^a	0.72±0.04 ^{Bb}
	T2	0.64±0.04 ^{Ac}	0.58±0.01 ^c	1.56±0.06 ^a	0.78±0.02 ^{ABb}
	T3	0.61±0.01 ^{Ac}	0.58±0.02 ^c	1.50±0.05 ^a	0.72±0.04 ^{Bb}
VBN (mg%)	C	2.38±0.59	7.79±1.69 ^A	8.31±3.15 ^B	5.09±1.82
	T1	3.45±1.59	4.76±0.99 ^B	9.45±3.46 ^B	6.39±2.10
	T2	3.73±0.43 ^c	3.87±0.86 ^{Bc}	20.72±1.38 ^{Aa}	5.95±0.89 ^b
	T3	4.01±0.32 ^b	4.57±1.74 ^{Bb}	7.42±0.28 ^{Ba}	7.65±0.89 ^a
aw	C	0.94±0.02	0.94±0.00	0.93±0.01 ^C	0.93±0.00
	T1	0.94±0.01	0.94±0.01	0.95±0.01 ^{AB}	0.93±0.01
	T2	0.94±0.01	0.94±0.02	0.94±0.01 ^{BC}	0.93±0.01
	T3	0.94±0.01 ^{ab}	0.94±0.01 ^{ab}	0.96±0.01 ^{Aa}	0.93±0.01 ^b

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a,b,c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

관능평가 항목 중 색, 향, 맛, 탄력성, 다즙성 및 전체적인 기호도 모두 처리 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았으며(p>0.05), 저장기간 중에는 전체적인 기호만 차이를 보이지 않을뿐 점차 감소하는 경향을 나타내었다(Table 48).

Table 48. Sensory score of Cremi

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Color	C	8.14±0.38 ^a	7.14±0.38 ^b	6.71±0.70 ^b	7.20±0.27 ^b
	T1	8.07±0.35 ^a	6.79±0.49 ^b	6.71±1.22 ^b	6.90±0.55 ^b
	T2	8.00±0.00 ^a	6.86±0.56 ^b	6.64±0.99 ^b	7.20±0.27 ^b
	T3	8.00±0.00 ^a	6.43±0.73 ^b	6.64±0.90 ^b	6.70±0.45 ^b
Aroma	C	7.86±0.38 ^a	6.71±0.91 ^b	6.36±1.41 ^b	6.90±0.22 ^{ab}
	T1	7.79±0.27 ^a	6.64±0.90 ^b	6.36±1.14 ^b	6.90±0.55 ^{ab}
	T2	8.07±0.61 ^a	6.71±1.04 ^b	6.86±0.99 ^b	7.00±0.50 ^b
	T3	7.86±0.24 ^a	6.86±0.75 ^{ab}	6.21±1.55 ^b	7.00±0.71 ^{ab}
Flavor	C	8.07±0.19 ^a	7.43±0.98 ^{ab}	6.64±1.21 ^b	7.00±0.61 ^b
	T1	7.93±0.35 ^a	7.43±0.93 ^{ab}	6.71±0.81 ^b	6.80±0.76 ^b
	T2	8.00±0.50	7.21±0.70	6.86±1.31	7.10±0.74
	T3	7.86±0.48	7.29±0.57	6.86±1.31	6.90±0.74
Springiness	C	8.00±0.50 ^a	7.21±0.64 ^{ab}	6.43±1.24 ^b	7.50±0.35 ^a
	T1	7.93±0.53 ^a	7.29±0.39 ^{ab}	6.93±0.89 ^b	7.00±0.35 ^b
	T2	8.21±0.49 ^a	7.00±0.29 ^b	6.86±0.94 ^b	7.20±0.45 ^b
	T3	7.79±0.57 ^a	7.00±0.71 ^{ab}	6.64±0.85 ^b	7.10±0.42 ^{ab}
Juiciness	C	8.00±0.50 ^a	6.93±0.53 ^b	6.43±1.17 ^b	7.00±0.50 ^b
	T1	8.00±0.50 ^a	7.14±0.38 ^b	6.64±0.85 ^b	6.80±0.67 ^b
	T2	8.07±0.53 ^a	7.21±0.57 ^b	6.86±0.90 ^b	6.90±0.65 ^b
	T3	7.93±0.53 ^a	7.14±0.38 ^b	6.71±0.81 ^b	6.80±0.57 ^b
Overall acceptability	C	7.86±0.69	7.29±1.22	6.64±1.25	7.20±0.45
	T1	7.64±0.75	7.21±0.81	6.79±0.81	6.90±0.42
	T2	8.00±0.58	7.21±0.49	6.93±1.43	7.20±0.57
	T3	7.64±0.63	7.00±0.41	6.79±1.38	7.00±0.35

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

^{a,b,c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

대조구에 비하여 세 처리구들의 크래미는 일반적으로 포화지방산 비율은 높고, 다가불포화지방산 및 필수지방산 비율은 유의적으로 낮은 것으로 조사되었다(p<0.05). 단가불포화지방산 비율은 처리 간 유의적인 차이가 조사되지 않았다(Table 49).

Table 49. Fatty acid compositions of Cremi (%)

Fatty acids	Treatments ¹⁾			
	C	T1	T2	T3
Undecanoic acid (C11:0)	0.31±0.09	0.46±0.17	0.42±0.13	4.72±7.28
Myristic acid (C14:0)	1.42±0.02 ^C	1.81±0.01 ^A	1.79±0.01 ^{AB}	1.77±0.02 ^B
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.23±0.01	0.15±0.13	0.22±0.00	0.23±0.02
Palmitic acid (C16:0)	18.37±0.21 ^B	23.02±0.56 ^A	22.42±0.08 ^A	22.73±0.55 ^A
Palmitoleic acid (C16:1)	1.81±0.03	1.53±1.33	2.13±0.02	2.14±0.03
Magaric acid (C17:0)	0.30±0.02	0.27±0.01	0.27±0.01	0.32±0.06
Magaolic acid (C17:1)	0.21±0.01	0.00±0.00	0.06±0.11	0.07±0.12
Stearic acid (C18:0)	9.67±0.70 ^B	11.23±0.87 ^B	14.26±0.72 ^A	14.43±1.02 ^A
Oleic acid (C18:1)	14.50±0.43 ^A	14.94±0.17 ^A	12.81±0.57 ^B	13.63±0.47 ^B
Linoleic acid (C18:2, n-6)	28.61±0.54 ^A	17.99±0.47 ^B	18.40±0.52 ^B	19.08±0.78 ^B
Linolenic acid (C18:3, n-3)	3.40±0.06 ^A	1.68±0.06 ^C	1.92±0.08 ^B	2.04±0.09 ^B
Arachidic acid (C20:0)	0.31±0.01	0.07±0.12	0.17±0.15	0.18±0.16
Eicosenoic acid (C20:1)	0.35±0.02	0.24±0.21	0.33±0.02	0.20±0.17
Eicosatrienoic acid (C20:3)	8.57±0.10 ^D	11.93±0.05 ^A	11.32±0.20 ^B	10.47±0.24 ^C
Behenic acid (C22:0)	0.28±0.01 ^A	0.00±0.00 ^B	0.00±0.00 ^B	0.00±0.00 ^B
Docosahexaenoic acid (C22:6, n-3)	11.63±0.35 ^C	14.71±0.09 ^A	13.49±0.53 ^B	12.16±0.55 ^C
SFA	30.90±0.78 ^B	37.00±1.09 ^{AB}	39.55±0.56 ^A	44.38±8.65 ^A
EFA	32.01±0.59 ^A	19.66±0.52 ^C	20.32±0.60 ^{BC}	21.12±0.86 ^B
MUFA	16.88±0.42	16.70±1.44	15.33±0.54	16.03±0.43
PUFA	52.21±0.44 ^A	46.30±0.41 ^B	45.13±0.12 ^B	43.75±1.14 ^C

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

^{A,B,C} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

맛 관련 아미노산(FAA), 단맛 관련 아미노산(STAA) 및 총아미노산 함량(TAA)은 대조구가 다른 세 처리구들에 비해 높은 경향을 나타내었다(Table 50)(p<0.05).

Table 50. Amino acid composition of Cremi (%)

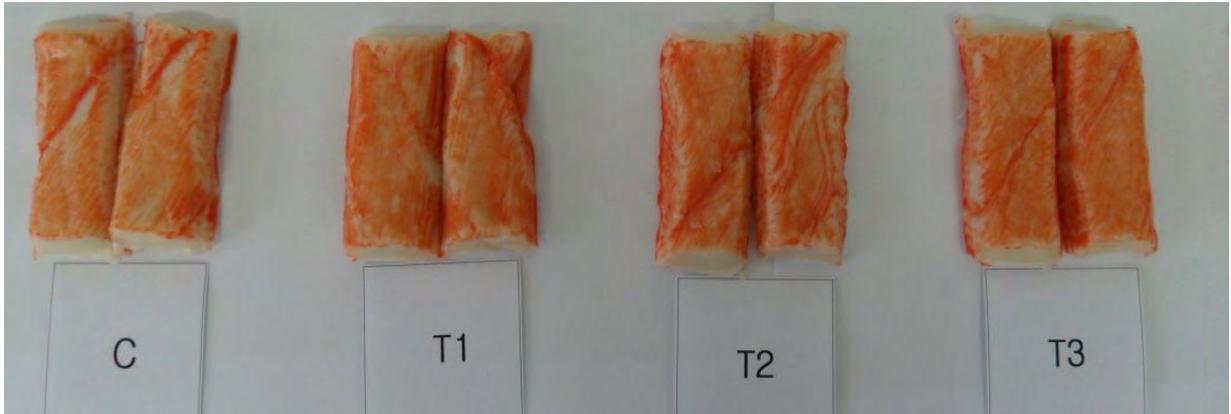
Amino acids	Treatments ¹⁾			
	C	T1	T2	T3
Aspartic acid	1.05	0.95	0.97	0.98
Threonine ^{*, 3)}	0.46	0.40	0.41	0.43
Serine ³⁾	0.43	0.38	0.40	0.40
Glutamic acid ²⁾	1.58	1.40	1.42	1.43
Proline	0.28	0.22	0.29	0.25
Glycine ³⁾	0.35	0.32	0.33	0.32
Alanine ³⁾	0.57	0.52	0.53	0.52
Cysteine ⁴⁾	0.09	0.10	0.11	0.12
Valine ^{*, 6)}	0.67	0.61	0.64	0.65
Methionine ^{*, 4), 6)}	0.26	0.19	0.21	0.18
Isoleucine ^{*, 6)}	0.53	0.47	0.49	0.51
Leucine [*]	0.90	0.78	0.81	0.84
Tyrosine ^{5), 6)}	0.34	0.30	0.32	0.32
Phenylalanine ^{*, 5), 6)}	0.41	0.38	0.39	0.39
Histidine ^{*, 6)}	0.21	0.20	0.20	0.20
Lysine [*]	1.14	0.88	0.90	0.90
Arginine ^{*, 6)}	0.55	0.56	0.58	0.58
FAA ²⁾	1.58	1.40	1.42	1.43
STAA ³⁾	1.81	1.63	1.67	1.67
SAA ⁴⁾	0.35	0.29	0.33	0.29
AAA ⁵⁾	0.75	0.67	0.70	0.70
BAA ⁶⁾	2.97	2.70	2.83	2.82
EAA [*]	5.12	4.46	4.64	4.66
Total ⁷⁾	9.82	8.65	9.00	9.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 40.

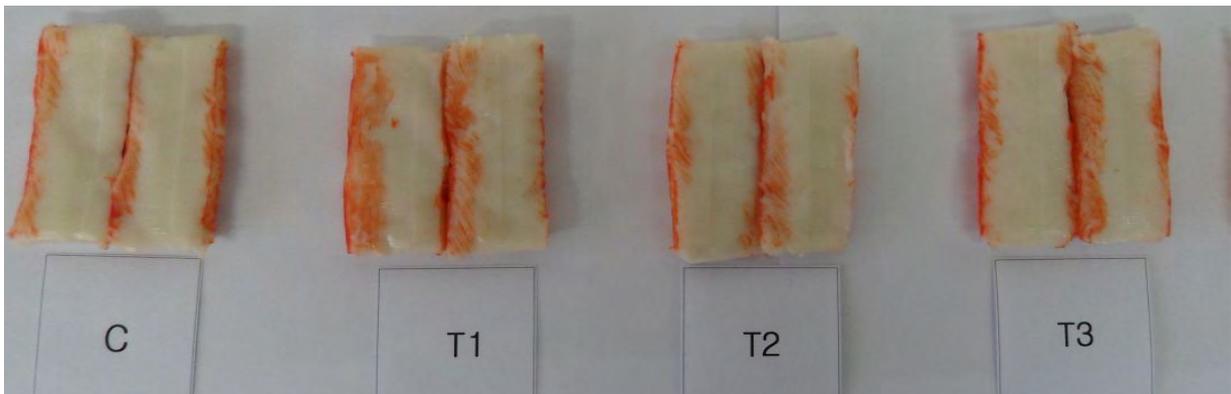
²⁾ FAA (flavorous amino acid), ³⁾ STAA (sweet taste amino acid), ⁴⁾ SAA (sulfur-containing amino acid), ⁵⁾ AAA (aromatic amino acid), ⁶⁾ BAA (bitter amino acid), ^{*} EAA (essential amino acid), ⁷⁾ TAA (total amino acid).

(3) 단백질 회수 방법을 이용한 크래미의 제조

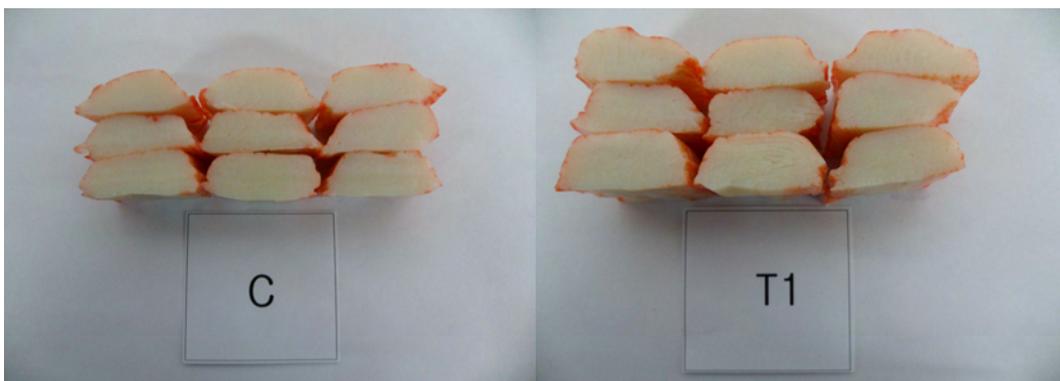
(가) 현장 시제품 앞면

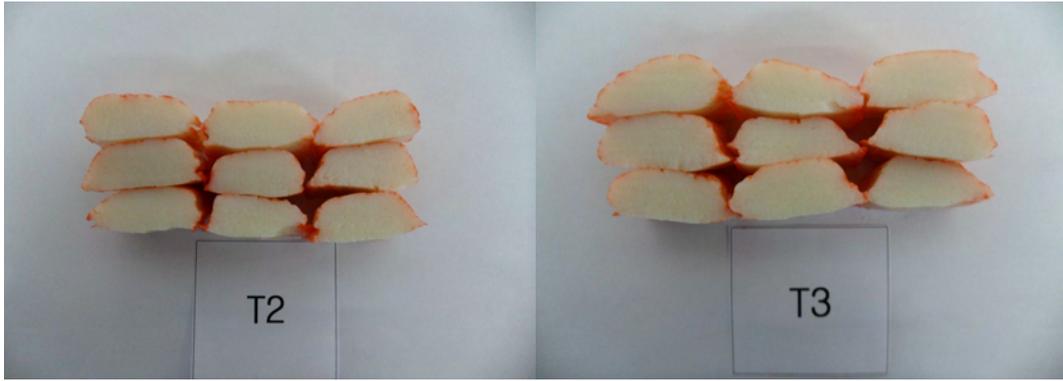


(나) 현장 시제품 뒷면

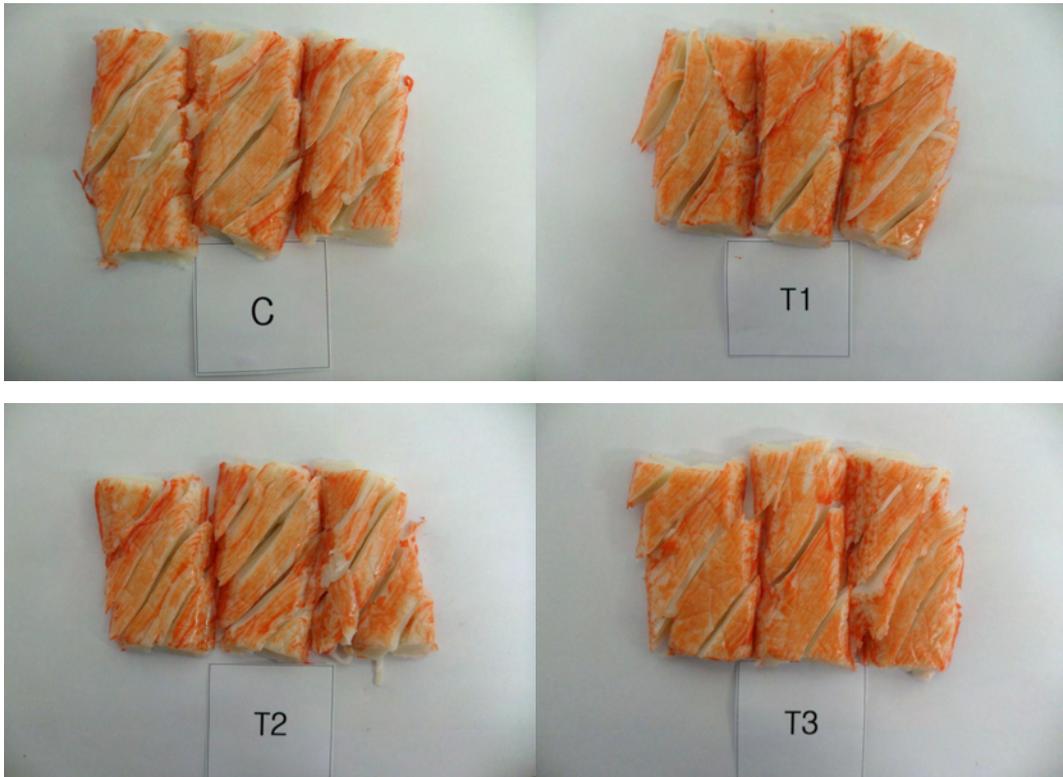


(다) 현장 시제품 단면





(라) 현장 시제품 결조직



(4) 요약

대조구에 비하여 처리구들의 크래미 모두는 명도, 수분, TBARS, VBN 값은 현저히 낮았으나, pH와 수분활성도는 조금 높았다. 특히 T2의 크래미는 백색도와 겔특성중 파괴강도, 변형값, 겔강도와 조직감의 정도에서 높은 값을 나타내는 것으로 조사되었고, T3 처리구의 크래미는 염용성단백질 농도, 조직감의 응집성, 전단가에서 높은 값을 나타내는 것으로 조사되었다. 관능검사에 있어서는 모든 처리구의 크래미들이 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않아 결론적으로, 품질, 수율과 경제성을 고려할 때 대조구의 명태 연육을 폐계가슴살로 커팅한 연육으로 약 15%까지 대체가 현장에서 가능할 것으로 판단된다.

2. 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발(2차년)

가. 커팅법으로 제조한 폐계육의 명태연육 대체 비율에 따른 현장시제 크래미의 품질 특성 및 유통기한 설정

(1) 재료 및 방법

(가) 시험설계

Table 51. Experimental design and formula

원부재료명	구성비(%)				
	C	T1	T2	T3	T4
명태연육(FA)	52.78	47.50	42.22	36.95	31.67
폐계 가슴살 커팅육	-	5.28	10.56	15.83	21.11
감자전분	2.64	2.64	2.64	2.64	2.64
소맥전분	2.64	2.64	2.64	2.64	2.64
정백당	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40
정제소금	1.29	1.29	1.29	1.29	1.29
크랩엑기스	1.17	1.17	1.17	1.17	1.17
조미액	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86
카라기난	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
다시마엑기스	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
난백	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41
탄산칼슘	0.66	0.66	0.66	0.66	0.66
계향	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
대두유	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33
복합조미분	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29
아쿠아칼	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
씨엠이	0.53	0.53	0.53	0.53	0.53
인산염	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
리드세이프티	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
레드칼라DW	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
케이텐비	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
정제수	33.00	33.00	33.00	33.00	33.00
합계	67	68	69	70	71

대조구를 포함한 모든 처리구들은 폐계 가슴살 커팅육의 함량을 달리하였으며, T1 = 5.28,

T2 = 10.56, T3 = 15.83 그리고 T4 = 21.11의 폐계 가슴살 커팅육을 첨가하였다.

(나) 시험 목적: 기존 크래미 제조시 사용되는 명태 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육의 대체 비율(0, 10, 20, 30, 40%)을 달리하여 크래미 현장시제시 그 품질 특성과 유통기한 설정하는데 있다.

(다) 크래미의 제조

① 폐계 가슴살 커팅육 제조: Silent cutter를 활용하여 8분간 cutting 후 이용하였다.

② 크래미 제조방법

- 원료대기: 냉동연육 냉동고에서 출고대기
- 배합: Bowl cutter(원료/첨가물/정제수)
- 성형: 띠모양으로 얇게 Sheet 형성
- 증자: 증기로 Setting(95℃ 전후)
- 배소: 가스로 일정시간 굽는다
- 세절: 직경 0.8 mm 세절한다
- 결속: 봉상으로 묶는다
- 압착: 일정 규격으로 압착한다
- 절단: 대각선으로 일정 길이로 절단한다
- 방향전환: 방향을 바꾼다
- 접합: 사단방향으로 접합한다
- 색소도부: Inner film 도부한다
- 절단: 일정 길이로 절단한다
- 진공포장: Multivac 입체 진공포장한다
- 금속검출: 진공제품을 통과시킨다
- 살균: 일정온도(95±2℃) 살균
- 냉각: 일정온도(품온 10℃ 이하)로 냉각
- 보관출고: 10℃ 이하 냉장보관 출고

③ 저장시험 조건: 진공포장, 10℃, 4주간

④ 조사항목 및 방법

- 일반성분은 AOAC(2000) 방법에 따라 수분은 건조법, 단백질 함량은 Micro kjeldahle 방법, 지방 함량은 Soxhlet 추출법 및 회분 함량은 550℃ 직접회화법으로 각 시료당 3회 반복 측정하였다.
- 콜레스테롤은 AOAC(2000) 방법에 따라 시료 1 g에 ethanol을 사용하여 추출한 후, 50% KOH용액으로 비누화시킨 후 Toluene을 넣어 재추출하여 0.5 M KOH와 증류수를 사용하여 Toluene층을 여러 번 세척한 후,

용액을 감압하고 3 mL DMF시약에 녹여서 GC(HP 6890, Agilent Co., USA)를 이용하여 분석하였다.

- 수분은 적외선 수분 측정기를 활용하여 측정하였다.
- 염용성단백질 함량은 시료 5 g에 20 mL의 0.05 M sodium phosphate(pH 7.5)를 가하고, Homogenizer(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia)로 8,000 rpm에서 1분간 균질시켜 3000×g에서 10분간 원심분리한 후 상층액은 버리고 잔사만 모아서 20 mL의 0.05 M sodium phosphate(pH 7.5)를 가한다. 이 과정을 2회 반복하고 잔사에 0.5 M NaCl을 포함하는 sodium phosphate(pH 7.5)용액 20 mL를 가하여 교반하면서 2시간 동안 염용성단백질을 추출한다. 그리고 원심분리(3000×g, 20분)하여 상층액을 회수한 후 그 부피를 측정하고 Biuret법(Umemoto, 1966)으로 단백질 농도를 측정한 후 염용성단백질의 함량은 mg/g 시료로 표시하였다.
- pH는 근막, 지방 등을 제거한 후 세절한 시료 10 g을 증류수 90 mL와 함께 Homogenizer(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia)로 13,500 rpm에서 10초간 균질하여 pH-meter(8603, Metrohm, Swiss)로 측정하였다.
- 전단가 및 조직감은 Instron 3343(US/MX50, A&D Co., USA)을 이용하여 전단가 (kg/cm^2)는 비가열 시료를 가로로 눕혀 knife형 plunger로 측정하였으며, 조직감은 가열한 시료를 식힌 후 세로로 세워서 plunger No. 3으로 측정하였고 이 때 분석하였다. (7) 파괴강도, 변형값 및 켈강도는 Okada(1964)의 방법에 따라 실린더형의 시료 ($\text{Ø}1.8 \times 2.0$ cm)를 수직으로 세워 Rheometer(EZ-test, Shimadzu, Japan)에 구형 plunger No. 5($\text{Ø}5$ mm)를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 파괴강도(breaking force, max. weight, g), 변형값(deformation, distance, mm) 및 켈 강도(g)를 측정하였다.
- 제품의 색은 단면 부위를 Chromameter(CR-400, Minolta Co., Japan)를 사용하여 동일한 시료를 9회 반복 측정하였으며, 백색도(W)는 $L^* - 3b^*$ 로 계산하였다. 이때 표준색판은 $L^* = 89.2$, $a^* = 0.921$, $b^* = 0.783$ 으로 하였다.
- Myoglobin 및 met-myoglobin 함량은 Chen(2002)의 방법에 따라 시료 5 g에 10 mL의 0.01 M phosphate(sodium)완충액 (pH 6.3)을 가하고 tissue homogenizer로 8000 rpm에서 20초 동안 마쇄한 후 4°C에서 1시간 Stirring한 후 원심분리(7000×g, 30분)한다. 잔사에 10 mL의 같은 완충액을 첨가하여 같은 방법으로 myoglobin을 추출하고 상층액을 모두 모아 25 mL로 정용하여 Whatman No. 44와 0.20 μm 의 membrane filter로 차례로 여과하여 분광광도계(Uvikon 922, Kontron Instruments, Italy)로 525 nm, 572 nm 및 700 nm에서 각각 흡광도를 측정하여 다음 식에 따라 myoglobin의 함량 및 met-myoglobin 비율을 계산하였다.

$$\text{Mb}(\text{mg/g}) = (A_{525} - A_{700}) \times 2.303 \times \text{dilution factor}$$

$$\text{Met-Mb}(\%) = (1.395 - [(A572 - A700)/(A525 - A700)] \times 100$$

- 수분활성도는 시료를 균질한 후 a_w 측정기(LKM200A, Lokas Co., Korea)로 25 °C에서 수분 분압에 의한 항량이 될 때를 상대습도 값으로 측정하였으며 각 시료의 반복된 평균값으로 나타내었다.
- 지방산패도 값인 TBARS(thiobarbituric acid reactive substances)는 Buege와 Aust(1978)의 방법에 따라 시료 5 g에 butylated hydroxyanisole(BHA) 50 μ L와 증류수 15mL를 첨가하여 균질화 시킨 후 균질액 1mL를 시험관에 넣고 여기에 2mL thiobarbituric acid(TBA)/trichloroacetic acid(TCA) 혼합용액을 넣어 완전히 혼합한 다음, 90°C의 항온수조에서 15분간 열처리한 후 냉각시켜 3,000 rpm에서 10분간 원심분리시켰다. 원심분리한 시료의 상층을 회수하여 531 nm에서 측정한 흡광도에 5.88을 곱하여 mg MA(malonaldehyde)/kg으로 나타내었다.
- 휘발성염기태질소화합물 즉, VBN(volatilic basic nitrogen)은 高坂(1975)의 방법에 따라 세절육 3 g에 증류수 27 mL를 가하여 14,000 rpm에서 30초간 균질한 후 균질액을 여과지(Whatman No. 1)로 여과하였다. 여과된 균질액은 conway unit 접착부에 glycerin을 바르고 외실에 여과액 1 mL를 넣고 내실에는 0.01 N H_3BO_3 1mL와 지시약(0.066% methyl red+0.066% bromocresol green)을 3방울(30 μ L) 가하여 뚜껑을 닫은 후 50% K_2CO_3 1mL를 외실에 신속히 주입하였다. 주입이 끝난 용기는 밀폐시킨 다음 용기를 수평으로 교반하여 여과액과 50% K_2CO_3 을 잘 혼합시킨 후 37°C에서 120분간 배양하였다. 배양 후 0.02 N H_2SO_4 로 내실의 붕산용액을 측정하여 mg%로 나타내었다.

$$\text{VBN}(\text{mg}\%) = 0.28 \times (a-b) \times F \times 100 / 0.1$$

a : 본시험 적정치(mL), b : 공시험 적정치(mL), F : 0.02 N H_2SO_4 factor

- 지방산 조성은 시료 10 g을 이용하여 Folch 등(1957)의 방법으로 조지방을 추출하고, 추출된 조지방 시료에 chloroform 1mL를 넣어 녹인 다음, 이 중 100 μ L를 취하여 20 mL tube에 넣는다. 이때 1 mL의 methylation (methanolic-HCl-3 N) 시약을 넣고 항온수조에서 60°C로 40분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 방냉시키고, hexane 3 mL와 증류수 8 mL를 넣고 강하게 섞어준 다음 시료를 24시간 방치하여 층분리시키고 상층액 중 1 μ L를 주입하여 GC(HP 6890, Tekmar Precert, Agilent Co., USA)를 이용하여 분석하였다.
- 아미노산 조성은 AOAC(2000) 방법에 따라 시료 약 0.02 g에 6 N HCl 15 mL를 가하여, 110°C dry oven에서 24시간 이상 동안 산가수분해한 후 55°C Water bath에서 감압농축하여 pH 2.20 sodium citrate buffer로 25 mL Volumetric flask에 정용하여 아미노산자동분석기(Biochrom 20, Pharm Tek, England)를 이용하여 분석하였다.
- 관능검사는 잘 훈련된 10명의 요원에 의해 신선육과 가열육을 대상으로 9점 척도법으로 실시하였으며, 1점은 매우 나쁘거나 낮음(extremely bad or slight), 9점은 매우 좋거나 강함(extremely good or much)으로 표시하게 하여 관능검사를 실시하였다.

- 이상의 실험에서 얻어진 결과는 SAS(2002)의 GLM(General linear model) 방법으로 분석하였으며, 처리 평균 간의 비교를 위해 Duncan의 Multiple range test가 이용하였다.

(2) 결과 및 고찰

Table 52는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 일반성분을 나타낸 것으로 염용성단백질 함량은 대조구에 비하여 세 처리구 모두 유의적으로 높게 나타났다. Mb함량과 Met-Mb 함량은 처리 간에 차이를 보이지 않았다.

Table 52. Proximate compositions of cremi contained different levels of spent layer breast meat (%)

Treatments ¹⁾	Salt soluble protein	Mb (mg/g)	Met-Mb (%)
C	7.07±0.18 ^B	0.39±0.00	0.47±0.01
T1	7.95±0.28 ^A	0.39±0.00	0.47±0.01
T2	7.84±0.38 ^A	0.39±0.00	0.47±0.00
T3	7.93±0.36 ^A	0.39±0.01	0.46±0.01
T4	8.07±0.54 ^A	0.39±0.00	0.46±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

Table 53. Meat surface color of cremi stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
L*	C	79.34±0.46	78.97±0.39 ^{CD}	79.14±0.42 ^B
	T1	79.91±0.43 ^a	78.69±0.56 ^{Db}	79.00±0.40 ^{Bab}
	T2	79.60±0.16 ^b	79.67±0.33 ^{BCb}	80.24±0.22 ^{Aa}
	T3	79.98±0.99	80.98±0.26 ^A	80.34±0.87 ^A
	T4	80.21±0.79	80.11±0.66 ^B	81.17±0.64 ^A
a*	C	-2.30±0.05 ^b	-1.78±0.14 ^{Aa}	-1.75±0.11 ^a
	T1	-2.36±0.05 ^c	-1.76±0.06 ^{Aa}	-1.86±0.02 ^b
	T2	-2.31±0.08 ^b	-1.79±0.17 ^{Aa}	-1.92±0.03 ^a
	T3	-1.90±0.75	-2.04±0.06 ^B	-1.90±0.09
	T4	-2.43±0.06 ^b	-1.94±0.10 ^{ABa}	-1.82±0.09 ^a
b*	C	8.26±0.05 ^{Ca}	7.58±0.32 ^{Cb}	7.69±0.17 ^{Db}
	T1	9.55±0.14 ^B	9.57±0.44 ^B	9.37±0.10 ^C
	T2	12.11±0.34 ^{Aa}	11.40±0.34 ^{Ab}	11.42±0.03 ^{Ab}
	T3	11.81±0.38 ^{Aa}	11.31±0.12 ^{Ab}	10.88±0.11 ^{Bb}
	T4	11.90±0.15 ^{Aa}	11.37±0.19 ^{Ab}	11.19±0.24 ^{Ab}
W ²⁾	C	54.57±0.59 ^{Ab}	56.24±0.81 ^{Ab}	56.06±0.58 ^{Aa}
	T1	51.27±0.34 ^B	49.97±1.25 ^B	50.88±0.19 ^B
	T2	43.27±1.11 ^{Cb}	45.48±1.02 ^{Ca}	45.98±0.23 ^{Da}
	T3	44.54±2.10 ^C	47.06±0.48 ^C	47.69±0.77 ^C
	T4	44.52±1.24 ^{Cb}	46.00±0.85 ^{Ca}	47.60±1.06 ^{Ca}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

²⁾ $W = L^* - 3b^*$

Table 53은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 제품의 색을 나타낸 것으로 L^* 값은 대조구보다 처리구들이 같거나 높게 나타났다. 저장기간 경과로 차이를 보이지는 않았다. a^* 값은 대조구보다 같거나 낮게 나타났으며, 저장기간 중 증가하는 경향을 나타내었다. b^* 값은 대조구에 비하여 모든 처리구들이 유의적으로 높게 나타났으며, 저장기간 경과로 감소하는 결과였다. W 값은 대조구에 비하여 모든 처리구들이 유의적으로 낮게 나타났으며, 저장기간 경과로 증가하는 결과였다.

Table 54. Gel characteristics of cremi stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Breaking force (g)	C	165.33±17.56 ^B	149.00±21.63 ^B	185.00±10.00 ^B
	T1	131.33±12.90 ^C	154.00±20.81 ^B	162.33±7.51 ^C
	T2	211.33±12.90 ^A	223.33±12.58 ^A	239.67±17.50 ^A
	T3	157.33±12.70 ^{BC}	168.33±10.41 ^{BC}	179.00±13.89 ^{BC}
	T4	151.33±15.04 ^{BC}	166.33±17.93 ^B	159.00±3.61 ^C
Deformation (mm)	C	6.61±0.23 ^{Bb}	9.77±0.38 ^{Ba}	6.82±0.53 ^{Bb}
	T1	6.22±0.55 ^{BCb}	12.87±0.80 ^{Aa}	6.99±0.31 ^{Bb}
	T2	10.74±0.25 ^{Aa}	8.62±0.28 ^{Bb}	9.12±0.83 ^{Aa}
	T3	5.51±0.78 ^{Cc}	12.06±1.38 ^{Aa}	7.49±0.23 ^{Bb}
	T4	6.41±0.31 ^{BCc}	12.97±0.28 ^{Aa}	7.64±0.87 ^{Bb}
Gel strength (g/cm ²)	C	843.54±89.59 ^B	760.21±110.37	943.88±51.02 ^B
	T1	670.07±65.80 ^C	785.72±106.16	828.23±38.29 ^C
	T2	1078.23±65.80 ^A	1139.46±64.20	1222.79±89.30 ^A
	T3	802.72±64.80 ^{BC}	858.85±53.10	913.27±70.88 ^{BC}
	T4	772.11±76.76 ^{BC}	553.47±419.97	811.23±18.39 ^C
Jelly strength (g*mm)	C	109.21±12.14 ^B	145.49±20.98 ^B	126.58±16.53 ^B
	T1	81.48±2.99 ^{Cb}	198.24±29.66 ^{Aa}	113.09±4.10 ^{Bb}
	T2	226.91±13.39 ^A	192.76±16.09 ^A	218.17±18.37 ^A
	T3	86.04±6.74 ^{Cc}	203.17±27.94 ^{Aa}	134.28±14.56 ^{Bb}
	T4	96.77±7.89 ^{BCb}	215.53±19.75 ^{Aa}	121.51±14.59 ^{Bb}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 54는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 젤특성을 나타낸 것으로 파괴강도, 변형값, 젤강도 및 젤리강도 모두 T2가 가장 높았으며 다음으로 대조구 이어서 다른 세 처리구들 순이었다. 저장기간 중 파괴강도와 젤강도는 차이가 없었다. 변형값과 젤리강도는 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 55. Texture properties of cremi stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Brittleness (kg)	C	0.10±0.01 ^B	0.11±0.03 ^B	0.11±0.01 ^A
	T1	0.09±0.01 ^B	0.09±0.01 ^B	0.08±0.01 ^C
	T2	0.13±0.01 ^{Aab}	0.13±±0.01 ^{Aa}	0.12±0.01 ^{Ab}
	T3	0.10±0.01 ^B	0.10±0.01 ^B	0.10±0.01 ^{AB}
	T4	0.09±0.02 ^B	0.10±0.01 ^B	0.09±0.01 ^{BC}
Hardness (kg)	C	0.12±0.01 ^B	0.13±0.01 ^{AB}	0.13±0.01 ^{AB}
	T1	0.11±0.01 ^{BC}	0.10±0.01 ^C	0.09±0.02 ^C
	T2	0.15±0.01 ^A	0.14±0.01 ^A	0.14±0.02 ^A
	T3	0.10±0.01 ^{BC}	0.10±0.01 ^C	0.11±0.01 ^{BC}
	T4	0.09±0.02 ^C	0.12±0.01 ^B	0.11±0.02 ^{BC}
Cohesiveness (%)	C	0.52±0.03 ^{Ba}	0.42±0.07 ^b	0.39±0.05 ^b
	T1	0.40±0.02 ^{BC}	0.50±0.20	0.42±0.07
	T2	0.45±0.02 ^{BC}	0.39±0.08	0.32±0.03
	T3	0.33±0.05 ^{Cb}	0.61±0.09 ^a	0.35±0.03 ^b
	T4	0.94±0.20 ^{Aa}	0.39±0.10 ^b	0.34±0.06 ^b
Springiness (mm)	C	1.24±0.12 ^B	1.10±0.11	1.08±0.16
	T1	1.09±0.04 ^{BC}	1.20±0.28	1.13±0.24
	T2	1.16±0.05 ^{BC}	1.05±0.09	1.01±0.11
	T3	0.99±0.20 ^{Cb}	1.43±0.09 ^a	1.01±0.12 ^b
	T4	2.10±0.11 ^A	1.05±0.09	0.99±0.15
Gumminess (kg)	C	0.06±0.01 ^B	0.06±0.01	0.05±0.01
	T1	0.04±0.00 ^C	0.06±0.02	0.04±0.01
	T2	0.07±0.00 ^B	0.05±0.02	0.05±0.01
	T3	0.03±0.01 ^{Cb}	0.06±0.01 ^a	0.04±0.01 ^b
	T4	0.09±0.02 ^{Aa}	0.05±0.02 ^b	0.04±0.02 ^b
Chewiness (kg,mm)	C	0.08±0.01 ^B	0.06±0.02	0.05±0.02
	T1	0.05±0.01 ^{CD}	0.07±0.04	0.05±0.02
	T2	0.08±0.01 ^{BC}	0.06±0.02	0.04±0.01
	T3	0.04±0.01 ^{Db}	0.09±0.01 ^a	0.04±0.01 ^b
	T4	0.18±0.04 ^{Aa}	0.05±0.02 ^b	0.04±0.02 ^b
Adhesiveness	C	0.02±0.01 ^B	0.02±±0.01	0.03±0.01
	T1	0.03±0.01 ^{Ba}	0.03±0.00 ^a	0.02±0.01 ^b
	T2	0.05±0.01 ^A	0.04±0.01	0.03±0.01
	T3	0.03±0.01 ^B	0.03±0.01	0.02±0.01
	T4	0.02±0.01 ^B	0.03±0.01	0.03±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 55는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 조직감을 나타낸 것으로 표면경도, 경도 및 부착성은 T1가 가장 높았고 다음으로 대조구에 이어 다른 세 처리구들 순이었다. 응집성, 탄력성, 검성 및 씹힘성은 T4가 가장 높았고 다음으로 대조구에 이어 다른 세 처리구들 순이었다. 저장기간 경과로 모든 항목에서 차이를 보이지 않았다.

Table 56은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 이화학적 특성을 나타낸 것으로 적외선 수분 측정기로 측정된 수분 함량 및 pH는 대조구에 비하여 모든 처리구들이 낮게 나타났으며, 저장기간 중 두 항목 모두 차이는 보이지 않았다. 전단가는 대조구에 비하여 T1은 낮고 그 외 세 처리구는 유의적으로 높게 나타났다. 저장기간 경과로 감소하다가 증가하는 경향을 나타내었다.

Table 56. Physico-chemical characteristics of cremi stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Infrared Moisture (%)	C	74.35±0.06 ^a	74.31±0.22 ^a	74.43±0.11 ^a
	T1	73.75±0.06 ^b	73.73±0.18 ^b	73.87±0.28 ^a
	T2	71.27±0.26 ^{Cd}	71.75±0.28 ^{Ae}	72.94±0.13 ^{Bb}
	T3	72.92±0.52 ^{Ac}	72.49±0.37 ^{Ad}	71.03±0.28 ^{Bc}
	T4	73.02±0.09 ^c	72.98±0.16 ^c	72.91±0.60 ^b
pH	C	7.63±0.07 ^A	7.66±0.01 ^A	7.64±0.02 ^A
	T1	7.48±0.00 ^{Ba}	7.44±0.02 ^{Bb}	7.44±0.01 ^{Bb}
	T2	7.24±0.02 ^{Ca}	7.19±0.01 ^{Cb}	7.04±0.00 ^{Dc}
	T3	7.04±0.01 ^{Db}	6.97±0.01 ^{Dc}	7.19±0.01 ^{Ca}
	T4	7.00±0.01 ^D	6.96±0.06 ^D	6.99±0.01 ^E
Shear force (kg/cm ²)	C	1.24±0.04 ^b	1.30±0.03 ^{Aab}	1.32±0.01 ^{Da}
	T1	1.26±0.03 ^a	1.05±0.03 ^{Bc}	1.21±0.01 ^{Eb}
	T2	1.23±0.03 ^b	1.06±0.01 ^{Bc}	1.40±0.00 ^{Ca}
	T3	1.22±0.02 ^b	0.96±0.01 ^{Cc}	1.44±0.02 ^{Ba}
	T4	1.24±0.03 ^b	0.97±0.01 ^{Cc}	1.53±0.01 ^{Aa}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 57. TBARS , VBN and Aw of cremi stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
TBARS (mg/100g)	C	0.36±0.01 ^D	0.35±0.02 ^C	0.34±0.01 ^C
	T1	0.39±0.02 ^{B^{Ca}}	0.39±0.00 ^{Ba}	0.36±0.01 ^{Bb}
	T2	0.41±0.01 ^{A^{Ba}}	0.42±0.01 ^{Aa}	0.36±0.01 ^{Bb}
	T3	0.43±0.03 ^{Aa}	0.40±0.01 ^{ABab}	0.38±0.01 ^{Ab}
	T4	0.38±0.01 ^{CD}	0.38±0.00 ^B	0.37±0.00 ^{AB}
VBN (mg%)	C	2.05±0.32 ^C	3.36±0.79 ^D	3.36±0.56 ^B
	T1	2.89±0.16 ^{B^{Bb}}	5.13±0.58 ^{Ca}	4.76±0.56 ^{Aa}
	T2	3.73±0.32 ^{Ac}	6.72±0.48 ^{ABa}	5.41±0.16 ^{Ab}
	T3	3.64±0.00 ^{Ab}	5.88±0.79 ^{BCa}	5.04±0.40 ^{Aa}
	T4	3.83±0.16 ^{Ac}	7.19±0.32 ^{Aa}	5.41±0.32 ^{Ab}
Aw	C	0.94±0.02	0.92±0.01	0.93±0.02
	T1	0.93±0.01	0.91±0.01	0.92±0.01
	T2	0.93±0.01	0.91±0.01	0.92±0.01
	T3	0.93±0.01	0.92±0.01	0.93±0.01
	T4	0.93±0.01 ^a	0.91±0.01 ^b	0.93±0.01 ^a

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 57은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 TBARS, VBN 및 수분활성도를 나타낸 것으로 TBARS는 T3구가 가장 높았으며 대조구가 가장 낮게 나타났다. 저장기간 경과로 감소하는 경향을 나타내었다. VBN은 대조구보다 모든 처리구들이 높게 나타났다. 저장기간 경과로 증가하는 경향을 나타내었다. A_w 는 처리 간과 저장기간 중 차이를 보이지 않았다.

Table 58. Sensory score¹⁾ of cremi stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ²⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Color	C	7.92±0.38	7.25±0.52	7.58±0.58
	T1	7.17±0.52	7.17±0.68	7.00±0.71
	T2	6.92±0.66	7.00±0.71	6.67±0.75
	T3	6.92±0.38	7.00±0.63	6.83±0.41
	T4	7.00±0.71	6.83±0.82	6.92±0.74
Aroma	C	7.92±0.66 ^A	7.25±0.52	6.83±0.93
	T1	7.58±0.49 ^B	7.00±0.77	7.42±0.38
	T2	7.67±0.41 ^B	7.17±0.68	7.00±0.55
	T3	7.58±0.80 ^B	7.17±±0.68	6.92±0.58
	T4	7.50±0.89 ^B	7.25±±0.69	6.58±0.97
Flavor	C	8.17±0.61	7.50±0.63	7.08±1.11
	T1	7.67±0.61	7.33±0.82	7.42±0.92
	T2	7.75±0.69	7.08±0.74	6.83±0.82
	T3	7.42±0.66	7.00±0.89	7.08±0.66
	T4	7.33±1.08	6.83±0.82	6.67±0.68
Springiness	C	7.83±0.88	7.42±0.49	7.25±0.61
	T1	7.25±0.61	7.17±0.82	6.92±0.80
	T2	7.42±0.58	7.31±0.75	7.00±0.84
	T3	7.42±0.86	7.08±0.74	6.83±0.68
	T4	7.25±1.04	7.00±0.89	6.58±0.66
Juiciness	C	7.75±0.88	7.50±0.45	7.08±0.80
	T1	7.42±0.74	7.42±0.58	7.08±0.80
	T2	6.92±0.86	7.25±0.69	6.42±0.49
	T3	7.08±1.16	7.08±0.66	6.75±0.61
	T4	6.58±1.02	6.83±0.68	6.50±0.45
Overall acceptability	C	8.25±0.52	7.50±0.63	7.08±1.11
	T1	7.67±0.61	7.33±0.75	7.50±0.77
	T2	7.67±0.68 ^a	7.17±0.68 ^{ab}	6.58±0.58 ^b
	T3	7.50±0.89	7.00±0.71	6.83±0.75
	T4	7.08±0.74	6.67±0.75	6.42±0.86

¹⁾ Sensory scores were assessed on 9 point scale base on 1=extremely bad or slight, 9=extremely good or much.

²⁾ Treatments are the same as in Table 51.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 58은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 관능검사 결과를 나타낸 것으로 색, 맛, 탄력성, 다즙성 및 전체적인 기호도에 있어 처리 간 저장 중 차이를 보이지 않았다. 향은 대조구에 비해 처리구들이 낮게 나타났다.

Table 59는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 지방산 조성을 나타낸 것으로 포화지방산 비율은 대조구에 비하여 T3구와 T4구는 높고, T1과 T2구는 낮게 나타났다. 단가불포화지방산 비율은 대조구와 T1은 차이를 보이지 않았으나 다른 세 처리구들은 대조구보다 높게 나타났다. 다가불포화지방산 비율은 T1이 가장 높고, 대조구에 이어 나머지 세 처리구 순이었다. 필수지방산 비율은 대조구와 T3구는 차이를 보이지 않았으나 나머지 세 처리구들은 대조구보다 높게 나타났다.

Table 59. Fatty acid composition of cremi stored at 10°C for 4 weeks (%)

Fatty acids	Treatments ¹⁾				
	C	T1	T2	T3	T4
Undecanoic acid (C11:0)	0.08±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01	0.06±0.01
Myristic acid (C14:0)	1.13±0.07 ^A	0.79±0.01 ^B	0.78±0.01 ^B	0.77±0.01 ^B	0.74±0.01 ^B
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.21±0.01 ^A	0.20±0.00 ^{AB}	0.19±0.01 ^B	0.18±0.01 ^C	0.16±0.01 ^D
Palmitic acid (C16:0)	16.45±0.36 ^B	15.52±0.00 ^C	16.70±0.06 ^B	17.39±0.04 ^A	17.32±0.08 ^A
Palmitoleic acid (C16:1)	1.68±0.15 ^A	1.24±0.03 ^B	1.32±0.01 ^B	1.37±0.01 ^B	1.34±0.03 ^B
Magaric acid (C17:0)	0.33±0.01 ^B	0.34±0.01 ^A	0.34±0.01 ^B	0.33±0.00 ^B	0.30±0.01 ^C
Magaolic acid (C17:1)	0.25±0.01 ^A	0.20±0.01 ^B	0.19±0.01 ^B	0.17±0.01 ^C	0.15±0.01 ^D
Stearic acid (C18:0)	7.10±0.07 ^A	6.84±0.08 ^B	7.08±0.13 ^A	7.24±0.05 ^A	7.16±0.07 ^A
Oleic acid (C18:1)	20.67±0.81 ^C	20.68±0.10 ^C	23.70±0.18 ^B	24.83±0.04 ^A	25.45±0.14 ^A
Linoleic acid (C18:2, n-6)	32.71±1.07 ^D	38.33±0.06 ^A	37.32±0.13 ^{BC}	36.47±0.06 ^C	37.58±0.38 ^{AB}
Linolenic acid (C18:3, n-3)	4.08±0.14 ^C	4.64±0.01 ^A	4.26±0.02 ^B	3.97±0.01 ^C	3.99±0.06 ^C
Arachidic acid (C20:0)	0.34±0.01 ^C	0.39±0.00 ^A	0.36±0.00 ^B	0.33±0.00 ^D	0.32±0.00 ^E
Eicosenoic acid (C20:1)	0.41±0.01 ^A	0.33±0.00 ^B	0.31±0.01 ^C	0.30±0.00 ^C	0.29±0.01 ^D
Eicosatrienoic acid (C20:4)	5.26±0.10 ^A	2.94±0.02 ^B	1.90±0.03 ^C	1.74±0.02 ^D	1.37±0.04 ^E
Behenic acid (C22:0)	0.28±0.01 ^C	0.32±0.00 ^A	0.30±0.00 ^B	0.27±0.00 ^D	0.27±0.01 ^D
Docosahexaenoic acid (C22:6, n-3)	8.99±0.31 ^A	7.17±0.03 ^B	5.21±0.02 ^C	4.59±0.05 ^D	3.51±0.17 ^E
SFA ²⁾	25.93±0.47 ^{BC}	24.46±0.09 ^C	25.81±0.17 ^D	26.57±0.10 ^A	26.32±0.11 ^{AB}
MUFA ²⁾	23.02±0.96 ^C	22.46±0.11 ^C	25.50±0.20 ^B	26.67±0.04 ^A	27.24±0.17 ^A
PUFA ²⁾	51.04±1.44 ^B	53.08±0.10 ^A	48.69±0.12 ^C	46.76±0.06 ^D	46.44±0.27 ^D
EFA ²⁾	42.05±1.24 ^C	45.91±0.07 ^A	43.48±0.14 ^B	42.18±0.05 ^C	42.94±0.40 ^{BC}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

²⁾ SFA (saturated fatty acid), MUFA (monounsaturated fatty acid), PUFA (polyunsaturated fatty acid), UFA (unsaturated fatty acid), EFA (essential fatty acid).

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 60은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3), 40%(T4) 대체 시 아미노산 조성을 나타낸 것으로 맛 관련 아미노산(FAA)은 다른 처리구들에 비해 T2구가 높게 나타났으며, 단맛 관련 아미노산(STAA), 쓴맛 관련 아미노산(BAA) 및 필수아미노산(EAA)은 다른 처리구들에 비해 T1구가 낮게 나타났다. 한편 방향족 아미노산(AAA)은 다른 처리구에 비해 T3구가 높고, T4구가 낮게 나타났다.

Table 60. Amino acid composition of cremi stored at 10°C for 4 weeks (%)

Amino acids	Treatments ¹⁾				
	C	T1	T2	T3	T4
Aspartic acid	9.37±0.45	9.67±0.90	10.34±0.33	10.19±0.16	10.06±1.99
Threonine ^{3) 7)}	4.36±0.34	4.42±0.18	4.51±0.04	4.61±0.04	4.91±0.47
Serine ³⁾	3.73±0.13	3.87±0.05	3.81±0.15	3.77±0.01	3.79±0.25
Glutamic acid ²⁾	16.38±0.16	16.50±0.37	18.34±0.28	17.36±0.62	17.43±1.29
Proline	6.38±1.16	10.76±7.23	5.24±0.58	5.16±0.43	4.30±0.51
Glycine ³⁾	4.56±0.89	3.81±0.52	3.90±0.03	3.90±0.04	4.25±0.06
Alanine ³⁾	6.17±0.32	5.50±0.73	5.82±0.07	5.91±0.14	5.93±0.01
Cysteine ⁴⁾	0.18±0.25	0.00±0.00	0.00±0.00	0.29±0.16	0.00±0.00
Valine ^{6) 7)}	5.79±0.54	5.10±0.68	5.32±0.06	5.35±0.20	5.66±0.42
Methionine ^{4) 6) 7)}	3.01±0.23	2.71±0.15	2.92±0.25	2.96±0.00	2.97±0.28
Isoleucine ^{6) 7)}	5.26±0.37	4.64±0.45	4.98±0.08	4.98±0.11	5.08±0.03
Leucine ⁷⁾	8.51±0.01	8.02±0.83	8.58±0.01	8.56±0.13	8.84±0.23
Tyrosine ^{5), 6)}	2.63±0.43	2.27±0.19	2.45±0.05	2.74±0.32	1.03±1.07
Phenylalanine ^{5) 6) 7)}	4.34±0.38	3.85±0.47	4.16±0.19	4.36±0.01	4.52±0.08
Histidine ^{6) 7)}	2.67±0.22	2.04±0.35	2.29±0.30	2.61±0.14	2.53±0.39
Lysine ⁷⁾	9.38±0.62	9.30±1.53	9.72±0.09	9.77±0.04	10.17±0.01
Ammonia	1.37±0.15	1.87±0.91	1.59±0.32	1.33±0.07	2.34±1.34
Arginine ^{6) 7)}	5.96±0.71	5.73±0.73	6.08±0.01	6.19±0.04	6.23±0.16
FAA ²⁾	16.38±0.16	16.50±0.37	18.34±0.28	17.36±0.62	17.43±1.29
STAA ³⁾	18.81±0.74	17.59±1.48	18.04±0.09	18.19±0.16	18.87±0.16
SAA ⁴⁾	3.19±0.02	2.71±0.15	2.92±0.25	3.25±0.15	2.97±0.28
AAA ⁵⁾	6.97±0.81	6.11±0.65	6.60±0.14	7.09±0.33	5.56±1.16
BAA ⁶⁾	29.63±0.60	26.31±3.00	28.18±0.83	29.18±0.18	28.01±1.34
EAA ⁷⁾	47.52±1.20	43.63±5.37	46.47±0.95	47.51±0.09	47.02±1.59

¹⁾ Treatments are the same as in Table 51.

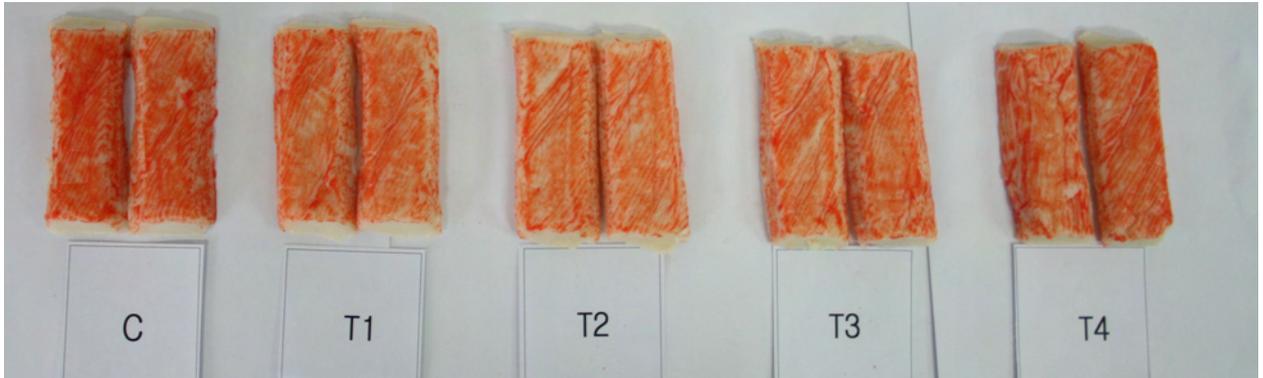
^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

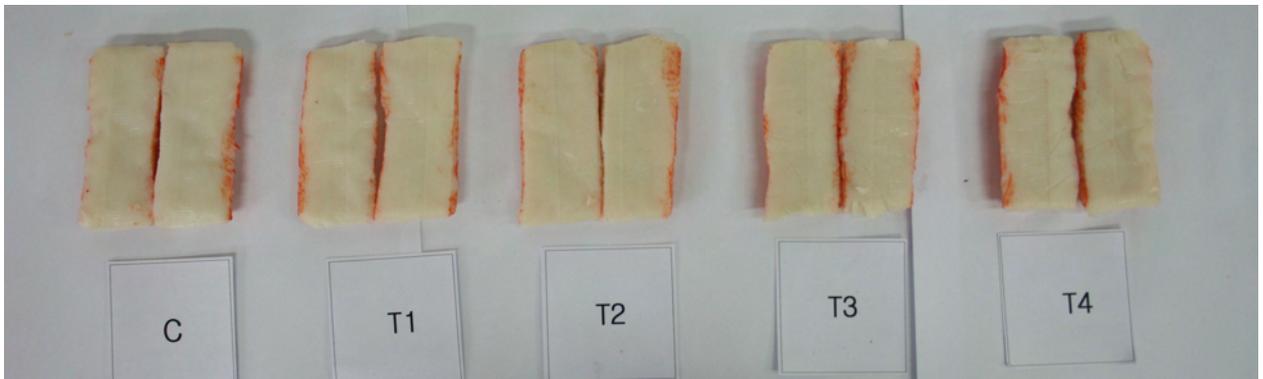
²⁾ FAA (flavorous amino acid), ³⁾ STAA (sweet taste amino acid), ⁴⁾ SAA (sulfur-containing amino acid), ⁵⁾ AAA (aromatic amino acid), ⁶⁾ BAA (bitter amino acid), ⁷⁾ EAA (essential amino acid).

(3) 커팅법으로 제조한 폐계육의 명태연육 대체 비율에 따른 현장시제 크래미

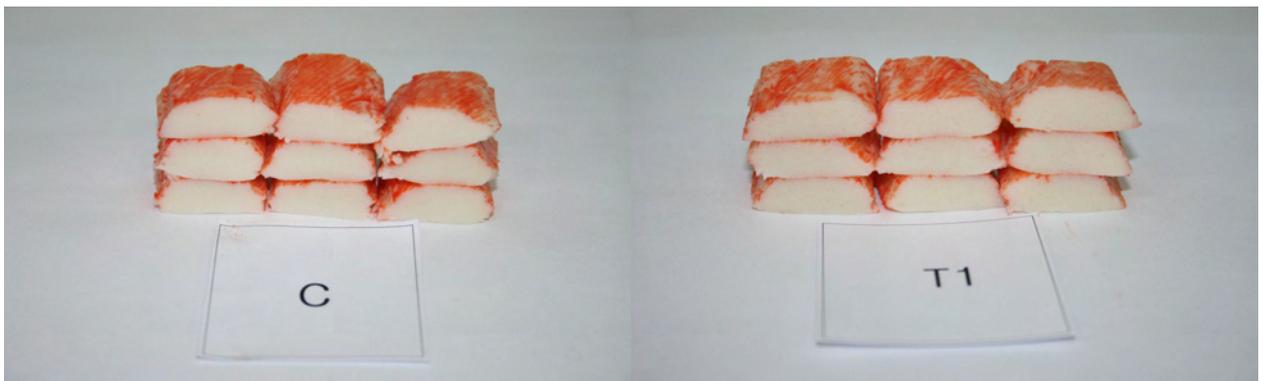
(가) 현장 시제품 앞면



(나) 현장 시제품 뒷면

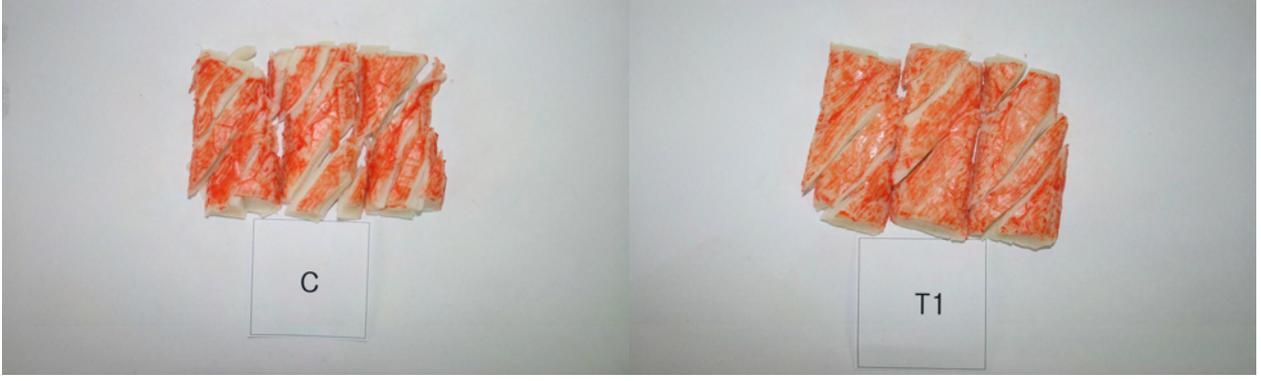


(다) 현장 시제품 단면





(라) 현장 시제품 결조직





(4) 요약

명태연육을 커팅법을 활용하여 준비한 폐계육으로 각각 0(C), 10(T1), 20(T2), 30(T3)와 40(T4)%씩 대체하여 제조한 크래미를 냉장온도에서 총 4주간 보관하며 제품의 품질과 유통기한의 설정을 위한 실험에 임하였다. 폐계육의 첨가는 크래미 제품의 황색도를 증가시켰으나, 백색도를 감소시켰으며 겉강도와 조직감의 향상을 나타내었다. 그럼에도 불구하고 관능검사에서 폐계육을 첨가하여 생산한 크래미 제품과 대조구 제품을 구분하지 못하였으며 따라서 경제성을 고려할 때 대조구의 명태 연육을 폐계 가슴살 커팅육으로 20%까지 대체(T2) 시 4주 동안의 저장은 충분히 가능하며 더 나아가 약간의 보완이 진행된다면 30% 대체(T3)까지도 현장에서 충분히 대체 가능할 것으로 판단된다.

나. 커팅법으로 제조한 폐계육의 연육 대체 비율에 따른 현장시제 유당형 어묵의 품질 특성 및 유통기한 설정

(1) 재료 및 방법

(가) 시험설계

Table 61. Experimental design and formula

원부재료명	구성비(%)			
	C	T1	T2	T3
이또요리(연육)	74.63	67.17	59.70	52.24
폐계 가슴살 커팅육	-	7.46	14.93	22.39
조미액	0.63	0.63	0.63	0.63
난백	4.72	4.72	4.72	4.72
대두단백	0.94	0.94	0.94	0.94
설탕	1.51	1.51	1.51	1.51
식염	1.51	1.51	1.51	1.51

MSG	0.63	0.63	0.63	0.63
조미베이스분말	0.31	0.31	0.31	0.31
소맥전분	6.30	6.30	6.30	6.30
물	8.82	8.82	8.82	8.82
합계	100	100	100	100

유당형 어묵의 제조는 폐계 가슴살 커팅육의 함량을 각각 T1 = 7.46, T2 = 14.93과 T3 = 22.39로 달리하며 제조하였다.

(나) 시험 목적: 기존 어묵 제조시 사용되는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육의 대체 비율을 달리(0, 10, 20, 30%)하여 유당 어묵 현장시제 시 그 품질 특성과 유통기한을 설정하는데 있다.

(다) 어묵의 제조

① 폐계 가슴살 커팅육 제조: Silent cutter를 활용하여 8분간 cutting 후 이용하였다.

② 어묵 제조방법

- 원부재료 준비

- 유회: Silent cutter를 활용하여 연육 및 계육 + 소금 및 설탕 첨가 후 2분 커팅 + 조미액 및 난백액 첨가 1분 30초 커팅 + 기타 분말(대두단백, MSG, 조미베이스분말) 및 전분 첨가 1분 30초 커팅 + 물 첨가 1분 30초 커팅 총 6분 30초 커팅

- 성형: 지름 3cm 노즐 활용 충전

- 튀김 및 탈유: 175°C/6분 유당 후 탈유

- 냉각: 중심온도 15°C 이하

- 진공포장

- 열탕살균: 90°C/50분

- 냉각: 중심온도 10°C 이하

③ 저장시험 조건: 진공포장, 10°C, 6주간

④ 조사항목 및 방법: 상기 실험 “가”와 동일

(2) 결과 및 고찰

Table 62는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 일반성분을 나타낸 것으로 대체 비율이 증가할수록 수분함량은 감소하고 조지방 및 콜레스테롤 함량은 증가하였으며, 조단백질과 조회분 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 어육이 재료인 연육에 비해 계육에 함유된 지방 함량이 높기 때문인 것으로 판단된다.

저장기간 경과로 조지방 함량은 증가하였으며, T3구의 경우 수분 함량은 감소하는 반면 조회분 함량은 증가하였다. 조단백질 및 콜레스테롤 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 62. Proximate compositions of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks (%)

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)	
		0	6
Moisture	C	70.01±0.08 ^A	69.73±0.17 ^A
	T1	69.86±0.21 ^A	69.79±0.13 ^A
	T2	69.74±0.10 ^A	69.25±0.13 ^B
	T3	69.29±0.14 ^{Ba}	68.67±0.30 ^{Cb}
Crude protein	C	18.59±0.54	18.66±0.45
	T1	17.79±0.76	18.47±0.01
	T2	18.16±0.17	18.82±0.32
	T3	18.42±0.25	19.09±0.08
Crude fat	C	0.80±0.06 ^{Cb}	1.03±0.08 ^{Ca}
	T1	0.80±0.02 ^{Cb}	1.10±0.04 ^{Ca}
	T2	1.09±0.06 ^{Bb}	1.20±0.01 ^{Ba}
	T3	1.23±0.04 ^{Ab}	1.36±0.04 ^{Aa}
Crude ash	C	0.75±0.09	0.62±0.02 ^B
	T1	0.74±0.04	0.56±0.13 ^B
	T2	0.76±0.13	0.71±0.03 ^B
	T3	0.82±0.05 ^b	1.00±0.09 ^{Aa}
Cholesterol (mg/100g)	C	16.68±0.01 ^{Cb}	17.43±0.11 ^a
	T1	17.94±0.33 ^B	17.95±0.26
	T2	18.02±0.44 ^B	17.88±0.46
	T3	21.19±0.01 ^{Aa}	18.63±0.39 ^b

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 63은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 제품의 색을 나타낸 것으로 대체 비율이 증가할수록 명도, 적색도, 황색도, C값은 증가한 반면 백색도 및 h값은 감소하였다. 이는 연육에 비해 폐계 가슴살 커팅육의 적색도가 높기 때문인 것으로 판단된다.

저장기간 경과로 명도의 모든 처리구들과 적색도의 대조구 및 T1은 증가후 감소하였다. 적색도의 T2와 T3 및 백색도는 증가한 반면 황색도와 C값은 감소하였다. h값은 감소 후 증가하였다.

Table 64는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 젤 특성을 나타낸 것으로 파괴강도는 주로 단백질의 양과 정의 상관관계가 있으며, 변형값은 단백질의 질과 정의 상관관계가 있다. 처리 간에는 파괴강도와 젤강도는 대조구보다 처리구들이 낮게 나타났으며, 변형값과 젤리강도는 대체비율이 증가할수록 낮게 나타났다.

저장기간 경과로 파괴강도와 젤강도는 증가하는 반면 변형값은 감소하였다. 젤리강도는 일정한 경향을 보이지 않았다.

Table 63. Color of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
L*	C	75.74±0.25 ^{Bb}	76.79±0.28 ^{ABa}	77.16±0.42 ^{Ba}	76.43±0.59 ^{CaB}
	T1	76.31±0.31 ^{Bb}	76.04±0.62 ^{Bb}	78.14±0.52 ^{Aa}	76.94±0.36 ^{BCb}
	T2	77.08±0.68 ^A	77.29±0.70 ^A	77.90±0.18 ^A	77.48±0.21 ^{AB}
	T3	77.35±0.22 ^{Ac}	77.72±0.24 ^{Abc}	78.53±0.30 ^{Aa}	77.91±0.25 ^{Ab}
a*	C	-6.98±0.06 ^{Bc}	-2.97±0.05 ^{Ba}	-3.05±0.01 ^{Cb}	-3.11±0.04 ^{Bb}
	T1	-7.02±0.06 ^{Bc}	-3.08±0.03 ^{Bb}	-2.86±0.18 ^{Ba}	-3.11±0.05 ^{Bb}
	T2	-6.94±0.12 ^{Bb}	-2.99±0.09 ^{Ba}	-2.87±0.05 ^{Ba}	-3.05±0.11 ^{Ba}
	T3	-6.68±0.08 ^{Ab}	-2.65±0.08 ^{Aa}	-2.59±0.05 ^{Aa}	-2.69±0.13 ^{Aa}
b*	C	10.65±0.04 ^{Da}	6.13±0.07 ^{Db}	6.24±0.11 ^{Db}	5.78±0.06 ^{Dc}
	T1	11.47±0.15 ^{Ca}	6.85±0.19 ^{Cb}	6.97±0.47 ^{Cb}	6.98±0.10 ^{Cb}
	T2	12.97±0.16 ^{Ba}	8.38±0.13 ^{Bb}	8.46±0.09 ^{Bb}	8.26±0.12 ^{Bb}
	T3	13.79±0.30 ^{Aa}	9.27±0.02 ^{Ab}	9.24±0.14 ^{Ab}	9.09±0.14 ^{Ab}
W ²⁾	C	43.78±0.26 ^{Ab}	58.41±0.50 ^{Aa}	58.43±0.51 ^{Aa}	59.08±0.48 ^{Aa}
	T1	41.90±0.76 ^{Bc}	55.48±0.59 ^{Bb}	57.22±1.09 ^{Aa}	56.01±0.63 ^{Bab}
	T2	38.18±0.29 ^{Cb}	52.15±0.48 ^{Ca}	52.51±0.43 ^{Ba}	52.70±0.45 ^{Ca}
	T3	35.97±0.82 ^{Db}	49.90±0.22 ^{Da}	50.81±0.48 ^{Ca}	50.63±0.23 ^{Da}
C	C	12.74±0.06 ^{Da}	6.81±0.09 ^{Db}	6.95±0.10 ^{Db}	6.56±0.05 ^{Dc}
	T1	13.45±0.11 ^{Ca}	7.52±0.16 ^{Cb}	7.54±0.47 ^{Cb}	7.63±0.11 ^{Cb}
	T2	14.71±0.18 ^{Ba}	8.90±0.14 ^{Bb}	8.94±0.09 ^{Bb}	8.80±0.15 ^{Bb}
	T3	15.33±0.26 ^{Aa}	9.65±0.01 ^{Ab}	9.59±0.14 ^{Ab}	9.49±0.10 ^{Ab}
h	C	123.23±0.19 ^{Aa}	115.87±0.14 ^{Ac}	116.04±0.34 ^{Ac}	118.21±0.36 ^{Ab}
	T1	121.47±0.52 ^{Ba}	114.07±0.56 ^{Bb}	112.34±1.46 ^{Bc}	114.01±0.15 ^{Bb}
	T2	118.15±0.35 ^{Ca}	109.61±0.52 ^{Cb}	108.72±0.38 ^{Cc}	110.26±0.45 ^{Cb}
	T3	115.86±0.55 ^{Da}	105.92±0.46 ^{Db}	105.64±0.38 ^{Db}	106.49±0.94 ^{Db}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

²⁾ W = L* - 3b*

Table 64. Gel characteristics of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Breaking force (g)	C	463.00±10.39 ^{Ab}	495.00±10.00 ^{Ab}	478.00±12.77 ^{Ab}	536.33±26.95 ^{Aa}
	T1	374.00±21.52 ^{BCb}	367.33±21.59 ^{Cb}	453.00±1.73 ^{Aa}	439.00±6.56 ^{Ba}
	T2	379.67±7.51 ^B	408.00±20.07 ^B	382.33±20.53 ^B	357.00±26.46 ^C
	T3	344.67±22.50 ^{Cc}	378.00±6.56 ^{Cb}	406.67±12.58 ^{Bab}	411.33±17.93 ^{Ba}
Deformation (mm)	C	7.51±0.21 ^{Ab}	8.34±0.30 ^{Aa}	7.17±0.29 ^{Ab}	7.64±0.26 ^{Ab}
	T1	7.41±0.06 ^{Aa}	6.77±0.21 ^{Bbc}	6.97±0.12 ^{Ab}	6.57±0.06 ^{Bc}
	T2	6.91±0.21 ^{Ba}	6.71±0.06 ^{Ba}	5.81±0.32 ^{Bb}	5.71±0.21 ^{Cb}
	T3	5.84±0.36 ^C	6.04±0.10 ^C	5.67±0.21 ^B	5.57±0.15 ^C

Gel strength (g/cm ²)	C	2358.04±52.93 ^{Ab}	2521.01±50.93 ^{Ab}	2434.43±65.02 ^{Ab}	2731.52±137.3 ^{Aa}
	T1	1904.76±109.6 ^{BCb}	1870.81±110.0 ^{Cb}	2307.10±8.82 ^{ABa}	2235.80±33.40 ^{Ba}
	T2	1933.62±38.22 ^B	2077.92±102.2 ^B	2023.60±234.3 ^C	1818.18±134.7 ^C
	T3	1755.37±114.6 ^{Cc}	1925.13±33.39 ^{Cb}	2071.13±64.09 ^{BCab}	2094.90±91.29 ^{Ba}
Jelly strength (g*mm)	C	347.52±10.46 ^{Ab}	412.73±12.97 ^{Aa}	343.07±21.40 ^{Ab}	409.35±11.17 ^{Aa}
	T1	276.94±14.13 ^{Bb}	249.09±21.87 ^{BCc}	315.90±5.92 ^{Aa}	288.57±5.26 ^{Bb}
	T2	262.32±12.96 ^{Ba}	273.70±15.58 ^{Ba}	231.43±37.19 ^{Bab}	203.36±7.96 ^{Db}
	T3	200.76±3.74 ^{Cb}	228.27±0.50 ^{Ca}	230.88±15.26 ^{Ba}	229.42±16.13 ^{Ca}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 65는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 조직감을 나타낸 것으로 처리 간에는 표면경도와 경도의 경우 대조구보다 처리구들이 낮게 나타난 반면 응집성, 탄력성, 검성 및 씹힘성은 높게 나타났다. 부착성은 대체비율이 증가할수록 증가하였다.

저장기간 경과로 표면경도는 증가하는 반면 응집성, 탄력성, 검성 및 씹힘성은 감소하였다. 경도와 부착성은 일관성 있는 변화가 없었다.

Table 65. Texture properties of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Brittleness (kg)	C	0.25±0.01 ^{Ab}	0.25±0.02 ^b	0.28±0.02 ^{Aa}	0.31±0.02 ^{Aa}
	T1	0.23±0.02 ^{ABab}	0.26±0.00 ^a	0.20±0.01 ^{Bb}	0.26±0.03 ^{Ba}
	T2	0.21±0.00 ^{ABc}	0.25±0.01 ^b	0.27±0.01 ^{Aa}	0.27±0.01 ^{Ba}
	T3	0.23±0.00 ^{Bb}	0.24±0.01 ^b	0.27±0.00 ^{Aa}	0.25±0.02 ^{Bab}
Hardness (kg)	C	0.25±0.01 ^{Aa}	0.20±0.04 ^{Bb}	0.28±0.02 ^{Aa}	0.27±0.01 ^{Aa}
	T1	0.23±0.02 ^{ABb}	0.26±0.00 ^{Aa}	0.18±0.01 ^{Cc}	0.23±0.02 ^{Bb}
	T2	0.21±0.00 ^B	0.21±0.02 ^B	0.22±0.03 ^B	0.23±0.01 ^B
	T3	0.20±0.03 ^B	0.18±0.01 ^B	0.20±0.02 ^{BC}	0.21±0.01 ^C
Cohesiveness (%)	C	1.48±0.12 ^{Cb}	0.57±0.04 ^{Bc}	1.66±0.03 ^{Aa}	0.49±0.02 ^{Bc}
	T1	1.79±0.09 ^{Ba}	1.68±0.06 ^{Aa}	0.56±0.07 ^{Bb}	0.65±0.06 ^{Ab}
	T2	2.35±0.28 ^{Aa}	0.57±0.03 ^{Bb}	0.56±0.01 ^{Bb}	0.58±0.03 ^{Ab}
	T3	0.63±0.02 ^{Da}	0.62±0.01 ^{Ba}	0.57±0.03 ^{Bb}	0.58±0.03 ^{Ab}
Springiness (mm)	C	2.54±0.26 ^{Ca}	1.06±0.06 ^{Bb}	2.70±0.12 ^{Aa}	1.02±0.02 ^b
	T1	2.84±0.05 ^{Ba}	2.33±0.12 ^{Ab}	1.00±0.00 ^{Bc}	1.17±0.14 ^c
	T2	3.14±0.07 ^{Aa}	1.00±0.01 ^{Bb}	1.00±0.00 ^{Bb}	1.00±0.00 ^b
	T3	1.06±0.07 ^D	1.03±0.03 ^B	1.01±0.02 ^B	1.00±0.00

Gumminess (kg)	C	0.36±0.02 ^{Bb}	0.15±0.01 ^{Bc}	0.47±0.04 ^{Aa}	0.16±0.01 ^c
	T1	0.41±0.03 ^{Ba}	0.44±0.02 ^{Aa}	0.11±0.02 ^{Bc}	0.17±0.04 ^b
	T2	0.49±0.06 ^{Aa}	0.14±0.01 ^{Bb}	0.15±0.01 ^{Bb}	0.15±0.02 ^b
	T3	0.14±0.01 ^C	0.15±0.00 ^B	0.15±0.01 ^B	0.14±0.02
Chewiness (kg,mm)	C	0.93±0.12 ^{Cb}	0.16±0.02 ^{Bc}	1.28±0.03 ^{Aa}	0.16±0.01 ^c
	T1	1.18±0.09 ^{Ba}	1.03±0.10 ^{Ab}	0.11±0.02 ^{Cc}	0.20±0.06 ^c
	T2	1.55±0.22 ^{Aa}	0.14±0.01 ^{Bb}	0.15±0.01 ^{Bb}	0.15±0.02 ^b
	T3	0.15±0.02 ^D	0.15±0.01 ^B	0.15±0.01 ^B	0.14±0.02
Adhesiveness	C	0.07±0.01 ^C	0.09±0.01 ^{BC}	0.08±0.01 ^B	0.08±0.01 ^{BC}
	T1	0.07±0.01 ^C	0.08±0.01 ^C	0.09±0.01 ^{AB}	0.07±0.01 ^C
	T2	0.09±0.01 ^B	0.09±0.01 ^{AB}	0.10±0.01 ^A	0.10±0.01 ^{AB}
	T3	0.10±0.00 ^A	0.10±0.01 ^A	0.11±0.01 ^A	0.11±0.01 ^A

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 66은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 이 화학적 특성을 나타낸 것으로 처리 간에 수분의 경우 T3가 다른 세 처리구들에 비해 낮게 나타났다. pH의 경우 대체비율이 증가할수록 감소하였는데 이는 연육보다 폐계 가슴살 커팅육의 pH가 낮기 때문인 것으로 판단된다. 전단가의 경우 대조구가 처리구들보다 높게 나타났다. 저장기간 경과로 수분은 감소하는 반면 전단가는 증가하였다. pH는 2주까지 증가 후 감소하였다.

Table 66. Physico-chemical characteristics of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Moisture (%)	C	70.01±0.08 ^{Aab}	70.18±0.19 ^{Aa}	69.77±0.13 ^{Bb}	69.73±0.17 ^{Ab}
	T1	69.86±0.21 ^A	70.17±0.27 ^A	70.02±0.10 ^A	69.79±0.13 ^A
	T2	69.74±0.10 ^{Aa}	69.40±0.10 ^{Ab}	69.71±0.02 ^{Ba}	68.67±0.30 ^{Cc}
	T3	69.29±0.14 ^B	68.34±0.89 ^B	69.35±0.04 ^C	69.25±0.13 ^B
pH	C	7.52±0.01 ^{Ab}	7.59±0.03 ^{Aa}	7.28±0.02 ^{Ac}	7.04±0.01 ^{Ad}
	T1	7.28±0.01 ^{Bb}	7.37±0.02 ^{Ba}	7.04±0.03 ^{Bc}	6.96±0.02 ^{Bd}
	T2	7.09±0.01 ^{Cb}	7.20±0.04 ^{Ca}	6.90±0.01 ^{Cc}	6.79±0.02 ^{Cd}
	T3	6.95±0.01 ^{Db}	7.04±0.01 ^{Da}	6.76±0.00 ^{Dc}	6.66±0.01 ^{Dd}
Shear force (kg/cm ²)	C	1.35±0.02 ^{Ac}	1.43±0.02 ^{Bb}	1.45±0.03 ^{Ab}	1.51±0.01 ^{Aa}
	T1	1.24±0.02 ^{Bc}	1.55±0.03 ^{Aa}	1.13±0.01 ^{Cd}	1.42±0.02 ^{Bb}
	T2	1.13±0.02 ^{Cc}	1.30±0.01 ^{Da}	1.25±0.02 ^{Bb}	1.26±0.01 ^{Cb}
	T3	1.11±0.03 ^{Cc}	1.39±0.03 ^{Ca}	1.24±0.01 ^{Bb}	1.25±0.01 ^{Cb}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 67은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 TBARS, VBN 및 수분활성도를 나타낸 것으로 대체 비율이 증가할수록 TBARS는 증가하였으며, VBN의 경우 T3가 다른 세 구들에 비해 높게 나타났다. 수분활성도는 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 네 처리구 모두 TBARS 및 VBN은 증가하였으며 수분활성도는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 67. TBARS , VBN and A_w of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
TBARS (mg/100g)	C	0.39±0.03 ^{Cc}	2.34±0.23 ^a	2.07±0.10 ^{Bb}	2.07±0.05 ^{Cb}
	T1	0.43±0.03 ^{Cb}	2.27±0.09 ^a	2.18±0.06 ^{Ba}	2.16±0.14 ^{Ca}
	T2	0.51±0.03 ^{Bc}	2.62±0.06 ^a	2.57±0.01 ^{Aab}	2.49±0.09 ^{Bb}
	T3	0.59±0.00 ^{Ac}	2.59±0.22 ^b	2.59±0.13 ^{Ab}	2.96±0.03 ^{Aa}
VBN(mg%)	C	7.79±0.00 ^{Bb}	8.82±0.14 ^{ABb}	8.45±0.21 ^{Cb}	35.50±2.18 ^a
	T1	8.07±0.28 ^{Bb}	7.07±1.09 ^{Bb}	8.45±0.21 ^{Cb}	38.83±5.75 ^a
	T2	8.30±0.08 ^{Bb}	8.53±1.51 ^{Bb}	8.87±0.21 ^{Bb}	40.67±4.51 ^a
	T3	10.22±0.58 ^{Ab}	10.83±1.07 ^{Ab}	10.13±0.16 ^{Ab}	42.74±4.86 ^a
A_w	C	0.92±0.01	0.93±0.02	0.92±0.01	0.91±0.00
	T1	0.92±0.01	0.92±0.01	0.92±0.01	0.91±0.01
	T2	0.90±0.01	0.90±0.01	0.92±0.01	0.91±0.00
	T3	0.91±0.01	0.91±0.01	0.92±0.01	0.92±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 68은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 관능검사 결과를 나타낸 것으로 처리 간 및 저장기간 경과로 색, 향, 맛, 다즙성 및 전체적 기호도는 차이를 보이지 않았으나 탄력성은 대조구보다 처리구들이 낮게 나타났다.

Table 68. Sensory score¹⁾ of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ²⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Color	C	7.92±0.38	7.83±0.52	7.67±0.41 ^A	7.58±0.38
	T1	7.75±0.61	7.67±0.41	7.17±0.26 ^B	7.33±0.26
	T2	7.58±0.66	7.58±0.38	7.08±0.20 ^B	7.67±0.41
	T3	7.58±0.66	7.58±0.38	7.08±0.20 ^B	7.33±0.26
Aroma	C	7.50±0.63	7.08±0.20	7.42±0.58	7.42±0.58
	T1	7.58±0.58	7.17±0.61	7.17±0.41	7.50±0.45
	T2	7.75±0.42	7.00±0.55	7.08±0.58	7.42±0.38
	T3	7.83±0.41	7.08±0.49	7.25±0.61	7.50±0.45
Flavor	C	8.17±0.26	7.75±0.52	7.67±0.41	7.75±0.42
	T1	7.92±0.66	7.92±0.38	7.67±0.41	7.58±0.38
	T2	8.17±0.52	7.67±0.52	7.50±0.45	8.08±0.38

	T3	7.58±0.58	7.58±0.58	7.25±0.42	8.08±0.49
Springiness	C	8.08±0.20 ^A	8.25±0.42 ^A	8.08±0.20 ^A	8.17±0.26 ^A
	T1	7.42±0.38 ^B	8.00±0.45 ^{AB}	7.33±0.61 ^B	7.42±0.38 ^B
	T2	7.58±0.38 ^B	7.42±0.38 ^C	7.33±0.26 ^B	7.75±0.52 ^{AB}
	T3	7.17±0.52 ^{Bb}	7.75±0.27 ^{BCa}	6.92±0.38 ^{Bb}	7.33±0.52 ^{Bab}
Juiciness	C	7.92±0.20	7.58±0.38	7.58±0.49	7.58±0.58
	T1	7.67±0.41	7.75±0.42	7.58±0.38	7.67±0.52
	T2	7.83±0.41	7.58±0.38	7.50±0.32	7.67±0.61
	T3	7.50±0.63	7.67±0.61	7.50±0.32	7.58±0.49
Overall acceptability	C	8.08±0.20 ^a	7.83±0.41 ^a	8.00±0.00 ^{Aa}	7.33±0.61 ^b
	T1	7.58±0.38	8.00±0.32	7.38±0.49 ^B	7.67±0.41
	T2	7.75±0.52	7.50±0.32	7.42±0.20 ^B	7.92±0.20
	T3	7.42±0.66	7.75±0.42	7.25±0.27 ^B	7.67±0.26

¹⁾ Sensory scores were assessed on 9 point scale base on 1=extremely bad or slight, 9=extremely good or much.

²⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 69는 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 지방산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에 불포화지방산, 다가불포화지방산, 필수지방산 및 오메가 3 지방산은 대체 비율이 증가할수록 감소하였는데 이는 연육보다 폐계 가슴살 커팅육의 지방 함량이 높을뿐 아니라 지방산 조성면에서도 불포화 관련 지방산의 함량이 낮기 때문인 것으로 판단된다.

저장기간 경과로 불포화지방산, 다가불포화지방산, 필수지방산 및 오메가 3 지방산 비율은 증가하였다.

Table 69. Fatty acid composition of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks (%)

Fatty acids	Storage (weeks)	Treatments ¹⁾			
		C	T1	T2	T3
Decanoic acid (C10:0)	0	0.02±0.00 ^{Cb}	0.02±0.01 ^{Cb}	0.04±0.01 ^{Ba}	0.06±0.01 ^{Aa}
	6	0.70±0.25 ^{Aa}	0.92±0.19 ^{Aa}	0.01±0.00 ^{Bb}	0.01±0.00 ^{Bb}
Lauric acid (C12:0)	0	0.06±0.01 ^{Ca}	0.10±0.01 ^{Ba}	0.09±0.01 ^{Ba}	0.12±0.01 ^{Aa}
	6	0.04±0.00 ^b	0.06±0.01 ^b	0.06±0.00 ^b	0.05±0.02 ^b
Myristic acid (C14:0)	0	0.80±0.03 ^D	1.22±0.06 ^{Ba}	1.03±0.05 ^C	1.47±0.02 ^{Aa}
	6	0.75±0.06 ^C	1.08±0.03 ^{Ab}	0.95±0.02 ^B	1.02±0.01 ^{Ab}
Palmitic acid (C16:0)	0	16.49±0.14 ^C	19.16±0.51 ^B	19.20±0.24 ^{Ba}	22.32±0.21 ^{Aa}
	6	16.41±0.43 ^C	18.89±0.20 ^B	18.50±0.09 ^{Bb}	19.56±0.05 ^{Ab}
Palmitoleic acid (C16:1)	0	1.41±0.04 ^D	2.11±0.10 ^{Ba}	1.90±0.07 ^C	2.80±0.03 ^{Aa}
	6	1.36±0.09 ^C	1.89±0.04 ^{Ab}	1.83±0.02 ^{AB}	1.78±0.03 ^{Bb}
Magaric acid (C17:0)	0	0.43±0.02 ^D	0.64±0.04 ^B	0.49±0.01 ^C	0.71±0.02 ^{Aa}
	6	0.43±0.03 ^C	0.62±0.01 ^A	0.50±0.00 ^B	0.51±0.01 ^{Bb}
Magaolic acid (C17:1)	0	0.19±0.01 ^D	0.27±0.01 ^B	0.22±0.00 ^C	0.31±0.01 ^{Aa}
	6	0.18±0.01 ^D	0.25±0.00 ^A	0.22±0.01 ^C	0.23±0.00 ^{Bb}
Stearic acid (C18:0)	0	6.94±0.0 ^C	7.92±0.23 ^B	7.69±0.10 ^B	8.87±0.13 ^{Aa}

	6	7.05±0.17 ^C	8.01±0.14 ^A	7.69±0.06 ^B	8.05±0.06 ^{Ab}
Oleic acid (C18:1)	0	21.52±0.35 ^C	20.41±0.34 ^D	23.34±0.16 ^{Aa}	22.33±0.20 ^{Bb}
	6	21.38±0.01 ^C	20.41±0.26 ^D	22.41±0.16 ^{Bb}	23.45±0.03 ^{Aa}
Linoleic acid (C18:2, n-6)	0	43.65±0.36 ^A	39.29±0.74 ^B	37.78±0.46 ^{Cb}	32.38±0.26 ^{Db}
	6	43.45±0.88 ^A	39.24±0.39 ^B	39.42±0.30 ^{Ba}	37.02±0.13 ^{Ca}
Linolenic acid (C18:3, n-3)	0	5.67±0.06 ^A	5.12±0.10 ^B	4.57±0.07 ^{Cb}	3.88±0.04 ^{Db}
	6	5.62±0.13 ^A	5.10±0.06 ^B	4.90±0.05 ^{Ca}	4.42±0.02 ^{Da}
Arachidic acid (C20:0)	0	0.46±0.01 ^B	0.50±0.01 ^A	0.42±0.02 ^C	0.44±0.01 ^{BCa}
	6	0.47±0.01 ^A	0.48±0.02 ^A	0.43±0.01 ^B	0.41±0.02 ^{Bb}
Eicosenoic acid (C20:1)	0	0.49±0.01 ^A	0.43±0.01 ^B	0.50±0.01 ^{Ab}	0.44±0.01 ^{Bb}
	6	0.49±0.02	0.45±0.23	0.53±0.01 ^a	0.52±0.01 ^a
Eicosatrienoic acid (C20:4)	0	1.87±0.08 ^C	2.82±0.21 ^B	2.74±0.11 ^{Ba}	3.85±0.08 ^{Aa}
	6	1.90±0.12 ^C	2.62±0.12 ^B	2.56±0.00 ^{Bb}	2.97±0.05 ^{Ab}
SFA ²⁾	0	25.20±0.19 ^C	29.56±0.84 ^B	28.95±0.39 ^{Ba}	34.00±0.36 ^{Aa}
	6	25.62±0.77 ^C	30.04±0.48 ^A	28.14±0.16 ^{Bb}	29.61±0.05 ^{Ab}
MUFA ²⁾	0	23.61±0.36 ^B	23.21±0.25 ^B	25.96±0.12 ^{Aa}	25.89±0.18 ^A
	6	23.41±0.13 ^C	23.01±0.45 ^C	24.98±0.19 ^{Bb}	25.98±0.07 ^A
PUFA ²⁾	0	51.19±0.44 ^A	47.23±0.63 ^B	45.09±0.43 ^{Cb}	40.11±0.23 ^{Db}
	6	50.97±0.89 ^A	46.95±0.50 ^B	46.88±0.35 ^{Ba}	44.40±0.09 ^{Ca}
UFA ²⁾	0	74.80±0.19 ^A	70.44±0.84 ^B	71.05±0.39 ^{Bb}	66.00±0.36 ^{Cb}
	6	74.38±0.77 ^A	69.96±0.48 ^C	71.86±0.16 ^{Ba}	70.39±0.05 ^{Ca}
EFA ²⁾	0	51.19±0.44 ^A	47.23±0.63 ^B	45.09±0.43 ^{Cb}	40.11±0.23 ^{Db}
	6	50.97±0.89 ^A	46.95±0.50 ^B	46.88±0.35 ^{Ba}	44.40±0.09 ^{Ca}
UFA/SFA	0	2.97±0.03 ^A	2.38±0.09 ^B	2.46±0.05 ^{Bb}	1.94±0.03 ^{Cb}
	6	2.91±0.12 ^A	2.33±0.05 ^C	2.56±0.02 ^{Ba}	2.38±0.01 ^{Ca}
EFA/UFA	0	0.69±0.01 ^A	0.67±0.00 ^B	0.63±0.01 ^{Cb}	0.61±0.00 ^{Db}
	6	0.68±0.01 ^A	0.67±0.01 ^B	0.65±0.01 ^{Ca}	0.63±0.00 ^{Da}
n-3	0	5.67±0.06 ^A	5.12±0.10 ^B	4.57±0.07 ^{Cb}	3.88±0.04 ^{Db}
	6	5.62±0.13 ^A	5.10±0.06 ^B	4.90±0.05 ^{Ca}	4.42±0.02 ^{Da}
n-6	0	45.52±0.38 ^A	42.11±0.54 ^B	40.52±0.36 ^{Cb}	36.23±0.19 ^{Db}
	6	45.34±0.76 ^A	41.85±0.44 ^B	41.98±0.30 ^{Ba}	39.98±0.08 ^{Ca}
n-3/n-6	0	0.12±0.00 ^A	0.12±0.00 ^A	0.11±0.00 ^{Bb}	0.11±0.00 ^B
	6	0.12±0.00 ^A	0.12±0.00 ^A	0.12±0.00 ^{Aa}	0.11±0.00 ^B

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

²⁾ SFA (saturated fatty acid), MUFA (monounsaturated fatty acid), PUFA (polyunsaturated fatty acid), UFA (unsaturated fatty acid), EFA (essential fatty acid).

Table 70은 연육(C)에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 10%(T1), 20%(T2), 30%(T3) 대체 시 아미노산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에 0주 저장시에는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 6주 저장 시 필수아미노산과 쓴맛 아미노산은 T2와 T3가 대조구와 T1보다 높게 나타났다. 개별 아미노산의 경우 히스티딘은 대체비율이 증가할수록 높게 나타난 반면 세린, 트레오닌 및 아스파틱산은 대조구와 T1이 T2와 T3보다 높게 나타났다.

저장기간 경과로 트레오닌은 T1과 T2구에서 증가했으며, 아스파틱산은 T1에서 증가한 반면 이소레우신은 대조구와 T1에서 감소하였다.

Table 70. Amino acid composition of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks (%)

Amino acids	Storage (weeks)	Treatments ¹⁾			
		C	T1	T2	T3
Aspartic acid	0	10.32±0.45	10.54±0.01 ^b	9.72±0.40	9.95±0.43
	6	10.88±0.03 ^A	10.90±0.10 ^{Aa}	10.54±0.04 ^B	10.56±0.08 ^B
Threonine ^{3) 7)}	0	4.66±0.36	4.59±0.05 ^b	4.53±0.04 ^b	4.46±0.11
	6	4.87±0.01 ^A	4.83±0.00 ^{Aa}	4.70±0.01 ^{Ca}	4.75±0.02 ^B
Serine ³⁾	0	4.07±0.30	3.96±0.08	3.97±0.10	4.06±0.10
	6	4.27±0.01 ^A	4.21±0.01 ^{AB}	4.13±0.03 ^C	4.15±0.04 ^{BC}
Glutamic acid ²⁾	0	18.17±0.90	19.44±0.20	18.67±0.76	18.85±0.70
	6	19.33±0.11	18.99±0.33	18.95±0.01	18.77±0.46
Proline	0	6.09±1.54	4.58±0.16	7.35±1.03	7.01±4.62
	6	3.73±0.10	4.29±0.45	4.03±0.42	4.05±0.33
Glycine ³⁾	0	3.61±0.21	3.58±0.05	3.39±0.16	3.56±0.22
	6	3.65±0.04	3.63±0.13	3.70±0.00	3.82±0.04
Alanine ³⁾	0	5.74±0.23	5.55±0.04	5.13±0.27	5.30±0.28
	6	5.81±0.01	5.71±0.11	5.70±0.08	5.75±0.05
Cystine ⁴⁾	0	0.93±0.21	0.77±0.10	0.75±0.04	0.74±0.08
	6	0.94±0.11	0.82±0.13	0.83±0.02	0.89±0.03
Valine ^{6) 7)}	0	5.03±0.06	5.06±0.04	4.74±0.20	4.93±0.35
	6	5.01±0.00	4.90±0.08	4.91±0.01	5.00±0.02
Methionine ^{4) 6) 7)}	0	3.11±0.45	3.14±0.26	3.07±0.03	3.22±0.41
	6	2.72±0.28	2.73±0.14	2.72±0.23	2.76±0.05
Isoleucine ^{6) 7)}	0	4.69±0.02 ^a	4.79±0.04 ^a	4.58±0.11	4.76±0.41
	6	4.58±0.01 ^b	4.60±0.04 ^b	4.74±0.16	4.61±0.02
Leucine ⁷⁾	0	7.55±0.04 ^a	7.50±0.13	7.39±0.06	7.33±0.40
	6	7.35±0.03 ^b	7.38±0.05	7.53±0.11	7.36±0.06
Tyrosine ^{5) 6)}	0	3.25±0.30	3.08±0.16	3.17±0.19	2.93±0.28
	6	3.15±0.05	3.32±0.11	3.40±0.08	3.24±0.11
Phenylalanine ^{5) 6) 7)}	0	4.27±0.49	4.10±0.07	4.40±0.30	4.19±0.12
	6	4.16±0.05	4.27±0.14	4.56±0.06	4.45±0.21
Lysine ⁷⁾	0	8.60±0.30	9.40±0.04	9.06±0.05	8.80±0.52
	6	9.42±0.03	9.28±0.10	9.21±0.06	9.22±0.08
Histidine ^{6) 7)}	0	2.27±0.30	2.31±0.03	2.64±0.33	2.64±0.05
	6	2.24±0.01 ^D	2.42±0.03 ^C	2.69±0.02 ^B	2.82±0.07 ^A
Ammonia	0	1.37±0.18	1.34±0.01	1.28±0.05	1.33±0.16
	6	1.41±0.12	1.30±0.01	1.33±0.00	1.33±0.01
Arginine ^{6) 7)}	0	6.30±0.55	6.30±0.00	6.21±0.27	5.97±0.35
	6	6.52±0.03	6.45±0.18	6.37±0.01	6.52±0.02
FAA ²⁾	0	18.17±0.90	19.44±0.20	18.67±0.76	18.85±0.70
	6	19.33±0.11	18.99±0.33	18.95±0.01	18.77±0.46
STAA ³⁾	0	18.07±1.09	17.67±0.22	17.01±0.56	17.37±0.52
	6	18.59±0.04	18.38±0.22	18.23±0.12	18.46±0.15
SAA ⁴⁾	0	4.04±0.66	3.90±0.17	3.82±0.01	3.96±0.33
	6	3.66±0.18	3.55±0.01	3.55±0.25	3.65±0.02
AAA ⁵⁾	0	7.52±0.78	7.18±0.23	7.57±0.49	7.12±0.41
	6	7.30±0.00	7.59±0.25	7.96±0.15	7.69±0.33
BAA ⁶⁾	0	28.91±1.27	28.77±0.54	28.81±0.80	28.63±1.98
	6	28.36±0.30 ^B	28.69±0.19 ^{AB}	29.37±0.11 ^A	29.38±0.37 ^A
EAA ⁷⁾	0	46.46±0.99	47.17±0.42	46.62±0.56	46.28±2.72
	6	46.85±0.18 ^B	46.85±0.03 ^B	47.41±0.21 ^A	47.46±0.21 ^A

¹⁾ Treatments are the same as in Table 61.

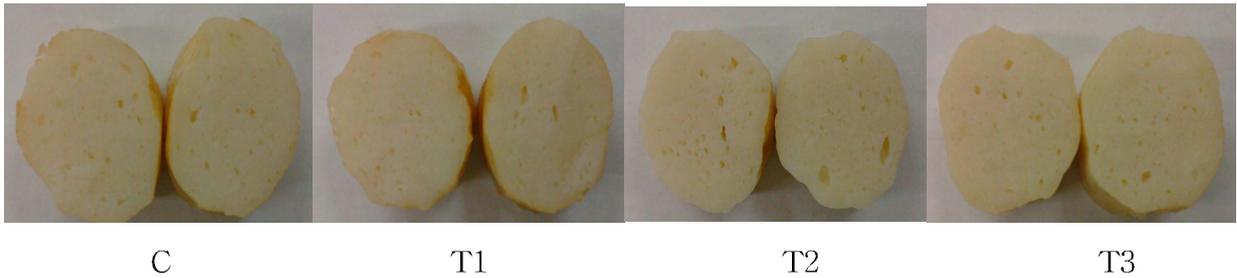
^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

²⁾ FAA (flavorous amino acid), ³⁾ STAA (sweet taste amino acid), ⁴⁾ SAA (sulfur-containing amino acid), ⁵⁾ AAA (aromatic amino acid), ⁶⁾ BAA (bitter amino acid), ⁷⁾ EAA (essential amino acid).

(3) 커팅법으로 제조한 폐계육의 연육 대체 비율에 따른 현장시제 유당형 어묵

(가) 0주차



(나) 6주차



(4) 요약

유당 어묵의 제조시 커팅법을 적용하여 준비한 폐계육의 0(C), 7(T1), 14(T2), 21(T3)% 씩의 대체는 제조한 어묵의 6주간의 냉장저장중 품질변화에 영향을 미쳤으며 특히, 폐계육의 첨가는 어묵제품의 명도와 황색도를 높인 반면 적색도와 백색도의 감소를 나타내었다. 더욱이 폐계육의 첨가는 어묵 제품의 쫄강도를 감소시켰을 뿐만 아니라 조직감에도 영향을 미치는 것으로 조사되었다. 그러나 폐계육 첨가에 의한 저장중 어묵의 품질변화는 관능검사 요원들에 의해 구분되어질 수 있는 수준의 품질변화는 아닌 것으로 조사되었으며 따라서 폐계육을 첨가하며 제조한 어묵과 대조구 어묵간의 품질을 유의적으로 구분하지 못하였다. 따라서 경제성을 고려할 때 대조구의 어묵을 폐계 가슴살 커팅육으로 약 10%까지 대체(T1)가 충분히 가능할 것으로 판단된다.

다. MDCM 추출 조미소재를 첨가한 현장시제 게맛살의 품질 특성 및 유통기한 설정

(1) 재료 및 방법

(가) 시험설계

Table 71. Experimental design and formula

원부재료명	구성비(%)			
	C	T1	T2	T3
이또요리(연육)	30.48	30.48	30.48	30.48
폐계 가슴살 커팅육	7.62	7.62	7.62	7.62
MDCM 가수분해물	-	0.50	1.00	1.50
소맥전분	18.75	18.75	18.75	18.75
정제소금	1.37	1.37	1.37	1.37
정백당	0.88	0.88	0.88	0.88
게엑기스	0.63	0.63	0.63	0.63
글루텐	0.32	0.32	0.32	0.32
대두단백	0.53	0.53	0.53	0.53
조미액	0.56	0.56	0.56	0.56
L-글루타민산나트륨	0.44	0.44	0.44	0.44
대두유	0.5	0.50	0.50	0.50
탄산칼슘	0.41	0.41	0.41	0.41
난백	0.13	0.13	0.13	0.13
카라기난	0.16	0.16	0.16	0.16
계향	0.09	0.09	0.09	0.09
씨엠이	0.16	0.16	0.16	0.16
레드칼라DW	0.09	0.09	0.09	0.09
케이텐비	0.08	0.08	0.08	0.08
글리신	0.16	0.16	0.16	0.16
G.D.L	0.19	0.19	0.19	0.19
인산염	0.19	0.19	0.19	0.19
정제수(얼음포함)	36.26	35.76	35.26	34.76
합 계	100.00	100.00	100.00	100.00

게맛살은 대조구 포함 모든 처리구 공히 폐계 가슴살 커팅육 20% 연육 대체 + 탈취 MDCM 2단 가수분해물 C(0), T1(0.5), T2(1.0), T3(1.5%) 물 대체, 연육은 이또요리 연육 활용하였다.

(나) 시험 목적: 기존 게맛살에 사용되는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 모든 처리구에 20% 대체 후 MDCM 가수분해물 첨가 수준(0, 0.5, 1.0, 1.5%)에 따른 게맛살 현장시

제 시 그 품질 특성과 유통기한을 설정하는데 있다.

(다) 게맛살의 제조

- ① 폐계 가슴살 커팅육 제조: Silent cutter를 활용하여 8분간 cutting 후 이용하였다.
- ② MDCM 가수분해물: 협동기관에서 연구 개발한 2단 가수분해 후 이취를 제거한 가수분해물을 이용하였다.
- ③ 게맛살 제조방법
 - 원료대기: 냉동연육 냉동고에서 출고대기
 - 배합: Silent cutter(원료/첨가물 등)
 - 성형: 띠모양으로 얇게 Sheet 형성
 - 증자: 증기로 Setting(95℃ 전후)
 - 배소: 가스로 일정시간 굽는다
 - 자연 냉각
 - 세절: 직경 1.2 mm 세절한다
 - 결속: 봉상으로 묶는다
 - 색소도부 및 랩핑: Inner film 도부한다
 - 절단: 일정 길이로 절단한다
 - 진공포장: 진공포장기로 진공한다
 - 금속검출: 진공제품을 통과시킨다
 - 살균: 일정온도(95±2℃) 살균
 - 냉각: 일정온도(품온 10℃ 이하)로 냉각
 - 보관출고: 10℃ 이하 냉장보관 출고
- ④ 저장시험 조건: 진공포장, 10℃, 4주간
- ⑤ 조사항목 및 방법: 상기 실험 “가”와 동일

(라) MDCM 가수분해물 제조

해동된 MDCM(과다 지방제거, 균질화)

- ↓ - Protamex 5% 첨가
- ↓ - 43℃에서 1시간 동안 항온
- ↓ - pH 7.0으로 조절
- ↓ - Bromelain 1% 첨가
- ↓ - 50℃에서 1시간 동안 항온

탈취

- ↓ - 가수분해물 95.1%, 치킨 혼연액 1.9%, 치킨 오일 1.0%, 식물성 단백질 가수분해물 0.5%, glucose 0.5%, xylose 0.5%, 양파 마쇄물 0.5%

탈취 MDCM 2단 가수분해물(Brix, 5)

Fig. 1. 탈취 MDCM 2단 가수분해물 제조방법(게맛살, 어묵, 소시지용).

(2) 결과 및 고찰

Table 72. Proximate composition of imitation crab meat (%)

Items	Treatments ¹⁾			
	C	T1	T2	T3
Moisture	69.36±0.06 ^A	68.38±0.05 ^B	67.64±0.10 ^C	67.55±0.06 ^C
Crude protein	9.51±0.29	10.20±0.17	10.39±0.27	9.86±0.01
Crude fat	1.08±0.05 ^C	1.25±0.02 ^{AB}	1.23±0.09 ^B	1.36±0.06 ^A
Crude ash	1.54±0.13 ^B	1.84±0.27 ^{AB}	1.95±0.17 ^A	1.96±0.05 ^A
Cholesterol (mg/100g)	3.76±0.06 ^C	4.06±0.01 ^B	4.04±0.03 ^B	4.19±0.03 ^A

¹⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 72는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 일반성분을 나타낸 것으로 처리 간에 수분 함량은 대조구가 다른 세 처리구들보다 높게 나타난 반면 조지방, 조회분 및 콜레스테롤 함량은 반대의 결과였다. 특히 T3는 다른 세 처리구들에 비해 조지방 및 콜레스테롤 함량이 가장 높았다. 조단백질 함량은 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 73. Color of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
L*	C	81.19±0.62 ^A	80.34±0.31 ^A	80.90±0.20 ^A
	T1	81.51±0.30 ^{Aa}	80.19±0.15 ^{Ab}	80.23±0.22 ^{ABb}
	T2	78.72±0.30 ^{Bb}	80.31±0.08 ^{Aa}	80.40±0.47 ^{Aa}
	T3	81.16±1.02 ^{Aa}	79.00±0.16 ^{Bb}	79.52±0.57 ^{Bb}
a*	C	-1.67±0.03 ^{Cc}	-1.11±0.06 ^{Cb}	-0.12±0.06 ^{Aa}
	T1	-1.54±0.19 ^{BCc}	-0.94±0.08 ^{BCb}	-0.59±0.13 ^{Ba}
	T2	-1.03±0.06 ^{Ac}	-0.77±0.21 ^{Bb}	-0.21±0.01 ^{Aa}
	T3	-1.18±0.27 ^{ABb}	-0.52±0.12 ^{Aa}	-0.10±0.08 ^{Aa}
b*	C	6.38±0.02	6.54±0.40 ^{AB}	7.02±0.30
	T1	6.80±0.09 ^a	6.27±0.15 ^{BCb}	6.77±0.06 ^a
	T2	6.31±0.31	6.97±0.41 ^A	7.04±0.23
	T3	6.77±0.29 ^a	5.86±0.14 ^{Cb}	6.53±0.41 ^a
W ²⁾	C	62.06±0.55 ^A	60.73±1.42 ^{AB}	59.83±0.77
	T1	61.11±0.05 ^{ABa}	61.39±0.37 ^{Aa}	59.93±0.35 ^b
	T2	59.78±1.06 ^B	59.41±1.17 ^B	59.28±0.45
	T3	60.84±0.61 ^{AB}	61.41±0.41 ^A	59.93±0.66
C	C	6.59±0.01	6.63±0.40 ^{AB}	7.02±0.30
	T1	6.97±0.09 ^a	6.34±0.15 ^{BCb}	6.80±0.07 ^a
	T2	6.39±0.31	7.01±0.39 ^A	7.05±0.23
	T3	6.88±0.32 ^a	5.89±0.15 ^{Cb}	6.53±0.41 ^{ab}
h	C	104.70±0.29 ^{Aa}	99.65±0.56 ^{Ab}	91.01±0.54 ^{Bc}
	T1	102.73±1.47 ^{Aa}	98.54±0.63 ^{ABb}	95.00±1.04 ^{Ac}
	T2	99.28±0.16 ^{Ba}	96.38±2.09 ^{BCb}	91.72±0.09 ^{Bc}
	T3	99.80±1.92 ^{Ba}	95.00±1.13 ^{Cb}	90.85±0.73 ^{Bc}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

²⁾ $W = L^* - 3b^*$

Table 73은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 제품의 색을 나타낸 것으로 처리 간에 명도는 T3가, 백색도는 T2가 다른 세 처리구들에 비해 낮게 나타났으며, 적색도는 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였다. h값은 대조구와 T1이 T2와 T3보다 높게 나타났다. 황색도와 C값은 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 적색도는 증가하는 반면 명도와 h값은 감소하였으며, 황색도, 백색도 및 C값은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 74. Gel characteristics of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Breaking force (g)	C	288.00±8.54 ^{Bc}	370.67±16.77 ^{Cb}	436.33±19.01 ^{Ba}
	T1	363.33±29.30 ^{Ac}	491.33±21.83 ^{Ab}	546.33± 5.13 ^{Aa}
	T2	361.33±32.04 ^{Ab}	480.67±58.62 ^{ABa}	512.00±30.00 ^{Aa}
	T3	358.00±35.68 ^{Ab}	421.33±5.13 ^{BCa}	461.00±1.41 ^{Ba}
Deformation (mm)	C	8.57±0.25 ^{Aa}	6.34±0.20 ^{BCc}	7.47±0.15 ^{Ab}
	T1	7.01±0.06 ^B	6.94±0.20 ^{AB}	7.17±0.06 ^{AB}
	T2	7.71±0.58 ^{AB}	7.34±0.61 ^A	6.64±0.52 ^{BC}
	T3	7.84±0.80 ^{ABa}	6.21±0.06 ^{Cb}	6.39±0.35 ^{Cb}
Gel strength (g/cm ²)	C	1466.77±43.52 ^{Bc}	1887.79±85.42 ^{Cb}	2222.22±96.81 ^{Ba}
	T1	1850.43±149.2 ^{Ac}	2502.33±111.2 ^{Ab}	2782.45±26.14 ^{Aa}
	T2	1840.25±163.2 ^{Ab}	2448.01±298.5 ^{ABa}	2607.59±152.8 ^{Aa}
	T3	1823.27±181.7 ^{Ab}	2145.83±26.14 ^{BCa}	2347.85±7.20 ^{Ba}
Jelly strength (g*mm)	C	246.77±1.45 ^{Bb}	237.87±14.89 ^{Cb}	326.03±13.67 ^{Ba}
	T1	254.40±19.46 ^{Bb}	309.91±48.50 ^{ABb}	391.89±2.54 ^{Aa}
	T2	278.45±8.64 ^{Ab}	350.77±23.63 ^{Aa}	339.07±12.80 ^{Ba}
	T3	278.81±4.11 ^{Aab}	261.49±1.11 ^{BCb}	294.61±17.20 ^{Ca}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 74는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 젤특성을 나타낸 것으로 처리 간에 파괴강도는 주로 단백질의 양과 정의 상관관계가 있으며, 변형값은 단백질의 질과 정의 상관관계가 있다. 파괴강도, 젤강도 및 젤리강도는 대조구보다 세 처리구들이 높게 나타났으며, 변형값은 다른 세 처리구들에 비해 T3가 낮게 나타났다.

저장기간 경과로 파괴강도, 젤강도 및 젤리강도는 증가하는 반면 변형값은 감소하였다.

Table 75. Texture properties of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Brittleness (kg)	C	0.26±0.02 ^{Bc}	0.32±0.00 ^{Db}	0.36±0.01 ^{Ba}
	T1	0.34±0.02 ^{Ab}	0.36±0.02 ^{Cb}	0.43±0.02 ^{Aa}
	T2	0.37±0.04 ^{Ab}	0.43±0.00 ^{Aa}	0.44±0.03 ^{Aa}
	T3	0.33±0.02 ^{Ab}	0.39±0.01 ^{Ba}	0.41±0.01 ^{Aa}
Hardness (kg)	C	0.22±0.01 ^{Cb}	0.27±0.00 ^a	0.26±0.00 ^a
	T1	0.34±0.01 ^A	0.29±0.01	0.32±0.05
	T2	0.26±0.03 ^{BC}	0.34±0.08	0.34±0.03
	T3	0.27±0.04 ^B	0.25±0.01	0.34±0.08
Cohesiveness (%)	C	0.53±0.02	0.57±0.05	0.55±0.02
	T1	0.51±0.03	0.52±0.03	0.55±0.01
	T2	0.52±0.03	0.55±0.01	0.53±0.02
	T3	0.51±0.02 ^b	0.52±0.02 ^b	0.58±0.03 ^a
Springiness (mm)	C	1.00±0.00	1.05±0.07	1.00±0.00
	T1	1.00±0.00	1.00±0.00	1.01±0.02
	T2	1.00±0.00	1.01±0.01	1.02±0.03
	T3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
Gumminess (kg)	C	0.14±0.01 ^{Cb}	0.18±0.02 ^{Ca}	0.19±0.01 ^{Ba}
	T1	0.17±0.01 ^{Bb}	0.18±0.01 ^{Cb}	0.24±0.01 ^{Aa}
	T2	0.20±0.02 ^{Ab}	0.24±0.01 ^{Aa}	0.24±0.02 ^{Aa}
	T3	0.17±0.01 ^{Bc}	0.21±0.01 ^{Bb}	0.24±0.01 ^{Aa}
Chewiness (kg,mm)	C	0.14±0.01 ^{Cb}	0.19±0.03 ^{Ba}	0.19±0.01 ^{Ba}
	T1	0.17±0.01 ^{Bb}	0.18±0.01 ^{Bb}	0.24±0.00 ^{Aa}
	T2	0.20±0.02 ^{Ab}	0.24±0.01 ^{Aa}	0.24±0.02 ^{Aa}
	T3	0.17±0.01 ^{Bc}	0.21±0.01 ^{ABb}	0.24±0.01 ^{Aa}
Adhesiveness	C	0.06±0.01 ^c	0.10±0.01 ^b	0.12±0.01 ^{BCa}
	T1	0.08±0.01 ^b	0.09±0.02 ^b	0.13±0.01 ^{Aa}
	T2	0.08±0.02 ^b	0.11±0.02 ^{ab}	0.13±0.01 ^{ABa}
	T3	0.06±0.00 ^c	0.09±0.01 ^b	0.11±0.01 ^{Ca}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 75는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 조직감을 나타낸 것으로 처리 간에 표면경도, 경도, 검성 및 씹힘성은 대조구보다 세 처리구들이 높게 나타났으며, 응집성, 탄력성 및 부착성은 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 표면경도, 응집성, 검성, 씹힘성 및 부착성은 증가하였으며, 경도와 탄력성은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 76. Physico-chemical characteristics of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Moisture (%)	C	69.36±0.06 ^A	69.40±0.22 ^A	69.56±0.03 ^A
	T1	68.38±0.05 ^{Bc}	68.51±0.09 ^{Bb}	68.64±0.03 ^{Ba}
	T2	67.64±0.10 ^{Cb}	67.90±0.11 ^{Ca}	68.08±0.07 ^{Ca}
	T3	67.55±0.06 ^{Cc}	67.73±0.05 ^{Cb}	67.84±0.02 ^{Da}
pH	C	6.70±0.00 ^{Ab}	6.72±0.01 ^{Ab}	6.86±0.02 ^{Aa}
	T1	6.55±0.02 ^{Bb}	6.56±0.01 ^{Bb}	6.69±0.01 ^{Ba}
	T2	6.48±0.01 ^{Cb}	6.50±0.01 ^{Cb}	6.63±0.02 ^{Ca}
	T3	6.47±0.00 ^{Cc}	6.50±0.01 ^{Cb}	6.62±0.01 ^{Ca}
Shear force (kg/cm ²)	C	2.24±0.16 ^{Aa}	2.27±0.05 ^{Aa}	1.45±0.10 ^{Bb}
	T1	2.14±0.05 ^{Aa}	2.18±0.09 ^{Aa}	1.76±0.05 ^{Ab}
	T2	2.13±0.02 ^A	1.83±0.27 ^B	1.75±0.04 ^A
	T3	1.73±0.03 ^{Bb}	2.04±0.11 ^{ABa}	1.74±0.03 ^{Ab}
TBARS (mg/100g)	C	0.57±0.03 ^c	0.69±0.03 ^{ABb}	1.65±0.02 ^{Aa}
	T1	0.55±0.09 ^c	0.78±0.03 ^{Ab}	1.52±0.02 ^{Ba}
	T2	0.63±0.12 ^b	0.76±0.06 ^{Ab}	1.50±0.07 ^{Ba}
	T3	0.55±0.03 ^b	0.62±0.04 ^{Bb}	1.54±0.04 ^{Ba}
VBN (mg%)	C	17.17±0.76	19.33±1.15	19.00±0.00
	T1	18.67±2.52	18.33±1.15	18.67±2.52
	T2	14.50±3.54	17.67±0.58	14.50±3.54
	T3	15.00±2.00	19.25±0.35	15.00±2.00
A _w	C	0.91±0.01	0.92±0.01	0.91±0.01
	T1	0.92±0.01	0.92±0.01	0.90±0.01
	T2	0.91±0.01	0.92±0.01	0.91±0.00
	T3	0.91±0.01	0.92±0.00	0.91±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 76은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 이화학적 특성을 나타낸 것으로 처리 간에 수분 함량 및 pH는 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 감소한 반면 TBARS는 증가하였으며, 전단가는 T1이 다른 세 처리구들보다 높게 나타났다. TBARS는 대조구가 다른 세 처리구들보다 높게 나타났다. VBN 및 수분활성도는 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 수분 함량 및 pH는 증가한 반면 전단가는 감소하였다. VBN 및 수분활성도는 저장기간 경과로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

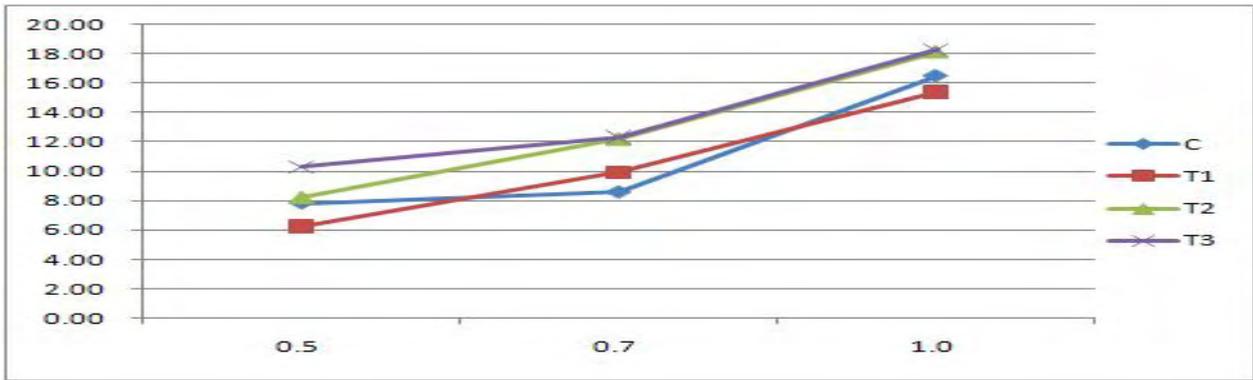


Fig. 2. DPPH antiradical activity of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks.

Fig. 2는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 DPPH radical 소거능을 나타낸 것으로 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 높은 T2와 T3가 대조구와 T1보다 소거능이 높아 항산화성이 있는 결과였다.

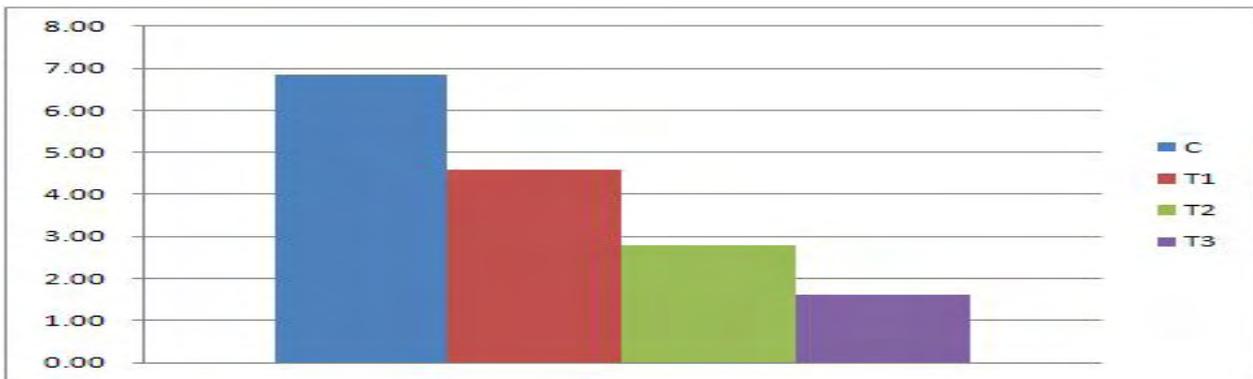


Fig. 3. POV of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks.

Fig. 3은 육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 POV값을 나타낸 것으로 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 높을수록 낮아져 항산화성이 있는 결과였다.

Table 77. Sensory score¹⁾ of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ²⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Color	C	8.17±0.26 ^a	7.92±0.38 ^a	7.42±0.49 ^b
	T1	7.92±0.49	7.67±0.52	7.42±0.38
	T2	8.00±0.32	7.75±0.52	7.42±0.38
	T3	8.08±0.49 ^a	7.58±0.49 ^{ab}	7.33±0.26 ^b
Aroma	C	7.58±0.66	7.42±0.38	7.25±0.42
	T1	7.50±0.45	7.75±0.27	7.25±0.52
	T2	7.67±0.41	7.42±0.38	7.25±0.42
	T3	7.67±0.75	7.42±0.38	7.22±0.40
Flavor	C	7.58±0.38 ^a	6.92±0.38 ^b	7.67±0.61 ^a
	T1	7.33±0.61	6.97±0.45	7.08±0.58
	T2	7.25±0.69	6.83±0.52	7.33±0.41
	T3	7.17±0.61	7.00±0.55	7.08±0.49
Springiness	C	7.17±0.41	6.67±0.52	7.08±0.38
	T1	7.58±0.58 ^a	6.50±0.55 ^b	6.50±0.89 ^b
	T2	7.50±0.45 ^a	6.58±0.58 ^b	7.00±0.63 ^{ab}
	T3	7.22±0.55	6.50±0.45	6.67±0.52
Juiciness	C	7.50±0.63 ^a	6.75±0.42 ^b	7.33±0.26 ^a
	T1	7.58±0.58 ^a	6.72±0.25 ^b	6.92±0.58 ^b
	T2	7.50±0.63	6.62±0.43	7.25±0.82
	T3	7.50±0.45	6.83±0.52	6.95±0.39
Overall acceptability	C	7.50±0.45	7.08±0.20	7.50±0.45
	T1	7.58±0.74	7.08±0.38	6.92±0.58
	T2	7.50±0.55	6.92±0.20	7.30±0.47
	T3	7.50±0.32 ^a	6.92±0.20 ^b	7.08±0.49 ^{ab}

¹⁾ Sensory scores were assessed on 9 point scale base on 1=extremely bad or slight, 9=extremely good or much.

²⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 77은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 관능검사 결과를 나타낸 것으로 처리 간에는 모든 관능검사 항목(색, 향, 맛, 탄력성, 다즙성 및 전체적 기호도)에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 저장기간 경과로 색, 탄력성 및 다즙성에서 감소하였다.

Table 78. Fatty acid composition of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks (%)

Fatty acids	Treatments ¹⁾			
	C	T1	T2	T3
Decanoic acid (C10:0)	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.01
Lauric acid (C12:0)	0.06±0.01 ^A	0.05±0.00 ^{AB}	0.04±0.00 ^C	0.04±0.01 ^{BC}
Myristic acid (C14:0)	0.78±0.01 ^A	0.72±0.01 ^B	0.66±0.01 ^C	0.63±0.01 ^D
Palmitic acid (C16:0)	16.54±0.12 ^A	16.39±0.05 ^B	16.27±0.05 ^B	16.13±0.01 ^C
Palmitoleic acid (C16:1)	2.06±0.90	1.48±0.01	1.16±0.01	1.20±0.01
Magaric acid (C17:0)	0.38±0.01 ^A	0.35±0.01 ^B	0.34±0.00 ^C	0.34±0.00 ^C
Magaolic acid (C17:1)	0.17±0.00 ^A	0.16±0.00 ^B	0.15±0.00 ^C	0.15±0.00 ^C
Stearic acid (C18:0)	6.23±0.03 ^A	6.08±0.02 ^B	6.18±0.05 ^A	6.08±0.03 ^B
Oleic acid (C18:1)	21.44±0.20 ^B	21.78±0.02 ^A	20.94±0.12 ^C	21.09±0.09 ^C
Linoleic acid (C18:2, n-6)	44.76±0.48 ^C	45.35±0.07 ^B	46.26±0.18 ^A	46.43±0.13 ^A
Linolenic acid (C18:3, n-3)	5.18±0.06 ^B	5.21±0.01 ^B	5.46±0.02 ^A	5.43±0.02 ^A
Arachidic acid (C20:0)	0.40±0.01	0.40±0.00	0.41±0.01	0.40±0.01
Eicosenoic acid (C20:1)	0.42±0.10 ^B	0.51±0.01 ^{AB}	0.57±0.01 ^A	0.51±0.01 ^{AB}
Eicosatrienoic acid (C20:4)	1.58±0.02 ^A	1.50±0.01 ^C	1.54±0.02 ^B	1.58±0.01 ^A
SFA ²⁾	24.40±0.15 ^A	24.01±0.07 ^B	23.92±0.11 ^B	23.62±0.04 ^C
MUFA ²⁾	24.08±0.66 ^A	23.93±0.02 ^A	22.82±0.12 ^B	22.95±0.11 ^B
PUFA ²⁾	51.52±0.56 ^B	52.06±0.09 ^B	53.26±0.21 ^A	53.43±0.15 ^A
UFA ²⁾	75.60±0.15 ^C	75.99±0.07 ^B	76.08±0.11 ^B	76.38±0.04 ^A
EFA ²⁾	51.52±0.56 ^B	52.06±0.09 ^B	53.26±0.21 ^A	53.43±0.15 ^A
UFA/SFA	3.10±0.03 ^C	3.16±0.02 ^B	3.18±0.02 ^B	3.23±0.01 ^A
EFA/UFA	0.68±0.01 ^B	0.69±0.01 ^B	0.70±0.00 ^A	0.70±0.00 ^A
n-3	5.18±0.06 ^B	5.21±0.01 ^B	5.46±0.02 ^A	5.43±0.02 ^A
n-6	46.34±0.49 ^B	46.85±0.08 ^B	47.80±0.19 ^A	48.01±0.13 ^A
n-3/n-6	0.11±0.00	0.11±0.00	0.11±0.00	0.11±0.00

¹⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

²⁾ SFA (saturated fatty acid), MUFA (monounsaturated fatty acid), PUFA (polyunsaturated fatty acid), UFA (unsaturated fatty acid), EFA (essential fatty acid).

Table 78은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 지방산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에 불포화지방산, 다가불포화지방산, 필수지방산 및 오메가 3 지방산은 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였는데 이는 MDCM 가수분해물이 지방의 분해에 간접적으로 관여하여 지방산 조성 변화를 초래하는 결과였다. 저장기간 경과로 불포화지방산, 다가불포화지방산, 필수지방산 및 오메가 3 지방산 비율은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 79. Amino acid composition of imitation crab meat stored at 10°C for 4 weeks (%)

Amino acids	Treatments ¹⁾			
	C	T1	T2	T3
Aspartic acid	8.38±0.26 ^B	9.95±0.13 ^A	9.85±0.30 ^A	9.85±0.07 ^A
Threonine ^{3) 7)}	3.80±0.06 ^B	4.20±0.01 ^A	4.30±0.13 ^A	4.33±0.04 ^A
Serine ³⁾	3.50±0.40	3.52±0.04	3.70±0.10	3.72±0.04
Glutamic acid ²⁾	17.01±0.69 ^B	20.46±0.57 ^A	21.26±0.11 ^A	21.05±0.47 ^A
Proline	0.00±0.00 ^C	4.89±0.04 ^A	4.62±0.06 ^B	4.91±0.17 ^A
Glycine ³⁾	4.83±0.37 ^B	6.60±0.35 ^A	6.02±0.04 ^A	6.40±0.03 ^A
Alanine ³⁾	4.66±0.22 ^B	5.23±0.06 ^A	5.33±0.01 ^A	5.26±0.01 ^A
Cystine ⁴⁾	0.83±0.00	0.71±0.20	0.56±0.00	0.58±0.00
Valine ^{6) 7)}	5.56±0.15 ^A	4.95±0.33 ^B	4.73±0.05 ^B	4.63±0.01 ^B
Methionine ^{4) 6) 7)}	9.14±0.08 ^A	2.20±0.07 ^B	2.17±0.07 ^B	2.05±0.26 ^B
Isoleucine ^{6) 7)}	11.04±0.28 ^A	4.70±0.08 ^B	4.62±0.06 ^B	4.45±0.06 ^B
Leucine ⁷⁾	9.12±0.91	8.20±0.38	7.98±0.01	7.89±0.01
Tyrosine ^{5) 6)}	1.82±0.10 ^B	2.70±0.21 ^A	2.61±0.04 ^A	2.57±0.01 ^A
Phenylalanine ^{5) 6) 7)}	3.18±0.00 ^B	3.89±0.07 ^A	3.79±0.01 ^A	3.82±0.08 ^A
Lysine ⁷⁾	2.07±0.01 ^B	2.25±0.08 ^A	2.28±0.01 ^A	2.32±0.01 ^A
Histidine ^{6) 7)}	8.57±1.34	9.16±0.35	8.87±0.26	8.93±0.23
Ammonia	1.61±0.33	1.27±0.15	1.47±0.06	1.41±0.12
Arginine ^{6) 7)}	4.91±0.06	5.18±1.00	5.88±0.10	5.89±0.08
FAA ²⁾	17.01±0.69 ^B	20.46±0.57 ^A	21.26±0.11 ^A	21.05±0.47 ^A
STAA ³⁾	16.77±0.33 ^B	19.54±0.27 ^A	19.34±0.27 ^A	19.70±0.09 ^A
SAA ⁴⁾	9.97±0.08 ^A	2.91±0.27 ^B	2.73±0.07 ^B	2.63±0.26 ^B
AAA ⁵⁾	5.01±0.09 ^B	6.59±0.28 ^A	6.40±0.05 ^A	6.38±0.06 ^A
BAA ⁶⁾	37.72±0.66 ^A	25.84±0.31 ^B	26.07±0.17 ^B	25.71±0.20 ^B
EAA ⁷⁾	57.38±0.07 ^A	44.70±0.23 ^B	44.60±0.26 ^B	44.28±0.07 ^B

¹⁾ Treatments are the same as in Table 71.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

²⁾ FAA (flavorous amino acid), ³⁾ STAA (sweet taste amino acid), ⁴⁾ SAA (sulfur-containing amino acid), ⁵⁾ AAA (aromatic amino acid), ⁶⁾ BAA (bitter amino acid), ⁷⁾ EAA (essential amino acid).

Table 79는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.5%(T1), 1.0%(T2), 1.5%(T3) 첨가 시 아미노산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에 맛, 단맛 및 향 관련 아미노산은 대조구에 비해 세 처리구들이 높게 나타난 반면 황함유, 쓴맛 관련 및 필수아미노산 함량은 대조구보다 세 처리구들이 낮게 나타났다.

(3) MDCM 추출 조미소재를 첨가한 현장시제 게맛살

(가) 0주차



C

T1

T2

T3

(나) 4주차



C

T1

T2

T3

(4) 요약

MDCM을 각각 0(C), 0.5(T1), 1.0(T2) 그리고 1.5(T3)%씩 첨가하여 제조한 게맛살의 품질과 유통기한 설정을 위하여 각각의 게맛살은 냉장온도에서 약 4주간에 걸쳐 저장되었다. 게맛살의 명도와 백색도는 MDCM을 첨가할수록 감소하였으나 gel 특성은 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 조직적 특성에 있어서는 MDCM의 첨가가 거의 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었으나 게맛살의 조직감 중 brittleness, gumminess 그리고 chewiness를 유의적으로 증가시키는 것으로 조사되었으며 특히 MDCM의 첨가는 제품의 POV 값을 유의적으로 증가시키는 것으로 나타났다. 그러나 이러한 품질적 변화에도 불구하고 관능검사에서는 대조구와 큰 특징적 변화가 관찰되지 않았으며 따라서 게맛살 제품 제조 시 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 20%까지 대체한 다음 MDCM 가수분해물을 1.0%(T2)까지 첨가하며 제조한다면 약 4주까지도 유통이 가능할 것으로 판단된다.

라. MDCM 추출 조미소재를 첨가한 유당형 어묵의 품질 특성 및 유통기한 설정

(1) 재료 및 방법

(가) 시험설계

Table 80. Experimental design and formula

Materials	구성비(%)		
	C	T1	T2
이또요리(연육)	59.70	59.70	59.70
폐계 가슴살 커팅육	14.93	14.93	14.93
조미액	0.63	0.63	0.63
난백	4.72	4.72	4.72
대두단백	0.94	0.94	0.94
설탕	1.51	1.51	1.51
식염	1.51	1.51	1.51
MSG	0.63	0.63	0.63
조미베이스분말	0.31	0.31	0.31
소맥전분	6.30	6.30	6.30
물	8.82	8.42	8.02
MDCM 가수분해물	-	0.4	0.8
합계	100	100	100

어묵 제조시 대조구 포함 모든 처리구 공히 폐계 가슴살 커팅육 20% 연육 대체 + 탈취 MDCM 2단 가수분해물 C(0), T1(0.4), T2(0.8%) 물 대체, 연육은 이또요리 연육을 활용하였다.

(나) 시험 목적: 기존 어묵 제조시 사용되는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 모든 처리구에 20% 대체 후 MDCM 가수분해물 첨가 수준(0, 0.4, 0.8%)에 따른 유당 어묵 현장시제 시 그 품질 특성과 유통기한을 설정하는데 있다

(다) 어묵의 제조

- ① 폐계 가슴살 커팅육 제조: Silent cutter를 활용하여 8분간 cutting 후 이용하였다.
- ② MDCM 가수분해물: 협동기관에서 연구 개발한 2단 가수분해물을 이용하였다.
- ③ 어묵 제조방법
 - 원부재료 준비
 - 유화: Silent cutter를 활용하여 연육 및 계육 + 소금 및 설탕 첨가 후 2분 커팅 + 조미액 및 난백액 첨가 1분 30초 커팅 + 기타 분말(대두단백, MSG, 조미베이스분말) 및 전분 첨가 1분 30초 커팅 + MDCM 가수분해물질 및 물 첨가 1분 30초 커팅 총 6분 30초 커팅
 - 성형: 지름 3cm 노즐 활용 충전
 - 튀김 및 탈유: 175°C/6분 유탕 후 탈유

- 냉각: 중심온도 15℃ 이하
 - 진공포장
 - 열탕살균: 90℃/50분
 - 냉각: 중심온도 10℃ 이하
- ④ 저장시험 조건: 진공포장, 10℃, 6주간
- ⑤ 조사항목 및 방법: 상기 실험 “가”와 동일

(2) 결과 및 고찰

Table 81은 육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 일반성분을 나타낸 것으로 처리 간에 수분 함량은 대조구에 비해 처리구들이 낮은 반면 조지방 함량은 높게 나타났다. 조단백질 함량은 유의적인 차이가 없었으며, 조회분 함량은 대조구와 T1이 T2보다 높게 나타났다. 콜레스테롤 함량은 대조구에 비하여 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 높아질수록 낮게 나타났다.

저장기간 경과로 수분은 대조구에서 조회분 함량은 T2에서 낮아지는 경향이었으며, 조단백질 함량은 T2에서 조지방 함량은 대조구에서 증가하는 결과였다. 콜레스테롤 함량은 차이를 보이지 않았다.

Table 81. Proximate composition of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks (%)

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)	
		0	6
Moisture	C	69.74±0.10 ^{Aa}	69.22±0.11 ^{Ab}
	T1	68.82±0.12 ^B	68.67±0.30 ^B
	T2	69.00±0.10 ^B	68.73±0.17 ^B
Crude protein	C	18.16±0.17	18.82±0.32
	T1	18.39±0.52	18.72±0.54
	T2	17.28±0.18 ^b	18.02±0.08 ^a
Crude fat	C	0.80±0.02 ^{Bb}	1.20±0.01 ^a
	T1	1.07±0.06 ^A	1.10±0.20
	T2	1.12±0.09 ^A	1.15±0.05
Crude ash	C	0.76±0.13	0.71±0.03 ^A
	T1	0.87±0.17	0.73±0.01 ^A
	T2	0.70±0.12 ^a	0.49±0.01 ^{Bb}
Cholesterol (mg/100g)	C	21.19±0.01 ^{Aa}	19.03±0.23 ^{Ab}
	T1	17.59±0.08 ^B	17.88±0.46 ^B
	T2	11.51±0.38 ^{Cb}	16.75±0.05 ^{Ca}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 82는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물

0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 제품의 색을 나타낸 것으로 처리 간에 적색도는 4주째 대조구와 T1에 비해 T2가 낮게 나타난 반면 C값은 반대의 결과였다. 황색도는 대조구보다 처리구들이 높게 나타난 반면 백색도는 낮게 나타났다. 명도와 h값은 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 명도, 적색도 및 백색도는 증가하는 반면 황색도, C값 및 h값은 감소하였다.

Table 82. Color of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
L*	C	77.08±0.68	77.29±0.70	77.90±0.18	77.48±0.21
	T1	77.35±0.21	77.50±0.34	77.42±0.57	77.68±0.29
	T2	76.94±0.14 ^c	77.13±0.41 ^{bc}	77.65±0.38 ^{ab}	77.82±0.13 ^a
a*	C	-6.94±0.12 ^b	-2.99±0.09 ^a	-2.87±0.05 ^{Aa}	-3.05±0.11 ^a
	T1	-6.91±0.03 ^b	-2.67±0.43 ^a	-2.88±0.06 ^{Aa}	-2.97±0.04 ^a
	T2	-6.89±0.12 ^b	-2.89±0.13 ^a	-2.99±0.03 ^{Ba}	-3.05±0.11 ^a
b*	C	12.97±0.16 ^a	8.38±0.13 ^{Bb}	8.46±0.09 ^{Cb}	8.26±0.12 ^{Bb}
	T1	12.61±0.46 ^a	8.47±0.13 ^{ABc}	9.03±0.11 ^{Ab}	8.50±0.10 ^{Bc}
	T2	13.14±0.18 ^a	8.69±0.09 ^{Ab}	8.78±0.02 ^{Bb}	8.86±0.23 ^{Ab}
W ²⁾	C	38.18±0.29 ^b	52.15±0.48 ^{Aa}	52.51±0.43 ^{Aa}	52.70±0.45 ^{Aa}
	T1	39.52±1.53 ^c	52.08±0.04 ^{Aa}	50.32±0.89 ^{Bb}	52.17±0.28 ^{ABa}
	T2	37.51±0.68 ^b	51.06±0.56 ^{Ba}	51.32±0.42 ^{ABa}	51.25±0.77 ^{Ba}
C	C	14.71±0.18 ^a	8.90±0.14 ^b	8.94±0.09 ^{Bb}	8.80±0.15 ^{Bb}
	T1	14.38±0.39 ^a	8.94±0.15 ^b	9.33±0.16 ^{Ab}	9.01±0.09 ^{Bb}
	T2	14.85±0.12 ^a	9.16±0.12 ^b	9.27±0.02 ^{Ab}	9.37±0.25 ^{Ab}
h	C	118.15±0.35 ^a	109.61±0.52 ^b	108.72±0.38 ^{Ac}	110.26±0.45 ^{Ab}
	T1	118.75±1.03 ^a	108.58±0.53 ^{bc}	107.65±0.12 ^{Bc}	109.27±0.35 ^{Bb}
	T2	117.68±0.70 ^a	108.38±0.54 ^b	108.82±0.15 ^{Ab}	108.98±0.28 ^{Bb}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

²⁾ $W = L^* - 3b^*$

Table 83은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 겔특성을 나타낸 것으로 파괴강도는 주로 단백질의 양과 정의 상관관계가 있으며, 변형값은 단백질의 질과 정의 상관관계가 있다. 처리 간에 파괴강도는 저장초기에는 T1이 대조구와 T2보다 높게 나타난 반면 저장말기에는 반대의 결과였다. 변형값은 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였다. 겔강도는 저장초기에는 대조구와 T1이 T2보다 높은 반면 저장말기에는 반대의 결과였다. 젤리강도는 저장초기에는 대조구가 처리구들보다 높은 반면 저장말기에는 반대의 결과였다.

저장기간 경과로 파괴강도와 겔강도는 증가하였으나 변형값 대조구의 경우 감소하였다.

Table 83. Gel characteristics of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Breaking force (g)	C	379.67±7.51 ^A	408.00±20.07 ^A	382.33±20.53 ^B	357.00±26.46 ^B
	T1	374.67±6.43 ^{Ac}	394.74±10.74 ^{Abc}	435.33±24.66 ^{Aa}	417.00±10.00 ^{Aab}
	T2	341.33±16.77 ^{Bc}	355.00±8.66 ^{Bc}	433.33±12.58 ^{Aa}	398.00±3.61 ^{Ab}
Deformation (mm)	C	6.91±0.21 ^a	6.71±0.06 ^a	5.81±0.32 ^{Cb}	5.71±0.21 ^{Bb}
	T1	6.67±0.25	6.47±0.35	6.31±0.12 ^B	6.61±0.35 ^A
	T2	6.71±0.21	6.51±0.15	6.91±0.23 ^A	6.77±0.15 ^A
Gel strength (g/cm ²)	C	1933.62±38.22 ^A	2077.92±102.2 ^A	2023.60±234.3	1818.18±134.7 ^B
	T1	1908.16±32.74 ^{Ab}	2064.34±89.43 ^{Aa}	2217.13±125.6 ^a	2123.76±50.93 ^{Aa}
	T2	1738.39±85.42 ^{Bc}	1808.00±44.11 ^{Bc}	2206.94±64.08 ^a	2026.99±18.36 ^{Ab}
Jelly strength (g*mm)	C	262.32±12.96 ^{Aa}	273.70±15.58 ^a	231.43±37.19 ^{Bab}	203.36±7.96 ^{Bb}
	T1	249.93±5.95 ^{AB}	262.79±25.52	274.63±18.13 ^{AB}	275.63±18.99 ^A
	T2	228.97±14.58 ^{Bc}	231.00±8.49 ^c	299.27±12.61 ^{Aa}	269.56±5.40 ^{Ab}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 84는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 조직감을 나타낸 것으로 처리 간에 표면경도와 부착성은 대조구와 T1이 T2보다 높게 나타났으며, 응집성, 탄력성, 검성 및 씹힘성은 대조구가 두 처리구들보다 높게 나타났다. 경도는 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 표면경도는 모든 처리구들이 증가하였으며, 경도는 T2에서만 증가한 반면 응집성, 탄력성 및 씹힘성의 경우 대조구에서 감소하였다. 검성과 부착성은 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 84. Texture properties of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Brittleness (kg)	C	0.21±0.00 ^{Bc}	0.25±0.01 ^{Ab}	0.27±0.01 ^{Aa}	0.27±0.01 ^{Aa}
	T1	0.25±0.01 ^A	0.25±0.01 ^A	0.26±0.01 ^A	0.26±0.01 ^A
	T2	0.20±0.01 ^{Cb}	0.22±0.01 ^{Ba}	0.23±0.01 ^{Ba}	0.23±0.01 ^{Ba}
Hardness (kg)	C	0.21±0.00	0.21±0.02	0.22±0.03	0.23±0.01
	T1	0.20±0.02	0.22±0.01	0.22±0.01	0.22±0.02
	T2	0.18±0.02 ^c	0.20±0.00 ^b	0.22±0.01 ^a	0.22±0.01 ^a
Cohesiveness (%)	C	2.35±0.28 ^{Aa}	0.57±0.03 ^b	0.56±0.01 ^b	0.58±0.03 ^b
	T1	0.61±0.09 ^B	0.57±0.03	0.59±0.05	0.55±0.03
	T2	0.53±0.02 ^B	0.55±0.02	0.54±0.06	0.56±0.04
Springiness (mm)	C	3.14±0.07 ^{Aa}	1.00±0.01 ^b	1.00±0.00 ^b	1.00±0.00
	T1	1.10±0.13 ^B	1.04±0.06	1.02±0.04	1.03±0.03
	T2	1.00±0.00 ^B	1.03±0.05	1.02±0.04	1.04±0.06
Gumminess (kg)	C	0.49±0.06 ^{Aa}	0.14±0.01 ^{Ab}	0.15±0.01 ^b	0.15±0.02 ^b
	T1	0.15±0.03 ^B	0.14±0.00 ^A	0.15±0.02	0.14±0.01
	T2	0.10±0.01 ^{Bb}	0.12±0.01 ^{Ba}	0.12±0.02 ^a	0.13±0.00 ^a
Chewiness (kg,mm)	C	1.55±0.22 ^{Aa}	0.14±0.01 ^b	0.15±0.01 ^b	0.15±0.02 ^b
	T1	0.17±0.05 ^B	0.15±0.01	0.16±0.03	0.15±0.01
	T2	0.10±0.01 ^B	0.13±0.01	0.13±0.02	0.14±0.01
Adhesiveness	C	0.09±0.01	0.09±0.01	0.10±0.01 ^A	0.10±0.01
	T1	0.08±0.01 ^b	0.09±0.01 ^b	0.11±0.01 ^{Aa}	0.09±0.00 ^b
	T2	0.07±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01 ^B	0.09±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 85는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 이화학적 특성을 나타낸 것으로 처리 간에 수분 함량 및 pH는 대조구가 두 처리구들보다 높게 나타난 반면 전단가는 그 반대의 결과였다.

저장기간 경과로 수분의 경우 대조구에서 감소하였으며, pH와 전단가는 세 처리구 모두 2주까지 증가한 후 급속히 감소하였다.

Table 85. Physico-chemical characteristics of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Moisture (%)	C	69.74±0.10 ^{Aa}	69.40±0.10 ^{Ab}	69.71±0.02 ^{Aa}	69.22±0.11 ^{Ac}
	T1	68.82±0.12 ^B	69.05±0.09 ^B	68.97±0.12 ^B	68.67±0.30 ^B
	T2	69.00±0.10 ^B	68.61±0.14 ^C	68.58±0.25 ^C	68.73±0.17 ^B
pH	C	7.09±0.01 ^{Ab}	7.20±0.04 ^{Aa}	6.90±0.01 ^{Ac}	6.79±0.02 ^{Ad}
	T1	7.06±0.01 ^{Cb}	7.11±0.00 ^{Ba}	6.82±0.00 ^{Bc}	6.75±0.01 ^{Bd}
	T2	7.08±0.00 ^{Bb}	7.14±0.01 ^{Ba}	6.83±0.01 ^{Bc}	6.77±0.00 ^{ABd}
Shear force (kg/cm ²)	C	1.13±0.02 ^{Bc}	1.30±0.01 ^{Ca}	1.25±0.02 ^b	1.26±0.02 ^{Bb}
	T1	1.37±0.00 ^{Ab}	1.61±0.01 ^{Ba}	1.30±0.03 ^d	1.33±0.01 ^{Ac}
	T2	1.36±0.04 ^{Ab}	1.67±0.02 ^{Aa}	1.31±0.02 ^c	1.30±0.02 ^{Ac}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 86은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 TBARS, VBN 및 수분활성도를 나타낸 것으로 처리 간에 TBARS는 6주차에만 대조구보다 두 처리구들이 높게 나타났다. VBN은 대조구보다 두 처리구들이 높게 나타났다. 수분활성도는 처리 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 TBARS 및 VBN은 증가하였으나 수분활성도는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 86. TBARS, VBN and A_w of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
TBARS (mg/100g)	C	0.51±0.03 ^c	2.62±0.06 ^a	2.57±0.01 ^{ab}	2.49±0.09 ^{Cb}
	T1	0.49±0.04 ^c	2.56±0.04 ^{ab}	2.50±0.02 ^b	2.62±0.04 ^{Ba}
	T2	0.43±0.03 ^d	2.60±0.04 ^b	2.50±0.05 ^c	2.82±0.01 ^{Aa}
VBN (mg%)	C	8.30±0.08 ^{Bb}	8.53±1.51 ^b	8.87±0.21 ^{Bb}	40.67±4.51 ^a
	T1	8.35±0.00 ^{Bb}	9.47±0.86 ^b	10.22±0.84 ^{Ab}	47.62±4.95 ^a
	T2	9.25±0.41 ^{Ab}	8.82±0.40 ^b	11.46±0.69 ^{Ab}	52.75±8.13 ^a
A _w	C	0.90±0.01	0.90±0.01	0.92±0.01	0.91±0.00
	T1	0.91±0.02	0.90±0.02	0.91±0.01	0.91±0.00
	T2	0.91±0.01	0.91±0.01	0.92±0.01	0.91±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Fig. 4는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 DPPH radical 소거능을 나타낸 것으로 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 소거능이 높아져 항산화성이 있는 결과였다.

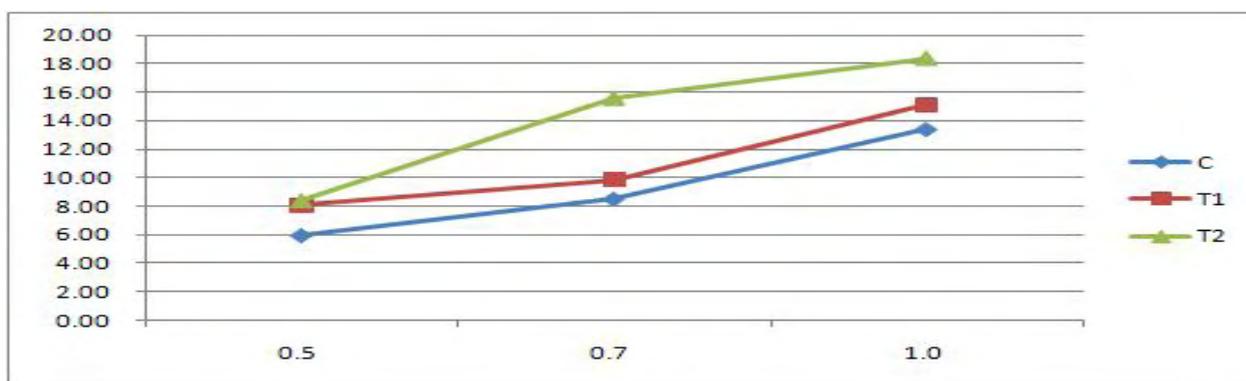


Fig. 4. DPPH antiradical activity of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks.

Table 87은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 관능검사 결과를 나타낸 것으로 색, 향, 맛, 탄력성, 다즙성 및 전체적 기호도 모두 처리 간 및 저장기간 경과로 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 87. Sensory score¹⁾ of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks

Items	Treatments ²⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Color	C	7.58±0.66	7.58±0.38	7.08±0.20	7.67±0.41
	T1	7.58±0.66 ^a	7.75±0.27 ^a	7.08±0.20 ^b	7.33±0.26 ^{ab}
	T2	7.83±0.52	7.50±0.45	7.25±0.27	7.58±0.49
Aroma	C	7.75±0.42	7.00±0.55	7.08±0.58	7.42±0.38
	T1	7.50±0.45	7.17±0.61	6.92±0.49	7.42±0.49
	T2	7.58±0.49	7.17±0.75	7.17±0.41	7.08±0.38
Flavor	C	8.17±0.52	7.67±0.52	7.50±0.45	8.08±0.38
	T1	7.92±0.58	7.67±0.41	7.58±0.49	7.83±0.52
	T2	7.92±0.66	7.83±0.68	7.75±0.42	7.83±0.41
Springiness	C	7.58±0.38	7.42±0.38	7.33±0.26	7.75±0.52
	T1	7.42±0.38	7.50±0.32	7.25±0.52	7.75±0.52
	T2	7.67±0.61	7.75±0.27	7.25±0.42	7.50±0.45
Juiciness	C	7.83±0.41	7.58±0.38	7.50±0.32	7.67±0.61
	T1	7.50±0.45	7.92±0.20	7.50±0.45	7.42±0.74
	T2	7.75±0.52	7.75±0.27	7.58±0.38	7.67±0.41
Overall acceptability	C	7.75±0.52	7.50±0.32	7.42±0.20	7.92±0.20
	T1	7.50±0.55	7.83±0.52	7.47±0.41	7.75±0.52
	T2	7.83±0.61	7.92±0.20	7.63±0.38	7.75±0.52

¹⁾ Sensory scores were assessed on 9 point scale base on 1=extremely bad or slight, 9=extremely good or much.

²⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 88. Fatty acid composition of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks (%)

Fatty acids	Storage (weeks)	Treatments ¹⁾		
		C	T1	T2
Decanoic acid (C10:0)	0	0.06±0.01 ^A	0.03±0.01 ^B	0.01±0.01 ^B
	6	0.34±0.56	0.37±0.60	0.01±0.00
Lauric acid (C12:0)	0	0.12±0.01 ^{Aa}	0.09±0.01 ^B	0.09±0.01 ^{Ba}
	6	0.07±0.01 ^b	0.06±0.03	0.06±0.00 ^b
Myristic acid (C14:0)	0	1.47±0.02 ^{Aa}	1.12±0.05 ^B	1.01±0.05 ^C
	6	1.06±0.03 ^{Ab}	1.09±0.02 ^A	0.95±0.02 ^B
Palmitic acid (C16:0)	0	22.32±0.21 ^{Aa}	19.47±0.64 ^B	18.62±0.44 ^B
	6	19.51±0.30 ^{Ab}	19.46±0.22 ^A	18.50±0.09 ^B
Palmitoleic acid (C16:1)	0	2.80±0.03 ^{Aa}	2.26±0.12 ^B	2.02±0.20 ^B
	6	2.15±0.08 ^{Ab}	2.08±0.08 ^A	1.83±0.02 ^B
Magaric acid (C17:0)	0	0.71±0.02 ^{Aa}	0.54±0.04 ^B	0.49±0.03 ^B
	6	0.55±0.01 ^{Ab}	0.54±0.01 ^A	0.50±0.00 ^B
Magaolic acid (C17:1)	0	0.31±0.01 ^{Aa}	0.24±0.01 ^B	0.22±0.01 ^C
	6	0.24±0.01 ^{Ab}	0.24±0.01 ^A	0.22±0.01 ^B
Stearic acid (C18:0)	0	8.87±0.13 ^{Aa}	7.70±0.25 ^B	7.48±0.18 ^B
	6	7.95±0.15 ^{Ab}	7.97±0.10 ^A	7.69±0.06 ^B
Oleic acid (C18:1)	0	22.33±0.20 ^{Bb}	23.25±0.04 ^{Ab}	23.32±0.12 ^{Aa}
	6	23.18±0.41 ^{Aa}	23.77±0.30 ^{Aa}	22.41±0.16 ^{Bb}
Linoleic acid (C18:2, n-6)	0	32.38±0.26 ^{Bb}	37.17±1.17 ^A	38.79±0.94 ^A
	6	37.10±0.22 ^{Ba}	36.55±0.27 ^C	39.42±0.30 ^A
Linolenic acid (C18:3, n-3)	0	3.88±0.04 ^{Bb}	4.42±0.19 ^A	4.60±0.15 ^A
	6	4.40±0.04 ^{Ba}	4.26±0.04 ^C	4.90±0.05 ^A
Arachidic acid (C20:0)	0	0.44±0.01	0.44±0.02	0.43±0.00
	6	0.42±0.01 ^A	0.41±0.01 ^B	0.43±0.01 ^A
Eicosenoic acid (C20:1)	0	0.44±0.01 ^{Bb}	0.55±0.01 ^A	0.53±0.02 ^A
	6	0.55±0.02 ^{Aa}	0.57±0.01 ^A	0.53±0.01 ^B
Eicosatrienoic acid (C20:4)	0	3.85±0.08 ^{Aa}	2.73±0.24 ^B	2.38±0.15 ^C
	6	2.46±0.64 ^b	2.64±0.07	2.56±0.00
SFA ²⁾	0	34.00±0.36 ^{Aa}	29.38±0.96 ^B	28.13±0.71 ^B
	6	29.90±0.45 ^{Ab}	29.89±0.44 ^A	28.14±0.16 ^B
MUFA ²⁾	0	25.89±0.18	26.30±0.17	26.09±0.26 ^a
	6	26.13±0.51 ^A	26.66±0.23 ^A	24.98±0.19 ^{Bb}
PUFA ²⁾	0	40.11±0.23 ^{Bb}	44.32±1.13 ^A	45.78±0.94 ^A
	6	43.97±0.74 ^{Ba}	43.45±0.25 ^B	46.88±0.35 ^A
UFA ²⁾	0	66.00±0.36 ^{Bb}	70.62±0.96 ^A	71.87±0.71 ^A
	6	70.10±0.45 ^{Ba}	70.11±0.44 ^B	71.86±0.16 ^A
EFA ²⁾	0	40.11±0.23 ^{Bb}	44.32±1.13 ^A	45.78±0.94 ^A
	6	43.97±0.74 ^{Ba}	43.45±0.25 ^B	46.88±0.35 ^A
UFA/SFA	0	1.94±0.03 ^{Bb}	2.41±0.11 ^A	2.56±0.09 ^A
	6	2.34±0.05 ^{Ba}	2.35±0.05 ^B	2.56±0.02 ^A
EFA/UFA	0	0.61±0.00 ^{Bb}	0.63±0.01 ^A	0.63±0.01 ^{Ab}
	6	0.63±0.01 ^{Ba}	0.62±0.00 ^B	0.65±0.01 ^{Aa}
n-3	0	3.88±0.04 ^{Bb}	4.42±0.19 ^A	4.60±0.15 ^{Ab}
	6	4.40±0.04 ^{Ba}	4.26±0.04 ^C	4.90±0.05 ^{Aa}
n-6	0	36.23±0.19 ^{Bb}	39.89±0.93 ^A	41.18±0.79 ^A
	6	39.56±0.71 ^{Ba}	39.19±0.21 ^B	41.98±0.30 ^A
n-3/n-6	0	0.11±0.00	0.11±0.00	0.11±0.00 ^b
	6	0.11±0.00 ^B	0.11±0.00 ^B	0.12±0.00 ^{Aa}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

²⁾ SFA (saturated fatty acid), MUFA (monounsaturated fatty acid), PUFA (polyunsaturated fatty acid), UFA (unsaturated fatty acid), EFA (essential fatty acid).

Table 88은 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 지방산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에 불포화지방산, 다가불포화지방산, 필수지방산 및 오메가 3 지방산은 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할 수록 증가하였는데 이는 MDCM 가수분해물이 지방의 분해에 간접적으로 관여하여 지방산 조성 변화를 초래하는 결과였다.

저장기간 경과로 불포화지방산, 다가불포화지방산 및 필수지방산은 대조구에서 증가한 반면 오메가 3 지방산 비율은 대조구와 T3에서 감소하였다.

Table 89는 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육으로 20% 대체한 후 MDCM 가수분해물 0%(C), 0.4%(T1), 0.8%(T2) 첨가 시 아미노산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

저장기간 경과로 트레오닌은 대조구에서 증가한 반면, 메치오닌과 페닐알라닌은 T1에서 감소하였다.

Table 89. Amino acid composition of boiled fish paste stored at 10°C for 6 weeks (%)

Amino acids	Storage (weeks)	Treatments ¹⁾		
		C	T1	T2
Aspartic acid	0	9.72±0.40	10.14±0.40	10.14±0.75
	6	10.54±0.04	10.69±0.01	10.73±0.08
Threonine ^{3) 7)}	0	4.53±0.04 ^b	4.49±0.16	4.55±0.25
	6	4.70±0.01 ^a	4.76±0.04	4.73±0.06
Serine ³⁾	0	3.97±0.10	3.97±0.11	4.04±0.16
	6	4.13±0.03	4.12±0.07	4.10±0.08
Glutamic acid ²⁾	0	18.67±0.76	18.97±0.68	18.63±0.37
	6	18.95±0.01	18.84±0.22	18.99±0.07
Proline	0	7.35±1.03	5.20±2.46	4.62±0.46
	6	4.03±0.42	4.16±0.06	4.41±0.07
Glycine ³⁾	0	3.39±0.16	3.57±0.16	3.56±0.26
	6	3.70±0.00	3.78±0.04	3.82±0.08
Alanine ³⁾	0	5.13±0.27	5.38±0.25	5.38±0.47
	6	5.70±0.08	5.82±0.04	5.76±0.11
Cystine ⁴⁾	0	0.75±0.04	0.78±0.23	1.05±0.18
	6	0.83±0.02	0.80±0.01	0.90±0.04
Valine ^{6) 7)}	0	4.74±0.20	4.88±0.19	4.95±0.04
	6	4.91±0.01	5.04±0.05	4.98±0.06
Methionine ^{4) 6) 7)}	0	3.07±0.03	3.24±0.08 ^a	3.24±0.81
	6	2.72±0.23	2.80±0.06 ^b	2.65±0.23
Isoleucine ^{6) 7)}	0	4.58±0.11	4.83±0.18	4.84±0.33
	6	4.74±0.16	4.62±0.04	4.62±0.13
Leucine ⁷⁾	0	7.39±0.06	7.49±0.40	7.79±0.53
	6	7.53±0.11	7.35±0.11	7.30±0.08
Tyrosine ^{5) 6)}	0	3.17±0.19	3.02±0.06	3.33±0.23
	6	3.40±0.08	3.20±0.13	3.00±0.21
Phenylalanine ^{5) 6) 7)}	0	4.40±0.30	4.22±0.30 ^a	4.54±0.00
	6	4.56±0.06	4.39±0.20 ^b	4.31±0.01
Lysine ⁷⁾	0	9.06±0.05	9.10±0.36	9.13±0.08
	6	9.21±0.06	9.17±0.00	9.24±0.06
Histidine ^{6) 7)}	0	2.64±0.33	2.42±0.11	2.78±0.13
	6	2.69±0.02	2.62±0.01	2.63±0.07
Ammonia	0	1.28±0.05	1.36±0.09	1.36±0.05
	6	1.33±0.00	1.36±0.02	1.36±0.04
Arginine ^{6) 7)}	0	6.21±0.27	6.97±1.10	6.12±0.39
	6	6.37±0.01	6.54±0.05	6.49±0.08
FAA ²⁾	0	18.67±0.76	18.97±0.68	18.63±0.37
	6	18.95±0.01	18.84±0.22	18.99±0.07
STAA ³⁾	0	17.01±0.56	17.41±0.67	17.52±1.17
	6	18.23±0.12	18.47±0.19	18.41±0.18
SAA ⁴⁾	0	3.82±0.01	4.03±0.32	4.29±0.99
	6	3.55±0.25	3.59±0.04	3.55±0.25
AAA ⁵⁾	0	7.57±0.49	7.24±0.37	7.87±0.23
	6	7.96±0.15	7.59±0.33	7.31±0.23
BAA ⁶⁾	0	28.81±0.80	29.56±0.17	29.79±1.14
	6	29.37±0.11	29.19±0.21	28.67±0.41
EAA ⁷⁾	0	46.62±0.56	47.63±0.67	47.93±1.10
	6	47.41±0.21	47.27±0.15	46.94±0.02

¹⁾ Treatments are the same as in Table 80.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

²⁾ FAA (flavorous amino acid), ³⁾ STAA (sweet taste amino acid), ⁴⁾ SAA (sulfur-containing amino acid), ⁵⁾ AAA (aromatic amino acid), ⁶⁾ BAA (bitter amino acid), ⁷⁾ EAA (essential amino acid).

(3) MDCM 추출 조미소재를 첨가한 유당형 어묵

(가) 0주차



C



T1



T2

(나) 6주차



C



T1



T2

(4) 요약

MDCM을 각각 0(C), 0.4(T1)과 0.8(T2)% 씩 첨가하여 제조한 어묵의 품질과 유통기한 설정을 위하여 각각의 어묵은 냉장온도에서 약 6주간에 걸쳐 저장되었다. 어묵의 백색도는 MDCM을 첨가할수록 감소하였으나 명도는 유의적인 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며 제조된 어묵의 gel 특성은 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 조직적 특성에 있어서는 MDCM의 첨가가 거의 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다. 특히 MDCM의 첨가는 제품의 라디칼소거능을 나타내는 DPPH값이 높아 항산화능이 있었다. 또한 관능검사에서는 대조구와

큰 특징적 변화가 관찰되지 않았으며 따라서 어묵 제품의 제조 시 연육에 대해 폐계 가슴살 커팅육을 20%까지 대체한 다음 MDCM 가수분해물을 0.4%(T1)까지 첨가하며 제조한다면 약 6주까지도 유통이 가능할 것으로 판단된다.

마. MDCM 추출 조미소재를 첨가한 소시지의 품질 특성 및 유통기한 설정

(1) 재료 및 방법

(가) 시험설계 및 배합비

Table 90. Experimental design and formula

원부재료명	구성비(%)					
	C	T1	T2	T3	T4	T5
햄 육	67.4	67.4	67.4	67.4	67.4	67.4
지방	21	21	21	21	21	21
I C E	9	8	7	6	8.95	8.95
NPS	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
인산염	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
설탕	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
M S G	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
향신료	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
소계	100	99	98	97	99.95	99.95
MDCM 가수분해물	-	1	2	3	-	-
비타민C	-	-	-	-	0.05	-
에르소르빈산나트륨	-	-	-	-	-	0.05
총계	100	100	100	100	100	100

소시지 제조시 탈취 MDCM 2단 가수분해물 C(0), T1(1.0), T2(2.0), T3(3.0%) 및 T4(비타민 C 0.05), T5(에르소르빈산나트륨 0.05%) 물 대체하였다.

(나) 시험 목적: 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 첨가 수준(0, 1, 2, 3%)이 비타민C 및 에르소르빈산나트륨과 비교시 향산화성 등 그 품질 특성 구명과 유통기한을 설정하는데 있다.

(다) 소시지의 제조

- ① MDCM 가수분해물: 협동기관에서 연구 개발한 2단 가수분해 후 이취를 제거한 가수분해물을 이용하였다.
- ② 소시지 제조방법
 - 원부재료준비: 햄육과 지방은 5mm Chopping
 - 유화: 원료육을 Silent Cutter bowl에 깔고 1단으로 Cutting하면서 염지제(NPS, 인산염, 설탕 MSG)를 투입한 후 2단에서 뽁뽁해질 때까지 Cutting한다. 1/2 ICE를 투입하여 다시 뽁뽁해질 때까지 Cutting한다. 1/2 ICE를 투입하고 이어서 5℃전후 시 지방과 첨가물(분말)을 투입하여 Cutting하며 시간은 총 10분, 유화물의 최종온도는 14℃이하에서 종료한다.
 - 충전: 유화물을 PVDC Casing에 충전한다.
 - 결찰: Clipper로 양끝을 Clipping한다.
 - 열처리: Autoclave에서 Cooking 온도 78℃(중심온도 74℃ 도달 시 종료, 약 40분소요)
 - 냉각: 제품 표면온도 10℃이하 되도록 흐르는 물에 30분 이상 냉각
- ③ 저장시험 조건: 10℃, 4주간
- ④ 조사항목 및 방법: 상기 실험 “가”와 동일

(2) 결과 및 고찰

Table 91. Proximate compositions of cooked sausages (%)

Treatments ^{D)}	C	T1	T2	T3	T4	T5
Moisture	61.30±0.13 ^B	61.87±0.18 ^A	61.39±0.11 ^B	61.40±0.03 ^B	59.82±0.16 ^C	61.48±0.09 ^B
Crude protein	18.71±0.47	18.88±0.22	19.41±0.77	18.12±0.61	19.13±0.35	19.17±0.01
Crude fat	14.82±0.33 ^{DE}	14.74±0.31 ^E	15.56±0.25 ^{CD}	16.53±0.67 ^B	17.31±0.56 ^A	16.10±0.25 ^{BC}
Crude ash	2.10±0.12 ^A	1.15±0.08 ^B	1.21±0.06 ^B	1.16±0.14 ^B	1.25±0.02 ^B	1.31±0.17 ^B
Colesterol (mg/100g)	5.75±0.09 ^A	5.23±0.04 ^C	5.41±0.07 ^B	5.38±0.01 ^B	5.19±0.00 ^C	5.14±0.08 ^C

^{D)} Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 91은 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 일반성분을 나타낸 것으로 처리간에 조지방 함량은 T4가 가장 높게 나타났으며, 대조구에 비하여 모든 처리구들이 높게 나타났다. 한편 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였다. 조회분과 콜레스테롤 함량은 대조구에 비해 모든 처리구들이 낮게 나타났다.

Table 92. Color of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
L*	C	81.46±0.22	81.64±0.24 ^B	81.95±0.24 ^{BC}
	T1	81.76±0.28	81.83±0.11 ^B	81.64±0.42 ^C
	T2	81.49±0.03 ^b	81.71±0.33 ^{Bab}	82.09±0.20 ^{Ba}
	T3	81.91±0.41	82.46±0.20 ^A	82.52±0.13 ^A
	T4	81.67±0.22	81.67±0.15 ^B	81.79±0.12 ^{BC}
	T5	81.35±0.19	81.24±0.17 ^C	81.16±0.19 ^D
a*	C	5.47±0.23 ^D	5.91±0.21 ^{BC}	5.83±0.01 ^C
	T1	5.83±0.09 ^{CD}	6.05±0.05 ^B	6.31±0.37 ^B
	T2	6.12±0.06 ^C	6.09±0.06 ^B	6.23±0.37 ^{BC}
	T3	5.55±0.34 ^D	5.77±0.10 ^C	5.79±0.16 ^C
	T4	6.81±0.26 ^{Bb}	7.20±0.03 ^{Aa}	7.26±0.14 ^{Aa}
	T5	7.33±0.28 ^A	7.31±0.17 ^A	7.45±0.22 ^A
b*	C	8.55±0.12 ^{Aa}	8.29±0.17 ^{Ab}	8.22±0.05 ^{Ab}
	T1	8.29±0.10 ^{ABa}	8.01±0.03 ^{Bb}	8.15±0.15 ^{ABab}
	T2	8.05±0.07 ^{BC}	7.89±0.17 ^B	7.91±0.18 ^{BC}
	T3	8.22±0.27 ^{BC}	7.98±0.15 ^B	8.07±0.24 ^{ABC}
	T4	7.96±0.08 ^C	7.77±0.14 ^B	7.89±0.03 ^{BC}
	T5	7.40±0.18 ^{Db}	7.44±0.10 ^{Cb}	7.85±0.06 ^{Ca}
W ²⁾	C	55.80±0.43 ^{Cb}	56.76±0.75 ^{Cab}	57.28±0.28 ^{BCa}
	T1	56.89±0.57 ^{Bb}	57.81±0.16 ^{Ba}	57.20±0.10 ^{Cab}
	T2	57.35±0.17 ^B	58.05±0.75 ^{AB}	58.37±0.67 ^A
	T3	57.26±0.83 ^B	58.52±0.26 ^{AB}	58.31±0.86 ^A
	T4	57.78±0.45 ^B	58.36±0.57 ^{AB}	58.12±0.04 ^{AB}
	T5	59.14±0.68 ^{Aa}	58.92±0.48 ^{Aa}	57.61±0.30 ^{ABCb}
C	C	10.16±0.20	10.18±0.26 ^{BC}	10.08±0.04 ^{BC}
	T1	10.13±0.12	10.03±0.02 ^{CD}	10.31±0.15 ^B
	T2	10.10±0.07	9.97±0.14 ^{CD}	10.07±0.13 ^{BC}
	T3	9.92±0.38	9.85±0.17 ^D	9.99±0.20 ^C
	T4	10.48±0.22	10.60±0.09 ^A	10.72±0.12 ^A
	T5	10.42±0.15 ^b	10.43±0.19 ^{ABb}	10.83±0.19 ^{Aa}
h	C	57.38±0.98 ^{Aa}	54.55±0.42 ^{Ab}	54.67±0.11 ^{Ab}
	T1	54.91±0.41 ^B	52.93±0.29 ^B	52.26±2.07 ^{BC}
	T2	52.75±0.31 ^C	52.33±0.63 ^B	51.81±2.22 ^C
	T3	55.98±1.17 ^{ABa}	54.14±0.30 ^{Ab}	54.52±0.30 ^{ABb}
	T4	49.49±0.82 ^{Da}	47.16±0.64 ^{Cb}	47.40±0.42 ^{Db}
	T5	45.29±1.64 ^E	45.52±0.35 ^D	46.52±0.68 ^D

¹⁾ Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

²⁾ W = L* - 3b*

Table 92는 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 제품의 색을 나타낸 것으로 명도는 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였으며, T5가 가장 낮게 나타났다. 적색도는 T4와 T5가 다른 처리구들에 비해 높게 나타났다. 황색도 및 h값은 대조구 대비 모

든 처리구들이 낮게 나타났다. 백색도는 T5가 다른 처리구들에 비해 가장 낮게 나타났다. 저장기간 경과로 h값은 대조구와 T3 및 T4구에서 감소하였다.

Table 93. Gel characteristics of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Breaking force (g)	C	450.33±30.99 ^C	412.33±35.30 ^C	464.67±17.21 ^C
	T1	482.33±30.35 ^{BCab}	439.67±25.32 ^{BCb}	521.33±22.72 ^{BCa}
	T2	570.33±52.04 ^A	535.33±22.55 ^A	598.00±38.51 ^A
	T3	529.00±16.52 ^{AB}	494.67±44.79 ^{AB}	532.33±39.51 ^{ABC}
	T4	518.00±32.91 ^{AB}	539.00±21.17 ^A	498.00±52.09 ^C
	T5	537.33±42.03 ^{AB}	480.67±44.00 ^{AB}	579.00±39.15 ^{AB}
Deformation (mm)	C	5.01±0.15 ^{Bb}	5.44±0.17 ^{Ba}	4.74±0.00 ^{Bc}
	T1	4.97±0.23 ^{Bb}	5.67±0.25 ^{Ba}	4.94±0.26 ^{Bb}
	T2	5.87±0.35 ^A	6.04±0.00 ^A	5.44±0.46 ^A
	T3	5.34±0.44 ^B	5.37±0.15 ^B	4.97±0.29 ^B
	T4	5.14±0.17 ^{Bb}	5.54±0.10 ^{Ba}	4.87±0.15 ^{Bb}
	T5	5.31±0.06 ^B	5.37±0.21 ^B	5.54±0.10 ^A
Gel strength (g/cm ²)	C	2293.52±157.80 ^C	2099.99±179.82 ^C	2366.52±87.67 ^C
	T1	2456.50±154.60 ^{BCab}	2239.20±129.02 ^{BCb}	2655.12±115.70 ^{BCa}
	T2	2904.68±265.00 ^A	2726.42±114.83 ^A	3045.58±196.10 ^A
	T3	2694.17±84.15 ^{AB}	2519.31±228.12 ^{AB}	2711.14±201.20 ^{ABC}
	T4	2638.15±167.60 ^{AB}	2745.10±107.82 ^A	2536.29±265.30 ^C
	T5	2736.61±214.00 ^{AB}	2448.01±224.12 ^{AB}	2948.82±199.40 ^{AB}
Jelly strength (g*mm)	C	224.54±16.92 ^C	224.26±19.24 ^C	220.25±8.16 ^B
	T1	239.81±16.97 ^C	249.86±25.58 ^C	257.80±23.07 ^B
	T2	332.74±23.09 ^A	323.34±13.62 ^A	326.47±48.53 ^A
	T3	282.72±28.59 ^B	266.22±31.02 ^{BC}	265.34±32.70 ^B
	T4	266.36±21.50 ^{BC}	296.92±16.44 ^{AB}	243.19±32.64 ^B
	T5	287.21±27.69 ^B	258.71±31.12 ^{BC}	320.51±15.89 ^A

¹⁾ Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 93은 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 겔특성을 나타낸 것으로 파괴강도는 주로 단백질의 양과 정의 상관관계가 있으며, 변형값은 단백질의 질과 정의 상관관계가 있다. 처리 간에 파괴강도 및 겔강도는 대조구 대비 모든 처리구들이 높게 나타났으며, T2가 가장 높게 나타났다. 변형값 및 젤리강도는 T2가 다른 처리구들에 비해 높게 나타났다.

저장기간 경과로 변형값의 경우 대조구와 T1 및 T4에서 2주까지 증가 후 다시 감소하였다.

Table 94. Texture properties of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Brittleness (kg)	C	0.24±0.02	0.24±0.02 ^B	0.24±0.03 ^B
	T1	0.25±0.01 ^{ab}	0.23±0.01 ^{Bb}	0.26±0.01 ^{ABa}
	T2	0.29±0.03	0.29±0.02 ^A	0.31±0.03 ^A
	T3	0.29±0.03	0.26±0.01 ^{AB}	0.30±0.00 ^A
	T4	0.26±0.04	0.27±0.02 ^{AB}	0.28±0.03 ^{AB}
	T5	0.25±0.02	0.27±0.04 ^{AB}	0.30±0.03 ^A
Hardness (kg)	C	0.31±0.02 ^{BC}	0.30±0.02	0.33±0.01
	T1	0.30±0.01 ^{Cb}	0.31±0.01 ^b	0.34±0.01 ^a
	T2	0.35±0.02 ^A	0.38±0.06	0.35±0.02
	T3	0.33±0.01 ^{AB}	0.37±0.03	0.37±0.03
	T4	0.33±0.01 ^{AB}	0.33±0.05	0.37±0.02
	T5	0.33±0.01 ^{Ab}	0.34±0.01 ^b	0.37±0.02 ^a
Cohesiveness (%)	C	0.58±0.03	0.56±0.01 ^B	0.56±0.02
	T1	0.61±0.12	0.58±0.02 ^B	0.56±0.04
	T2	0.56±0.00	0.59±0.01 ^B	0.55±0.03
	T3	0.54±0.02 ^b	0.61±0.03 ^{Ba}	0.55±0.03 ^b
	T4	0.56±0.03 ^b	0.73±0.07 ^{Aa}	0.53±0.02 ^b
	T5	0.58±0.06	0.59±0.01 ^B	0.52±0.02
Springiness (mm)	C	1.05±0.07	1.02±0.03 ^B	1.02±0.03
	T1	1.10±0.16	1.02±0.03 ^B	1.02±0.03
	T2	1.00±0.00 ^b	1.11±0.03 ^{Ba}	1.04±0.03 ^b
	T3	1.00±0.01	1.08±0.07 ^B	1.01±0.01
	T4	1.02±0.03 ^b	1.26±0.07 ^{Aa}	1.00±0.00 ^b
	T5	1.06±0.05	1.05±0.05 ^B	1.02±0.03
Gumminess (kg)	C	0.18±0.01	0.16±0.02 ^C	0.19±0.01
	T1	0.18±0.03	0.18±0.00 ^{BC}	0.19±0.02
	T2	0.19±0.01	0.23±0.04 ^{AB}	0.20±0.02
	T3	0.18±0.01 ^b	0.22±0.01 ^{ABa}	0.21±0.01 ^a
	T4	0.18±0.01	0.24±0.05 ^A	0.20±0.02
	T5	0.19±0.03	0.20±0.01 ^{ABC}	0.19±0.00
Chewiness (kg,mm)	C	0.18±0.02	0.17±0.02 ^C	0.19±0.01
	T1	0.21±0.06	0.18±0.01 ^{BC}	0.20±0.02
	T2	0.19±0.01	0.25±0.04 ^{AB}	0.20±0.02
	T3	0.18±0.01 ^b	0.24±0.02 ^{Ba}	0.21±0.00 ^a
	T4	0.19±0.01 ^b	0.31±0.08 ^{Aa}	0.20±0.02 ^b
	T5	0.20±0.04	0.21±0.02 ^{BC}	0.19±0.01
Adhesiveness	C	0.14±0.00	0.14±0.01	0.14±0.01 ^B
	T1	0.13±0.02	0.13±0.01	0.15±0.00 ^{AB}
	T2	0.12±0.01	0.11±0.04	0.15±0.01 ^B
	T3	0.14±0.02	0.13±0.02	0.16±0.00 ^A
	T4	0.14±0.01	0.15±0.01	0.14±0.00 ^B
	T5	0.14±0.01	0.13±0.02	0.15±0.01 ^{AB}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 94는 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 조직감을 나타낸 것으로 처리 간에 표면경도는 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였으나 T4 및 T5와는 차이를 보이지 않았다.

Table 95. Physico-chemical characteristics of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
pH	C	6.07±0.01 ^{Ac}	6.22±0.02 ^{Aa}	6.15±0.03 ^{Ab}
	T1	5.94±0.00 ^{Bb}	5.93±0.02 ^{Bb}	6.02±0.01 ^{Ba}
	T2	5.84±0.01 ^{Cc}	5.91±0.01 ^{Bb}	5.99±0.00 ^{Ca}
	T3	5.82±0.00 ^{Db}	5.84±0.02 ^{Cb}	5.96±0.01 ^{Da}
	T4	5.81±0.01 ^{Db}	5.83±0.02 ^{Cb}	5.96±0.01 ^{Da}
	T5	5.76±0.01 ^{Ec}	5.81±0.01 ^{Cb}	5.91±0.01 ^{Ea}
Shear force (kg/cm ²)	C	1.39±0.07 ^{ABa}	1.29±0.01 ^{CDb}	1.12±0.02 ^{ABc}
	T1	1.31±0.01 ^{CDa}	1.31±0.01 ^{Ca}	1.17±0.03 ^{Ab}
	T2	1.42±0.03 ^{Aa}	1.42±0.02 ^{Aa}	1.17±0.05 ^{Ab}
	T3	1.42±0.04 ^{Aa}	1.27±0.02 ^{Db}	1.02±0.08 ^{Cc}
	T4	1.25±0.03 ^{Db}	1.38±0.02 ^{Ba}	1.07±0.05 ^{BCc}
	T5	1.34±0.02 ^{BCa}	1.33±0.04 ^{Ca}	1.14±0.01 ^{ABb}
TBARS (mg/100g)	C	0.34±0.02 ^{Ca}	0.26±0.01 ^{Cb}	0.33±0.02 ^{Aa}
	T1	0.36±0.01 ^{BCa}	0.28±0.00 ^{Bc}	0.32±0.01 ^{Ab}
	T2	0.37±0.02 ^{ABa}	0.30±0.01 ^{Ab}	0.33±0.01 ^{Ab}
	T3	0.39±0.01 ^{Aa}	0.31±0.00 ^{Ac}	0.35±0.02 ^{Ab}
	T4	0.36±0.02 ^{ABCa}	0.25±0.01 ^{Cb}	0.28±0.03 ^{Bb}
	T5	0.35±0.02 ^{BCa}	0.24±0.01 ^{Cb}	0.26±0.02 ^{Bb}
VBN (mg%)	C	6.16±0.59	6.67±0.65	7.09±0.29 ^C
	T1	6.58±0.79	7.79±0.58	7.37±0.08 ^{BC}
	T2	7.42±0.40	7.09±0.35	7.89±0.16 ^A
	T3	6.72±0.48	7.33±0.16	7.70±0.48 ^{AB}
	T4	6.86±0.74	7.05±0.32	7.09±0.21 ^C
	T5	5.88±0.37 ^b	7.14±0.28 ^a	7.23±0.21 ^{BCa}
Aw	C	0.91±0.01	0.91±0.01	0.92±0.01
	T1	0.92±0.01	0.90±0.01	0.91±0.01
	T2	0.91±0.00	0.91±0.01	0.91±0.01
	T3	0.91±0.00	0.91±0.01	0.92±0.01
	T4	0.92±0.01	0.91±0.01	0.90±0.01
	T5	0.91±0.00	0.91±0.01	0.91±0.01

¹⁾ Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at p<0.05.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

Table 95는 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 이화학적 특성을 나타낸 것으로 처리 간에 pH는 대조구보다 모든 처리구들이 낮게 나타났으며, MDCM 가수분해물 첨가 수준

이 증가할수록 감소하였으며, T5가 가장 낮게 나타났다. 전단가는 T2가 다른 처리구들에 비해 높게 나타났다. TBARS는 저장 초기에는 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였으나 4주 저장 시 처리 간에 차이를 보이지 않았다. 그러나 T4와 T5보다 네 처리구들이 높게 나타났다. VBN은 4주째 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였으며, T4와 T5보다 네 처리구들이 높게 나타났다.

저장기간 경과로 pH는 증가하는 반면 전단가는 감소하였다. TBARS는 대조구의 경우 저장 초기와 4주 저장 시 차이를 보이지 않았으나 처리구들은 저장 말기에 오히려 낮아졌다.

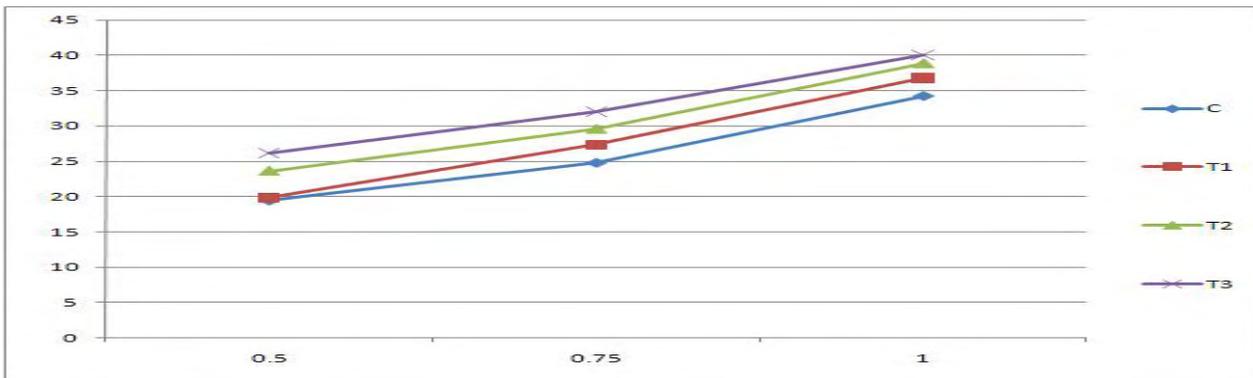


Fig. 5. DPPH antiradical activity of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks.

Fig. 5는 일반적인 소시지에 MDCM 가수분해물 0%(C), 1.0%(T1), 2.0%(T2), 3.0%(T3), 비타민C 0.05%(T4), 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 DPPH radical 소거능을 나타낸 것으로 T4와 T5는 거의 90% 이상 소거능을 나타내었으며(데이터 미제시), MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 소거능이 높아져 항산화성이 있는 결과였으나 거의 40% 이하 수준으로 비타민C(T4)와 에르소르빈산나트륨(T5)과는 효과면에서 많은 차이를 나타내었다.

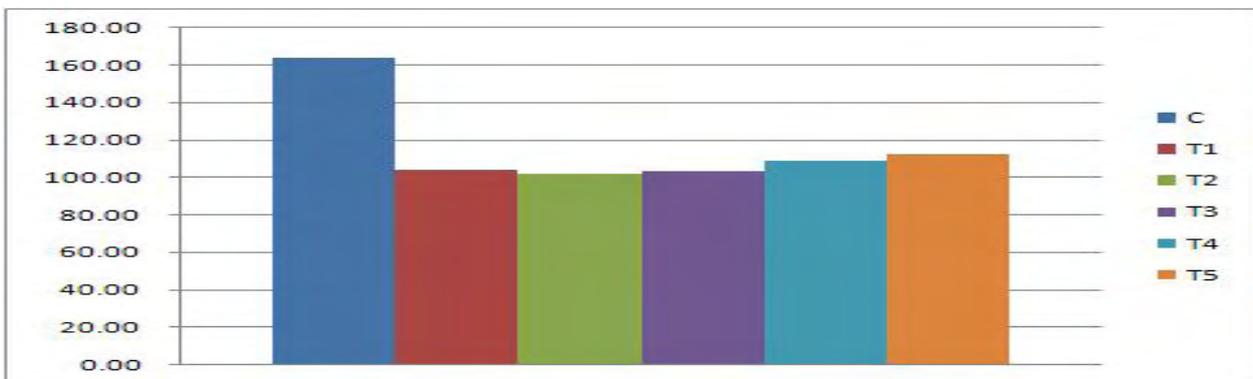


Fig. 6. POV of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks.

Fig. 6은 일반적인 소시지에 MDCM 가수분해물 0%(C), 1.0%(T1), 2.0%(T2), 3.0%(T3), 비타민C 0.05%(T4), 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 POV 값을 나타낸 것으로 대조구보다는 모든 처리구들이 낮게 나타났으며, MDCM 가수분해물을 첨가한 구들과 비타민C 및 에르소르빈산나트륨을 첨가한 구들과 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 96. Sensory score¹⁾ of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ²⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Color	C	6.79±0.39 ^C	6.50±0.41 ^B	7.00±0.45 ^{BC}
	T1	6.86±0.48 ^{BC}	6.57±0.35 ^B	7.17±0.41 ^{ABC}
	T2	7.21±0.39 ^{Ba}	6.29±0.70 ^{Bb}	7.42±0.38 ^{ABa}
	T3	6.86±0.24 ^{BC}	6.57±0.61 ^B	6.92±0.38 ^C
	T4	7.71±0.27 ^{Aa}	7.36±0.24 ^{Ab}	7.50±0.00 ^{Aab}
	T5	7.71±0.27 ^A	7.50±0.29 ^A	7.42±0.20 ^{AB}
Aroma	C	7.21±0.39 ^A	7.07±0.61 ^A	7.42±0.49 ^A
	T1	6.50±0.41 ^{Ba}	5.79±0.39 ^{Bb}	6.25±0.52 ^{BCab}
	T2	6.07±0.35 ^B	5.71±0.49 ^B	5.88±0.68 ^C
	T3	6.07±0.19 ^B	5.57±0.45 ^B	5.92±0.58 ^C
	T4	7.36±0.69 ^A	7.21±0.39 ^A	7.17±0.68 ^A
	T5	7.21±0.64 ^A	7.43±0.45 ^A	6.92±0.58 ^{AB}
Off-Flavor	C	7.86±0.63 ^A	7.64±0.48 ^A	7.67±0.41 ^A
	T1	5.71±0.39 ^{Ba}	4.29±0.70 ^{Bb}	3.17±0.41 ^{Cc}
	T2	5.71±0.64 ^{Ba}	3.29±0.70 ^{Cb}	3.08±0.58 ^{Cb}
	T3	5.64±0.56 ^{Ba}	3.86±0.63 ^{BCb}	2.33±0.41 ^{Dc}
	T4	8.21±0.39 ^{Aa}	7.36±0.48 ^{Ab}	6.83±0.61 ^{Bb}
	T5	8.07±0.53 ^{Aa}	7.50±0.41 ^{Ab}	7.08±0.38 ^{Bb}
Flavor	C	7.50±0.00 ^A	7.29±0.39 ^A	7.25±0.42 ^A
	T1	6.36±0.24 ^B	6.14±0.38 ^B	6.25±0.69 ^B
	T2	6.29±0.57 ^B	5.79±0.57 ^B	6.25±0.52 ^B
	T3	5.86±0.48 ^C	5.79±0.64 ^B	6.33±0.61 ^B
	T4	7.79±0.27 ^{Aa}	7.50±0.50 ^{Aa}	7.00±0.45 ^{Ab}
	T5	7.57±0.35 ^A	7.21±0.27 ^A	7.42±0.38 ^A
Springness	C	7.14±0.38 ^a	6.43±0.35 ^{Bb}	6.92±0.38 ^a
	T1	7.07±0.35	6.79±0.27 ^{AB}	7.08±0.38
	T2	7.64±0.56 ^a	7.07±0.53 ^{Ab}	7.75±0.27 ^a
	T3	7.00±0.29	6.79±0.57 ^{AB}	7.25±0.42
	T4	7.43±0.73	7.07±0.35 ^A	7.08±0.58
	T5	7.43±0.45	7.19±0.33 ^A	7.08±0.58
Juiciness	C	7.21±0.27	7.14±0.56	7.42±0.20
	T1	7.21±0.27	7.00±0.41	7.33±0.41
	T2	7.64±0.48	7.36±0.38	7.25±0.27
	T3	7.21±0.39	6.93±0.53	7.17±0.52
	T4	7.36±0.63	6.90±0.41	7.05±0.23
	T5	7.57±0.45	7.29±0.27	7.22±0.35
Overall acceptability	C	7.29±0.49 ^B	7.07±0.45 ^A	7.33±0.61 ^A
	T1	6.50±0.29 ^C	6.29±0.49 ^B	6.25±0.69 ^C
	T2	6.36±0.56 ^C	6.07±0.45 ^B	6.42±0.58 ^{BC}
	T3	6.14±0.24 ^C	6.00±0.71 ^B	6.08±0.66 ^C
	T4	7.79±0.27 ^{Aa}	7.40±0.41 ^{Aab}	7.08±0.38 ^{ABb}
	T5	7.79±0.27 ^{Aa}	7.29±0.27 ^{Ab}	7.25±0.42 ^{Ab}

¹⁾ Sensory scores were assessed on 9 point scale base on 1=extremely bad or slight,

9=extremely good or much.

²⁾ Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same column significantly differ at $p < 0.05$.

^{a-c} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

Table 96은 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 관능평가 결과를 나타낸 것으로 처리 간에 색은 T4 및 T5가 다른 처리구들에 비해 높게 나타났으며, 향, 이취, 맛 및 전체적 기호도는 대조구, T4 및 T5에 비해 MDCM 첨가구들이 낮게 나타났다.

저장기간 경과로 모든 처리구들이 이취가 증가하여 점수가 낮아지는 결과였다. 전체적 기호도는 T4와 T5에서 저장기간 경과로 낮아졌다.

Table 97. Fatty acid composition of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks (%)

Fatty acids	Treatments ¹⁾					
	C	T1	T2	T3	T4	T5
Decanoic acid(C10:0)	0.06±0.00	0.06±0.00	0.06±0.00	0.06±0.00	0.06±0.00	0.06±0.00
Lauric acid(C12:0)	0.09±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00	0.09±0.00
Myristic acid(C14:0)	1.49±0.01 ^B	1.49±0.00 ^B	1.51±0.01 ^A	1.50±0.00 ^{AB}	1.48±0.01 ^C	1.49±0.00 ^B
Palmitic acid(C16:0)	22.36±0.11 ^{AB}	21.94±0.04 ^C	21.98±0.02 ^C	22.03±0.03 ^C	22.44±0.05 ^A	22.27±0.01 ^B
Palmitoleic acid(C16:1)	2.35±0.01 ^D	2.35±0.00 ^D	2.49±0.01 ^A	2.44±0.01 ^B	2.24±0.01 ^E	2.39±0.00 ^C
Magaric acid(C17:0)	0.47±0.00 ^A	0.45±0.00 ^C	0.45±0.00 ^C	0.46±0.00 ^B	0.47±0.01 ^A	0.43±0.00 ^D
Magaolic acid(C17:1)	0.47±0.00 ^{AB}	0.44±0.01 ^C	0.47±0.01 ^B	0.48±0.01 ^A	0.45±0.00 ^C	0.45±0.00 ^C
Stearic acid(C18:0)	11.76±0.11 ^{BC}	11.96±0.37 ^{AB}	11.05±0.05 ^D	11.00±0.30 ^D	12.18±0.13 ^A	11.55±0.05 ^C
Oleic acid(C18:1)	45.29±0.02 ^B	45.23±0.34 ^B	45.85±0.04 ^A	46.02±0.25 ^A	45.06±0.16 ^B	45.78±0.07 ^A
Linoleic acid(C18:2, n-6)	13.33±0.01 ^C	13.63±0.06 ^A	13.68±0.01 ^A	13.54±0.08 ^B	13.22±0.01 ^D	13.14±0.02 ^D
Linolenic acid(C18:3, n-3)	0.73±0.00 ^C	0.75±0.01 ^A	0.74±0.00 ^B	0.71±0.01 ^{DE}	0.72±0.00 ^D	0.71±0.00 ^E
Arachidic acid(C20:0)	0.17±0.01 ^B	0.18±0.00 ^A	0.17±0.00 ^B	0.17±0.00 ^B	0.17±0.01 ^B	0.18±0.00 ^A
Eicosenoic acid(C20:1)	1.00±0.02 ^C	1.00±0.00 ^C	1.01±0.00 ^{BC}	1.08±0.01 ^A	1.02±0.01 ^B	1.02±0.01 ^B
Eicosatrienoic acid(C20:4)	0.43±0.01 ^{AB}	0.43±0.01 ^B	0.44±0.01 ^A	0.42±0.01 ^B	0.40±0.00 ^C	0.44±0.01 ^{AB}
SFA ²⁾	36.40±0.02 ^B	36.17±0.41 ^B	35.31±0.03 ^C	35.31±0.33 ^C	36.89±0.17 ^A	36.07±0.05 ^B
MUFA ²⁾	49.11±0.01 ^C	49.02±0.34 ^{CD}	49.82±0.04 ^{AB}	50.01±0.23 ^A	48.77±0.17 ^D	49.65±0.07 ^B
PUFA ²⁾	14.48±0.02 ^C	14.81±0.08 ^A	14.86±0.01 ^A	14.68±0.10 ^B	14.34±0.01 ^D	14.28±0.02 ^D
UFA ²⁾	63.60±0.02 ^B	63.83±0.41 ^B	64.69±0.03 ^A	64.69±0.33 ^A	63.11±0.17 ^C	63.93±0.05 ^B
EFA ²⁾	14.48±0.02 ^C	14.81±0.08 ^A	14.86±0.01 ^A	14.68±0.10 ^B	14.34±0.01 ^D	14.28±0.02 ^D
UFA/SFA	1.75±0.00 ^B	1.76±0.03 ^B	1.83±0.00 ^A	1.83±0.03 ^A	1.71±0.01 ^C	1.77±0.01 ^B
EFA/UFA	0.23±0.00 ^A	0.23±0.00 ^A	0.23±0.00 ^A	0.23±0.00 ^A	0.23±0.00 ^A	0.22±0.00 ^B
n-3	0.73±0.00 ^C	0.75±0.01 ^A	0.74±0.00 ^B	0.71±0.01 ^{DE}	0.72±0.00 ^D	0.71±0.00 ^E
n-6	13.75±0.02 ^C	14.06±0.07 ^A	14.13±0.01 ^A	13.96±0.09 ^B	13.62±0.01 ^D	13.57±0.02 ^D
n-3/n-6	0.05±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00

¹⁾ Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at $p < 0.05$.

²⁾ SFA (saturated fatty acid), MUFA (monounsaturated fatty acid), PUFA (polyunsaturated fatty acid), UFA (unsaturated fatty acid), EFA (essential fatty acid).

Table 97은 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 지방산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에 불포화지방산과 다가불포화지방산은 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 증가하였으며, T4가 가장 낮게 나타났다. 다가불포화지방산과 필수지방산은 T4와 T5가 다른 처리구들에 비해 낮게 나타났다.

Table 98. Amino acid composition of cooked sausages stored at 10°C for 4 weeks (%)

Amino acids	Treatments ¹⁾					
	C	T1	T2	T3	T4	T5
Aspartic acid	9.44±0.11 ^A	9.26±0.18 ^A	9.18±0.18 ^A	8.61±0.23 ^B	9.06±0.08 ^A	9.39±0.18 ^A
Threonine ^{3) 7)}	4.57±0.08 ^A	4.53±0.11 ^A	4.62±0.08 ^A	4.19±0.14 ^B	4.51±0.08 ^A	4.68±0.14 ^A
Serine ³⁾	3.84±0.14	3.86±0.13	3.77±0.09	3.53±0.11	3.80±0.06	3.88±0.05
Glutamic acid ²⁾	14.24±0.06 ^{ABC}	14.50±0.28 ^{AB}	13.80±0.49 ^C	13.73±0.14 ^C	13.89±0.09 ^{BC}	14.60±0.08 ^A
Proline	4.04±0.02 ^C	5.21±0.14 ^A	4.93±0.25 ^{AB}	4.31±0.60 ^{BC}	4.20±0.09 ^C	4.17±0.16 ^C
Glycine ³⁾	5.31±0.13	5.11±0.23	5.28±0.13	4.78±0.05	5.26±0.06	5.02±0.18
Alanine ³⁾	5.70±0.25	5.68±0.04	5.82±0.11	5.32±0.16	5.60±0.04	5.78±0.18
Cystine ⁴⁾	1.32±0.14	1.19±0.19	1.36±0.05	1.35±0.08	1.32±0.03	1.29±0.08
Valine ^{6) 7)}	5.25±0.03 ^{BC}	5.17±0.04 ^C	5.27±0.06 ^{BC}	5.46±0.07 ^A	5.45±0.05 ^A	5.35±0.06 ^{AB}
Methionine ^{4) 6) 7)}	4.17±0.37 ^B	3.87±0.43 ^B	3.95±0.49 ^B	5.33±0.30 ^A	3.93±0.25 ^B	3.26±0.49 ^B
Isoleucine ^{6) 7)}	5.08±0.60 ^B	4.91±0.13 ^B	4.99±0.19 ^B	8.14±1.16 ^A	6.33±0.21 ^B	4.88±0.96 ^B
Leucine ⁷⁾	8.02±0.12	7.93±0.12	7.83±0.27	8.52±0.30	8.23±0.14	7.99±0.30
Tyrosine ^{5) 6)}	3.43±0.05	3.32±0.05	3.31±0.21	2.81±0.30	3.27±0.05	3.40±0.08
Phenylalanine ^{5) 6) 7)}	4.41±0.03	4.30±0.02	4.43±0.09	3.99±0.03	4.35±0.19	4.45±0.23
Lysine ⁷⁾	8.68±0.33	8.80±0.04	8.90±0.42	8.33±0.35	8.69±0.09	9.21±0.43
Histidine ^{6) 7)}	4.46±0.04	4.33±0.01	4.50±0.02	4.23±0.13	4.24±0.07	4.46±0.14
Ammonia	1.54±0.06	1.51±0.08	1.53±0.01	1.41±0.03	1.60±0.06	1.58±0.13
Arginine ^{6) 7)}	6.54±0.20	6.57±0.16	6.59±0.07	6.00±0.31	6.34±0.01	6.64±0.38
FAA ²⁾	14.24±0.06 ^{ABC}	14.50±0.28 ^{AB}	13.80±0.49 ^C	13.73±0.14 ^C	13.89±0.09 ^{BC}	14.60±0.08 ^A
STAA ³⁾	19.42±0.62 ^A	19.18±0.02 ^A	19.49±0.16 ^A	17.81±0.45 ^B	19.15±0.05 ^A	19.35±0.55 ^A
SAA ⁴⁾	5.49±0.51	5.06±0.62	5.31±0.54	6.67±0.21	5.25±0.28	4.54±0.57
AAA ⁵⁾	7.84±0.02 ^A	7.61±0.06 ^A	7.73±0.30 ^A	6.79±0.33 ^B	7.61±0.24 ^A	7.85±0.32 ^A
BAA ⁶⁾	33.33±0.82 ^{BC}	32.45±0.35 ^C	33.02±0.25 ^{BC}	35.95±0.17 ^A	33.89±0.18 ^B	32.43±0.68 ^C
EAA ⁷⁾	51.16±0.58 ^{BC}	50.39±0.12 ^C	51.06±0.32 ^C	54.19±0.28 ^A	52.05±0.21 ^B	50.91±0.48 ^C

¹⁾ Treatments are the same as in Table 90.

^{A-B} Means with different superscript in the same row significantly differ at p<0.05.

²⁾ FAA (flavorous amino acid), ³⁾ STAA (sweet taste amino acid), ⁴⁾ SAA (sulfur-containing amino acid), ⁵⁾ AAA (aromatic amino acid), ⁶⁾ BAA (bitter amino acid), ⁷⁾ EAA (essential amino acid).

Table 98은 기존 소시지 제조 시 MDCM 가수분해물 0%(C), 1%(T1), 2%(T2), 3%(T3), 비타민C 0.05%(T4) 및 에르소르빈산나트륨 0.05%(T5) 첨가 시 아미노산 조성을 나타낸 것으로 처리 간에 맛 관련 아미노산(FAA)은 MDCM 가수분해물 첨가 수준이 증가할수록 감소하였으며, T5가 가장 높게 나타났다. 단맛 관련 아미노산(STAA)과 방향족 아미노산(AAA)는 다른 처리구들에 비해 T3가 낮게 나타난 반면, 쓴맛 관련 아미노산(BAA)와 필수 아미노산(EAA)은 T3가 가장 높게 나타났다.

(3) MDCM 추출 조미소재를 첨가한 소시지

(가) 0주차



C



T1



T2



T3



T4



T5

(나) 4주차



C



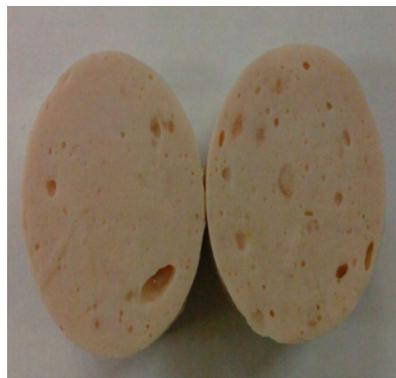
T1



T2



T3



T4



T5

(4) 요약

MDCM을 각각 0(C), 1(T1), 2(T2), 3(T3), 비타민 C 0.05(T4)와 에르소르빈산나트륨 0.05(T5)%씩 첨가하여 제조한 소시지의 품질과 유통기한 설정을 위하여 각각의 소시지는 냉장온도에서 약 4주간에 걸쳐 저장되었다. 소시지의 명도와 백색도는 MDCM을 첨가할수록 증가하였으며 gel 특성 또한 대체적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 조직적 특성에 있어서는 MDCM의 첨가가 거의 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었으며 특히 MDCM의 첨가는 제품의 POV값을 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 따라서 이러한 품질적 변화는 관능검사요원들에 의해 수행된 관능평가에 영향을 미쳤으며 저장 2주 이후에는 대조구의 소시지와 유의적인 변화가 관찰될 수 있었다. 따라서 소시지 제품 제조 시 MDCM 가수분해물의 첨가는 소시지 제품의 품질에 영향을 미칠 수 있는 것으로 조사되었으며 따라서 가급적 적은 함량 즉, 소시지의 제조 시에는 MDCM 가수분해물을 1.0%(T1)까지 첨가함으로써 다소나마 품질에 긍정적인 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다.

3. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발(3차년)

가. 회수단백질의 생리활성 검증

(1) 재료 및 방법

(가) 항산화능의 측정

① DPPH radical 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성은 Park 등(2005)의 방법에 따라 측정하였다. 시험관에 시료 용액 500 μL 를 넣고, 500 μL 의 ethanol과 250 μL 의 0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)/ethanol 용액을 첨가한 다음 25 $^{\circ}\text{C}$ 의 실온에서 30분 동안 방치한 이후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료를 대신하여 500 μL 의 탈이온수를 사용하였으며, Blank는 DPPH와 증류수 대신 750 μL 의 ethanol을 사용하였다. 라디칼 소거 활성은 다음의 식에 따라 DPPH 탈색에 대한 백분율(%)로 환산하여 계산하였다.

$$\text{라디칼 소거 활성} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

② Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase 활성은 Stirpe와 Della (1969)의 방법을 기반으로 측정하였다. 시료 1 mL에 1.9 mL의 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)와 기질인 1 mL의 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ hypoxanthine를 혼합하였다. 0.1 mL의 0.25 unit/mL xanthine oxidase를 첨가한 다음 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 반응시킨 이후 1 N HCl 1mL를 첨가로 반응을 정지시킨 다음 290 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료를 대신하여 시료를 녹인 ethanol을 앞서 언급한 동일 방법으로 실시하였으며 효소의 저해율은 반응 용액 중에 생성된 uric acid의 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{Inhibition rate(\%)} = 1 - \frac{\text{시료 첨가시의 효소 활성도}}{\text{대조구의 효소 활성도}} \times 100$$

③ Superoxide radical scavenging effect

활성산소 제거능의 측정은 DCFDA 측정법을 이용하여 측정하였다. 99.9%의 에탄올에 용해한 1 mM 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate(DCFDA)와 3차 증류수에 용해한 600 U/mL Esterase를 -20 $^{\circ}\text{C}$ 에 저장하였으며, 이후 1mM DCFDA와 600 U/mL Esterase를 혼합하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 배양하였다. 제조된 2',7'-dichlorodihydrofluorescein(DCFH)는 사용 전까지 암소에서 냉동보관 한 뒤 100배 희석하며 실험에 사용하였다. O_2^- 생성량은 130 μL 의 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 시료 10 μL 와 10 μL 의 20

mM menadion 혼합을 37 °C에서 5분간 shaking 하였으며 이후 100배 희석한 DCFH용액 50 uL를 첨가하여 O₂⁻와의 반응을 유도하였다. 이후 20분간의 반응 유도를 통해 생성된 형광의 변화를 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 530 nm에서 측정하였다.

④ Hydroxyl radical scavenging activity

Fenton 반응에 따라 시료 10 uL와 50 mM potassium phosphate(pH 7.4) 130 uL에 10 mM FeSO₄ 540 uL와 1.35 mM H₂O₂ 20 mL를 섞은 혼합액 190 uL를 첨가한 다음 37 °C에서 5분간 반응시켰으며 이후 100배 희석한 DCFH 용액 50 uL를 첨가하여 DCFH 용액이 OH와 반응하며 생성하는 형광의 변화를 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 530 nm에서 측정하였다.

(나) ACE 저해활성

ACE 저해활성은 Janitha 등의 방법(2002)에 따라 실시하였으며 기질로는 hippuryl-His-Leu (HHL)을 사용하였고 고속액체 크로마토그래피(HPLC, Hitachi, Japan)를 이용하여 hippuric acid의 함량을 측정하여 ACE 저해활성으로 예시하였다. 시약 조제를 위한 완충액은 0.1 M Borate buffer(pH 8.3)을 사용하였다. 시험관에 시료 용액 40 uL와 ACE(25 mU/mL) 150 uL를 혼합한 다음 37 °C 항온 수조에서 10분간 반응을 유도하였다. 이후 5 mM HHL-0.3 M NaCl/0.1 M Borate buffer(pH 8.3) 100 uL를 첨가한 다음 다시 30분 동안 반응을 유도하였으며, 1 M HCl 150 uL를 혼합함으로써 ACE 활성을 중지시킨 다음 HPLC로 hippuric acid의 함량을 측정하였다. Hippuric acid(HA)의 정량을 위해서는 guard column(Bonclone C₁₈, 10 um, 50 x 1.0 mm, Phenomenex Co., Torrance, CA, USA)와 C₁₈ 역상 칼럼(Bonclone C₁₈, 5 um, 250 x 4.6 mm, Daiso Co., Ltd. Japan)를 장착한 HPLC에 반응 중지 용액 20 µL를 주입한 다음, 0.1% TFA/DW와 0.1%/acetonitrile 용액으로 용출시키면서 228 nm에서 검출하였다. 대조구 용액은 시료 대신 40 µL의 완충액을 사용하였으며, 효소 저해 백분율은 다음 식에 따라 산출하였다. 시료 농도별로 ACE 저해 활성을 측정하여 농도별 저해 활성을 선형 회귀분석에 따라 분석한 이후 ACE 활성을 약 50% 저해하는 데 필요한 시료 농도를 IC₅₀으로 정의하였다.

$$\text{ACE 저해(\%)} = \frac{\text{대조구의 HA} - \text{시료의 HA}}{\text{대조구의 HA}} \times 100$$

(2) 결과 및 고찰

(가) 항산화능의 측정

① DPPH radical 소거 활성

MDCM 2단 가수분해물 및 이취 제거 가수분해물의 DPPH radical 소거활성을 측정한다

결과는 Table 99와 같다. DPPH는 짙은 자색을 띠는 라디칼로 항산화 물질에 의해 전자를 공여 받으면 환원이 되어 고유의 자색이 옅어지면서 노란색으로 탈색된다. 전자공여능을 측정하는 방법으로 DPPH의 환원 정도를 기준으로 물질의 환원력과 항산화력을 측정하게 된다. 여러 농도의 시료 용액을 제조하여 DPPH라디칼 소거능을 측정해 본 결과, 대조구로 사용된 ascorbic acid는 50% 라디칼 소거 농도가 0.04 mg/ml이었다. MDCM 2단 가수분해물은 16.59 mg/mL이었으며, 이취제거 가수분해물은 7.34 mg/mL로 이취제거 가수분해물의 경우가 MDCM 2단 가수분해물보다 더 높은 항산화능이 있는 것으로 조사되었다.

Table 99. The EC₅₀ value of DPPH radical scavenging activity of MDCM hydrolysates and deodorized MDCM hydrolysates

Sample	EC ₅₀ , mg/mL
Ascorbic acid	0.04
MDCM hydrolysates	16.59
Deodorized MDCM hydrolysates	7.34

② Xanthine oxidase inhibitory activity

MDCM 가수분해물의 xanthine oxidase 활성 저해능을 측정한 결과는 Table 100과 같다. 산화 유도 효소인 xanthine oxidase의 활성 저해능은 0.1 mg/mL의 농도에서 대조구인 ascorbic acid는 75.62%였으며, MDCM 가수분해물은 41.24%, 이취제거 MDCM 가수분해물은 42.17%인 것으로 나타났다.

Table 100. Xanthine oxidase inhibition activity of MDCM hydrolysates and deodorized MDCM hydrolysates (%)

Sample(mg/mL)	0.01	0.05	0.1	0.5	1
Ascorbic acid	56.13	66.90	75.62	-	-
MDCM hydrolysates	-	16.78	41.24	51.13	-
Deodorized MDCM hydrolysates	-	-	42.17	50.90	49.88

③ Superoxide radical scavenging activity

활성산소의 생성을 측정한 Table 101에 의하면 MDCM은 같은 수용성인 ascorbic acid에 비해 활성산소의 제거 능력이 거의 없는 것으로 조사되었으며 이러한 경향은 MDCM 특유의 냄새를 제거한 경우에도 유사하였다.

Table 101. O₂ • radical scavenging activity of MDCM hydrolysates and deodorized MDCM hydrolysates (%)

Sample(mg/mL)	0.1	1	5	10	50
Ascorbic acid	65.1±0.2	75.8±0.4	81.9±0.2	84.0±0.5	87.0±0.2
MDCM hydrolysates	1.0±0.1	7.6±0.1	-	-	-
Deodorized MDCM hydrolysates	3.8±0.0	3.5±0.1	10.2±0.1	9.3±0.0	-

④ Hydroxyl radical(•OH) scavenging activity

하이드록시 라디칼의 제거 능력 또한 수용성의 ascorbic acid를 약 50 mg/mL을 처리하였을 경우 약 93%의 제거 능력을 나타내었으나, MDCM 수용액의 경우에는 13.1 - 44.6%의 제거능력을 나타내었다(Table 102). 그러나 MDCM 수용액이 약 <1 mg/mL를 사용하면 ascorbic acid의 하이드록시 라디칼 제거능에 비해 다소 높은 21.1%의 소거능을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 102. Hydroxyl radical (•OH) scavenging activity of MDCM hydrolysates and deodorized MDCM hydrolysates (%)

Sample(mg/mL)	0.1	1	5	10	50
Ascorbic acid	7.1±0.6	15.7±0.6	44.7±1.4	81.7±0.9	93.0±1.1
MDCM hydrolysates	-	-	25.0±0.0	24.9±0.0	13.1±0.1
Deodorized MDCM hydrolysates	17.8±0.0	21.1±0.1	22.8±0.0	32.5±0.0	44.6±0.1

(나) Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity

ACE 저해능의 경우에는 MDCM 수용액을 사용하였을 경우에는 0.45의 수치를 나타내었으나, MDCM 고유의 냄새를 제거한 수용액을 사용하였을 경우에는 0.18의 수치를 나타내어 MDCM 고유의 냄새를 제거한 수용액 보다는 이취를 제거하지 않은 MDCM 고유의 용액을 사용한 처리구가 ACE 저해능을 향상시킬 수 있는 것으로 조사되었다 (Table 103).

Table 103. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity (IC₅₀) of MDCM hydrolysates and deodorized MDCM hydrolysates

Sample(mg/mL)	IC ₅₀ , mg/mL
MDCM hydrolysates	0.45
Deodorized MDCM hydrolysates	0.18

(3) 요약

MDCM 수용액은 천연의 수용성 항산화제중 그 능력이 우수한 것으로 알려진 ascorbic acid에 비하여 DPPH, xanthine oxidase inhibitory activity, 활성산소 및 하이드록시 라디칼 소거능 등에서 다소 저조한 기능을 발휘하는 것으로 조사되었으며 특히 간 기능과 관련된 ACE 저해능에서는 MDCM의 함량에 따라 그 기능이 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다.

나. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 게맛살의 개발

- 해동된 MDCM(과다 지방제거, 균질화)
 - ↓ - Protamex 5% 첨가
 - ↓ - 43°C에서 1시간 동안 항온
 - ↓ - pH 7.0으로 조절
 - ↓ - Bromelain 1% 첨가
 - ↓ - 50°C에서 1시간 동안 항온
- MDCM 2단 가수분해물
 - ↓ - 중심온도 85°C, 15 min, 효소 활성화
- 저온실 냉각
 - ↓ - 기름 및 침전물 제거
- 에탄올 침전(가수분해물:에탄올 = 5.2 L:5.2 L)
 - ↓ - Filtration(정성여과지 No. 2, 20, 150 mm)
- 기름 제거 MDCM 2단 가수분해물(Brix, 5)

Fig. 7. 기름 제거 MDCM 2단 가수분해물 제조방법(게맛살용).

(1) 재료 및 방법

(가) 시험설계

게맛살 제조시 기름 제거 MDCM 2단 가수분해물 C(0), T1(0.5), T2(1.0), T3(1.5%) 물 대체, 연육은 이또요리 연육 활용하였다.

게맛살의 제조를 위한 배합은 Table 104와 같으며, Table 105의 방법에 따라 게맛살을 제조하며 실험을 실시하였다. MDCM 2단 가수분해물을 포함하지 않은 게맛살을 대조구로 하였으며, 이후 MDCM 2단 가수분해물을 wt/v대비 0.5, 1.0과 1.5%로 각각 첨가하며 실험군을 제조하였다. 각 대조구 및 실험군의 게맛살은 제조공정 이후 진공포장(Cryovac, 60 um, BB4L, Japan)을 하였으며, 진공포장 이후 모든 대조구 및 실험군의 게맛살들은 4±1°C의 냉장온도에서 최종 6주간 저장하며 실험을 실시하였다. 6주간의 저장기간중 저장 0, 2, 4와 6주에 각 대조군과 실험군의 게맛살을 샘플링 하였으며 이들 샘플링 한 게맛살을 이용하여 pH, 수분, 수분활성, 총균, 육색, volatile basic nitrogen (VBN), thiobarbituric acid reactive substances

(TBARS), peroxide value (POV), gel characteristics, texture property 그리고 관능검사를 실시하였다. 더욱이 저장 0와 6주에 수집된 게맛살 시료들은 제품의 기능적 특성을 조사하기 위하여 경남 통영에 위치한 경상대학교 해양과학대학의 한 실험실에 급냉한 상태로 수송되어졌으며 이후 제품의 DPPH, 활성산소 소거능, 하이드록시기 소거능, ACE 저해능과 간보호 활성 등에 대한 조사가 이루어 졌다.

Table 104. Formula of recovered protein to manufacture imitation crab stick

원부재료명	구성비(%)			
	C	T1	T2	T3
Itoyori "AA"	40.00	40.00	40.00	40.00
MDCM 가수분해물	-	0.50	1.00	1.50
소맥전분	17.57	17.57	17.57	17.57
정제소금	1.40	1.40	1.40	1.40
정백당	0.89	0.89	0.89	0.89
계액기스	0.64	0.64	0.64	0.64
글루텐	0.33	0.33	0.33	0.33
대두단백	0.54	0.54	0.54	0.54
조미액	0.58	0.58	0.58	0.58
L-글루타민산나트륨	0.45	0.45	0.45	0.45
대두유	0.51	0.51	0.51	0.51
탄산칼슘	0.42	0.42	0.42	0.42
난백	0.13	0.13	0.13	0.13
카라기난	0.16	0.16	0.16	0.16
계향	0.10	0.10	0.10	0.10
씨엠이	0.17	0.17	0.17	0.17
레드칼라DW	0.09	0.09	0.09	0.09
케이텐비	0.08	0.08	0.08	0.08
클리신	0.16	0.16	0.16	0.16
G.D.L	0.20	0.20	0.20	0.20
인산염	0.20	0.20	0.20	0.20
정제수(얼음포함)	35.38	34.88	34.38	33.88
합 계	100	100	100	100

Table 105. Manufacturing process of crab meat analog

Process
Temper or thawing of frozen surimi
Silent cutter (surimi, water, starch, ingredients)
Sheet extrusion
Steam cooking (95°C)
Gas cooking
Cooling
Slitting (1.2 mm)
Bundling or Rolling fiber bundle
Color (application to inner film and wrapping or color wrapped in film)
Cutting
Vacuum packaging
Metal detection
Pasteurization (95±2°C)
Cooling (below 10°C internal temp. of product)
Storage (below 10°C)

(나) MDCM 2단 가수분해물 첨가 게맛살의 제조

본 실험에 이용된 게맛살은 아래와 같으며 6주간의 냉장 저장 중 변화하는 제품의 품질을 육안으로 구분하고자 아래와 같이 나타내었다.

① 게맛살 0일차 단면



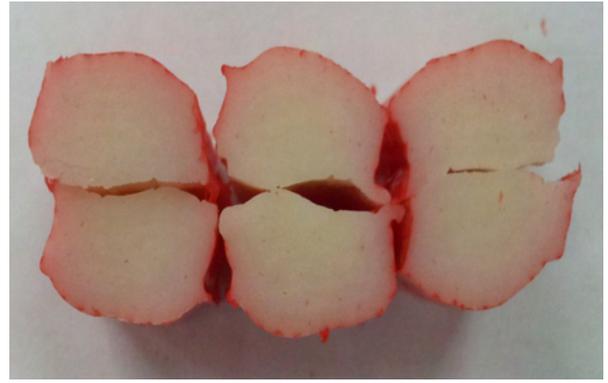
< C >



< T1 >



< T2 >



< T3 >

② 게맛살 0일차 앞면



< C >



< T1 >



< T2 >



< T3 >

③ 게맛살 0일차 뒷면



< C >



< T1 >



< T2 >



< T3 >

④ 게맛살 0일차 앞, 뒷면



< C >



< T1 >



< T2 >



< T3 >

⑤ 게맛살 0일차 조직(결)



< C >



< T1 >



< T2 >



< T3 >

(다) 저장에 따른 게맛살 제품의 품질 비교 방법

- ① pH 측정: 6주간의 저장 기간 중 pH는 시료 3 g을 증류수 27 mL과 함께 14,000 rpm에서 10초간 균질 한 다음 (T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia) pH meter(8603, Metrohm, Swiss)를 사용하여 측정하였다.
- ② 수분함량: 시료의 수분함량은 AOAC(2000) 방법의 상압가열 건조법 (method #934.01)에 준하여 실시하였다.
- ③ 수분활성: 공시시료의 수분활성도(a_w)는 시료를 균질한 후 a_w 측정기(LKM200A, Lokas Co., Korea)를 이용하여 25 °C의 실온에서 수분 분압에 의한 항량이 결정되었을 때 이를 시료의 상대습도 값으로 하였다.
- ④ 총균수: 시료를 동일 시간에 멸균된 stomach bag에 25 g씩 넣은 후 0.85%의 멸균 생리 식염수 225 mL을 가하고 Stomacher(788 60 ST Nom., Interscience, France)로 3분간 균질화하였다. 이후 원액은 순차적으로 희석하며 실험에 이용하였다. 총균수는 배양액을 1 mL 취하고 희석한 다음 plate count agar(PCA, Becton, Dickinson & Co., Sparks, USA)에 평판주개법으로 접종한 다음 37 °C에서 48 h 배양하며 나타난 집락수

- 를 log로 환산하여 수치화 하였다.
- ⑤ 육색 측정: 육색은 진공포장을 개봉한 후 30분간의 홍색화(blooming) 반응을 시킨 다음, 킴 와이프스(킴테크 킴와이프스, 유한킴벌리, 서울, 대한민국)를 사용하여 표면의 수분을 제거하였다. 이후, Minolta chroma meter(Minolta Co. CR-300, Japan)를 사용하여 2회 반복하며 명도(Lightness)를 나타내는 L^* 값, 적색도(Redness)를 나타내는 a^* 값과 황색도(Yellowness)를 나타내는 b^* 값을 측정하였다. Minolta chroma meter의 표준화 작업은 $Y=92.8$, $x=0.3134$, $y=0.3193$ 인 표준색판을 사용하였으며 백색도를 나타내는 W 값은 L^*-3b^* 의 식에 각각의 수치를 대입하여 계산하였다.
 - ⑥ VBN: 총 휘발성 질소 함량을 측정함으로써 단백질의 부패를 추정할 수 있는 total volatile basic nitrogen(VBN)은 Miwa와 Iida(1973)의 Conway 확산 측정법을 이용하였다. 시료 5 g과 15 mL의 증류수를 혼합한 다음 13,500 rpm에서 1분간 균질 하였으며, 이후 증류수를 이용하여 50 mL로 보정하였다. Whatman 거름종이(Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, England)를 이용하여 균질된 시료를 거른 다음 Conway 확산기의 외곽에 1 mL의 시료를 준비하였다. 확산기의 내부에는 0.01 N H_3BO_3 와 0.066% methyl red 그리고 0.066% bromocresol green을 1:1로 혼합한 혼합액을 2-3 방울 떨어뜨리고 바로 1 mL의 포화 K_2CO_3 를 확산기 외곽에 주입한 다음 37°C의 인큐베이터에서 약 120분간 배양하였다. 배양 후 각 시료를 0.02 N H_2SO_4 로 측정하였으며, 이후 휘발성 질소의 함량 (mg%)을 계산하여 수치화 하였다.
 - ⑦ TBARS: 저장 중 시료는 Buege와 Aust (1978)의 방법에 준하여 지방의 산화(TBARS)를 측정하였으며, 이를 mg malonaldehyde/kg (MA ppm)의 값으로 표기하였다. 시료 2.5 g에 7.5 mL의 증류수와 25 μ L의 butylated hydroxyanisole in ethanol (BHT) 그리고 10 mL의 TBA/TCA 용액을 혼합 하였으며, 이후 13,500 rpm에서 30초간 균질 하였다(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia). 모든 시료는 100 °C의 수조에서 15분간 가열하였으며, 얼음에서의 신속한 냉각과 4,000 rpm에서의 원심분리 이후에 각 시료의 상층액 흡광도를 521 nm에서 측정하였다 (UVIKON922, Kontron, Italy).
 - ⑧ POV: 지질 과산화물 생성 억제 효과를 측정하기 위하여 Nose 방법에 따라 POV 값을 측정하였다. Linoleic acid와 시료를 시험관에 넣은 후 50°C의 항온기에서 24 h 저장하며 산화를 촉진시켰으며 이후 chloroform/acetic acid (2:3, v/v)를 첨가하고 1분간 혼합한 다음 암실에서 5분간 방치시켰으며 여기에 다시 증류수와 전분 시액을 첨가한 후에 sodium thiosulfate를 이용하여 POV값을 측정하였다.
 - ⑨ 전단가 및 조직감: 전단력가와 조직감은 Instron 3343 (US/MX50, A&D Co., USA)을 사용하여 측정하였다. 전단력가는 시료를 크래미의 결 방향과 수평으로 ϕ 16.50×20.00 mm로 자른 후 결과 직각방향으로 knife형 plunger를 이용하여 절단하며 9회 반복 측정하였다. 이때 측정 조건은 load cell 10 kg, adapter area 30 mm²이었다. 조직감의 측정을 위하여서는 시료를 각각 2.0 (가로) × 2.0 (세로) × 1.0 cm (높이)로 정형한 다음

plunger No. 3를 사용하여 근육의 방향과 직각이 되게 하였으며 이후 시료의 경도 (hardness), 표면경도 (brittleness), 응집성 (cohesiveness), 겹성 (gumminess), 씹힘성 (chewiness), 탄력성 (springiness), 부착성 (adhesiveness)을 측정하였다. 이 때 분석조건은 전단력가와 조직감 모두 chart speed 120 mm/min, maximum load 10 kg, 측정속도 60 mm/min으로 하였다.

- ⑩ 파괴강도 및 변형값: 저장 중 크래미의 물리적 특성은 실린더형 시료(ø 1.8×2.0 cm) 위에 지름 5 mm 구형의 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 Rheometer (EZ-Test, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 사용하며 파괴강도(breaking force) 변형도(deformation), 젤 강도(gel strength) 및 젤리 강도(jelly strength)를 측정하였다. 이들 중 젤리 강도는 특히 Jelly strength= Breaking force × Deformation의 공식을 적용하며 수치화하였다.
- ⑪ 관능검사: 훈련된 7명의 관능검사 요원으로 하여금 주어진 각 시료의 육색, 향, 맛, 연도, 다즙성 및 전체적인 기호도 평가를 9점 척도법으로 평가하였다 (Meilgaard 등, 1991; AMSA, 1995). 관능검사를 위하여 처리구별 4개의 킹크랩 시료를 37°C의 인큐베이터 (JS-IN-180, Johnsam Co., Seoul, Korea)에서 약 15분간 예열함으로써 냉장 저장에 따른 차가운 감촉을 제거하였다. 각 처리구별 킹크랩 시료를 약 1×1×1 cm로 정형화한 다음, 세 자릿수의 랜덤 코드와 함께 관능검사 요원들에게 제공되었다. 이후 관능요원은 주어진 항목에 따라 1점은 매우 싫다 그리고 9점은 매우 좋다는 기준으로 평가하며 수치화하였다.

(라) 저장에 따른 게맛살 제품의 기능적 특성 비교

① 항산화능의 측정

DPPH radical 소거 활성은 Park 등(2005)의 방법에 따라 측정하였다. 시험관에 시료 용액 500 μL를 넣고, 500 μL의 ethanol과 250 μL의 0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)/ethanol 용액을 첨가한 다음 25 °C의 실온에서 30분 동안 방치한 이후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료를 대신하여 500 μL의 탈이온수를 사용하였으며, Blank는 DPPH와 증류수 대신 750 μL의 ethanol을 사용하였다. 라디칼 소거 활성은 다음의 식에 따라 DPPH 탈색에 대한 백분율(%)로 환산하여 계산하였다.

$$\text{라디칼 소거 활성} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

Xanthine oxidase 저해 활성은 Stirpe와 Della(1969)의 방법을 기반으로 측정하였다. 시료 1 mL에 1.9 mL의 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)와 기질인 1 mL의 20 ug/mL hypoxanthine를 혼합하였다. 0.1 mL의 0.25 unit/mL xanthine oxidase를 첨가한 다음 37°C에서 15분간 반응시킨 이후 1 N HCl 1mL를 첨가로 반응을 정지시킨 다음 290

nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료를 대신하여 시료를 녹인 ethanol을 앞서 언급한 동일 방법으로 실시하였으며 효소의 저해율은 반응 용액 중에 생성된 uric acid의 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = 1 - \frac{\text{시료 첨가시의 효소 활성도}}{\text{대조구의 효소 활성도}} \times 100$$

활성산소 제거능의 측정(Superoxide radical scavenging effect)은 DCFDA 측정법을 이용하여 측정하였다. 99.9%의 에탄올에 용해한 1 mM 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate(DCFDA)와 3차 증류수에 용해한 600 U/mL Esterase를 -20 °C에 저장하였으며, 이후 1mM DCFDA와 600 U/mL Esterase를 혼합하여 37 °C에서 20분간 배양하였다. 제조된 2',7'-dichlorodihydrofluorescein(DCFH)는 사용 전까지 암소에서 냉동보관 한 뒤 100배 희석하며 실험에 사용하였다. O₂⁻ 생성량은 130 uL의 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 시료 10 uL와 10uL의 20 mM menadion 혼합을 37 °C에서 5분간 shaking 하였으며 이후 100배 희석한 DCFH용액 50 uL를 첨가하여 O₂⁻와의 반응을 유도하였다. 이후 20분간의 반응 유도를 통해 생성된 형광의 변화를 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 530 nm에서 측정하였다.

Hydroxyl radical scavenging activity은 Fenton 반응에 따라 시료 10 uL와 50 mM potassium phosphate(pH 7.4) 130 uL에 10 mM FeSO₄ 540 uL와 1.35 mM H₂O₂ 20 mL를 섞은 혼합액 190 uL를 첨가한 다음 37°C에서 5분간 반응시켰으며 이후 100배 희석한 DCFH 용액 50 uL를 첨가하여 DCFH 용액이 OH와 반응하며 생성하는 형광의 변화를 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 530 nm에서 측정하였다.

② ACE 저해활성

ACE 저해활성은 Janitha 등의 방법(2002)에 따라 실시하였으며 기질로는 hippuryl-His-Leu (HHL)을 사용하였고 고속액체 크로마토그래피(HPLC, Hitachi, Japan)를 이용하여 hippuric acid의 함량을 측정하여 ACE 저해활성으로 예시하였다. 시약 조제를 위한 완충액은 0.1 M Borate buffer(pH 8.3)을 사용하였다. 시험관에 시료 용액 40 uL와 ACE(25 mU/mL) 150 uL를 혼합한 다음 37 °C 항온 수조에서 10분간 반응을 유도하였다. 이후 5 mM HHL-0.3 M NaCl/0.1 M Borate buffer(pH 8.3) 100 uL를 첨가한 다음 다시 30분 동안 반응을 유도하였으며, 1 M HCl 150 uL를 혼합함으로써 ACE 활성을 중지시킨 다음 HPLC로 hippuric acid의 함량을 측정하였다. Hippuric acid(HA)의 정량을 위해서는 guard column(Bonclone C₁₈, 10 um, 50x1.0 mm, Phenomenex Co., Torrance, CA, USA)와 C₁₈ 역상 칼럼(Bonclone C₁₈, 5 um, 250x4.6 mm, Daiso Co., Ltd. Japan)를 장착한 HPLC에 반응중지 용액 20 µL를 주입한 다음, 0.1% TFA/DW와 0.1%/acetonitrile 용액으

로 용출시키면서 228 nm에서 검출하였다. 대조구 용액은 시료 대신 40 μ L의 완충액을 사용하였으며, 효소 저해 백분율은 다음 식에 따라 산출하였다. 시료 농도별로 ACE 저해 활성을 측정하여 농도별 저해 활성을 선형 회귀분석에 따라 분석한 이후 ACE 활성을 약 50% 저해하는 데 필요한 시료 농도를 IC₅₀으로 정의하였다.

$$\text{ACE 저해 (\%)} = \frac{\text{대조구의 HA} - \text{시료의 HA}}{\text{대조구의 HA}} \times 100$$

③ 간 보호 활성의 측정

간세포주인 Chang 세포는 10% FBS, 10% NEAA(non essential amino acid)와 10% Sodium pyruvate가 함유된 MEM(modified Eagle's Medium) 배지를 사용하여 37°C에서 5% CO₂를 유지하며 배양하였다. 이때 세포의 오염이나 증식을 억제하기 위하여 Penicillin (100 units/mL)과 Streptomycin(100 μ g/mL)을 첨가하였다. 세포가 80% 정도 dish를 덮으면 phosphated-buffered saline-EDTA (PBS-EDTA)로 세척한 후 trypsin 처리하여 계대 배양하였으며 배지는 48시간마다 교환하였다. Chang cell을 96 well plate에 세포의 수가 1×10^5 cells/mL이 되도록 100 μ L씩을 분주한 후 세포부착을 위하여 온도가 37 °C이며 이산화 탄소의 함량이 5%인 인큐베이터에서 배양하였다. 24시간 배양한 후 대조군의 배지에는 serum free MEM 배지만을, 실험군에는 조제한 시료를 포함한 serum free MEM 배지로 교체하였으며 시료의 농도는 MEM 배지에 최종농도가 각각 50 μ g/mL, 100 μ g/mL, 200 μ g/mL 및 300 μ g/mL에 이르도록 처리하였다. 24시간 동안의 시료처리 이후 3.5% 알코올을 배지에 가하여 2시간 동안 배양한 다음 배양액을 제거하고 PBS 용액으로 2회 세척하였으며 최종적으로 MTT 시약을 처리하였다. 살아있는 세포의 미토콘드리아에 있는 reductase에 의해 MTT가 blue formazan을 형성하는 것을 ELISA plate reader로 490nm에서 측정하였으며, 간세포 보호효능은 3.5%에탄올 처리 대조군에 대한 에탄올과 함께 시료를 처리한 시험군의 세포 생존율을 비교하며 측정하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 저장에 따른 게맛살 제품의 품질 비교

① 게맛살의 물리화학적 특성 비교

6주 간의 저장기간 중 게맛살의 pH는 저장 기간이 지남에 따라 점차 유의적으로 증가하였으며, 이러한 결과 모든 처리구에서 동일하게 나타났다(Table 106). 그러나 게맛살의 pH는 일반적으로 MDCM 2단 가수분해물을 첨가한 처리구가 그렇지 않은 대조구에 비해 다소 높았으며 이러한 경향은 저장 2와 6주차에 두드러지게 나타났다.

수분 함량은 대조구의 경우 저장기간의 영향을 받지 않는 것으로 조사되었으나 MDCM 2단 가수분해물을 첨가한 처리구의 경우에는 MDCM 2단 가수분해물을 각각 0.5와 1.5% 첨가한다면 저장기간에 따라 점차 감소 (T1) 혹은 증가 (T3)하는 것으로 나타났다(표 145). 그러나

1.0%의 MDCM 2단 가수분해물을 첨가한 경우에는 대조구와 같이 저장기간에 따른 영향은 나타나지 않는 것으로 조사되었다.

수분활성과 총균수에 있어서는 MDCM 2단 가수분해물의 첨가 혹은 6주간의 저장에 따른 영향이 거의 나타나지 않는 것으로 조사되었다.

Table 106. Physico-chemical characteristics of imitation crab stick manufactured by the addition of dehydrated MDCM peptides

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)							
		0		2		4		6	
pH	C	7.02±0.01 ^{BCb}		7.03±0.01 ^{Bb}		7.06±0.02 ^{Ba}		7.06±0.01 ^{Ba}	
	T1	7.03±0.01 ^{Ad}		7.05±0.01 ^{Ac}		7.06±0.02 ^{Bb}		7.09±0.01 ^{Aa}	
	T2	7.01±0.00 ^{Cd}		7.04±0.01 ^{Ac}		7.07±0.01 ^{Bb}		7.10±0.01 ^{Aa}	
	T3	7.02±0.01 ^{ABc}		7.05±0.01 ^{Ab}		7.09±0.01 ^{Aa}		7.09±0.02 ^{Aa}	
Moisture	C	68.11±0.05 ^A		67.72±0.19 ^A		68.42±0.09 ^A		68.48±3.19 ^A	
	T1	65.09±0.10 ^{Cb}		65.13±0.12 ^{Cb}		65.61±0.19 ^{Ba}		64.88±0.18 ^{Bc}	
	T2	66.05±0.19 ^B		65.83±0.07 ^B		65.27±0.89 ^B		65.82±0.24 ^B	
	T3	63.59±0.32 ^{Db}		63.51±0.51 ^{Db}		64.29±0.13 ^{Ca}		64.37±0.17 ^{Ba}	
Aw	C	0.92±0.01 ^b		0.94±0.01 ^a		0.93±0.01 ^b		0.92±0.01 ^b	
	T1	0.92±0.01		0.92±0.01		0.92±0.01		0.92±0.01	
	T2	0.92±0.01		0.92±0.01		0.92±0.01		0.92±0.01	
	T3	0.92	0.00	0.93	0.01	0.91	0.01	0.92	0.01
Total plate count	C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	T1	0.00	0.00 ^b	0.00	0.00 ^b	0.58	0.68 ^a	0.00	0.00 ^b
	T2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	T3	0.43	1.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

② 게맛살의 육색 비교

CIE L*와 b*는 저장기간과 MDCM 2단 가수분해물의 첨가 모두의 영향을 받는 것으로 조사되었으며 특히, MDCM의 첨가량이 높을수록 CIE L*값은 점차 낮아진 반면 CIE b*의 값은 점차 증가하는 것으로 조사되었다(Table 107). 저장 초기 (-)값을 나타내었던 CIE a*는 저장 0주차 이후 점차 증가하였으며 특히 MDCM 2단 가수분해물을 첨가한 처리구의 CIE a* 값은 그렇지 않은 대조구에 비해 낮은 것으로 나타났다.

백색도를 나타내는 W 값은 대조구와 처리구 모두에서 유의적인 차이가 조사되지 않았으나 chroma (c)와 색도 (h) 값은 MDCM의 첨가에 영향을 받는 것으로 조사되었다(Table 136). Chroma와 색도 값은 MDCM 2단 가수분해물의 첨가에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 이러한 결과는 MDCM의 농도에 따라 유의적인 정의 상관관계를 보이는 것으로 조사되었다.

Table 107. Surface color of imitation crab stick manufactured by the addition of dehydrated MDCM peptides

Items	Treatments ^{b)}	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
L*	C	80.49±0.20 ^{Aa}	79.19±0.26 ^{Ab}	78.44±0.63 ^{Ac}	78.18±0.43 ^{Ac}
	T1	79.72±0.59 ^{Ba}	79.02±0.38 ^{Ab}	78.58±0.51 ^{Ab}	77.89±0.53 ^{Ac}
	T2	78.94±0.47 ^{Ca}	77.26±0.87 ^{Bc}	77.87±0.58 ^{Bb}	77.22±0.26 ^{Bc}
	T3	78.67±0.70 ^{Ca}	77.80±0.69 ^{Bb}	77.67±0.59 ^{Bbc}	77.10±0.49 ^{Bc}
a*	C	-0.79±0.11 ^{Ad}	1.54±0.32 ^{Ac}	2.43±0.20 ^{Ab}	2.79±0.25 ^{Aa}
	T1	-1.21±0.21 ^{Bc}	0.56±0.25 ^{Cb}	1.84±0.26 ^{Ba}	2.03±0.09 ^{Ba}
	T2	-1.61±0.12 ^{Cd}	0.99±0.15 ^{Bc}	1.46±0.23 ^{Cb}	2.19±0.21 ^{Ba}
	T3	-0.75±0.28 ^{Ad}	0.84±0.43 ^{Bcc}	1.68±0.23 ^{Bb}	2.03±0.30 ^{Ba}
b*	C	8.13±0.14 ^{Ca}	6.79±0.13 ^{Db}	6.53±0.28 ^{Cc}	6.69±0.14 ^{Dbc}
	T1	8.69±0.25 ^{Ba}	7.57±0.15 ^{Bb}	7.35±0.27 ^{Bc}	7.24±0.06 ^{Bc}
	T2	8.82±0.21 ^{Ba}	7.08±0.11 ^{Cb}	7.22±0.20 ^{Bb}	6.81±0.12 ^{Ca}
	T3	10.02±0.23 ^{Aa}	8.33±0.39 ^{Ab}	8.08±0.20 ^{Ac}	7.75±0.09 ^{Ad}
W	C	56.11±0.48	58.81±0.29	58.85±0.47	58.10±0.69
	T1	53.65±0.50	56.32±0.49	56.54±0.54	56.17±0.54
	T2	52.48±0.75	56.01±0.90	56.23±0.76	56.80±0.47
	T3	48.62±1.05	52.80±0.76	53.44±0.52	53.86±0.48
c	C	8.17±0.15 ^{Ac}	6.97±0.13 ^{Aa}	7.00±0.30 ^{Aa}	7.26±0.17 ^{Ab}
	T1	8.77±0.26 ^{Bb}	7.60±0.14 ^{Ba}	7.58±0.21 ^{Ba}	7.52±0.07 ^{Ca}
	T2	8.97±0.21 ^{Cc}	7.15±0.11 ^{Bb}	7.37±0.17 ^{Bab}	7.15±0.11 ^{Ba}
	T3	10.05±0.21 ^{Dc}	8.38±0.36 ^{Cb}	8.25±0.16 ^{Cab}	8.01±0.12 ^{Da}
h	C	95.54±0.73 ^{Ca}	77.24±2.61 ^{Cb}	69.54±2.09 ^{Dc}	67.39±1.81 ^{Cd}
	T1	97.89±1.22 ^{Ba}	85.73±1.93 ^{Bb}	75.89±2.39 ^{Bc}	74.33±0.63 ^{Bc}
	T2	100.35±0.68 ^{Ba}	82.02±1.17 ^{Cb}	78.57±1.96 ^{Cc}	72.12±1.71 ^{Cd}
	T3	94.30±1.66 ^{Aa}	84.17±3.17 ^{Ab}	78.21±1.77 ^{Ac}	75.35±2.07 ^{Ad}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

③ 게맛살의 VBN, TBARS와 POV 비교

단백질의 부패정도를 측정하는 VBN 값은 저장 중기인 2주차까지는 그 수치가 대조구와 처리구 모두에서 점차 증가하는 경향을 나타내었으나 이후 감소하였으며 특히, MDCM의 첨가는 대조구에 비해 유의적으로 높은 VBN 값을 나타내는 것으로 조사되었다(Table 108).

지방의 산화정도를 측정하는 TBARS와 POV 값은 MDCM의 첨가 농도가 증가할수록 TBARS와 POV 값 또한 점차 높아지는 것을 조사되었으며 특히, MDCM의 함량을 1.5%로 처리 하였을 경우 가장 높은 TBARS와 POV 값을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 108. VBN, TBARS and POV of imitation crab stick manufacture by the addition of dehydrated MDCM peptides

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
VBN	C	3.99±0.34 ^b	5.65±0.94 ^{Ba}	4.43±0.33 ^{Bb}	2.94±0.23 ^{Dc}
	T1	3.99±0.61 ^c	8.38±1.28 ^{Aa}	5.02±0.34 ^{Ab}	3.66±0.22 ^{Cc}
	T2	4.83±0.92	4.90±0.86 ^B	5.13±0.25 ^A	4.40±0.42 ^B
	T3	4.22±0.25 ^b	9.07±2.36 ^{Aa}	5.11±0.19 ^{Ab}	4.81±0.23 ^{Ab}
TBARS	C	1.76±0.13 ^{Ca}	1.71±0.03 ^{Ca}	1.58±0.08 ^{Cb}	1.51±0.08 ^{Cb}
	T1	1.93±0.13 ^B	1.78±0.11 ^{BC}	1.89±0.06 ^{AB}	1.80±0.09 ^B
	T2	1.93±0.03 ^B	1.82±0.11 ^B	1.85±0.14 ^B	1.85±0.15 ^{AB}
	T3	2.08±0.10 ^{Aab}	2.16±0.06 ^{Aa}	2.00±0.11 ^{Abc}	1.94±0.05 ^{Ac}
POV	C	1.22±0.01 ^d	1.56±0.14 ^{Cb}	1.41±0.06 ^{Cc}	2.35±0.06 ^{Da}
	T1	1.20±0.02 ^d	1.77±0.07 ^{BCb}	1.59±0.02 ^{Bc}	2.66±0.03 ^{Ca}
	T2	1.15±0.07 ^d	1.93±0.20 ^{ABb}	1.65±0.09 ^{Bc}	2.90±0.09 ^{Ba}
	T3	1.28±0.09 ^d	2.00±0.11 ^{Ab}	1.84±0.06 ^{Ac}	3.14±0.05 ^{Aa}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

④ 게맛살의 겔 특성 비교

게맛살의 파괴강도는 저장기간에 따라 유의적으로 증가하였으며 특히 대조구에 비해 MDCM 2단 가수분해물을 첨가한 처리구에서 유의적으로 높은 파괴강도 값을 나타내는 것으로 조사되었다(Table 109).

겔 강도와 젤리 강도 또한 대조구 게맛살에 비해 처리구의 게맛살에서 높은 겔 강도와 젤리 강도를 나타내는 것으로 조사되었으며 더욱이 이러한 경향은 저장기간이 지남에 따라 더욱 두드러지는 것으로 나타났다(Table 138). 그러나, 변형 값의 경우에는 MDCM의 첨가에 따른 영향이 조사되지 않았다.

Table 109. Gel characteristics of imitation crab stick manufactured by the addition of dehydrated MDCM peptides

Items	Treatments ^{b)}	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Breaking force (g)	C	355.78±24.32 ^{Ca}	329.56±18.91 ^{Cb}	356.22±15.26 ^{Ca}	354.78±29.40 ^{Ca}
	T1	374.22±24.69 ^{BCb}	393.56±36.67 ^{Bab}	420.67±37.21 ^{Ba}	413.56±19.94 ^{ABa}
	T2	388.75±20.90 ^{Bc}	464.89±28.16 ^{Ab}	496.78±30.50 ^{Aa}	435.78±43.88 ^{Ab}
	T3	444.44±29.94 ^{Ab}	491.89±56.99 ^{Aa}	504.89±39.74 ^{Aa}	397.44±30.74 ^{Bc}
Deformation (mm)	C	9.94±0.10 ^{Aa}	6.97±1.23 ^b	6.62±0.83 ^{Cb}	7.31±1.45 ^b
	T1	8.70±1.38 ^B	7.91±1.26	8.14±0.74 ^A	7.87±0.70
	T2	7.27±0.57 ^{Cb}	7.13±0.51 ^b	7.36±0.56 ^{Bb}	8.02±0.83 ^a
	T3	7.46±0.61 ^C	7.48±0.83	7.54±0.39 ^{AB}	7.18±0.55
Gel strength (g*mm)	C	3536.63±247.30 ^{Aa}	2298.54±414.80 ^{Cb}	2363.32±366.64 ^{Bb}	2595.22±591.02 ^{Cb}
	T1	3259.05±605.31 ^A	3114.88±562.81 ^B	3429.03±468.60 ^A	3249.38±243.60 ^{AB}
	T2	2825.76±283.00 ^{Bb}	3319.23±357.80 ^{ABa}	3668.30±454.50 ^{Aa}	3487.33±442.30 ^{Aa}
	T3	3323.09±398.40 ^{Aa}	3699.26±704.30 ^{Aa}	3800.92±282.20 ^{Aa}	2866.02±411.71 ^{BCb}
Jelly strength (g/cm ²)	C	1811.96±123.90 ^{Ca}	1678.41±96.30 ^{Cb}	1814.22±77.73 ^{Ca}	1806.86±149.74 ^{Ca}
	T1	1905.89±125.73 ^{BCb}	2004.36±186.80 ^{Bab}	2142.43±189.52 ^{Ba}	2106.22±101.54 ^{ABa}
	T2	1979.88±106.44 ^{Bc}	2367.65±143.41 ^{Ab}	2530.06±155.40 ^{Aa}	2219.39±223.50 ^{Ab}
	T3	2263.53±152.50 ^{Ab}	2505.16±290.30 ^{Aa}	2571.37±202.40 ^{Aa}	2024.16±156.60 ^{Bc}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

⑤ 게맛살의 조직감 비교

게맛살 표면과 게맛살 자체의 딱딱한 정도를 나타내는 표면경도와 경도의 경우에는 대조구인 C 처리구의 게맛살에서 가장 낮은 표면경도와 경도를 나타내었으며 이러한 경향은 저장 4주차까지 어느 정도 유지되었으나 이후 저장 6주차의 표면경도에서는 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 특히 경도의 경우에는 T3 처리구의 게맛살에서 가장 낮은 경도 값을 나타내는 것으로 조사되었다(Table 110). 겹성의 경우에는 MDCM 2단 가수분해물을 첨가한 처리구인 T1-T3 처리구에서 대조구에 비해 유의적으로 높은 겹성을 나타내었으나 MDCM의 함량에 따른 유의적인 차이는 조사되지 않았다. MDCM을 첨가하여 제조한 게맛살의 전단력 값은 MDCM의 함량을 0.5%로 유지하였을 경우 대조구의 게맛살과 유의적인 차이를 보이지 않았으나, MDCM의 함량을 증가시킴에 따라 저장 4주차까지는 전단력 값이 점차 감소하는 경향을 그러나 저장 6주차에는 MDCM의 함량 증가와 전단력 값은 정의 상관관계를 갖는 것을 조사되었다.

Table 110. Texture properties of imitation crab stick manufactured by the addition of dehydrated MDCM peptides

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Brittleness (kg)	C	0.23±0.02 ^C	0.23±0.04 ^C	0.23±0.02 ^C	0.24±0.03
	T1	0.30±0.01 ^{ABa}	0.27±0.03 ^{ABb}	0.27±0.02 ^{Bb}	0.26±0.02 ^b
	T2	0.28±0.02 ^{Ba}	0.25±0.02 ^{Bbc}	0.24±0.02 ^{Cc}	0.26±0.02 ^{ab}
	T3	0.31±0.02 ^{Aa}	0.29±0.02 ^{Ab}	0.29±0.02 ^{Ab}	0.24±0.03 ^c
Hardness (kg)	C	0.23±0.02 ^C	0.24±0.05 ^B	0.23±0.01 ^C	0.24±0.03 ^{BC}
	T1	0.30±0.01 ^{Ba}	0.29±0.02 ^{Aa}	0.27±0.02 ^{Bb}	0.27±0.01 ^{Ab}
	T2	0.29±0.02 ^{Ba}	0.27±0.02 ^{Aab}	0.24±0.02 ^{Cc}	0.26±0.02 ^{ABb}
	T3	0.32±0.02 ^{Aa}	0.29±0.02 ^{Ab}	0.29±0.02 ^{Ab}	0.24±0.03 ^{Cc}
Cohesiveness (%)	C	0.56±0.11	0.53±0.15 ^{AB}	0.51±0.16	0.45±0.09 ^B
	T1	0.65±0.16	0.62±0.12 ^A	0.57±0.16	0.77±0.25 ^A
	T2	0.61±0.11 ^{ab}	0.49±0.13 ^{Bb}	0.67±0.16 ^a	0.78±0.23 ^{Aa}
	T3	0.58±0.16	0.44±0.09 ^B	0.64±0.25	0.57±0.20 ^B
Springiness (mm)	C	1.42±0.28 ^a	1.19±0.17 ^b	1.14±0.21 ^b	1.08±0.16 ^{BB}
	T1	1.41±0.21	1.20±0.18	1.21±0.20	1.27±0.24 ^{AB}
	T2	1.48±0.22	1.32±0.29	1.36±0.22	1.50±0.23 ^A
	T3	1.28±0.20	1.28±0.12	1.27±0.26	1.28±0.34 ^{AB}
Gumminess (kg)	C	0.13±0.02 ^B	0.13±0.05 ^B	0.12±0.04 ^B	0.11±0.03 ^B
	T1	0.19±0.05 ^A	0.18±0.02 ^A	0.15±0.05 ^{AB}	0.20±0.06 ^A
	T2	0.18±0.04 ^{Aab}	0.13±0.03 ^{Bb}	0.16±0.03 ^{ABb}	0.21±0.06 ^{Aa}
	T3	0.19±0.05 ^{Aa}	0.13±0.03 ^{Bb}	0.19±0.08 ^{Aa}	0.13±0.04 ^{Bb}
Chewiness (kg,mm)	C	0.19±0.06	0.16±0.08	0.15±0.07	0.12±0.06 ^C
	T1	0.28±0.12	0.22±0.06	0.19±0.09	0.27±0.12 ^{AB}
	T2	0.26±0.07 ^{ab}	0.18±0.08 ^b	0.22±0.07 ^b	0.32±0.13 ^{Aa}
	T3	0.24±0.09	0.17±0.05	0.26±0.14	0.18±0.10 ^{BC}
Adhesiveness	C	0.04±0.01 ^B	0.04±0.01	0.04±0.01 ^B	0.04±0.01
	T1	0.06±0.01 ^{Aa}	0.05±0.01 ^b	0.05±0.01 ^{Ab}	0.05±0.01 ^b
	T2	0.06±0.01 ^A	0.05±0.01	0.04±0.01 ^B	0.05±0.01
	T3	0.06±0.01 ^{Aa}	0.05±0.01 ^{ab}	0.05±0.01 ^{Ab}	0.05±0.01 ^b
Shear force (kg/cm ²)	C	4.91±0.28 ^{Aa}	3.58±0.23 ^{Ab}	3.58±0.24 ^{Ab}	1.97±0.07 ^{Cc}
	T1	4.45±0.30 ^{Ba}	3.66±0.12 ^{Ab}	3.56±0.21 ^{Ab}	2.10±0.04 ^{Bc}
	T2	3.99±0.21 ^{Ca}	2.73±0.20 ^{Cb}	2.41±0.10 ^{Bc}	2.17±0.08 ^{Bd}
	T3	3.83±0.38 ^{Ca}	3.23±0.08 ^{Bc}	3.49±0.22 ^{Ab}	3.14±0.23 ^{Ac}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

⑥ 게맛살의 관능적 특성 비교

6주간의 저장기간 중 게맛살의 관능적 특성 비교는 Table 111과 같다. 육색, 육향, 풍미, 연도와 다즙성의 조사항목 모두에서 훈련된 관능검사 요원들은 유의적인 차이를 발견하지 못한 것으로 조사되었으며, 따라서 관능검사 요원들은 최종 기호성에서도 대조구와의 유의적인 차이를 판별하지 못하는 것으로 나타났다.

Table 111. Sensory evaluation of imitation crab stick manufactured by the addition of dehydrated MDCM peptides

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)			
		0	2	4	6
Color	C	7.36±0.75	7.86±0.38	7.58±0.66	7.33±0.52
	T1	7.36±0.38	7.07±0.98	7.05±0.82	6.33±0.82
	T2	7.14±0.69	7.36±0.48	7.08±0.74	6.33±1.21
	T3	7.29±0.39	7.36±0.80	6.58±1.02	6.67±0.52
Aroma	C	6.43±0.84	7.00±1.38	6.50±1.00	6.67±0.41
	T1	6.93±0.93	7.07±0.84	7.17±0.75	6.50±0.95
	T2	7.14±0.63	7.21±0.27	6.83±0.68	6.25±1.29
	T3	6.50±0.91	6.79±0.91	7.08±0.80	6.67±1.13
Flavor	C	7.50±0.58 ^a	7.36±0.48 ^a	6.75±0.69 ^{ab}	6.00±1.10 ^b
	T1	7.14±1.03	7.43±0.53	6.58±0.66	6.17±1.66
	T2	6.71±1.35	6.79±0.86	6.75±0.52	5.92±1.59
	T3	6.79±0.64	6.86±0.94	6.25±0.76	6.00±0.84
Tenderness	C	7.36±0.69	7.57±0.53	6.92±0.66	6.92±0.66
	T1	7.07±0.53	7.36±0.38	6.83±0.75	6.92±0.38
	T2	6.86±0.94	7.21±1.11	6.87±0.86	7.08±0.38
	T3	6.79±0.86	7.00±1.44	6.50±0.84	6.25±0.61
Juiciness	C	6.64±1.14	7.36±0.56	6.67±0.88	6.83±0.61
	T1	6.71±0.81	7.14±0.24	6.25±0.82	6.75±0.52
	T2	6.57±0.79	6.71±1.32	6.17±0.82	6.83±0.52
	T3	6.21±0.91	6.64±1.31	5.92±0.86	6.67±0.75
Overall acceptability	C	7.43±0.84	7.43±0.61	6.92±0.86	6.58±0.49
	T1	7.14±0.99	7.14±0.63	6.50±0.55	6.50±0.84
	T2	7.00±1.12	6.83±0.90	6.58±0.66	6.00±1.22
	T3	7.07±0.45	6.61±1.27	6.25±0.94	6.25±1.13

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

^{a,b} Means are significantly different within the same row ($p < 0.05$).

(나) 저장에 따른 게맛살 제품의 기능적 특성 비교

① 항산화능의 측정

DPPH radical 소거 활성은 MDCM 2단 가수분해물의 첨가 농도가 증가할수록 점차 증가하는 것으로 조사되었다. 1% MDCM을 첨가한 T2 게맛살의 경우에는 저장 0주차인 저장 초기에는 MDCM을 0.5% 첨가한 처리구에 비해 낮은 라디칼 소거 활성을 보였으나 저장 후기인 저장 6주차에는 1.5%의 MDCM을 첨가한 T3 처리구의 게맛살보다 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내는 것으로 조사되었다(Table 112).

Table 112. The DPPH radical scavenging activity of Crab stick extracts from MDCM hydrolysates (%)

Treatments ¹⁾		mg/mL			
		1	5	10	50
0 week	C	1.4±0.5	9.5±0.9	13.3±0.4	30.4±0.2
	T1	3.5±0.2	9.1±0.6	14.6±0.2	24.7±0.3
	T2	3.1±0.2	6.5±0.2	9.6±0.2	23.3±0.3
	T3	7.4±0.8	10.1±0.5	14.3±0.3	39.6±0.3
6 week	C	0.9±0.9	8.0±0.2	10.0±1.6	12.8±0.2
	T1	-	4.2±0.8	6.5±0.2	15.4±0.0
	T2	1.8±0.3	9.1±0.3	12.8±0.2	29.8±0.5
	T3	5.2±0.6	10.1±0.2	13.8±0.0	14.8±0.5

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

활성산소 radical의 소거능은 Table 113과 같다. 저장 0주차에는 대조구와 처리구 모두의 게맛살에서 ascorbic acid의 소거능에 비해 현저히 낮은 활성산소 라디칼 소거능을 보였으며 이러한 소거능은 저장 6주차까지도 지속되는 것으로 조사되었다.

Table 113. Superoxide radical scavenging activity of Crab stick extracts containing MDCM hydrolysates (%)

Treatments ¹⁾		1	5	10	50
Ascorbic acid		48.7±0.1	36.5±0.1	59.0±0.2	74.2±0.3
0 week	C	-	38.5±0.3	22.1±0.3	34.1±0.4
	T1	29.5±0.1	22.5±0.1	20.0±0.1	23.3±0.1
	T2	24.7±0.1	31.4±0.1	43.2±0.1	57.5±0.1
	T3	42.1±0.2	42.9±0.1	49.4±0.1	38.2±0.1
6 week	C	30.3±0.1	56.8±0.1	51.3±0.2	61.4±0.0
	T1	45.1±0.2	50.5±0.1	28.6±0.0	37.9±0.1
	T2	23.3±0.2	43.2±0.1	46.7±0.2	62.6±0.1
	T3	30.4±0.1	37.5±0.1	35.4±0.1	34.4±0.1

¹⁾ Treatments are the same as in Table 104.

하이드록시기 라디칼 소거능은 Table 114와 같다. 저장 0과 6주차 모두에서 MDCM 2단 가수분해물 첨가구인 T1, T2 그리고 T3의 게맛살이 ascorbic acid보다 현저히 낮은 하이드록시기 라디칼 소거능을 나타내는 것으로 조사되었으나, 각 처리구들의 하이드록시기 라디칼 소거능은 대조구인 C와 유사한 것으로 나타났다.

Table 114. Hydroxyl radical scavenging activity of Crab stick extracts containing MDCM hydrolysates (%)

Concentration, mg/mL		1	5	10	50
Ascorbic acid		43.9±0.0	45.6±0.0	53.0±0.0	73.7±0.2
0 week	C ^{D)}	54.6±0.1	48.3±0.1	48.4±0.1	49.5±0.0
	T1	46.9±0.1	53.3±0.0	50.5±0.1	60.3±0.0
	T2	50.8±0.2	50.1±0.0	51.0±0.0	52.5±0.1
	T3	49.6±0.1	55.1±0.0	58.1±0.1	59.7±0.1
6 week	C	49.7±0.1	50.2±0.0	55.5±0.1	49.7±0.1
	T1	52.4±0.1	53.1±0.2	55.7±0.1	52.2±0.1
	T2	56.7±0.2	55.2±0.1	54.8±0.1	56.3±0.1
	T3	54.5±0.1	56.1±0.0	54.0±0.0	55.3±0.1

^{D)} Treatments are the same as in Table 104.

ACE 저해능은 0.5-1.5%의 MDCM을 첨가하여 제조한 게맛살의 Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity는 Table 115와 같다. ACE 저해능은 저장 초기인 0주차에는 T2 처리구의 게맛살 즉, MDCM을 1.0% 처리하며 제조한 게맛살에서 가장 높은 5.7%의 ACE 저해능이 조사되었으며 이러한 결과는 MDCM을 1.5% 첨가한 처리구에 비해 약 2배정도 높은 결과였다. 그러나 ACE 저해능은 저장기간이 6주까지 증가함에 따라 지속적으로 유지되지는 않았으며, 5.7%였던 T2 처리구의 ACE 저해능은 저장 6주후에는 0.8%까지 떨어졌으나 이는 MDCM을 0.5% 첨가한 T1 처리구에 비해 약 2배정도 높은 ACE 저해능이 있었다.

Table 115. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of crab stick extracts containing MDCM hydrolysates

Crab stick extracts (2.5 mg/mL)		ACE inhibitory activity(%)
0 week	C ^{D)}	1.3±0.4
	T1	1.9±0.7
	T2	5.7±1.5
	T3	2.1±1.2
6 week	C	-
	T1	0.4±0.6
	T2	0.8±1.2
	T3	-

간보호 활성은 Chang cell을 이용한 MDCM의 간보호 활성은 Fig. 8과 같다. 일반 간의 기능을 100%으로 하였을 때 게맛살의 간 보호 활성은 약 60% 정도의 수준이었으나 이는 에탄올을 처리한 (-) 대조구에 비해 높은 간 보호 활성이었다. 더욱이 MDCM 2단 가수분해물을 1.0% 첨가하여 제조한 게맛살을 6주동안 저장한 다음 간 보호 활성을 측정한다면 T2 300의 저장 6주차 샘플에서 가장 높은 간 보호 활성이 조사되었으며 이러한 간 보호 활성은 T2 200에서도 유사하게 나타나는 것으로 조사되었다.

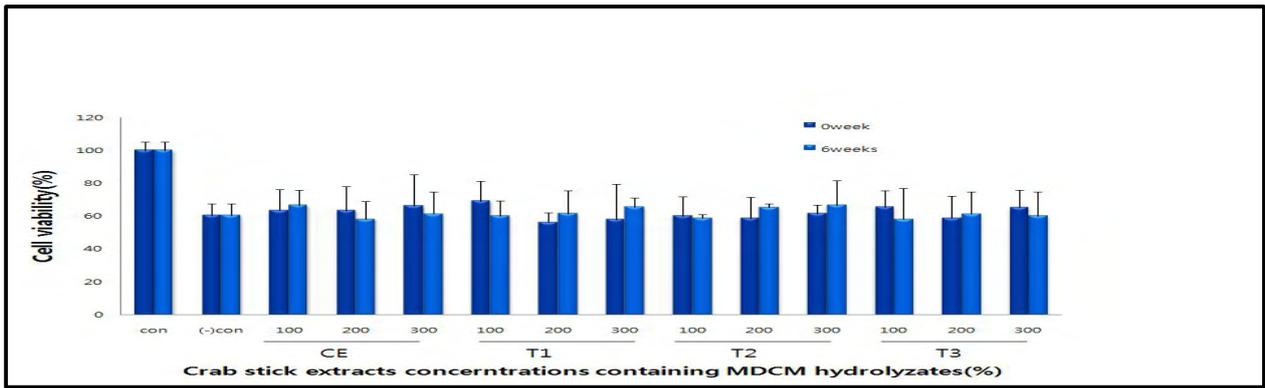


Fig. 8. Liver protecting activity of Chang cell by crab stick extracts containing MDCM and deodorized MDCM hydrolysates.

(3) 요약

MDCM 2단 가수분해물을 각각 0.5, 1.0 그리고 1.5%를 첨가하여 게맛살을 제조하고 이들을 냉장의 온도에서 약 6주간에 걸쳐 저장한다면 게맛살의 pH는 MDCM의 농도와 저장기간에 따라 점차 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었으나 수분함량은 MDCM의 농도가 증가할수록 점차 감소하는 경향을 나타내는 것으로 조사되었다. CIE L*와 CIE a* 그리고 CIE b*, chroma와 색도 값은 MDCM의 농도를 증가시키며 게맛살을 제조할 경우 각각 유의적으로 감소 혹은 증가시키는 것으로 조사되었으며 단백질의 부패와 지방의 산패를 나타내며 제품의 저장기간중 품질을 나타내는 VBN, TBARS와 POV는 MDCM의 첨가농도에 따라 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 특히, MDCM 2단 가수분해물 농도의 증가는 파괴강도, 겔 강도와 젤리 강도의 증가를 나타내었으나 이러한 MDCM의 조직감에 대한 영향에도 불구하고 관능검사 요원의 관능적 요인에는 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 게맛살 제품의 기능적 특성 중 DPPH, 활성산소 라디칼 소거능과 하이드록시기 라디칼 소거능은 MDCM을 첨가하여 게맛살을 제조하였다 하더라도 MDCM의 첨가가 게맛살의 기능적 품질에 영향을 미치지 못하는 것으로 조사되었으나 간 보호 활성에 있어서는 1.0%의 MDCM을 첨가한 게맛살에서 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

다. 회수단백질을 이용한 킹크랩의 개발

(1) 재료 및 방법

(가) 시험설계

Table 116. Experimental design of King-Crab

Ingredient	Composition (%)		
	C	T1	T2
Alaska pollack surimi	60.00	55.00	50.00
Spent layer breast recovered protein	-	5.00	10.0
Distilled water	22.67	22.67	22.67
Wheat starch	4.27	4.27	4.27
Potato starch	1.55	1.55	1.55
Mixed ingredient ²	11.51	11.51	11.51
Total	100	100	100

산란 노계 가슴살 커팅육을 C(0), T1(8), T2(17%) 명태연육 대체하였다.

18 개월령 산란 노계 가슴살을 silent cutter(YNF101-A, Youngnam Machinery Co., Ltd., Busan, Korea)를 사용하여 약 8분간 분쇄하였으며 이후 수리미를 산란 노계 분쇄육으로 8(SL05)와 17%(SL10) 대체하며 킹크랩을 제조하였다(Hur et al., 2011). 킹크랩 제조를 위한 배합은 Table 116과 같으며, 제조 공정은 Fig. 9에 준하여 실시하였다(processing day × treatment × sample = 3×3×4). 이후, 킹크랩은 나이론 소재의 포장재(Nylon, NY 15 μm/PE 100 μm; 투습도 4.7 g/m²/24 h, 산소투과도 22.5 cc/m²/24 h)를 사용하여 진공포장(Vacuboy, Komet Maschinenfabrik GmbH, Plochingen, Germany)하였으며 각 처리구의 제품들을 모두 10±1°C에서 총 3주간 저장하며 실험을 실시하였다. 저장 중 킹크랩은 0과 3주차의 저장기간에 따라 처리구별 수분함량, pH, 육색, 전단가, 조직감, 겔 특성 등을 측정함과 동시에 관능평가를 실시하여 저장 중 변화하는 킹크랩의 품질을 분석하였다.

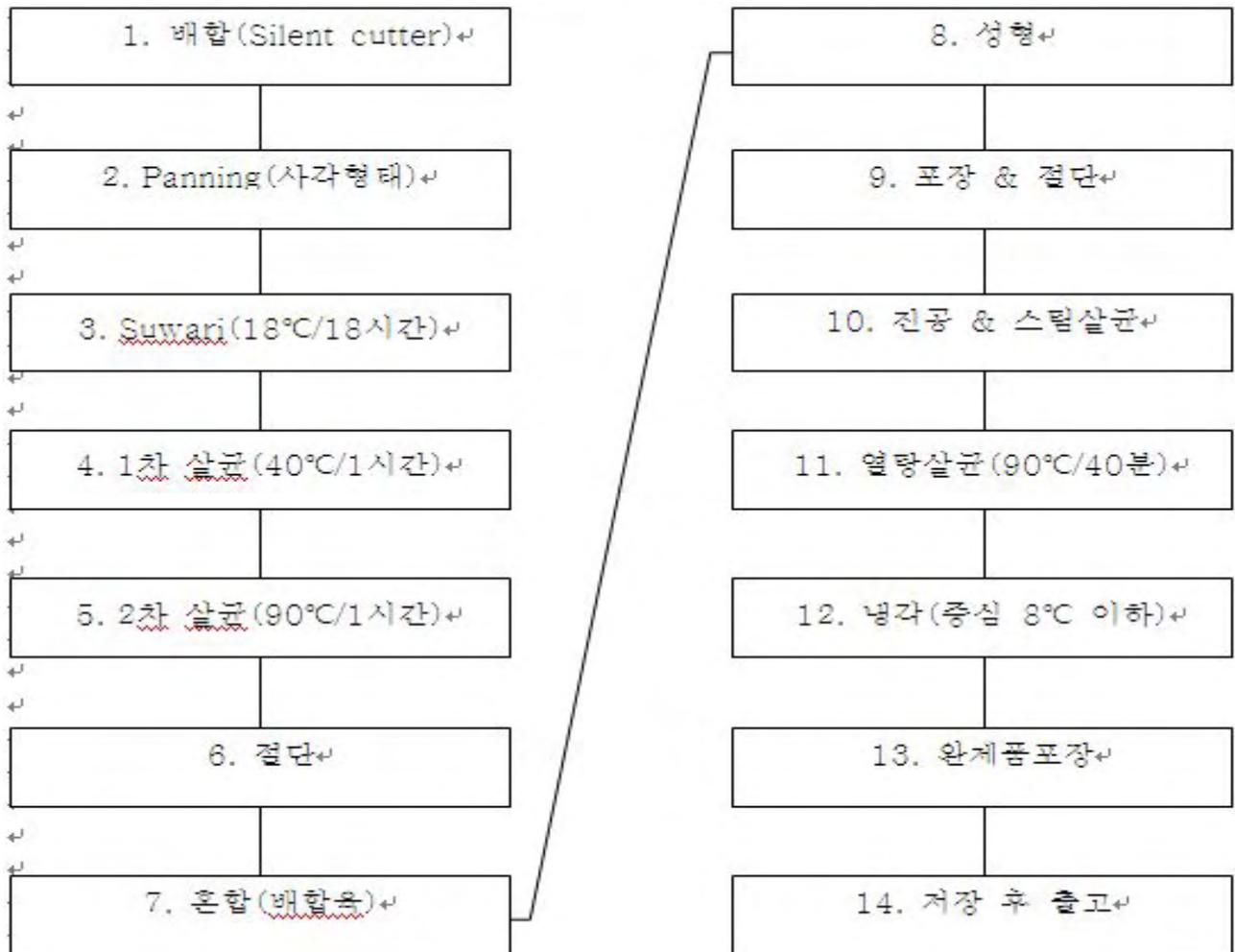
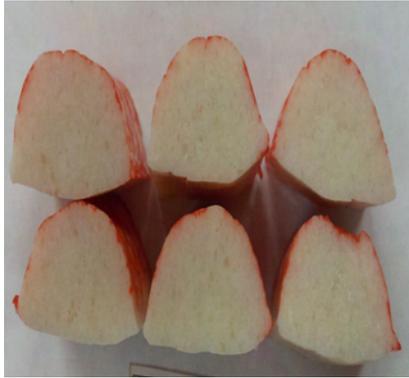


Fig. 9. Manufacture process of King-Crab.

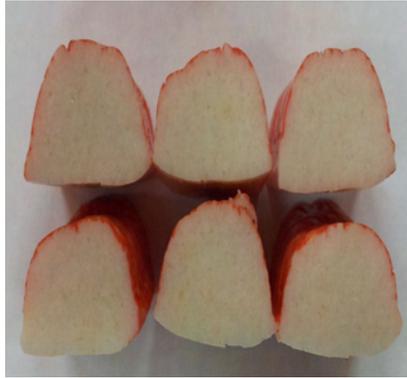
(나) 노계 회수단백질 첨가 킹크랩의 제조

본 실험에 이용된 킹크랩은 다음과 같으며 3주간의 냉장 저장중 변화하는 제품의 품질을 육안으로 구분하고자 아래와 같이 나타내었다.

① 킹크랩 0일차 단면



< C >



< T1 >



< T2 >

② 킹크랩 0일차 앞면



< C >



< T1 >



< T2 >

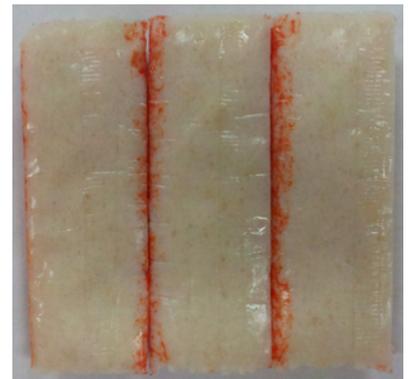
③ 킹크랩 0일차 뒷면



< C >



< T1 >



< T2 >

④ 킹크랩 0일차 앞, 뒷면



< C >



< T1 >



< T2 >

(다) 저장에 따른 킹크랩 제품의 품질 비교

- ① pH 측정: 3주간의 저장 기간 중 pH는 시료 3 g을 증류수 27 mL과 함께 14,000 rpm에서 10초간 균질 한 다음(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia) pH meter(8603, Metrohm, Swiss)를 사용하여 측정하였다.
- ② 수분함량: 시료의 수분함량은 AOAC(2000) 방법의 상압가열 건조법(method #934.01)에 준하여 실시하였다.
- ③ VBN: 총 휘발성 질소 함량을 측정함으로써 단백질의 부패를 추정할 수 있는 total volatile basic nitrogen(VBN)은 Miwa와 Iida(1973)의 Conway 확산 측정법을 이용하였다. 시료 5 g과 15 mL의 증류수를 혼합한 다음 13,500 rpm에서 1분간 균질 하였으며, 이후 증류수를 이용하여 50 mL로 보정하였다. Whatman 거름종이 (Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, England)를 이용하여 균질된 시료를 거른 다음 Conway 확산기의 외곽에 1 mL의 시료를 준비하였다. 확산기의 내부에는 0.01 N H_3BO_3 와 0.066% methyl red 그리고 0.066% bromocresol green을 1:1로 혼합한 혼합액을 2 - 3 방울 떨어뜨리고 바로 1 mL의 포화 K_2CO_3 를 확산기 외곽에 주입한 다음 37°C의 인큐베이터에서 약 120분간 배양하였다. 배양 후 각 시료를 0.02 N H_2SO_4 로 측정하였으며, 이후 휘발성 질소의 함량 (mg%)을 계산하여 수치화 하였다.
- ④ TBARS: 저장 중 시료는 Buege와 Aust(1978)의 방법에 준하여 지방의 산화(TBARS)를 측정하였으며, 이를 mg malonaldehyde/kg (MA ppm)의 값으로 표기하였다. 시료 2.5 g에 7.5 mL의 증류수와 25 μ L의 butylated hydroxyanisole in ethanol(BHT) 그리고 10 mL의 TBA/TCA 용액을 혼합 하였으며, 이후 13,500 rpm에서 30초간 균질 하였다(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia). 모든 시료는 100°C의 수조에서 15분간 가열하였으며, 얼음에서의 신속한 냉각과 4,000 rpm에서의 원심분리 이후에 각 시료의 상층액 흡광도를 521 nm에서 측정하였다(UVIKON922, Kontron, Italy).
- ⑤ POV: 지질 과산화물 생성 억제 효과를 측정하기 위하여 Nose 방법에 따라 POV 값을

측정하였다. Linoleic acid와 시료를 시험관에 넣은 후 50°C의 항온기에서 24h 저장하며 산화를 촉진시켰으며 이후 chloroform/acetic acid (2:3, v/v)를 첨가하고 1분간 혼합한 다음 암실에서 5분간 방치시켰으며 여기에 다시 증류수와 전분 시액을 첨가한 후에 sodium thiosulfate를 이용하여 POV값을 측정하였다.

- ⑥ 육색의 측정: 육색의 측정을 위해서는 각 시료의 진공포장을 개봉한 다음 김 와이프스(김테크 김와이프스, 유한킴벌리, 서울, 대한민국)를 사용하여 표면의 수분을 제거하였다. 이후, Minolta chroma meter(Minolta Co. CR-300, Japan)를 사용하여 명도(Lightness)를 나타내는 CIE L*값, 적색도(Redness)를 나타내는 CIE a*값 그리고 황색도(Yellowness)를 나타내는 CIE b*값을 각 2회 반복, 측정하였다. Minolta chroma meter는 표준색 판(Y = 92.8, x = 0.3134, y = 0.3193)을 이용하여 사용 전 표준화 하였으며, 백색도를 나타내는 W 값은 $L^* - 3b^*$ 의 식에 주어진 각각의 수치를 대입, 환산하여 표기 하였다.
- ⑦ 전단가와 조직감의 측정: 저장 중 킹크랩의 전단가와 조직감을 측정하기 위하여 Instron 3343(US/MX50, A&D Co., USA)을 사용하였으며, 전단가를 측정하기 위해서는 시료를 킹크랩의 결 방향과 수평인 $\phi 16.50 \times 20.00$ mm로 정형한 후 다시 결의 직각 방향으로 knife형 plunger를 이용하여 절단하며 측정하였다. 처리구에 따른 시료의 조직감 측정을 위해서는 시료를 2.0(가로) \times 2.0(세로) \times 1.0 cm(높이)로 다듬은 이후 근육의 방향과 직각으로 시료를 설정한 다음 plunger No. 3을 이용하여 각 시료의 경도(hardness), 표면경도(brittleness), 응집성(cohesiveness), 겹성(gumminess), 씹힘성(chewiness), 탄력성(springiness)과 부착성(adhesiveness)을 측정하였다. 이 때 분석조건은 전단가와 조직감 모두 chart speed 120 mm/min, maximum load 10 kg과 측정속도 60 mm/min이었다.
- ⑧ 젤 특성의 측정: 3주간의 저장 중 킹크랩의 젤 특성은 실린더형 시료($\phi 1.8 \times 2.0$ cm) 위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 60 mm/min의 속도로 압축함으로써 파괴강도, 변형도, 젤 강도 및 젤리 강도를 측정하였다(EZ-Test, Shimadzu, Tokyo, Japan). 특히, 이중 젤리 강도는 파괴강도와 변형도 수치를 젤리강도 = 파괴강도 \times 변형도의 공식에 적용함으로써 수치화하였다.
- ⑨ 관능평가: 훈련된 7명의 관능검사 요원으로 하여금 주어진 각 시료의 육색, 향, 맛, 연도, 다즙성 및 전체적인 기호도 평가를 9점 척도법으로 평가하였다(Meilgaard et al., 1991; AMSA, 1995). 관능검사를 위하여 처리구별 4개의 킹크랩 시료를 37°C의 인큐베이터(JS-IN-180, Johnsam Co., Seoul, Korea)에서 약 15분간 예열함으로써 냉장 저장에 따른 차가운 감촉을 제거하였다. 각 처리구별 킹크랩 시료를 약 1 \times 1 \times 1 cm로 정형화한 다음, 세 자릿수의 랜덤 코드와 함께 관능검사 요원들에게 제공되었다. 이후 관능요원은 주어진 항목에 따라 1점은 매우 싫다 그리고 9점은 매우 좋다는 기준으로 평가하며 수치화하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 저장에 따른 킹크랩 제품의 품질 비교

① 킹크랩의 수분, pH, VBN과 TBARS 비교

산란 노계에서 회수단백질을 이용하여 제조한 킹크랩의 냉장 저장 중 수분, pH, TBARS와 VBN의 변화는 Table 117과 같다. 킹크랩의 수분함량은 대조구와는 달리 T1와 T2 처리구 모두에서 킹크랩 시료의 저장기간이 증가할수록 수분함량은 유의적으로 감소하는 것으로 조사되었으나, 대조구 대비 유의적으로 높은 수분함량을 나타내었다.

킹크랩 시료의 pH 값은 7.03-7.25로 대조구 pH 값인 7.18 - 7.25보다 유의적으로 낮았다.

저장 중 VBN과 TBARS는 일반적으로 저장기간에 따라 처리구별 유의적인 증가가 조사되지 않았으며 단백질의 부패 정도를 나타내는 VBN은 T1 처리구에서 감소하였다. 지방의 산화 정도를 나타내는 TBARS의 경우에는 회수단백질을 8%까지 대체한 T1에서는 대조구와 유의적인 차이가 없었으나 회수단백질을 17%까지 대체한다면 TBARS 값이 감소하는 것으로 나타났다.

Table 117. Effect of spent layer breast recovered protein addition on the moisture content, pH, TBA and VBN of King-Crab stored at 10°C for 3 weeks

Item	Treatment ¹⁾	Storage (weeks)	
		0	3
Moisture	C	70.15±0.11 ^C	69.84±0.61 ^C
	T1	71.41±0.12 ^{Aa}	71.12±0.13 ^{Ab}
	T2	70.98±0.06 ^{Ba}	70.42±0.10 ^{Bb}
pH	C	7.18±0.01 ^{Ab}	7.25±0.01 ^{Aa}
	T1	7.14±0.02 ^B	7.15±0.02 ^B
	T2	7.03±0.02 ^{Cb}	7.11±0.01 ^{Ca}
VBN ²	C	10.06±1.50	9.86±1.04 ^A
	T1	10.57±0.60 ^a	6.53±0.11 ^{Bb}
	T2	9.70±0.26	9.52±0.58 ^A
TBARS ³	C	2.17±0.06 ^{AB}	2.22±0.05 ^A
	T1	2.21±0.07 ^A	2.16±0.05 ^A
	T2	2.09±0.06 ^B	2.08±0.06 ^B

¹⁾ Treatments are the same as in Table 116.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

② 킹크랩의 육색 비교

3주간의 저장 중 처리구별 킹크랩 시료의 육색 변화는 Table 118과 같다. 육색의 명도를 나타내는 lightness의 경우에는 T1 처리구의 시료에서 유의적으로 높았으나 저장기간에 따른 영향은 없었으며, 특히 회수단백질의 대체는 육색의 명도를 대조구에 비해 유의적으로 높이는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 각 시료의 적색도와 황색도를 나타내는 CIE a*와 b*

값에서도 동일하게 나타났다. 즉, 명태살의 8 또는 17%를 회수단백질로 대체하였을 경우 시료의 적색도는 대조구에 비해 유의적으로 낮았으나 황색도는 오히려 높아지는 것으로 조사되었다.

Table 118. Effect of spent layer breast recovered protein addition on the CIE L*, a*, b* and whiteness color of King-Crab stored at 10°C for 3 weeks

Item	Treatment ¹⁾	Storage (weeks)	
		0	3
CIE L*	C	81.61±0.68 ^{Bb}	82.51±0.36 ^{Ba}
	T1	84.11±0.61 ^A	84.02±0.31 ^A
	T2	81.12±0.53 ^{Bb}	82.00±0.36 ^{Ca}
CIE a*	C	-1.61±0.07 ^{Cb}	-1.26±0.05 ^{Ca}
	T1	-0.72±0.06 ^{Ab}	-0.32±0.16 ^{Aa}
	T2	-1.50±0.09 ^{Bb}	-1.04±0.07 ^{Ba}
CIE b*	C	9.85±0.29 ^C	9.83±0.39 ^C
	T1	11.94±0.64 ^A	11.84±0.35 ^A
	T2	10.66±0.33 ^B	10.39±0.55 ^B
W	C	52.07±0.90 ^{Ab}	53.03±0.97 ^{Aa}
	T1	48.29±1.84 ^B	48.51±1.05 ^C
	T2	49.15±1.22 ^{Bb}	50.82±1.62 ^{Ba}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 116.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

③ 킹크랩의 조직감 비교

킹크랩의 전단가는 3주간의 저장 기간에 따라 유의적으로 증가하였으나, 회수단백질로의 대체는 전단가를 대조구에 비해 유의적으로 감소시켰다(Table 119). 제조 원료의 배합비, 이온의 강도, 단백질의 함량과 지방의 특성에 따라 영향 받는 식품의 조직감 중 킹크랩의 응집성과 탄력성은 회수단백질의 첨가와 저장기간의 영향과는 유의적으로 상관관계가 없는 것으로 조사되었다. 그러나, 경도의 경우에는 회수단백질의 첨가와 저장기간에 따라 감소 또는 점차 증가하는 것으로 나타났으며, 더욱이 조직적 특성 중 표면경도와 부착성의 경우에는 저장기간보다는 회수단백질의 대체가 유의적으로 영향을 미치는 것으로 조사되었다. 겉성과 씹힘성의 경우에는 저장기간 0주차 보다는 3주차에서 회수단백질의 첨가에 의한 영향이 나타났으며 이는 첨가된 회수단백질의 고유한 특성에 의한 것으로 저장기간이 지남에 따라 유의적인 차이는 조사되지 않았으나 대조구에 비해 수치적으로 낮아진 응집성과 탄력성과 같은 조직적 특성이 복합적으로 영향을 미친 것으로 판단된다.

Table 119. Effect of spent layer breast recovered protein addition on the shear force and texture properties of King-Crab stored at 10°C for 3 weeks

Item	Treatment ¹⁾	Storage (weeks)	
		0	3
Shear force (kg/cm ²)	C	2.33±0.09 ^{Ab}	3.39±0.23 ^{Aa}
	T1	1.26±0.03 ^{Cb}	2.15±0.25 ^{Ba}
	T2	2.10±0.07 ^{Bb}	3.24±0.06 ^{Aa}
Brittleness (kg)	C	0.18±0.02 ^{Ab}	0.23±0.03 ^{Aa}
	T1	0.12±0.02 ^C	0.14±0.03 ^C
	T2	0.16±0.02 ^{Bb}	0.18±0.02 ^{Ba}
Hardness (kg)	C	0.23±0.02 ^A	0.24±0.02 ^A
	T1	0.15±0.03 ^C	0.16±0.02 ^C
	T2	0.19±0.02 ^B	0.21±0.03 ^B
Cohesiveness (%)	C	0.58±0.16 ^b	0.92±0.45 ^a
	T1	0.71±0.27	0.64±0.18
	T2	0.63±0.11	0.78±0.39
Springiness (mm)	C	1.18±0.20 ^b	1.58±0.58 ^a
	T1	1.27±0.38	1.17±0.25
	T2	1.14±0.14	1.30±0.47
Gumminess (kg)	C	0.13±0.03 ^b	0.22±0.11 ^{Aa}
	T1	0.11±0.04	0.10±0.03 ^B
	T2	0.12±0.01	0.16±0.08 ^{AB}
Chewiness (kg,mm)	C	0.16±0.07 ^b	0.40±0.31 ^{Aa}
	T1	0.15±0.10	0.13±0.08 ^B
	T2	0.14±0.03	0.24±0.23 ^{AB}
Adhesiveness	C	0.06±0.02 ^A	0.07±0.01 ^A
	T1	0.05±0.01 ^B	0.05±0.00 ^B
	T2	0.06±0.00 ^A	0.07±0.01 ^A

¹⁾ Treatments are the same as in Table 116.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

④ 킹크랩의 겔 특성 비교

명태살에서 추출한 수리미를 이용하여 제조되는 제품들의 품질 나타내는 척도 중 하나인 겔 특성은 일반적으로 저장기간에 따른 영향보다는 회수단백질로의 대체에 따라 유의적인 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 120). 겔 특성 중 파괴강도와 젤리강도는 수리미를 노계 회수단백질로 대체하였을 경우 감소하였으나 8%의 수리미 대체가 17%의 대체보다 낮은 파괴강도와 젤리강도를 보이는 것으로 조사되었다. 더욱이, 겔 강도의 경우에는 수리미를 회수단백질로 대체했을 경우 그 강도는 낮아졌으며, 수리미를 8%까지 대체한다면 17%까지 대체한 킹크랩 시료보다 유의적으로도 낮은 겔 강도를 저장 초기에 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 120. Effect of spent layer breast recovered protein addition on the gel characteristics of King-Crab stored at 10°C for 3 weeks

Item	Treatment ¹⁾	Storage (weeks)	
		0	3
Breaking force (g)	C	373.00±28.59 ^A	352.89±24.49 ^A
	T1	214.33±21.72 ^C	216.56±16.03 ^C
	T2	288.67±19.04 ^B	285.11±15.28 ^B
Deformation (mm)	C	4.87±0.32 ^B	4.92±0.27
	T1	6.00±1.78 ^{Aa}	4.70±0.15 ^b
	T2	4.63±0.31 ^B	5.36±1.60
Gel strength (g*mm)	C	1823.74±244.03 ^A	1739.95±199.73 ^A
	T1	1271.68±322.01 ^{Ba}	1017.17±84.66 ^{Bb}
	T2	1336.21±128.72 ^B	1520.02±411.90 ^A
Jelly strength (g/cm ²)	C	1899.67±145.60 ^A	1797.25±124.71 ^A
	T1	1091.59±110.62 ^C	1102.91±81.65 ^C
	T2	1470.16±96.97 ^B	1452.06±77.80 ^B

¹⁾ Treatments are the same as in Table 116.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

⑤ 킹크랩의 관능적 특성 비교

산란 노계 회수단백질의 수리미 대체가 킹크랩 제품의 관능적 평가에 미치는 영향은 Table 121과 같다. 회수단백질의 대체는 3주간의 냉장 저장 중 킹크랩 시료의 관능적 평가에 영향을 미치지 않았으며 특히, 회수단백질로의 대체 함량을 8 또는 17%로 달리하였을 경우에도 관능검사 요원들은 대조구와 처리구 그리고 처리구 간의 유의적인 차이를 판별하지 못하는 것으로 조사되었다.

Table 121. Effect of spent layer breast recovered protein addition on the sensory evaluation of King-Crab stored at 10°C for 3 weeks

Item	Treatment ¹⁾	Storage (weeks)	
		0	3
Color	C	7.17±0.68	7.00±0.50
	T1	7.00±0.00	6.70±0.67
	T2	6.92±1.50	6.64±0.56
Aroma	C	6.67±1.83	7.00±0.41
	T1	6.71±0.57	6.20±1.15
	T2	7.33±0.52	6.86±0.75
Flavor	C	7.25±1.60	7.43±0.45
	T1	7.00±0.96	7.30±0.67
	T2	7.75±0.94	7.50±0.71
Tenderness	C	7.00±1.00	7.36±0.48
	T1	7.64±0.69	7.70±0.45
	T2	7.42±1.24	7.36±0.48
Juiciness	C	6.88±0.75	7.43±0.45
	T1	7.14±0.99	7.20±0.84
	T2	7.17±1.21	7.36±0.56
Adhesiveness	C	1.50±0.84	1.43±1.13
	T1	1.93±1.17	2.60±1.34
	T2	1.58±1.02	1.57±1.13
Hardness	C	5.25±2.27	5.36±2.06
	T1	3.14±2.19	4.00±1.00
	T2	4.92±2.76	4.57±2.28
Breaking force	C	3.17±1.47	3.00±1.12
	T1	1.93±1.10 ^b	3.40±1.14 ^a
	T2	2.83±2.07	2.93±1.30
Overall acceptability	C	7.08±1.53	7.14±0.38
	T1	6.93±0.98	7.20±0.57
	T2	7.72±0.91	7.14±0.69

¹⁾ Treatments are the same as in Table 116.

^{a,b} Means are significantly different within the same row ($p < 0.05$).

(3) 요약

노계 회수단백질의 첨가가 저장 중 킹크랩의 품질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 커팅법을 이용, 단백질을 회수하였으며, 이후 수리미를 노계 회수 단백질로 8%(T1)와 17%(T2) 대체하며 킹크랩을 제조하였다. 킹크랩의 제조 후 모든 시료들은 10±1°C에서 3주간 저장하였으며, 저장 0과 3주차에 저장에 따른 킹크랩의 이화학적, 조직적 그리고 관능적 품질의 변화를 측정함으로써 노계 회수 단백질의 첨가에 따른 품질 특성을 조사하였다. 킹크랩의 수분함량은 두 처리구에서 모두 저장기간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하였으나, 대조구 대비 높은 수분함량을 나타내었다. 더욱이, 지방산의 산화를 나타내는 TBARS의 경우에는 수리미를 5%까지 대체한 SL05보다는 회수단백질로 17%까지(T2) 대체한다면 TBARS는 감소하는 것으로 조사되었다. 킹크랩 시료의 육색을 나타내는 CIE b*와 a*는 수리미를 8와 17%까지 회수단백

질로 대체한다면 황색도는 증가하나 적색도는 유의적으로 감소하였으며, 백색도를 나타내는 W 값 또한 감소하였다. 키크랩의 전단가와 겔 특성 중 파괴강도와 젤리강도의 경우에는 저장 기간 보다는 수리미를 회수단백질로 대체하였을 경우 유의적으로 감소하였으나 이러한 결과가 훈련된 관능검사 요원의 관능적 평가에는 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다.

라. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 소시지의 개발

(1) 재료 및 방법

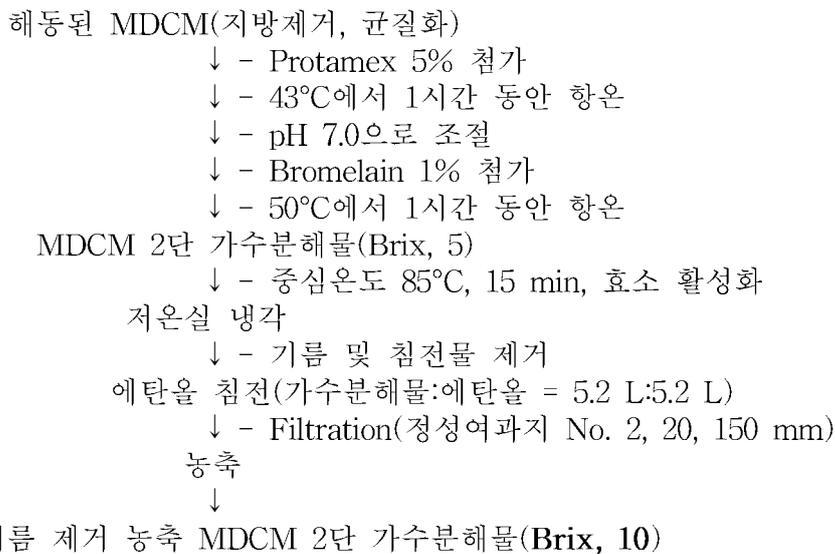


Fig. 10. 기름 제거 농축 MDCM 2단 가수분해물 제조방법(소시지용).

(가) 시험설계

Table 122. Composition of pork meat sausage blends

원부재료명			구성비(%)					비고
			C	T1	T2	T3	T4	
햄	육		68.2	65.4	63.4	63.4	61.4	
지	방		11.8	11.8	11.8	11.8	11.8	
I	C	E	17.4	17.4	17.4	17.4	17.4	
N	P	S	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	
인	산	염	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	식육≥85%, 수분≤70%, 지방≤20%,
설		탕	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
M	S	G	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	지방≤3×단백질
향	신	료	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	수분≤4×단백질+10
	MDCM		-	0.5	0.5	0.5	0.5	NPS (NaCl : NaNO ₂ = 99.25 : 0.75)
	가수분해물		-	2.0	2.0	4.0	4.0	
	ISP		-	0.3	0.3	0.3	0.3	
	가라기난		-	-	2.0	-	2.0	
	감자 전분		-	-	-	-	-	
총 계			100	100	100	100	100	

소시지 제조시 대조구(C)에는 아무것도 첨가하지 않았으며, 모든 처리구에는 공히 기름 제거 농축 MDCM 2단 가수분해물(0.5%) 및 가라기난(0.3%)을 첨가하고, 추가로 ISP를 T1과 T2에는 2% 및 T3와 T4에는 4%를 첨가하고, 또 감자전분을 T2와 T4에는 2% 추가 첨가하였으며 이 모든 첨가물량 만큼 햄육을 줄여서 배합하였다.

소시지의 제조를 위하여 돼지 뒷다리 살을 구입하였으며 이를 이용하여 소시지를 제조하였다. 돼지 뒷다리 살은 구입 초기 가시자방이 완전히 제거되었으며 이후 돼지 뒷다리 살은 3 mm의 플레이트에서 분쇄되었다. 각각 적육의 무게를 측정한 다음 돼지 뒷다리 살은 5개의 처리구로 구분되었으며 1차로 분쇄된 적육에 Table 24와 같은 배합비로 혼합하였다. 이후 각 처리구의 소시지는 길이가 10 cm에 무게가 120 g에 이르도록 충전하였으며(E-25, Hankook Fufee Industries Co. Ltd., Suwon, Korea), 100°C의 water bath(BS-31, JEIO TECH. Co., Ltd., Seoul, Korea)에서 간접가열을 통하여 조리하였다. 모든 처리구의 소시지들은 처리구와 저장기간을 달리 표시한 각각의 zipper bag에 보관되었으며 곧 10 ± 1 °C에 저장하며 실험을 실시하였다. 저장기간 0, 2와 4주차에 처리구당 3개의 소시지를 이용하여 분석에 임하였으며 또한 처리구별 3개의 또 다른 소시지는 관능검사를 위하여 이용하였다.

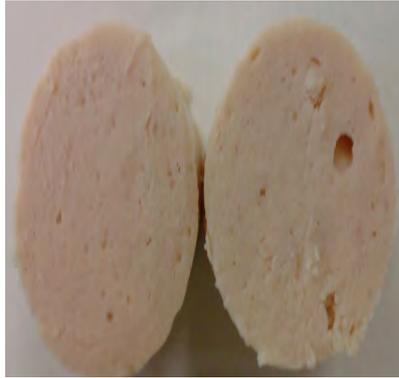
(나) 농축 MDCM 2단 가수분해물 첨가 소시지의 제조

본 실험에서 제조한 소시지는 다음과 같으며 4주간의 냉장 저장중 변화하는 제품의 품질을 육안으로 구분하고자 아래와 같이 나타내었다.

① MDCM 소시지 저장 0주차



C



T1



T2



T3



T4

② MDCM 소시지 저장 6주차



C



T1



T2



T3



T4

(다) 저장에 따른 MDCM 소시지 제품의 품질 비교 방법

- ① pH 측정: 4주간의 저장 기간 중 pH는 시료 3 g을 증류수 27 mL과 함께 14,000 rpm에서 10초간 균질 한 다음(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia) pH meter(8603, Metrohm, Swiss)를 사용하여 측정하였다.
- ② 일반성분 분석: 공시시료의 일반성분 분석은 AOAC(2000)의 방법에 의거하여 실시하였다. 수분함량은 method 934.01법에 의한 상압 가열 건조법, 조지방 함량은 method 954.08법에 의한 Soxhlet법, 그리고 조단백질 함량은 method 984.13에 의한 Kjeldahl법을 이용하여 분석에 임하였다.
- ③ 수분활성: 공시시료의 수분활성도(a_w)는 시료를 균질한 후 a_w 측정기(LKM200A, Lokas Co., Korea)를 이용하여 25°C의 실온에서 수분 분압에 의한 항량이 결정되었을 때 이를 시료의 상대습도 값으로 하였다.
- ④ 총균수: 시료를 동일 시간에 멸균된 stomach bag에 25 g씩 넣은 후 0.85%의 멸균 생리 식염수 225 mL을 가하고 Stomacher(788 60 ST Nom., Interscience, France)로 3분간 균질화하였다. 이후 원액은 순차적으로 희석하며 실험에 이용하였다. 총균수는 배양액을 1 mL 취하고 희석한 다음 plate count agar(PCA, Becton, Dickinson & Co., Sparks, USA)에 평판주개법으로 접종한 다음 37°C에서 48 h 배양하며 나타난 집락수를 log로 환산하여 수치화 하였다.
- ⑤ 육색 측정: 육색은 진공포장을 개봉한 후 30분간의 흥색화(blooming) 반응을 시킨 다음, 킴 와이프스(킴테크 킴와이프스, 유한킴벌리, 서울, 대한민국)를 사용하여 표면의 수분을 제거하였다. 이후, Minolta chroma mete (Minolta Co. CR-300, Japan)를 사용하여 2회 반복하며 명도(Lightness)를 나타내는 L^* 값, 적색도(Redness)를 나타내는 a^* 값과 황색도(Yellowness)를 나타내는 b^* 값을 측정하였다. Minolta chroma meter의 표준화 작업은 $Y=92.8$, $x=0.3134$, $y=0.3193$ 인 표준색판을 사용하였으며 백색도를 나타내는 W 값은 L^*-3b^* 의 식에 각각의 수치를 대입하여 계산하였다.
- ⑥ VBN: 총 휘발성 질소 함량을 측정함으로써 단백질의 부패를 추정할 수 있는 total volatile basic nitrogen(VBN)은 Miwa와 Iida(1973)의 Conway 확산 측정법을 이용하였

- 다. 시료 5 g과 15 mL의 증류수를 혼합한 다음 13,500 rpm에서 1분간 균질 하였으며, 이후 증류수를 이용하여 50 mL로 보정하였다. Whatman 거름종이 (Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, England)를 이용하여 균질된 시료를 거른 다음 Conway 확산기의 외곽에 1 mL의 시료를 준비하였다. 확산기의 내부에는 0.01 N H_3BO_3 와 0.066% methyl red 그리고 0.066% bromocresol green을 1:1로 혼합한 혼합액을 2-3 방울 떨어뜨리고 바로 1 mL의 포화 K_2CO_3 를 확산기 외곽에 주입한 다음 37°C의 인큐베이터에서 약 120분간 배양하였다. 배양 후 각 시료를 0.02 N H_2SO_4 로 측정하였으며, 이후 휘발성 질소의 함량 (mg%)을 계산하여 수치화 하였다.
- ⑦ TBARS: 저장 중 시료는 Buege와 Aust(1978)의 방법에 준하여 지방의 산화(TBARS)를 측정하였으며, 이를 mg malonaldehyde/kg(MA ppm)의 값으로 표기하였다. 시료 2.5g에 7.5 mL의 증류수와 25 uL의 butylated hydroxyanisole in ethanol(BHT) 그리고 10 mL의 TBA/TCA 용액을 혼합 하였으며, 이후 13,500 rpm에서 30초간 균질하였다(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia). 모든 시료는 100°C의 수조에서 15분간 가열하였으며, 얼음에서의 신속한 냉각과 4,000 rpm에서의 원심분리 이후에 각 시료의 상층액 흡광도를 521 nm에서 측정하였다(UVIKON922, Kontron, Italy).
- ⑧ POV: 지질 과산화물 생성 억제 효과를 측정하기 위하여 Nose 방법에 따라 POV값을 측정하였다. Linoleic acid와 시료를 시험관에 넣은 후 50°C의 항온기에서 24 h 저장하며 산화를 촉진시켰으며 이후 chloroform/acetic acid(2:3, v/v)를 첨가하고 1분간 혼합한 다음 암실에서 5분간 방치시켰으며 여기에 다시 증류수와 전분 시액을 첨가한 후에 sodium thiosulfate를 이용하여 POV값을 측정하였다.
- ⑨ 전단가 및 조직감: 전단력가와 조직감은 Instron 3343(US/MX50, A&D Co., USA)을 사용하여 측정하였다. 전단력가는 시료를 수평으로 ϕ 16.50×20.00 mm로 자른 후 knife형 plunger를 이용하여 절단하며 9회 반복 측정하였다. 이때 측정 조건은 load cell 10 kg, adapter area 30 mm²이었다. 조직감의 측정을 위하여서는 시료를 각각 2.0(가로)×2.0(세로)×1.0 cm(높이)로 정형한 다음 plunger No. 3를 사용하여 근육의 방향과 직각이 되게 하였으며 이후 시료의 경도 (hardness), 표면경도 (brittleness), 응집성 (cohesiveness), 검성 (gumminess), 씹힘성 (chewiness), 탄력성 (springiness), 부착성 (adhesiveness)을 측정하였다. 이 때 분석조건은 전단력가와 조직감 모두 chart speed 120 mm/min, maximum load 10 kg, 측정속도 60 mm/min으로 하였다.
- ⑩ 파괴강도 및 변형값: 저장 중 소시지의 물리적 특성은 실린더형 시료(ϕ 1.8×2.0 cm) 위에 지름 5 mm 구형의 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 Rheometer (EZ-Test, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 사용하며 파괴강도(breaking force) 변형도(deformation), 젤 강도(gel strength) 및 젤리 강도(jelly strength)를 측정하였다. 이들 중 젤리 강도는 특히 Jelly strength= Breaking force×Deformation의 공식을 적용하며 수치화하였다.
- ⑪ 관능검사: 훈련된 7명의 관능검사 요원으로 하여금 주어진 각 시료의 육색, 향, 맛, 연도,

다즙성 및 전체적인 기호도 평가를 9점 척도법으로 평가하였다(Meilgaard et al., 1991; AMSA, 1995). 관능검사를 위하여 처리구별 4개의 킹크랩 시료를 37°C의 인큐베이터(JS-IN-180, Johnsam Co., Seoul, Korea)에서 약 15분간 예열함으로써 냉장 저장에 따른 차가운 감촉을 제거하였다. 각 처리구별 킹크랩 시료를 약 1×1×1 cm로 정형화한 다음, 세 자릿수의 랜덤 코드와 함께 관능검사 요원들에게 제공되었다. 이후 관능요원은 주어진 항목에 따라 1점은 매우 싫다 그리고 9점은 매우 좋다는 기준으로 평가하며 수치화하였다.

- ⑫ DPPH radical 소거 활성: DPPH 라디칼 소거 활성은 Park 등(2005)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 시험관에 시료 용액 500 μL를 넣고, 500 μL의 ethanol과 250 μL의 0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)/ethanol 용액을 첨가하여 25°C의 실온에서 30분 동안 방치한 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 500 μL의 탈이온수를 사용하였으며, Blank 시험은 DPPH와 증류수 대신 750 μL의 ethanol을 사용하였다. 라디칼 소거 활성은 다음의 식에 따라 DPPH 탈색의 %로 계산하였다.

$$\text{라디칼 소거 활성} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

(2) 결과 및 고찰

(가) 저장에 따른 MDCM 소시지 제품의 품질 비교

① MDCM 소시지의 수분, 조단백질과 조지방 함량 비교

농축 MDCM 2단 가수분해물을 첨가하여 제조한 소시지의 일반성분은 Table 123과 같다. ISP를 첨가한 처리구인 T1-T4의 소시지에서는 대조구 소시지에 비해 유의적으로 높은 수분함량을 나타내었으나 ISP 4.0%와 감자전분 2.0%를 첨가하여 제조한 소시지에서는 65.46%의 수분함량을 나타내어 대조구에 비해 유의적으로 낮았다. 일반적으로 ISP 함량이 2.0% 처리구의 소시지가 4.0%인 처리구 소시지에 비해 유의적으로 높은 수분함량을 나타내는 것으로 조사되었으나 조단백질 함량에 있어서는 ISP를 4.0% 첨가한 소시지에서 유의적으로 높은 조단백질 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 조지방 함량에도 영향을 미쳤으며 따라서 조단백질 함량이 높은 T3와 T4 처리구의 소시지에서 유의적으로 낮은 조지방 함량을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 123. Effects of MDCM addition on proximate compositions of cooked pork sausages stored at 10°C for 0 week only(%)

Items	Treatments ¹⁾				
	C	T1	T2	T3	T4
Moisture	66.05±0.05 ^D	67.76±0.06 ^A	66.95±0.06 ^B	66.69±0.03 ^C	65.46±0.05 ^E
Crude protein	16.19±0.58 ^C	17.10±0.32 ^{ABC}	16.76±0.62 ^{BC}	18.11±0.38 ^A	17.63±0.66 ^{AB}
Crude fat	14.92±0.57 ^A	12.06±0.74 ^B	11.74±0.07 ^B	11.63±0.43 ^B	11.65±0.08 ^B

¹⁾ Treatments are the same as in Table 122.

^{A-E} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

② MDCM 소시지의 육색 비교

농축 MDCM 2단 가수분해물을 첨가하여 제조한 소시지를 냉장의 온도에서 4주간 저장하며 저장 0, 2와 4주에 소시지의 표면 육색을 측정된 결과는 Table 124와 같다. 소시지의 육색중 명도를 나타내는 CIE L*는 2.0 혹은 4.0%의 ISP를 첨가한다면 명도 값에 영향을 미치는 것으로 조사되었으며 특히 저장 4주에서는 ISP 4.0%와 감자전분 2.0%를 첨가하여 제조한 소시지에서 대조구에 비해 유의적으로 낮은 명도 값인 77.64 ± 0.08를 나타내는 것으로 조사되었다. 소시지 표면 육색의 붉은색과 노란색을 나타내는 CIE a*와 b*는 ISP 첨가량이 증가할수록 CIE a* 값은 감소하는 경향을 나타내었으나 감자 전분의 첨가는 ISP 첨가에 의해 떨어진 CIE a* 값을 개선하는 효과를 나타내었다. 더욱이 CIE b*의 경우에도 ISP의 첨가는 CIE b* 값의 증가를 유도하는 것으로 조사되었으나 ISP 2.0%와 감자전분 2.0%를 첨가한 처리구의 소시지에서는 저장 2주까지 CIE b*값을 낮추는 효과가 있는 것으로 나타났다.

백색도를 나타내는 W값은 ISP를 첨가에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며, 더욱이 ISP 첨가와 더불어 감자전분을 첨가한다면 백색도인 W 값은 더욱 감소하는 것으로 조사되었다. Chroma 값인 c의 경우에는 소시지에 ISP를 첨가한다면 c 값이 유의적으로 증가하였으나 ISP 2.0%와 감자전분 2.0%의 첨가는 c 값을 크게 증가시키지는 않는 것으로 조사되었으며 따라서 저장 4주차에는 대조구와 유의적인 차이가 보이지 않은 10.55±0.09를 나타내는 것으로 조사되었다. 색상을 나타내는 hue 값은 ISP의 첨가에 따라 유의적으로 증가하는 것으로 조사되었으나 감자전분의 첨가는 h 값에 역으로 작용을 하여 ISP와 함께 감자전분을 첨가한 T2와 T4에서는 감자전분을 첨가하지 않고 ISP만을 첨가하여 제조한 소시지(T1과 T3)에 비해 유의적으로 낮은 h 값을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 124. Effect of MDCM addition on the CIE L*, a*, b*, whiteness, chroma and hue color of cooked pork sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
L*	C	79.17±0.52 ^A	78.82±0.45 ^A	78.94±0.37 ^A
	T1	78.84±0.31 ^A	78.18±0.57 ^{AB}	78.46±0.19 ^B
	T2	78.69±0.26 ^A	78.10±0.71 ^{AB}	78.41±0.17 ^B
	T3	78.68±0.34 ^{Aa}	77.74±0.57 ^{BCb}	78.56±0.10 ^{Ba}
	T4	77.82±0.32 ^{Ba}	77.00±0.28 ^{Cb}	77.64±0.08 ^{Ca}
a*	C	6.04±0.27 ^A	6.23±0.47	6.28±0.14 ^B
	T1	5.74±0.17 ^{ABb}	6.11±0.06 ^b	6.56±0.32 ^{Aa}
	T2	6.04±0.14 ^A	6.05±0.24	6.24±0.05 ^B
	T3	5.47±0.18 ^{Bb}	5.94±0.13 ^a	5.89±0.12 ^{Ca}
	T4	5.73±0.20 ^{ABb}	6.11±0.08 ^a	6.30±0.09 ^{Ba}
b*	C	8.11±0.10 ^D	8.02±0.36 ^D	8.25±0.25 ^C
	T1	9.11±0.09 ^{Ba}	9.14±0.23 ^{Ba}	8.59±0.25 ^{Bb}
	T2	8.69±0.02 ^{Cab}	8.76±0.15 ^{Ca}	8.51±0.14 ^{BCb}
	T3	9.55±0.16 ^A	9.57±0.16 ^A	9.32±0.09 ^A
	T4	9.68±0.06 ^{Aa}	9.59±0.15 ^{Aa}	9.35±0.03 ^{Ab}
W ²⁾	C	54.85±0.73 ^A	54.76±1.22 ^A	54.19±1.13 ^A
	T1	51.51±0.10 ^{Cb}	50.76±0.38 ^{Bb}	52.70±0.86 ^{Ba}
	T2	52.61±0.29 ^{Bab}	51.83±0.46 ^{Bb}	52.90±0.58 ^{Ba}
	T3	50.03±0.79 ^{Dab}	49.03±0.77 ^{Cb}	50.62±0.34 ^{Ca}
	T4	48.78±0.14 ^{Eb}	48.22±0.68 ^{Cb}	49.60±0.16 ^{Ca}
C	C	10.11±0.17 ^D	10.16±0.27 ^D	10.37±0.26 ^C
	T1	10.77±0.03 ^{BC}	11.00±0.20 ^B	10.81±0.11 ^B
	T2	10.58±0.09 ^C	10.65±0.11 ^C	10.55±0.09 ^C
	T3	11.01±0.21 ^B	11.27±0.14 ^{AB}	11.02±0.11 ^B
	T4	11.25±0.07 ^A	11.37±0.12 ^A	11.27±0.07 ^A
h	C	53.32±1.30 ^D	52.17±2.96 ^C	52.70±0.68 ^C
	T1	57.76±1.01 ^{Ba}	56.24±0.66 ^{ABa}	52.62±2.06 ^{Cb}
	T2	55.22±0.57 ^C	55.38±1.38 ^B	53.71±0.65 ^C
	T3	60.18±0.58 ^{Aa}	58.15±0.77 ^{Ab}	57.73±0.45 ^{Ab}
	T4	59.40±0.96 ^{ABa}	57.51±0.57 ^{ABb}	56.04±0.35 ^{Bc}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 122.

^{A,B,C,D} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

③ MDCM 소시지의 저장중 이화학적 성상 변화 비교

ISP 또는 ISP와 감자전분을 첨가한 후 제조한 소시지를 냉장의 온도에서 4주간 저장하며 측정된 소시지의 품질 특성중 수분함량의 변화는 Table 125와 같다. ISP의 첨가는 수분의 함량을 증가시켰을 뿐 아니라 4주간의 저장동안에도 수분함량을 유지하였다. 그러나 ISP의 첨가 외에 감자전분을 첨가한다면 소시지 내 수분함량은 점차 감소하는 경향을 나타내었으며 특히 4.0%의 ISP와 2.0%의 감자전분을 첨가하여 제조한 소시지는 대조구 소시지에 비해 유의적

으로 낮은 수분함량을 나타내는 것으로 조사되었다.

저장 중 MDCM 소시지의 pH는 점차 감소하였으며 이러한 감소는 대조구 및 전 처리구에서 모두 관찰되었다. 일반적으로 ISP를 첨가하여 제조한 소시지의 pH 값은 대조구 소시지에 비해 저장 초기인 0주차에는 0.17-0.24 정도 낮은 것으로 조사되었으나 저장 4주차에 들어서는 대조구 소시지의 급격한 pH 저하로 오히려 유의적으로 높은 pH 값을 나타내는 것으로 나타났다.

농축 MDCM 2단 가수분해물을 첨가하여 제조한 소시지의 전단력 값은 저장 초기 2.0%의 ISP를 첨가한 소시지에서는 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 저장기간이 4주에 이르면서는 그 값이 점차 증가하는 것으로 조사되었다. 더욱이 ISP를 4.0% 첨가하여 제조한 소시지의 전단력 값은 ISP를 2.0% 첨가하며 제조한 소시지의 전단력 값보다 높았으며 이러한 경향은 감자전분을 2.0% 첨가한다면 더욱 높아지는 전단력 값을 나타내는 것으로 조사되었다.

소시지 제품 내 지방의 산화 정도를 나타내는 TBARS와 POV값은 ISP를 첨가한 처리구들에 비해 대조구에서 낮은 값을 나타내었으며 더욱이 ISP 함량이 높을수록 지방의 산화는 더욱 빠르게 진행되는 것으로 조사되었다. 소시지 제품 내 단백질의 변패 정도를 측정할 수 있는 VBN의 경우 역시 ISP를 첨가한 처리구에서 대조구에 비해 높은 VBN값을 나타내었으며 이러한 경향은 4주간의 저장기간에 걸쳐 꾸준히 나타나는 것으로 조사되었다. 그러나 2.0%의 감자전분 첨가는 소시지의 단백질 변패에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Table 125. Effect of MDCM addition on the physico-chemical characteristics of cooked pork sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Moisture (%)	C	66.05±0.05 ^D	66.31±0.24 ^D	66.27±0.10 ^D
	T1	67.76±0.06 ^{Aab}	67.58±0.10 ^{Ab}	67.90±0.16 ^{Aa}
	T2	66.95±0.06 ^B	66.93±0.01 ^B	66.86±0.04 ^B
	T3	66.69±0.03 ^{Ca}	66.55±0.06 ^{Cb}	66.63±0.05 ^{Cab}
	T4	65.46±0.05 ^E	65.48±0.05 ^E	65.40±0.08 ^E
pH	C	6.42±0.02 ^{Aa}	6.14±0.01 ^{Db}	5.99±0.02 ^{Dc}
	T1	6.18±0.01 ^{Da}	6.17±0.00 ^{Cb}	5.99±0.01 ^{Dc}
	T2	6.22±0.01 ^{Cb}	6.27±0.01 ^{Aa}	6.04±0.00 ^{Cc}
	T3	6.25±0.01 ^{Ba}	6.13±0.00 ^{Eb}	6.09±0.01 ^{Ac}
	T4	6.18±0.01 ^{Db}	6.19±0.01 ^{Ba}	6.07±0.00 ^{Bc}
Shear force (kg/cm ²)	C	1.57±0.03 ^{BCb}	2.11±0.09 ^{BCa}	2.13±0.19 ^{Da}
	T1	1.56±0.03 ^{Cc}	2.00±0.12 ^{Cb}	2.30±0.08 ^{Ca}
	T2	1.51±0.03 ^{Dc}	2.16±0.04 ^{Bb}	2.49±0.13 ^{Ba}
	T3	1.64±0.03 ^{Ac}	2.23±0.16 ^{Bb}	2.53±0.03 ^{ABa}
	T4	1.60±0.03 ^{ABc}	2.39±0.12 ^{Ab}	2.67±0.15 ^{Aa}
TBARS (mg/100g)	C	0.25±0.01 ^{Cb}	0.26±0.01 ^{Eb}	0.30±0.01 ^{Ca}
	T1	0.73±0.03 ^{ABb}	0.72±0.01 ^{Db}	0.83±0.01 ^{Ba}
	T2	0.70±0.04 ^{Bc}	0.75±0.02 ^{Cb}	0.80±0.01 ^{Ba}
	T3	0.76±0.05 ^{Ab}	0.81±0.03 ^{Bb}	0.92±0.05 ^{Aa}
	T4	0.77±0.02 ^{Ab}	0.89±0.03 ^{Aa}	0.93±0.05 ^{Aa}
VBN (mg%)	C	6.83±0.55 ^{Bb}	6.91±0.90 ^{Bb}	10.08±0.32 ^{Da}
	T1	9.94±0.16 ^{Ab}	10.08±0.84 ^{Ab}	11.30±0.16 ^{Ca}
	T2	9.71±0.16 ^{Ab}	9.07±0.98 ^{Ab}	11.39±0.00 ^{BCa}
	T3	9.80±0.00 ^{Ab}	9.80±0.32 ^{Ab}	11.67±0.00 ^{ABa}
	T4	9.59±0.42 ^{Ab}	10.08±0.48 ^{Ab}	11.86±0.16 ^{Aa}
POV	C	0.49±0.03 ^{Cb}	2.07±0.19 ^a	2.13±0.36 ^{Ca}
	T1	1.46±0.06 ^{ABb}	2.09±0.15 ^a	2.28±0.17 ^{BCa}
	T2	1.41±0.08 ^{Bb}	2.33±0.26 ^a	2.62±0.36 ^{ABa}
	T3	1.52±0.09 ^{Ac}	2.04±0.27 ^b	2.58±0.19 ^{ABa}
	T4	1.54±0.04 ^{Ac}	2.18±0.10 ^b	2.72±0.20 ^{Aa}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 122.

^{A,B,C,D} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

④ MDCM 소시지의 겔 특성 비교

소시지에 대한 파괴강도는 대조구 소시지에서 높았으며 이러한 결과는 4주간의 저장기간에 걸쳐 유지되었다 (Table 126). 그러나, ISP와 감자전분을 첨가한 T1-T4의 처리구에서는 파괴강도가 대조구의 소시지에 비해 낮았으나 ISP의 함량이 높을수록 그리고 전분의 첨가가 이루어질수록 파괴강도 낮은 점차 높아지는 것으로 조사되었다. 변형 값의 경우에는 저장기간이 길어질수록 그 수치는 점점 감소하는 경향을 나타내었으나 이러한 변형 값의 감소는 단지 MDCM 처리구에서만 관찰되는 결과이

었다. ISP의 첨가는 소시지의 변형 값을 증가시키는 경향을 보이는 것으로 조사되었으나 2.0%의 ISP와 또 다른 2.0%의 감자전분의 첨가는 2.0%의 ISP와 4.0%의 감자전분을 첨가하여 제조한 T4 소시지와는 상이한 결과 즉, 감자전분의 첨가가 T2 처리구의 소시지의 변형 값에는 4주간 저장기간 동안 유의적으로 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

젤 강도는 저장기간과 역의 상관관계를 가지는 즉, 저장기간이 증가할수록 젤 강도는 점차 감소하는 것으로 조사되었으며 특히 2.0%의 ISP와 감자전분의 첨가는 젤 강도를 저장기간 동안 급격히 감소시키는 것으로 나타났다. 젤리의 특성을 나타내는 젤리 강도 또한 저장기간에 따라 유의적으로 감소하였으나 이러한 유의적인 감소는 MDCM, ISP 그리고 감자전분을 이용하여 제조한 처리구 소시지에서만이 관찰되었다. 또한 MDCM의 첨가를 제외한 ISP와 감자전분의 첨가는 젤리 강도에 정의 영향을 미치는 것으로 조사되었으며 감자전분의 함량이 증가할수록 젤리 강도 또한 증가하는 것으로 나타났다.

Table 126. Effect of MDCM addition on the gel characteristics of cooked pork sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Breaking force (g)	C	274.50 22.12 ^{Aa}	226.80±8.17 ^{Ab}	282.40±7.83 ^{Aa}
	T1	127.17±8.04 ^{Ca}	106.33±5.39 ^{Db}	112.80±5.89 ^{Eb}
	T2	129.33±7.34 ^{Ca}	117.83±4.92 ^{Cb}	126.60±5.55 ^{Da}
	T3	146.67 11.25 ^{Ba}	113.40±5.03 ^{CDb}	138.20±5.72 ^{Ca}
	T4	148.00 12.04 ^{Bb}	139.60 13.28 ^{Bb}	169.80±2.86 ^{Ba}
Deformation (mm)	C	4.26±0.19 ^B	4.10±0.48 ^B	4.38±0.21 ^C
	T1	8.39±1.66 ^{Aa}	5.59±1.04 ^{Ab}	6.48±0.36 ^{Bb}
	T2	9.14±0.64 ^{Aa}	5.94±1.21 ^{Ab}	5.80±0.88 ^{Bb}
	T3	8.51±1.30 ^{Aa}	6.70±1.59 ^{Ab}	6.48±0.53 ^{Bb}
	T4	8.62±1.42 ^A	7.10±1.23 ^A	8.02±1.12 ^A
Gel strength (g*mm)	C	1170.76±133.80 ^a	930.63±118.30 ^{ABb}	1235.82±33.29 ^{Aa}
	T1	1071.50±245.20 ^a	594.10±108.00 ^{Cb}	731.93±70.29 ^{Cb}
	T2	1182.44±112.00 ^a	697.01±129.30 ^{Cb}	731.18±89.78 ^{Cb}
	T3	1250.70±237.70 ^a	756.84±166.60 ^{BCb}	897.05±98.18 ^{Bb}
	T4	1278.52±254.6	999.08±247.70 ^A	1360.53±180.40 ^A
Jelly strength (g/cm ²)	C	1398.01±112.70 ^{Aa}	1155.08±41.60 ^{Ab}	1438.25±39.87 ^{Aa}
	T1	647.65±40.92 ^{Ca}	541.55±27.46 ^{Db}	574.48±30.00 ^{Eb}
	T2	658.69±37.38 ^{Ca}	600.12±25.04 ^{Cb}	644.77±28.27 ^{Da}
	T3	746.97±57.32 ^{Ba}	577.54±25.62 ^{CDb}	703.84±29.13 ^{Ca}
	T4	753.76±61.33 ^{Bb}	710.97±67.62 ^{Bb}	864.78±14.58 ^{Ba}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 122.

^{A,B,C,D} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

⑤ MDCM 소시지의 조직적 특성 비교

농축 MDCM 2단 가수분해물, ISP와 감자전분을 첨가하여 제조한 소시지의 조직학적 특성은 Table 127과 같다. 표면경도는 ISP 4.0%와 감자전분 2.0%를 첨가한다면 저장 4 주차에 높은 표면강도를 나타내는 것으로 조사되었으나 일반적으로 ISP의 첨가는 표면강도를 낮추는 것으로 나타났다. 딱딱한 정도를 나타내는 소시지의 경도는 일반적으로 저장 기간에 따른 영향은 거의 나타나지 않는 것으로 조사되었으나 ISP와 감자전분을 각각 2.0%씩 첨가하여 소시지를 제조한다면 소시지의 경도는 감소하였다.

소시지의 응집성과 탄력성의 경우에는 일반적으로 처리구간 유의적인 차이가 조사되지 않았으나 소시지의 검성과 씹힘성에서는 저장기간에 따른 영향보다는 ISP와 감자전분의 첨가에 의해 영향을 받는 것으로 조사되었다. ISP와 감자전분을 첨가한 소시지의 검성과 씹힘성은 ISP와 감자전분을 첨가하지 않은 소시지보다 낮았으며 특히 감자전분에 의한 영향보다는 ISP의 첨가에 의한 영향이 더욱 큰 것으로 조사되었다. 소시지의 부착성을 나타내는 adhesiveness 값은 대조구인 C 처리구의 소시지에서 높은 부착성 값을 나타내었으며 처리구인 T1-T4에 이르는 소시지들은 대조구 소시지에 비해 낮은 부착성 값을 갖는 것으로 조사되었다. 그러나 ISP의 함량과 감자전분의 함량을 2.0%보다 많은 4.0%와 2.0%를 각각 첨가하여 소시지를 제조한다면 2.0%씩의 ISP와 감자전분을 넣은 소시지 보다 유의적으로 높은 부착성을 갖는 것으로 나타났으며 특히 4.0%의 ISP 첨가는 대조구 소시지와 유사한 부착성을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 127. Effect of MDCM addition on the texture properties of cooked pork sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Brittleness (kg)	C	0.18±0.02 ^{Aa}	0.19±0.02 ^{Aa}	0.15±0.01 ^{Bb}
	T1	0.12±0.02 ^C	0.12±0.01 ^D	0.12±0.01 ^C
	T2	0.12±0.01 ^{Cb}	0.13±0.01 ^{ADab}	0.14±0.00 ^{Ba}
	T3	0.15±0.01 ^B	0.14±0.01 ^C	0.15±0.01 ^B
	T4	0.15±0.01 ^B	0.16±0.00 ^B	0.16±0.01 ^A
Hardness (kg)	C	0.18±0.02 ^A	0.19±0.01 ^A	0.18±0.01 ^A
	T1	0.12±0.02 ^C	0.12±0.01 ^D	0.12±0.01 ^D
	T2	0.12±0.01 ^{Cb}	0.13±0.01 ^{CDab}	0.14±0.00 ^{Ca}
	T3	0.15±0.01 ^B	0.14±0.01 ^C	0.15±0.01 ^C
	T4	0.15±0.01 ^B	0.16±0.00 ^B	0.16±0.00 ^B
Cohesiveness (%)	C	0.84±0.48	0.60±0.14	0.62±0.10
	T1	0.56±0.07	0.64±0.09	0.61±0.03
	T2	0.60±0.03	0.58±0.02	0.62±0.02
	T3	0.58±0.02	0.57±0.02	0.60±0.02
	T4	0.59±0.03	0.58±0.04	0.61±0.01
Springiness (mm)	C	1.45±0.74	1.13±0.23	1.13±0.12 ^A
	T1	1.00±0.00	1.04±0.09	1.00±0.00 ^B
	T2	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.01 ^B
	T3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.01±0.02 ^B
	T4	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00 ^B
Gumminess (kg)	C	0.15±0.08 ^A	0.11±0.03 ^A	0.11±0.02 ^A
	T1	0.07±0.02 ^B	0.08±0.01 ^B	0.08±0.01 ^C
	T2	0.08±0.01 ^B	0.08±0.01 ^B	0.09±0.01 ^{BC}
	T3	0.09±0.01 ^{Ba}	0.08±0.01 ^{Bb}	0.09±0.00 ^{Ba}
	T4	0.09±0.01 ^B	0.09±0.01 ^B	0.10±0.00 ^{AB}
Chewiness (kg,mm)	C	0.27±0.31	0.14±0.08 ^A	0.13±0.04 ^A
	T1	0.07±0.02	0.08±0.01 ^B	0.08±0.01 ^B
	T2	0.08±0.01 ^b	0.08±0.01 ^{Bb}	0.09±0.00 ^{Ba}
	T3	0.09±0.01	0.08±0.01 ^B	0.09±0.00 ^B
	T4	0.09±0.01	0.09±0.01 ^B	0.10±0.00 ^B
Adhesiveness	C	0.10±0.01 ^A	0.10±0.01 ^A	0.10±0.01 ^A
	T1	0.08±0.01 ^B	0.08±0.00 ^C	0.08±0.00 ^C
	T2	0.08±0.01 ^B	0.08±0.01 ^C	0.09±0.00 ^{BC}
	T3	0.10±0.01 ^A	0.09±0.00 ^{BC}	0.09±0.01 ^{AB}
	T4	0.10±0.00 ^A	0.10±0.01 ^{AB}	0.10±0.00 ^{AB}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 122.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (p<0.05).

^{a,b} Means are significantly different within the same row (p<0.05).

⑥ MDCM 소시지의 관능적 특성 비교

농축 MDCM 2단 가수분해물 첨가 소시지의 육색과 다즙성에서는 관능검사 요원들에 의해 유의적인 차이가 발견되지 않았으나 향, 풍미, 탄력성에 있어서는 유의적인 차이가 있는

것으로 조사되었다(Table 128). 일반적으로 MDCM 첨가 소시지의 향, 풍미와 탄력성의 경우에는 ISP와 감자전분을 첨가하여 소시지를 제조할 경우 그 선호도는 점차 감소하는 것으로 조사되었으나 첨가량에 따라 유의적으로 감소하지는 않는 것으로 나타났다. 특히, 소시지의 풍미와 탄력성의 경우에는 ISP와 감자전분을 첨가하여 제조한 소시지의 경우 저장기간이 증가할수록 그 수치는 점차 증가하였으며 이러한 결과의 영향으로 관능검사 요원들은 저장기간에 따라 T1-T4 소시지에 대한 전반적인 기호도가 점차 증가하여 저장 4주에는 대조구 소시지와 유의적인 차이를 나타내지 않는 것으로 조사되었다.

Table 128. Effect of MDCM addition on the sensory evaluation of cooked pork sausages stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Color	C	7.30±0.57	7.17±0.41	6.48±0.69
	T1	7.10±0.74	7.17±0.26	6.75±0.69
	T2	7.20±0.45	7.50±0.32	7.08±0.38
	T3	7.20±0.45	7.17±0.75	6.67±0.52
	T4	6.80±0.76	7.42±0.38	7.13±0.38
Aroma	C	7.40±0.42 ^A	7.50±0.55 ^A	6.83±0.68
	T1	7.10±0.22 ^{ABa}	7.08±0.20 ^{ABa}	6.53±0.50 ^b
	T2	6.60±0.55 ^{BC}	6.92±0.38 ^B	6.30±0.82
	T3	6.50±0.71 ^{BC}	6.83±0.61 ^B	6.17±0.52
	T4	6.20±0.57 ^C	6.67±0.41 ^B	6.13±0.64
Flavor	C	6.70±0.67 ^{Ab}	7.67±0.26 ^{Aa}	7.52±0.55 ^{Aa}
	T1	4.30±1.40 ^{Bb}	6.50±0.63 ^{Ba}	6.38±0.87 ^{Ba}
	T2	3.60±1.52 ^{Bb}	6.33±0.75 ^{Ba}	6.47±0.75 ^{Ba}
	T3	3.90±1.43 ^B	5.58±1.80 ^B	5.98±0.68 ^B
	T4	3.90±1.24 ^{Bb}	6.42±0.49 ^{Ba}	6.06±0.98 ^{Ba}
Springiness	C	6.70±0.97 ^A	7.33±0.41 ^A	7.22±0.35
	T1	1.40±0.55 ^{Bb}	4.17±1.81 ^{Ba}	5.17±1.57 ^a
	T2	1.40±0.55 ^{Bb}	4.00±1.92 ^{Ba}	4.97±1.77 ^a
	T3	1.40±0.55 ^{Bb}	4.42±2.06 ^{Ba}	4.98±1.79 ^a
	T4	1.50±0.50 ^{Bb}	4.33±1.66 ^{Ba}	4.95±1.44 ^a
Juiciness	C	7.30±0.45	7.25±0.27	6.85±0.70
	T1	4.20±2.17 ^b	6.67±0.41 ^a	6.23±0.85 ^a
	T2	4.70±1.92 ^b	7.08±0.58 ^a	6.00±1.52 ^{ab}
	T3	4.20±2.17 ^b	6.83±0.26 ^a	5.87±1.47 ^{ab}
	T4	4.70±1.92	6.50±0.84	5.70±1.30
Overall acceptability	C	7.00±0.61 ^A	7.50±0.32 ^A	7.15±0.47
	T1	4.80±1.15 ^{Bb}	6.08±0.74 ^{Ba}	6.45±0.87 ^a
	T2	4.50±1.00 ^{Bb}	6.20±0.55 ^{Ba}	6.48±0.53 ^a
	T3	4.50±1.00 ^{Bb}	6.42±0.74 ^{Ba}	6.25±0.58 ^a
	T4	4.70±1.04 ^{Bb}	5.92±0.59 ^{Ba}	6.05±0.80 ^a

¹⁾ Treatments are the same as in Table 122.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column ($p < 0.05$).

^{a,b} Means are significantly different within the same row ($p < 0.05$).

⑦ MDCM 소시지의 DPPH 비교

일반적으로 농축 MDCM 2단 가수분해물의 첨가는 4주간의 저장기간 동안 DPPH의 수치를 감소시키는 것으로 조사되었으나 ISP의 함량을 4.0% 그리고 감자전분의 함량을 2.0% 첨가하여 소시지를 제조한다면 대조구와 유사한 또는 저장 4주차에는 대조구보다 높은 DPPH 값을 나타내는 것으로 조사되었다(Fig. 11, 12, 13).

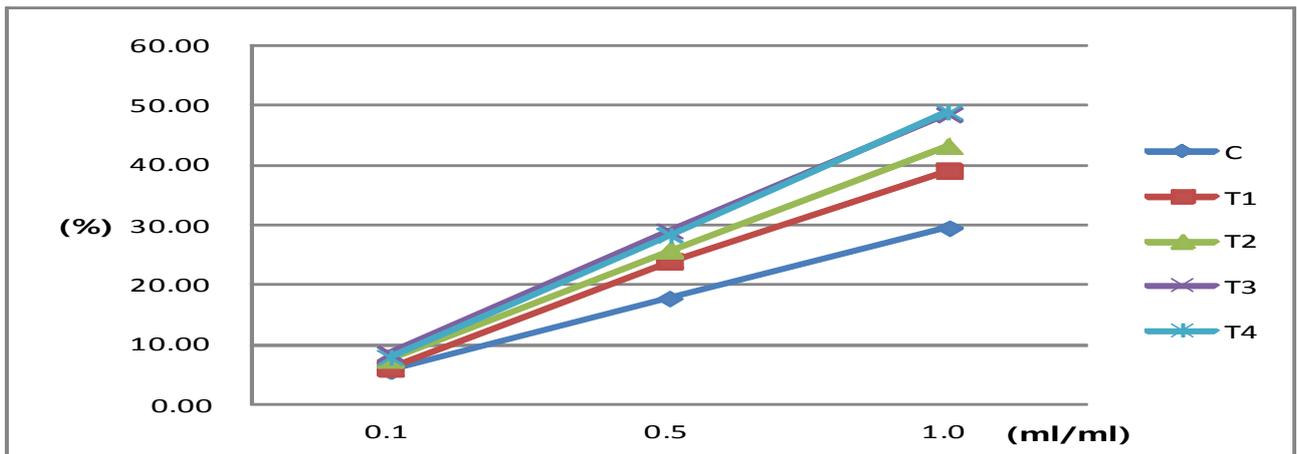


Fig. 11. DPPH antiradical activity of sausages stored at 10°C for 0 weeks.

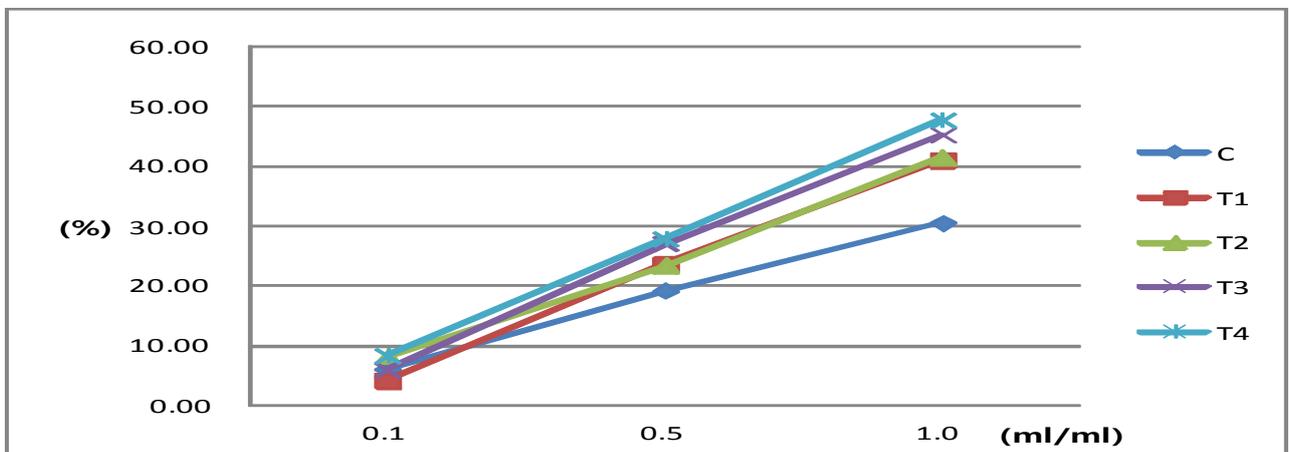


Fig. 12. DPPH antiradical activity of sausages stored at 10°C for 2 weeks.

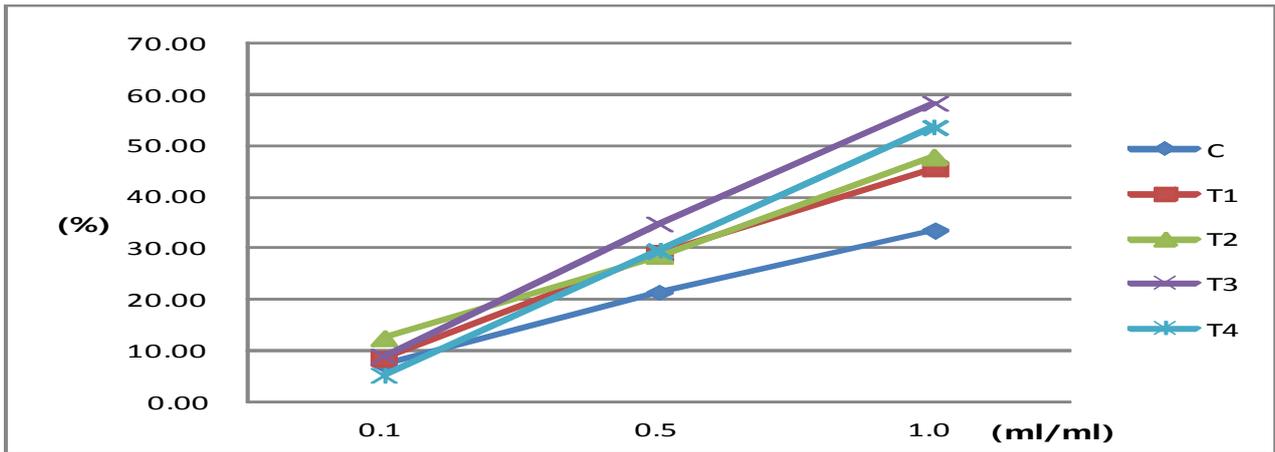


Fig. 13. DPPH antiradical activity of sausages stored at 10°C for 4 weeks.

(3) 요약

노계 회수단백질의 첨가가 저장 중 돈육 소시지의 품질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 농축 MDCM 2단 가수분해물, ISP와 감자전분을 첨가하며 돈육 소시지를 제조하였다. 돈육 소시지의 제조 후 모든 시료들은 10±1°C에서 4주간 저장하였으며, 저장 0, 2와 4주차에 저장에 따른 돈육 소시지의 이화학적, 조직적 그리고 관능적 품질의 변화를 측정함으로써 노계 회수 단백질의 첨가에 따른 돈육 소시지의 품질을 조사하였다. 돈육 소시지의 수분 함량은 ISP만을 2.0% 첨가하여 제조한 소시지에서 가장 높은 67.76-67.90%를 나타내었으나 TBARS, VBN과 POV에서는 가장 높은 값을 나타내어 지방의 산화나 단백질의 부패를 촉진하는 것으로 조사되었다. 조직적 특성에 있어서는 ISP와 감자전분의 첨가는 변형, 겔 강도와 젤리 강도를 감소시키는 것으로 조사되었다. 그러나 ISP와 감자전분의 첨가중 특히 감자전분의 첨가는 표면경도, 검성과 부착성에 유의적인 정의 영향을 미치는 것으로 조사되었으며 따라서 ISP와 함께 감자전분을 첨가한다면 돈육 소시지의 조직적 특성에 영향을 미칠 수 있는 것으로 나타났다. MDCM, ISP와 감자전분의 첨가가 돈육 소시지의 관능적 특성에 미치는 영향의 경우에는 향, 풍미와 탄력성과 같은 관능적 요인에는 부의 영향을 미치는 것으로 나타났으나 저장기간이 지남에 따라 전반적인 기호도의 경우에는 이러한 관능적 요인들의 영향이 점차 줄어들어 저장 4주차의 전반적 기호도에 있어서는 대조구 소시지와 유의적인 차이를 나타내지 않는 것으로 조사되었다.

마. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 어묵의 개발

(1) 재료 및 방법

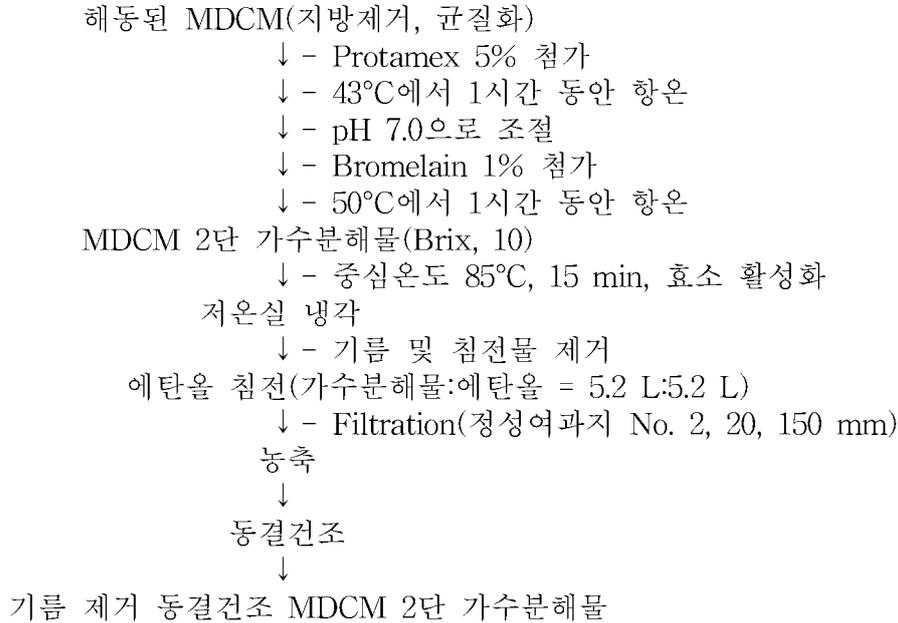


Fig. 14. 기름 제거 동결건조 MDCM 2단 가수분해물 제조방법(어묵용).

(가) 시험설계

Table 129. Composition of boiled fish paste blends

Materials	Treatments (%)		
	C(0%)	T1(1%)	T2(3%)
Salt	3.00	3.00	3.00
MDCM Hyd.(P)	0.00	1.00	3.00
Surimi(명태FA)	79.50	75.52	67.57
Ice/Water	17.50	20.48	26.43
Total	100	100	100
최종 수분(%)	78.00	78.00	78.00

Table 129의 배합비에 따라 준비한 연육을 silent cutter에 깔고 소금, MDCM 가수분해 분말을 첨가한 다음 2단의 속도에서 3분간 커팅을 하였으며 약 1/2 분량의 얼음을 투입한 다음 2분간에 걸쳐 2차 커팅을 실시하였다. Silent cutter를 이용한 2차 커팅 이후 나머지 1/2 분량의 얼음을 첨가한 다음 약 2분간의 3차 커팅을 실시하였다. 이후 지름이 약 3 cm의 PVDC를 이용하여 silent cutter를 이용하여 커팅 한 반죽을 약 10 cm의 길이로 충전 하였으며, 이후 약 90°C 온도에서 약 40분간 탕침 가열을 하였다. 40분간의 탕침 가열이 끝나면 얼음물에서

바로 약 20분간에 걸쳐 냉각을 실시하였으며 이후 10°C의 냉장 온도에서 다시 12시간에 걸쳐 냉각을 실시한 다음 처리구별로 포장한 이후 냉장 온도인 10°C에서 저장하며 실험을 실시하였다. 각 처리구별 어묵은 이후 0, 2와 4주의 저장 기간에 따라 이화학적, 조직학적 그리고 관능적 품질 검사를 위하여 이용하였다.

(나) 동결건조 MDCM 2단 가수분해물 첨가 어묵의 제조

본 실험에서 제조한 어묵은 아래와 같으며 4주간의 냉장 저장 중 변화하는 제품의 품질을 육안으로 구분하고자 아래와 같이 나타내었다.

① MDCM 어묵 저장 0 주차



C



T2



T3

② MDCM 어묵 저장 4 주차



C



T2



T3

(다) 저장에 따른 MDCM 어묵 제품의 품질 비교 방법

- ① pH 측정: 4주간의 저장 기간 중 pH는 시료 3 g을 증류수 27 mL과 함께 14,000 rpm에서 10초간 균질 한 다음(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia) pH meter(8603, Metrohm, Swiss)를 사용하여 측정하였다.

- ② 일반성분 분석: 공시시료의 일반성분 분석은 AOAC(2000)의 방법에 의거하여 실시하였다. 수분함량은 method 934.01법에 의한 상압 가열 건조법, 조지방 함량은 method 954.08법에 의한 Soxhlet법, 그리고 조단백질 함량은 method 984.13에 의한 Kjeldahl법을 이용하여 분석에 임하였다.
- ③ 수분활성: 공시시료의 수분활성도(a_w)는 시료를 균질한 후 a_w 측정기(LKM200A, Lokas Co., Korea)를 이용하여 25°C의 실온에서 수분 분압에 의한 항량이 결정되었을 때 이를 시료의 상대습도 값으로 하였다.
- ④ 총균수: 시료를 동일 시간에 멸균된 stomach bag에 25 g씩 넣은 후 0.85%의 멸균 생리 식염수 225 mL을 가하고 Stomacher(788 60 ST Nom., Interscience, France)로 3분간 균질화하였다. 이후 원액은 순차적으로 희석하며 실험에 이용하였다. 총균수는 배양액을 1 mL 취하고 희석한 다음 plate count agar(PCA, Becton, Dickinson & Co., Sparks, USA)에 평판주개법으로 접종한 다음 37 °C에서 48 h 배양하며 나타난 집락수를 log로 환산하여 수치화 하였다.
- ⑤ 육색 측정: 육색은 진공포장을 개봉한 후 30분간의 홍색화(blooming) 반응을 시킨 다음, 킴 와이프스(킴테크 킴와이프스, 유한킴벌리, 서울, 대한민국)를 사용하여 표면의 수분을 제거하였다. 이후, Minolta chroma meter(Minolta Co. CR-300, Japan)를 사용하여 2회 반복하며 명도(Lightness)를 나타내는 L^* 값, 적색도(Redness)를 나타내는 a^* 값과 황색도(Yellowness)를 나타내는 b^* 값을 측정하였다. Minolta chroma meter의 표준화 작업은 $Y=92.8$, $x=0.3134$, $y=0.3193$ 인 표준색판을 사용하였으며 백색도를 나타내는 W 값은 L^*-3b^* 의 식에 각각의 수치를 대입하여 계산하였다.
- ⑥ VBN: 총 휘발성 질소 함량을 측정함으로써 단백질의 부패를 추정할 수 있는 total volatile basic nitrogen(VBN)은 Miwa와 Iida(1973)의 Conway 확산 측정법을 이용하였다. 시료 5 g과 15 mL의 증류수를 혼합한 다음 13,500 rpm에서 1분간 균질 하였으며, 이후 증류수를 이용하여 50 mL로 보정하였다. Whatman 거름종이(Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, England)를 이용하여 균질된 시료를 거른 다음 Conway 확산기의 외곽에 1 mL의 시료를 준비하였다. 확산기의 내부에는 0.01 N H_3BO_3 와 0.066% methyl red 그리고 0.066% bromocresol green을 1:1로 혼합한 혼합액을 2-3 방울 떨어뜨리고 바로 1 mL의 포화 K_2CO_3 를 확산기 외곽에 주입한 다음 37°C의 인큐베이터에서 약 120분간 배양하였다. 배양 후 각 시료를 0.02 N H_2SO_4 로 측정하였으며, 이후 휘발성 질소의 함량 (mg%)을 계산하여 수치화 하였다.
- ⑦ TBARS: 저장 중 시료는 Buege와 Aust(1978)의 방법에 준하여 지방의 산화(TBARS)를 측정하였으며, 이를 mg malonaldehyde/kg(MA ppm)의 값으로 표기하였다. 시료 2.5g에 7.5 mL의 증류수와 25 μ L의 butylated hydroxyanisole in ethanol(BHT) 그리고 10 mL의 TBA/TCA 용액을 혼합 하였으며, 이후 13,500 rpm에서 30초간 균질 하였다(T25B, IKA Sdn. Bhd., Malaysia). 모든 시료는 100°C의 수조에서 15분간 가열하

였으며, 얼음에서의 신속한 냉각과 4,000 rpm에서의 원심분리 이후에 각 시료의 상층액 흡광도를 521 nm에서 측정하였다(UVIKON922, Kontron, Italy).

- ⑧ POV: 지질 과산화물 생성 억제 효과를 측정하기 위하여 Nose 방법에 따라 POV값을 측정하였다. Linoleic acid와 시료를 시험관에 넣은 후 50°C의 항온기에서 24 h 저장하며 산화를 촉진시켰으며 이후 chloroform/acetic acid (2:3, v/v)를 첨가하고 1분간 혼합한 다음 암실에서 5분간 방치시켰으며 여기에 다시 증류수와 전분 시액을 첨가한 후에 sodium thiosulfate를 이용하여 POV값을 측정하였다.
- ⑨ 전단가 및 조직감: 전단력가와 조직감은 Instron 3343(US/MX50, A&D Co., USA)을 사용하여 측정하였다. 전단력가는 시료를 수평으로 \varnothing 16.50×20.00 mm로 자른 후 직각 방향으로 knife형 plunger를 이용하여 절단하며 9회 반복 측정하였다. 이때 측정 조건은 load cell 10 kg, adapter area 30 mm²이었다. 조직감의 측정을 위하여서는 시료를 각각 2.0(가로)×2.0(세로)×1.0 cm(높이)로 정형한 다음 plunger No. 3를 사용하여 근육의 방향과 직각이 되게 하였으며 이후 시료의 경도 (hardness), 표면경도 (brittleness), 응집성 (cohesiveness), 검성 (gumminess), 씹힘성 (chewiness), 탄력성 (springiness), 부착성 (adhesiveness)을 측정하였다. 이 때 분석조건은 전단력가와 조직감 모두 chart speed 120 mm/min, maximum load 10 kg, 측정속도 60 mm/min으로 하였다.
- ⑩ 파괴강도 및 변형값: 저장 중 어묵의 물리적 특성은 실린더형 시료(\varnothing 1.8×2.0 cm) 위에 지름 5 mm 구형의 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 Rheometer (EZ-Test, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 사용하며 파괴강도(breaking force) 변형도(deformation), 젤 강도(gel strength) 및 젤리 강도(jelly strength)를 측정하였다. 이들 중 젤리 강도는 특히 Jelly strength= Breaking force×Deformation의 공식을 적용하며 수치화하였다.
- ⑪ 관능검사: 훈련된 7명의 관능검사 요원으로 하여금 주어진 각 시료의 육색, 향, 맛, 연도, 다즙성 및 전체적인 기호도 평가를 9점 척도법으로 평가하였다 (Meilgaard et al., 1991; AMSA, 1995). 관능검사를 위하여 처리구별 4개의 킹크랩 시료를 37°C의 인큐베이터(JS-IN-180, Johnsam Co., Seoul, Korea)에서 약 15분간 예열함으로써 냉장 저장에 따른 차가운 감촉을 제거하였다. 각 처리구별 킹크랩 시료를 약 1 × 1 × 1 cm로 정형화한 다음, 세 자릿수의 랜덤 코드와 함께 관능검사 요원들에게 제공되었다. 이후 관능요원은 주어진 항목에 따라 1점은 매우 싫다 그리고 9점은 매우 좋다는 기준으로 평가하며 수치화하였다.
- ⑫ DPPH radical 소거 활성: DPPH 라디칼 소거 활성은 Park 등(2005)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 시험관에 시료 용액 500 μ L를 넣고, 500 μ L의 ethanol과 250 μ L의 0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)/ethanol 용액을 첨가하여 25 °C의 실온에서 30분 동안 방치한 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 500 μ L의 탈이온수를 사용하였으며, Blank 시험은 DPPH와 증류수 대신 750 μ L의 ethanol을 사용하였다. 라디칼 소거 활성은 다음의 식에 따라 DPPH 탈색의 %로 계산하였다.

$$\text{라디칼 소거 활성} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

(2) 결과 및 고찰

(가) 저장에 따른 MDCM 어묵 제품의 품질 비교

① MDCM 어묵의 수분, 조단백질과 조지방 함량 비교

동결건조 MDCM 2단 가수분해물을 첨가하여 제조한 어묵의 일반성분은 Table 130과 같다. 수분의 함량은 3%의 MDCM을 첨가하여 제조한 어묵에서 가장 높은 76.80%를 나타내었으나 1%의 MDCM을 첨가하여 제조한 어묵인 T1 처리구의 어묵에서는 대조구 어묵의 수분함량과 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

동결건조 MDCM 2단 가수분해물의 함량을 1과 3%로 달리하며 제조한 어묵의 조단백질과 조지방의 함량은 대조구와 유의적으로 차이를 나타내지 않았다.

Table 130. Effect of MDCM addition on the proximate composition of boiled fish paste stored at 10°C for 4 weeks (%)

Items	Treatments ¹⁾		
	C	T1	T2
Moisture	76.33±0.03 ^B	76.38±0.02 ^B	76.80±0.04 ^A
Crude protein	14.16±0.61	13.47±0.60	14.15±0.85
Crude fat	0.40±0.05	0.50±0.19	0.68±0.23

¹⁾ Treatments are the same as in Table 129.

^{A,B} Means are significantly different within the same column (P<0.05).

② MDCM 어묵의 육색 비교

3%의 동결건조 MDCM 2단 가수분해물을 첨가하여 제조한 어묵 (T2)은 CIE L* 값을 유의적으로 낮추었으며 이러한 경향은 냉장 온도에서 4주 동안 저장한 이후에도 지속되었다 (Table 131). 그러나 MDCM을 1% 첨가하여 제조한 어묵인 T1 처리구의 경우에는 저장 초기인 0주에는 CIE L* 값이 대조구 어묵과 유의적으로 차이가 나지 않았으나 저장 2주를 거쳐 저장 4주에 이르게 됨에 따라 CIE L* 값은 대조구의 어묵과 유의적인 차이를 나타내며 CIE L* 값을 감소시켰다.

1과 3%의 MDCM을 첨가하며 제조한 어묵은 대조구에 비해 CIE a*와 CIE b*의 값을 유의적으로 증가시켰으나 저장기간이 4주차에 이를수록 낮은 CIE a*와 CIE b*값을 나타내었다.

어묵의 백색도를 나타내는 W 값은 MDCM을 첨가하여 어묵을 제조한다면 점차 감소하는 것으로 조사되었으며 이러한 백색도는 1%보다는 3%의 MDCM을 첨가하였을 경우 더욱 낮은 W 값을 나타내었다. 그러나 냉장 온도에서 4주에 걸쳐 MDCM을 첨가하며 제조한 어묵을 저

장한다면 백색도에는 유의적인 영향을 미치지 못하는 것으로 조사되었다.

Chroma값을 나타내는 c값과 색도를 나타내는 h 값은 각각 저장기간에 따라 증가 혹은 감소하였다. Chroma값은 저장기간에 따라 점차 감소하였으나 저장 2주와 4주에는 유의적인 감소가 조사되지 않았으며 이러한 결과는 색도를 나타내는 h 값에서도 유사하였다. MDCM을 첨가하지 않고 제조한 대조구 어묵의 경우에는 처리구 어묵에 비해 유의적으로 높은 chroma 값과 유의적으로 낮은 색도(c)를 나타내었으나 MDCM을 1% 첨가하여 제조한다면 MDCM을 3% 첨가하여 제조한 어묵에 비해 저장 2주차까지는 유의적으로 높은 색도인 h 값을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 131. Effect of MDCM addition on the CIE L*, a*, b*, chroma and hue values of boiled fish paste stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
L*	C	77.02±0.31 ^A	76.69±0.47 ^A	76.68±0.19 ^A
	T1	76.98±0.28 ^{Aa}	76.32±0.27 ^{Ab}	76.17±0.18 ^{Bb}
	T2	74.44±0.40 ^{Ba}	73.67±0.30 ^{Bb}	73.57±0.35 ^{Cb}
a*	C	-3.00±0.01 ^{Ca}	-3.28±0.02 ^{Cb}	-3.32±0.03 ^{Cc}
	T1	-2.94±0.02 ^{Ba}	-3.17±0.04 ^{Bb}	-3.22±0.03 ^{Bc}
	T2	-2.71±0.02 ^{Aa}	-2.87±0.05 ^{Ab}	-2.91±0.04 ^{Ab}
b*	C	3.67±0.06 ^{Ca}	3.18±0.07 ^{Cb}	3.07±0.07 ^{Cc}
	T1	5.84±0.11 ^{Ba}	5.37±0.09 ^{Bb}	5.42±0.19 ^{Bb}
	T2	8.70±0.16 ^{Aa}	8.50±0.16 ^{Aab}	8.32±0.22 ^{Ab}
W	C	66.02±0.44 ^{Ab}	67.16±0.45 ^{Aa}	67.48±0.35 ^{Aa}
	T1	59.46±0.51 ^B	60.22±0.31 ^B	59.90±0.60 ^B
	T2	48.34±0.84 ^C	48.16±0.38 ^C	48.61±0.76 ^C
C	C	4.74±0.04 ^{Ca}	4.56±0.05 ^{Cb}	4.52±0.07 ^{Cb}
	T1	6.54±0.10 ^{Ba}	6.23±0.07 ^{Bb}	6.31±0.18 ^{Bb}
	T2	9.11±0.15 ^A	8.97±0.16 ^A	8.81±0.19 ^A
h	C	129.30±0.54 ^{Ac}	135.86±0.61 ^{Ab}	137.29±0.36 ^{Aa}
	T1	116.72±0.32 ^{Bb}	120.53±0.65 ^{Ba}	120.70±0.71 ^{Ba}
	T2	107.31±0.42 ^{Cb}	108.62±0.40 ^{Ca}	109.30±0.70 ^{Ca}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 129.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (P<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (P<0.05).

③ MDCM 어묵의 이화학적 성상 비교

실험에 이용된 모든 어묵은 수분함량을 이론적으로는 최종 78%로 맞추어 제조하였으나 저장 기간 0주차인 제품의 수분함량은 76.33-76.80% 이었으며 이러한 결과는 동결건조

MDCM 2단 가수분해물의 첨가 함량과도 유의적인 관계가 있는 것으로 조사되었다(Table 132). 그러나 일반적으로 MDCM의 함량이 1% 정도일 경우 저장 2주차를 제외하고 저장 0과 4 주차에서는 대조구 어묵의 수분함량과 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 MDCM을 3% 첨가한다면 대조구나 MDCM을 1% 첨가하여 제조한 어묵의 수분함량보다 유의적으로 높은 76.75-76.88%을 나타내었다. 저장 초기인 0주차의 어묵은 pH가 7.25이었으며 이는 MDCM을 첨가하여 제조한 T1과 T2 처리구의 어묵 보다 유의적으로 높은 pH 값이었으며 더욱이 이러한 pH 값은 저장 기간이 증가함에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다.

제조 어묵의 전단력은 저장기간 2주차까지는 점차 증가하는 경향을 나타내었으나 이후 곧 감소하였다. 이러한 경향은 대조구를 비롯하여 전 처리구의 어묵 모두에서 나타났으며 저장기간에 따른 처리구간 별 유의적인 전단력 값 또한 조사되지 않았다.

제조 어묵의 저장중 지방과 단백질의 산화와 변패를 나타내는 TBARS와 VBN값은 동결건조 MDCM 2단 가수분해물 첨가량을 1%에서 3%로 증가시킬수록 더욱 증가하는 경향을 나타내었으며 이러한 경향은 저장기간에 따라서도 정의 관계를 나타내었다. 그러나 POV 값의 경우에는 저장 2주차까지는 MDCM 처리구 중 하나인 T2에서 대조구 그리고 T1 처리구 어묵의 POV 값 보다 유의적으로 낮은 1.07-1.62의 값을 나타내었으나 저장 4주차에 이르러서는 MDCM을 1% 처리한 어묵에서 유의적으로 높은 POV 값을 나타내는 것으로 조사되었다.

Table 132. Effect of MDCM addition on the physico-chemical characteristics of boiled fish paste stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Moisture (%)	C	76.33±0.03 ^{Bb}	76.53±0.04 ^{Ba}	76.53±0.11 ^{Ba}
	T1	76.38±0.02 ^{Bb}	76.67±0.05 ^{Aa}	76.40±0.01 ^{Bb}
	T2	76.80±0.04 ^A	76.75±0.07 ^A	76.88±0.10 ^A
pH	C	7.25±0.00 ^{Aa}	7.08±0.02 ^{Ab}	7.07±0.01 ^{Ab}
	T1	7.13±0.01 ^{Ba}	7.10±0.01 ^{Ab}	6.98±0.01 ^{Bc}
	T2	7.00±0.01 ^{Ca}	6.88±0.00 ^{Bb}	6.85±0.01 ^{Cc}
Shear force (kg/cm ²)	C	1.75±0.05 ^{Cc}	2.64±0.15 ^a	2.18±0.15 ^b
	T1	1.83±0.01 ^{Bc}	2.73±0.10 ^a	2.14±0.08 ^b
	T2	1.92±0.02 ^{Ac}	2.60±0.08 ^a	2.07±0.02 ^b
TBARS (mg/100g)	C	1.02±0.01 ^{Cab}	1.07±0.01 ^{Ca}	0.97±0.06 ^{Cb}
	T1	1.15±0.00 ^{Bc}	1.30±0.02 ^{Ba}	1.19±0.02 ^{Bb}
	T2	1.49±0.04 ^{Ab}	1.83±0.03 ^{Aa}	1.82±0.04 ^{Aa}
VBN (mg%)	C	7.28±0.16 ^{Cc}	11.99±0.23 ^{Bb}	13.20±1.06 ^{Ca}
	T1	9.56±0.21 ^{Bc}	12.27±0.89 ^{Bb}	16.28±0.07 ^{Ba}
	T2	14.11±0.13 ^{Ac}	17.17±0.48 ^{Ab}	18.20±0.69 ^{Aa}
POV	C	2.04±0.22 ^{Aa}	1.34±0.12 ^{Ab}	1.92±0.13 ^{Ba}
	T1	1.82±0.13 ^{ABb}	1.23±0.11 ^{Ac}	2.09±0.07 ^{Aa}
	T2	1.62±0.17 ^{Bb}	1.07±0.10 ^{Bc}	1.88±0.04 ^{Ba}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 129.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (P<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (P<0.05).

④ MDCM 어묵의 겔 특성 비교

제조 어묵의 겔 특성중 파괴강도, 변형, 겔 강도 그리고 젤리 강도는 모두 동결건조 MDCM 2단 가수분해물을 첨가하지 않은 어묵에서 MDCM을 1% 혹은 3% 첨가하여 제조한 어묵에 비해 수치적으로 높았으며 특히, MDCM을 3% 첨가하여 제조한 어묵보다는 4주간의 저장 전 기간에 걸쳐 유의적으로 높은 값들은 유지하는 것으로 조사되었다(Table 133). 더욱이 파괴강도와 젤리강도에서는 저장기간에 따라 대조구의 어묵과 처리구의 어묵에서 모두 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었으나 변형 값과 젤리강도에서는 동결건조 MDCM 2단 가수분해물을 3% 첨가한다면 저장 2주차까지는 증가하는 경향을 보이는 것으로 조사되었으나 이후 점차 감소하는 것으로 나타났다.

Table 133. Effect of MDCM addition on the gel characteristics of boiled fish paste stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Breaking force (g)	C	113.33±6.68 ^{Ac}	140.67±8.66 ^{Ab}	179.33±6.89 ^{Aa}
	T1	88.50±3.56 ^{Bc}	123.50±8.41 ^{Bb}	138.00±7.51 ^{Ba}
	T2	51.83±8.33 ^{Cc}	62.83±4.79 ^{Cb}	71.00±4.52 ^{Ca}
Deformation (mm)	C	8.09±1.35 ^{ABb}	9.22±0.65 ^a	9.79±0.22 ^{Aa}
	T1	8.87±0.88 ^A	9.36±0.62	8.62±0.27 ^B
	T2	6.60±1.59 ^B	8.67±1.63	6.72±1.44 ^C
Gel strength (g*mm)	C	917.93±166.20 ^{Ac}	1301.24±165.10 ^{Ab}	1756.47±97.33 ^{Aa}
	T1	784.27±72.83 ^{Ab}	1158.57±139.20 ^{Aa}	1189.70±68.56 ^{Ba}
	T2	350.92±141.20 ^{Bb}	548.98±125.5 ^{Ba}	479.41±114.60 ^{Cab}
Jelly strength (g/cm ²)	C	566.67±33.42 ^{Ac}	703.33±43.32 ^{Ab}	896.67±34.45 ^{Aa}
	T1	442.50±17.82 ^{Bc}	617.50±42.04 ^{Bb}	690.00±37.55 ^{Ba}
	T2	259.17±41.64 ^{Cc}	314.17±23.96 ^{Cb}	355.00±22.58 ^{Ca}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 129.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (P<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (P<0.05).

⑤ MDCM 어묵의 조직적 특성 비교

제조한 어묵의 조직적 특성은 Table 134와 같다. 표면경도, 경도, 응집성, 부착성에 있어서는 대조구와 처리구별 유의적인 차이가 조사되었으며 특히 동결건조 MDCM 2단 가수분해물의 첨가함량이 증가할수록 낮은 표면경도, 경도, 응집성과 부착성을 나타내는 것으로 조사되었다. 또한 이들 표면경도, 경도, 응집성과 부착성들은 저장기간이 0주에서 4주차에 이르기

까지 점차 증가함에 따라 대조구 및 처리구의 어묵 모두에서 유의적인 차이를 나타내며 그 수치 또한 증가하는 경향을 나타내었다. 어묵의 조직적 특성 중 검성과 씹힘성의 경우에는 대조구와 처리구 어묵간 유의적인 차이 또한 조사되었으며, 특히 MDCM의 처리량이 증가할수록 대조구에 비해 검성과 씹힘성이 유의적으로 감소하는 것으로 조사되었다. 그러나 저장기간이 증가한다면 MDCM의 함량을 3%까지 처리한 T2 처리구의 어묵은 저장 2주차와 4주차의 검성과 씹힘성에서 유의적인 변화가 조사되지 않는 것으로 나타났다.

Table 134. Effect of MDCM addition on the texture properties of boiled fish paste stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Brittleness (kg)	C	0.11±0.01 ^{Ac}	0.13±0.01 ^{Ab}	0.17±0.01 ^{Aa}
	T1	0.08±0.01 ^{Bb}	0.11±0.00 ^{Ba}	0.12±0.01 ^{Ba}
	T2	0.05±0.01 ^{Cc}	0.07±0.01 ^{Ca}	0.06±0.01 ^{Cb}
Hardness (kg)	C	0.11±0.01 ^{Ac}	0.13±0.01 ^{Ab}	0.17±0.01 ^{Aa}
	T1	0.08±0.01 ^{Bb}	0.11±0.00 ^{Ba}	0.12±0.01 ^{Ba}
	T2	0.05±0.01 ^{Cc}	0.07±0.01 ^{Ca}	0.06±0.01 ^{Cb}
Cohesiveness (%)	C	0.49±0.03 ^{Ab}	0.56±0.03 ^{Aa}	0.56±0.02 ^{Aa}
	T1	0.50±0.03 ^{Ab}	0.55±0.03 ^{Aa}	0.57±0.04 ^{Aa}
	T2	0.40±0.02 ^{Bc}	0.50±0.04 ^{Ba}	0.46±0.03 ^{Bb}
Springiness (mm)	C	1.01±0.01	1.00±0.00	1.01±0.01
	T1	1.01±0.01	1.00±0.00	1.00±0.00
	T2	1.00±0.00	1.02±0.03	1.00±0.00
Gumminess (kg)	C	0.05±0.00 ^{Ac}	0.07±0.01 ^{Ab}	0.09±0.01 ^{Aa}
	T1	0.04±0.01 ^{Bc}	0.06±0.01 ^{Bb}	0.07±0.00 ^{Ba}
	T2	0.02±0.00 ^{Cb}	0.03±0.00 ^{Ca}	0.03±0.00 ^{Ca}
Chewiness (kg,mm)	C	0.05±0.00 ^{Ac}	0.07±0.01 ^{Ab}	0.09±0.01 ^{Aa}
	T1	0.04±0.01 ^{Bc}	0.06±0.01 ^{Bb}	0.07±0.00 ^{Ba}
	T2	0.02±0.00 ^{Cb}	0.03±0.01 ^{Ca}	0.03±0.00 ^{Ca}
Adhesiveness	C	0.05±0.00 ^{Ac}	0.07±0.01 ^{Ab}	0.08±0.00 ^{Aa}
	T1	0.04±0.00 ^{Bb}	0.06±0.00 ^{Ba}	0.06±0.01 ^{Ba}
	T2	0.02±0.00 ^{Cb}	0.03±0.01 ^{Ca}	0.03±0.01 ^{Cb}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 129.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (P<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (P<0.05).

⑥ MDCM 어묵의 관능적 특성 비교

제조된 어묵의 육색, 풍미와 탄력성 같은 관능적 특성은 동결건조 MDCM 2단 가수분해물을 첨가한다면 점차 감소하는 것으로 나타났으나 저장기간에 따른 영향은 그리 크지 않은 것으로 조사되었다(Table 135). 특히, 풍미와 탄력성의 경우에는 저장 0주차에 처리구별 유의적인 차이가 관능검사 요원들에 의해 나타나지 않았으나 각각 2주와 4주차로 어묵 제품의 저장기간을 증가시킨다면 관능검사 요원들에 의해 유의적인 차이가 조사되는 것으로 나타났다. 더욱이 이러한 영향은 전반적인 기호도

에도 반영이 되어 저장 0주차에는 관능검사 요원들에 의해 조사되지 않았던 처리구별 유의적인 차이가 저장 2주와 4주에는 나타났으며 특히 저장 4주차에는 MDCM의 첨가량이 전반적인 기호도에 영향을 미치지 않는 것으로 조사되었다.

Table 135. Effect of MDCM addition on the sensory evaluation of boiled fish paste stored at 10°C for 4 weeks

Items	Treatments ¹⁾	Storage (weeks)		
		0	2	4
Color	C	7.67±0.29 ^A	7.38±0.48 ^A	7.33±0.41 ^A
	T1	7.17±0.29 ^{AB}	7.00±0.41 ^{AB}	7.20±0.24 ^A
	T2	6.83±0.29 ^B	6.38±0.25 ^B	6.70±0.24 ^B
Aroma	C	6.83±0.76	6.50±1.73	6.98±0.62
	T1	7.00±1.00	6.88±0.85	7.00±0.63
	T2	7.00±1.80	5.63±1.80	6.82±0.65
Flavor	C	5.17±2.84	6.38±0.95 ^A	7.25±0.52 ^A
	T1	4.33±1.15 ^{ab}	3.00±0.82 ^{Bb}	5.87±1.17 ^{ABa}
	T2	2.67±2.08 ^{ab}	2.00±0.82 ^{Bb}	4.68±1.50 ^{Ba}
Springiness	C	2.00±1.73 ^c	4.38±1.89 ^b	7.00±0.63 ^{Aa}
	T1	2.00±1.00 ^b	3.25±1.50 ^{ab}	5.25±1.33 ^{Ba}
	T2	1.67±1.15 ^b	2.25±0.50 ^b	5.08±1.07 ^{Ba}
Juiciness	C	7.50±0.87	7.25±0.50	6.83±0.68
	T1	7.50±0.50 ^a	7.50±0.58 ^a	6.48±0.60 ^b
	T2	7.33±0.58	7.50±1.68	6.42±0.80
Overall acceptability	C	3.88±3.01 ^b	5.40±1.92 ^{Aab}	7.10±0.53 ^{Aa}
	T1	3.75±2.63	4.30±1.40 ^B	5.87±0.96 ^B
	T2	1.88±2.46 ^b	3.50±1.00 ^{Cab}	5.38±0.99 ^{Ba}

¹⁾ Treatments are the same as in Table 129.

^{A,B,C} Means are significantly different within the same column (P<0.05).

^{a,b,c} Means are significantly different within the same row (P<0.05).

⑦ MDCM 어묵의 DPPH 비교

일반적으로 동결건조 MDCM 2단 가수분해물의 첨가는 4주간의 저장기간 동안 DPPH의 수치를 증가시키는 것으로 조사되었으며 특히 MDCM의 함량을 3.0%로 증가시켜 소시지를 제조한다면 대조구 대비 높은 DPPH 값을 나타내는 것으로 조사되었다(Fig. 15, 16, 17). 더욱이 DPPH의 값은 MDCM의 첨가량에 따라 그 값이 유의적으로 증가하였으며 3%의 MDCM 가루 분말을 첨가하여 어묵을 제조한다면 50%이상의 DPPH 값을 나타내었다.

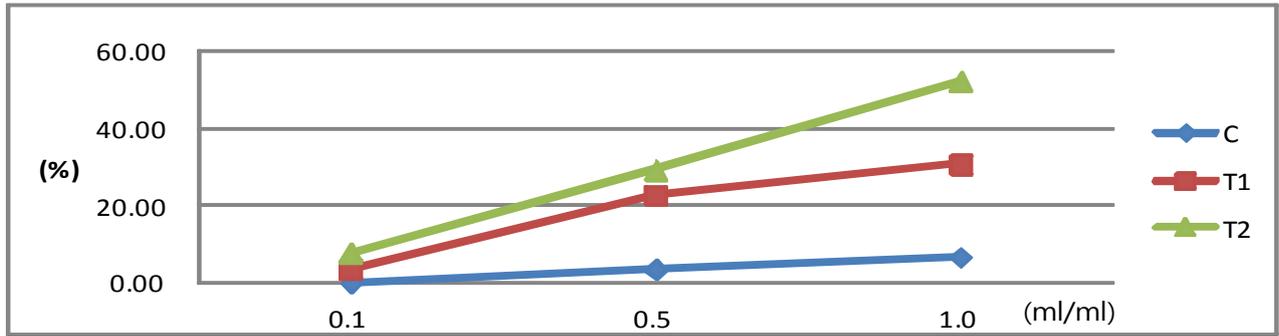


Fig. 15. Effect of MDCM addition on the radical development of boiled fish paste stored at 10°C for 0 week.

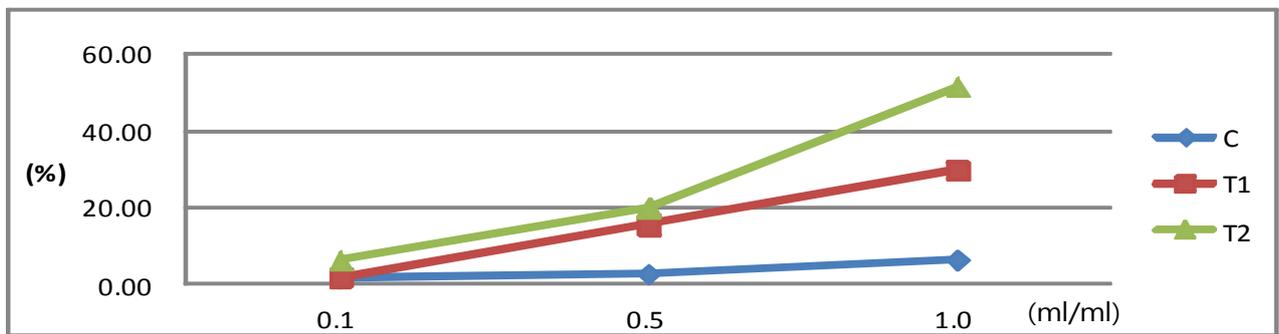


Fig. 16. Effect of MDCM addition on the radical development of boiled fish paste stored at 10°C for 2 week.

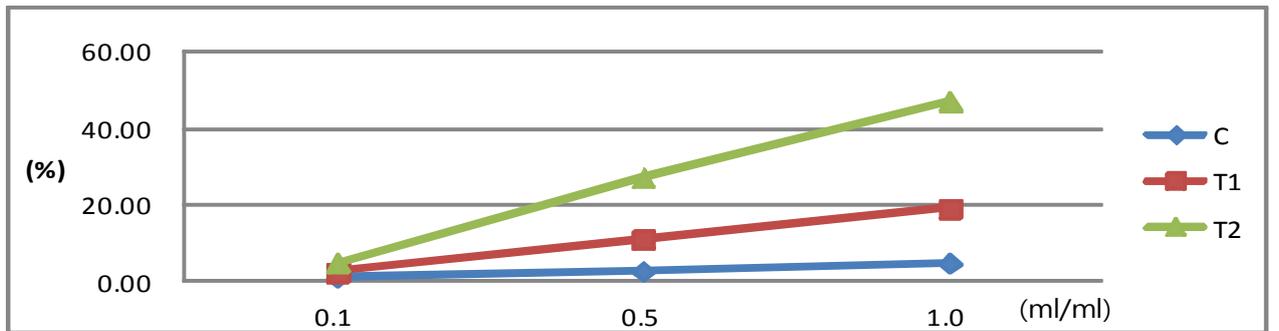


Fig. 17. Effect of MDCM addition on the radical development of boiled fish paste stored at 10°C for 4 week.

(3) 요약

노계 회수단백질인 동결건조 MDCM 2단 가수분해물 분말의 첨가가 저장 중 어묵의 품질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 1과 3%의 MDCM을 첨가하며 어묵을 제조하였다. 어묵의 제조 후 모든 시료들은 10±1°C에서 4주간 저장하였으며, 저장 0, 2와 4주차에 저장에 따른 어묵의 이화학적, 조직적 그리고 관능적 품질의 변화를 측정함으로써 노계 회수 단백질의 첨

가에 따른 어묵의 품질을 조사하였다. 어묵의 일반적인 수분 함량은 76.33-76.80%이었으며 이 중 MDCM을 3% 첨가하여 제조한 어묵에서 가장 높은 76.80%의 수분함량을 나타내었다. 어묵의 육색에 있어서는 MDCM을 1 혹은 3% 첨가하여 제조할 경우 명도, 백색도, chroma 및 색도 값은 점차 감소하는 것으로 조사되었으나 어묵의 붉은 혹은 노란 색을 나타내는 CIE a* 와 CIE b* 값은 점차 증가하는 것으로 조사되었다. 4주간의 저장 기간 중 수분함량, 전단력, TBARS와 VBN값은 점차 증가하였으나 이와는 달리 pH와 POV 값은 감소하였다. 더욱이, 겔과 조직적 특성에 있어서는 MDCM을 1 혹은 3%까지 첨가하여 어묵을 제조 저장한다면 겔과 어묵의 조직적 특성은 점차 감소하였으며 따라서 이러한 결과는 관능검사 요원들의 전반적인 기호도에 영향을 미쳐 전반적인 기호도에 있어서도 MDCM을 처리하지 않고 제조한 어묵에 대한 선호도가 MDCM을 첨가하여 제조한 어묵에 비해 높은 것으로 조사되었다.

제2절 회수단백질을 이용한 조미소재 및 생리활성 펩티드 특성 구명 (협동기관)

1. 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명(1차년)

가. 발골계육 회수단백질을 이용한 효소 가수분해물의 특성

(1) 서론

닭고기 가슴살은 소비자가 선호하지 않고, 특히 노계육 등은 싼값에 판매되고 있으며 발골 후에 뼈에 부착된 기계로 회수한 여러 고기들은 갈슘과 골수 등이 혼입되어 있어 저장성과 가공적성이 떨어지는 단점을 가진다(Jin et al., 2006a). 이 같은 기계발골계육(MDCM: mechanical deboned chicken meat)을 폐계육 혹은 축육 회수단백질이라 부르고 있다(Knight, 1992). 그러나 MDCM은 분쇄된 뼈와 껍질에서 유래하는 지방을 다량 포함하고 있기 때문에 지방 산패에 의한 불쾌취의 생성 등으로 인하여 식품 소재로 사용하기에는 문제가 있다. 따라서 식품 소재로써 기계발골육을 응용하기 위해서는 뼈와 같은 불용성 물질과 저밀도 중성 지방을 제거하고 육단백질을 회수하는 단백질 회수 공정의 개발이 필요하다. 단백질 회수를 위한 많은 공정 중에서 산 혹은 알칼리 용액에 단백질을 용해시키고, pH를 육단백질의 등전점 부근이 5.0-5.5로 전이하여 육단백질을 침전시킨 후 회수하는 pH 전이공정에 대하여 많은 연구가 이루어졌다. 특히 알칼리 용해-등전점 침전 공정은 산 처리 공정에 비하여 단백질의 회수율이 높고(Park, et al., 2003; Jung et al., 2004), 처리하는 알칼리 pH 영역에서 lysinoalanine과 같은 물질의 형성이 거의 검출되지 않기 때문((Kim et al., 2007)에 기계발골육으로부터 육단백질의 회수에 적절한 공정으로 판단된다. 그러나 식품소재로서 알칼리공정으

로 회수한 단백질의 적용 범위를 확대하기 위해서는 pH 처리에 따른 변성 단백질의 식품학적 물성을 개선해야 할 필요가 있다.

단백질 소재의 식품학적 물성을 개선하기 위해서 화학적 수식과 효소적 수식을 사용하고 있으나, 영양가의 손실없이 단백질 소재의 물리화학, 기능 및 관능적 특성을 개선하거나 수식하기 위해 효소적 가수분해를 많이 사용하고 있다(Kristinsson and Rasco, 2000a, 2000b). 특히 부분 가수분해는 식품 단백질의 기능성을 향상시키기 위해 사용한다(Althouse et al., 1995; Kuipers et al., 2005). 식품단백질의 기능성은 단백질 원, 단백질 분해효소 (Sugiyama et al., 1991), 가수분해도(Kristinsson and Rasco, 2000a), 용매의 pH와 이온강도(Doucet et al., 2003) 및 변성정도(Feng and Xiong, 2000)에 따라 다르다. 단백질 가수분해물의 유화 특성은 가수분해도와 분자량 분포와 밀접한 관계를 가진다(van der Ven et al., 2001). 액상 식품은 용해도가 중요한 척도인 반면, 반고형 식품에서는 유화와 수분 흡착이 중요하다.

축육 가수분해물은 여러 가지 장점과 더불어 널리 응용할 수 있는 가능성이 있으나, 높은 축육 가격으로 인한 경제성 때문에 거의 연구되지 않았다. 그러나 MDCM은 원료 가격에 따른 경제성을 가지고 있을 뿐 아니라, 단백질의 회수 방법이 확립된다면 높은 기능성을 가진 축육 단백질 소재로서 잠재적인 가능성이 매우 높다.

본 연구는 pH 전이공정을 사용하여 MDCM으로부터 육 단백질을 회수하고, 상업적인 시판 단백질 가수분해효소를 이용하여 제조한 가수분해물의 식품학적 기능성을 평가하기 위해 시도하였으며, 아울러 기지 단백질 첨가물의 기능성과 비교함으로써 MDCM 회수 단백질 가수분해물의 산업적 가치를 평가하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 재료

MDCM은 경상남도 진주시 소재의 폐계육 처리공장에서 25 kg의 동결 블록의 포장 단위로 구입하여 계육 단백질 회수를 위한 원료로 사용하였다. 동결 MDCM은 실온의 수도수를 공급하면서 해동함과 동시에 포함된 혈액과 일부의 부유물질을 제거하고 1겹의 가아제를 깐 tray에서 수도수를 충분히 제거한 후 -20C에 동결 저장하면서 단백질 회수를 위한 시료로 사용하였다.

식품급 단백질 분해효소로서 Alcalase (endopeptidase, *Bacillus licheniformis*), Neutrase 0.8 L (endopeptidase, *Bacillus amyloliquefaciens*), Protamex 1.5 MG (*Bacillus protease complex*) 및 Flavourzyme 500 MG (endopeptidase and exopeptidase, *Aspergillus oryzae*)는 Biosis (부산, 한국)에서 구입하였으며, 제조업체에서 제시한 각 효소의 특성은 Table 136과 같다.

Table 136. Biochemical properties of proteases according to the manufacture and our measurement

Protease	Manufacturer (Biosis, Busan, Korea) ^a			Our assay ^b			
	Declared activity	Optima		Optima		Kinetics	
		pH	Temp, °C	pH	Temp, °C	V _{max} *	K _m , mg
Alcalase 0.6 L	0.6 AU/g	8	50-60	8.0	65	312	11.7
Neutrase 0.5 L	0.5 AU/g	7-10	40-50	9.0	60	357	17.2
Protamex 1.5 MG	1.5 AU/g	7-8	50	9.5	60	421	39.6
Flavourzyme 500 MG	500 LAPU/g	5.5-7.5	50-55	7.5	55	84	4.8

* unit was uM Tyr/min/mg.

^a Activity and optimum conditions were measured for hemoglobin as substrate.

^b Optimum condition and kinetics were measured for the recovered protein from MDCM as substrate.

기능성 비교를 위한 식품급 단백질로서 밀단백질(wheat protein, EW 54822, Prineff, Cameron, Wis., U.S.A), 소 혈청 알부민 (bovine serum albumin, Proliant, Ames, Iowa, U.S.A), 대두 단백질 단리물(SPI, Promine, Solae, St. Louis, Mo., U.S.A.)을 사용하였다.

(나) 육 단백질의 회수

전처리한 MDCM 1 kg을 해동시키고 5배량의 증류수를 첨가한 후 8000 rpm에서 1분 동안 호모게나이저(IKA25 basic, IKA Works Inc., Wilmington, NC, USA)로 하여 5 N NaOH 용액으로 pH 11로 조정하여 실온에서 30분 동안 교반하여 육 단백질을 가용화시키고, 불용성 물질을 제거하기 위해 600 mm의 체를 이용하여 여과하였다. 여과액에 5 N HCl 용액을 첨가하여 pH 5.0-5.5로 조정하여 4°C의 저온실에서 하룻밤 방치하여 육단백질을 침전시켰다. 일부의 상등액을 경사법으로 제거하고 5,000xg에서 20분 동안 원심분리(Supra 22K Plus, Hanil Scientific Instrument, Daejeon, Korea)하여 침전 단백질을 회수하였다. 회수단백질의 수분함량은 105°C에서 20분 동안 적외선 수분측정계(FD-600, Kett Electric Lab., Tokyo, Japan)로 측정하였다.

한편 무기산과 염기를 사용하지 않고, 가열하여 육단백질을 변성시킨 후 변성 단백질의 회수 가능성을 확인하기 위하여 호모게나이저한 MDCM 현탁물(단백질 농도, 20 mg/mL)10 mL에 완충액(pH 5.0, 6.0, 7.0) 5 mL를 첨가하여 항온 온도(30, 50, 70°C)에 따라 60분 동안 열수 추출하고, 80°C에서 15분 동안 가열하여 완전히 열변성 시킨 후, 원심분리하여 상등액의 단백질 농도를 Biuret법(Umemoto, 1966)으로 측정하여 회수 단백질량을 계산하였다.

(다) 일반성분, 수율 및 가수분해도의 측정

수분함량은 적외선 수분 측정기(FD-600, Kett Electric Lab, Tokyo, Japan)로 측정하였고, 조단백질 함량과 회분은 각각 semi-micro Kjeldahl법과 건식회화법으로 측정하였다(AOAC, 1984). 수율은 가공공정에 따른 제품의 수분을 제외한 전체 고형물의 함량을 시료로 사용한 MDCM의 전체 고형물의 함량 비로 계산하여 %로 표시하였다. 가수분해도(DH)는 가용성 단백질을 지표로 설정하여 측정하였다. 즉 가수분해한 액을 80°C에서 15분 동안 가열한 후 원심분리(2,500xg, 15분)하여 얻은 상등액의 단백질 농도를 Lowry 법(1951)으로 측정하여 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{가수분해도(\%)} = (\text{가열 후 시료중의 단백질 함량/효소 반응전 시료중의 단백질 함량}) \times 100$$

(라) 단백질 가수분해 효소의 선정과 가수분해 조건의 최적화

최적의 시판 단백질 가수분 효소를 선정하기 위하여 회수한 MDCM 육 200 g에 같은 양의 증류수를 첨가하고 8,000 rpm에서 1 분 동안 균질화 한 후, Falcon tube(50 mL)에 (13x100 mm)에 균질물 10 mL과 완충액 5 mL를 가하고 시판효소인 Alcalase, Neutrase, Flavourzyme 및 Protamex 1%(w/w) 용액을 가하여 40°C에서 1 시간 가수분해 시킨 다음 80°C에서 15분 동안 불활성화 시키고, 원심분리(2,500xg, 15분)하여 얻은 상등액의 단백질 농도는 Lowry et al.(1951)의 방법에 따라 측정하였다. 그리고 선정한 가수분해 효소의 최적 pH와 가수분해 시간을 결정하기 위해 효소 대 기질의 비율을 1:100(w/w), pH 6.0으로 각각 고정하고 가수분해 온도 구간 40-60°C, 가수분해 시간 6-24 시간의 범위에서 요인분석을 실시하였다.

한편 효소 선정을 통해 결정된 효소와 요인분석으로 결정한 가수분해 온도 및 가수분해 시간을 근거로 Protamex의 효소 대 기질의 비, 가수분해 온도, 가수분해 시간, pH는 표면반응 분석법에 따라 설계하여 가수분해도를 측정하였다.

(마) 유리아미노산 및 무기질 함량의 측정

유리아미노산 함량은 회수한 MDCM 육단백질 현탁물과 효소 가수분해물물 5 mL에 5'-sulfosalicylic acid 250 mg을 첨가하고 잘 혼합한 다음, 실온에서 30분 동안 방치하여 단백질을 침전시켰다. 혼합용액을 원심분리(2,500xg, 15분)하여 얻은 상등액을 0.22 um nylon filter로 여과한 후 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, LKB Biochrom Ltd., Cambridge, U.K.) 로 분석하였다. 무기질은 AOAC법(1984)으로 유기질을 건식분해한 후 ICP(Atomscan 25, TJA, U.S.A.)로 분석하였다.

(바) 분자량의 분포측정

효소 처리한 가수분해의 분자량 분포는 HiLoad Superdex 30 pg(16x600 mm)에 시료 200 uL를 loading하여 0.1 N NaCl을 포함하는 20 mM Tris-HCl(pH 7.5) 용액을 0.5 mL/min

의 속도로 용출하면서 254 nm에서 검출하였다. 분자량은 같은 조건에서 용출한 표준단백질 (cytochrome c, MW 12,400; aprotinin, MW 6500; cyanocobalamin, MW 1355.5; carnosine, MW 226.2) 로 작성한 검량곡선에 따라 계산하였다.

(사) 식품학적 기능성의 측정

① 용해도의 측정

동결건조한 MDCM 회수단백질 50 mg을 5 mL의 용매에 녹인 후 거품이 일어나지 않도록 천천히 흔들어 용해시킨 후 원심분리(2,500xg, 15분)하여 얻은 상등액의 단백질 농도를 Lowry 법(1951)으로 측정하였다. 용해도는 시료 mL 당 가용성 단백질의 mg으로 표시하였다. 회수 단백질 용해도의 pH 의존성은 0.1 M HCl-KCl(pH 2.0), 0.1 M citrate-phosphate (pH 3.0-5.0), 0.1 M sodium phosphate(pH 7.0-8.0) 및 glycine-NaOH(pH 9.0-10.0)에 분말 시료를 용해시킨 후 측정하였으며, 실시하였으며, NaCl 농도에 따른 용해도는 sodium phosphate 완충액(pH 7.0)에 각각의 NaCl 농도를 포함하도록 하여 위의 방법에 따라 용해도를 측정하였다.

② 유화능과 유화안정성

유화능은 Pearce and Kinsella의 방법(1978)에 따라 탁도법으로 측정하였다. 즉 125 mg의 분말시료를 0.6 M KCl을 포함하는 20 mM sodium phosphate(pH 7.0)에 녹인 후 25 mL로 정용하여 50 mL의 원심관에 넣고, 6.7 mL의 옥수수 기름을 첨가하였다. Biohomogenizer(M133, Biospec Products, Inc., Barlesville, OK, U.S.A.)로 8,000 rpm에서 15초 동안 균질화한 다음 유화액 50 uL를 5 mL의 0.1% sodium dodecyl sulfate 용액에 첨가하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

유화능(m^2/g)= $2 \times 2.303 \times$ 흡광도 \times 희석배수/시료용액 중 단백질 농도(g/mL) \times (1-기름 부피 회분) $\times 1000$

한편 유화안정성은 유화액 14 mL를 Felcon tube에 넣고 냉장실에 보관하면서 기름과 수용상의 분리를 측정하여 전체 유화액 중 크림 층의 부피를 %로 표시하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 일반성분 및 회수단백질의 수율

냉동 MDCM은 수분, 조단백질 및 조지방의 함량이 각각 약 64.4%, 13.4% 및 11.6%로서(Table 137), 다량의 지방이 포함되어 있고, 탄수화물의 함량도 9.4%에 해당하는 것으로 나타났다. 지방은 MDCM 제조시에 포함되는 골수 및 껍질에서 유래하는 것으로 추정되며(Jin et al., 2006a), 가수분해물 제조시 가수분해물과 지질 사이의 상호작용 뿐 아니라 건조, 가공 및 저장의 단위공정에서 산패로 인한 불쾌취를 유발할 가능성이 있기 때문에(Chobert and Haertle, 1997) 가공제품의 전체적인 기호도가 떨어진다고(Kim, 2009).

MDCM을 알칼리 pH 전이공정으로 회수한 단백질의 조단백질 함량과 조지방의 함량은 각각 12.8%와 6.2%로서 단백질은 함량은 차이를 보이지 않았으나, 지방함량은 감소하였다. 이

같은 결과는 지방을 제거하기 위한 전처리 및 저온실에서 등전점 부근의 pH에서 회수단백질을 침전시키는 동안 낮은 비중으로 인하여 일부의 지방이 부유액과 함께 제거되었기 때문이다. 계육의 지방 함량은 약 3-4%이나 계육 수리미 제조를 위해 수세공정을 거친 후에는 약 1% 이하의 수준을 나타낸다고 하였다(Nosward et al., 2000). MDCM에서 나타난 탄수화물은 제공공정에서 첨가한 부형제일 것으로 추정된다.

MDCM 1 Kg으로 출발하여 알칼리 pH 전이공정으로 회수한 단백질의 수분과 중량은 각각 79.8%와 946.3 g으로서 고형물 중량으로 계산한 수율은 56.7%에 해당하였다. 이 같은 수율은 MDCM을 원료로 알칼리 pH 전이공정으로 회수한 수리미의 수율이 25.3-36.3%라는 보고(Jin et al., 2006a)에 비하여 높으나, 닭가슴살에서 같은 공정으로 회수한 단백질의 수율 66.9-67.9%(Jin et al., 2006b)에 비하여 다소 낮았다.

Table 137. Proximate composition of mechanical deboned chicken meat (MDCM) and alkaline recovered protein (unit: %)

	Moisture	Crude Protein	Crude Fat	Ash	Carbo-hydrate	Yield
MDCM	64.4±0.3	13.4±0.3	11.6±0.2	1.7±0.2	8.9	-
Alkaline recovered protein	79.8±0.4	12.3±0.2	6.2±0.7	1.7±0.0	-	56.7

열수 추출의 pH(5.0-7.0)과 온도(30-70℃)에 따른 요인분석의 결과(Table 138), pH 7.0, 온도 70℃와 pH 6.0, 온도 50℃의 가용성 단백질 함량이 각각 0.17 mg/mL 및 0.16 mg/mL로 나타났다. 그러나 전체적인 단백질 함량이 매우 낮아 열수추출 방법은 적절하지 않는 것으로 판단되어 진다. 이 같은 결과는 실험한 온도 구간에서 1시간의 가열은 단백질의 변성을 촉진하여 열응고물을 형성할 뿐 분해에 의한 저분자 물질의 형성에는 기여하지 못함을 제시한다. 따라서 다량의 열수 추출물을 생성하기 위해서는 고온과 고압의 가열 조건이 필요할 것으로 판단하였다.

Table 138. Experimental design for extraction from MDCM

Run	pH	Temp, °C	Protein, mg/mL
1	5	70	-
2	7	50	0.10±0.00
3	7	30	0.10±0.00
4	5	30	-
5	7	70	0.17±0.00
6	6	30	-
7	5	50	-
8	6	70	-
9	6	50	0.01±0.00

(나) 단백질 가수분해 효소의 설정과 최적 조건

MDCM 회수단백질에 시판 단백질 가수분해효소인 Alcalase, Neutrase, Flavourzyme 과 Protamex를 1%되게 첨가하여 가수분해 후 생성되는 단백질 농도는 각각 11.3±0.1 mg/mL, 6.0±0.1 mg/mL, 6.1±0.0 mg/mL와 11.9±0.1 mg/mL로서 MDCM에 대하여 Protamex가 가장 높은 가용성 가수분해물을 생성하였다. 각 효소들의 최적 가수분해 온도와 시간을 찾기 위하여 효소 대 기질 비 1:00, pH 6.0, 반응온도 40-60°C, 반응 시간 6-24 시간의 범위에서 중심합성법으로 설계하여 생성되는 가용성 단백질의 양을 측정 한 결과(Table 139), 가수분해 온도 64.1°C와 가수분해 시간 15 시간에서 Alcalase, Neutrase, Flavourzyme 및 Protamex의 가용성 단백질 생성량은 각각 69.8±0.9, 97.8±1.4, 55.1±2.8과 74.9±0.2 mg/mL로서 Neutrase가 Protamex에 비하여 다소 높은 가용성 단백질 물질을 생성하였다.

Table 139. Experimental design for optimum protease, temperature and reaction time (unit: mg/mL)

Run	Temperature, °C	Reaction time, hr	Alcalase	Neutrase	Flavourzyme	Protamex
1	50	2.27	40.7±0.7	62.6±0.2	25.2±0.0	49.8±0.2
2	50	27.74	57.7±0.9	59.8±0.0	38.6±0.2	57.0±0.4
3	64.1	15	69.8±0.9	97.8±1.4	55.1±2.8	74.9±0.2
4	40	24	30.9±0.0	30.5±0.2	14.6±0.4	21.2±0.4
5	60	24	51.5±0.5	44.8±0.2	34.2±0.2	54.6±1.8
6	35.9	15	60.5±1.0	60.1±0.2	42.7±0.4	72.8±1.8
7	50	15	29.9±0.4	54.4±0.5	36.5±0.0	64.4±0.4
8	50	15	32.7±0.2	47.5±0.2	41.2±0.7	55.4±0.2
9	40	6	40.3±0.4	65.4±0.4	35.4±0.2	46.9±101
10	50	15	37.3±0.4	51.1±0.7	28.5±0.2	55.7±0.2
11	50	15	34.7±0.2	48.8±0.5	31.9±0.4	55.6±0.2
12	50	15	34.0±0.2	50.4±0.0	34.2±0.5	55.3±0.4
13	60	6	37.2±0.2	61.1±0.2	41.4±0.2	46.9±0.0

이 같은 결과는 효소 대 기질의 농도 비 1:10의 결과와 다소 차이를 보여 효소 대 기질의 농도 비가 가수분해도에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 단백질의 가수분해 정도는 기질의 종류, 효소 대 기질의 농도 비, pH, 온도 등에 큰 영향을 받는다(Kristinsson and Rasco, 2000a). Protamex는 이상의 4가지 단백질 가수분해 효소 중에서 가장 높은 Vmax와 Km 값을 보이며(Choi et al., 2009), 생리활성을 가진 펩타이드 물질의 생성에 유리한 것으로 보고되었다(Choi, 2007).

이상의 결과에 따라 본 연구에서는 가수분해 효소로 Protamex를 선정하였으며, Protamex 단백질 분해효소가 MDCM 회수단백질의 가수분해에 미치는 효소 대 기질의 비(1:10, 1/100), 가수분해 온도(30, 70), 반응시간(6, 24) 및 pH(5, 8) 요인의 분석을 실시하였다(Table 140).

Table 140. Factor analysis of enzyme to substrate, temperature, reaction time and pH in Protamex hydrolysis against MDCM

Run	E/S ratio, g/g	Temperature, °C	Time, hr	pH	Protein, mg/mL
1	0.1	70	6	5	0.25±0.00
2	0.01	30	24	8	0.38±0.00
3	0.01	30	24	5	0.43±0.00
4	0.1	70	24	8	0.42±0.00
5	0.1	30	6	5	0.28±0.00
6	0.01	70	24	5	0.06±0.00
7	0.1	30	24	5	0.31±0.01
8	0.01	30	6	5	0.27±0.00
9	0.1	70	24	5	0.24±0.00
10	0.01	70	6	8	0.37±0.00
11	0.1	30	24	8	0.39±0.00
12	0.01	30	6	8	0.41±0.00
13	0.1	30	6	8	0.51±0.00
14	0.1	70	6	8	0.60±0.00
15	0.01	70	24	8	0.62±0.00
16	0.01	70	6	5	0.08±0.00

효소 대 기질의 농도비와 pH는 가용성 단백질 생성에 정의 상관을 보여 농도비와 pH가 증가할수록 가용성 단백질량은 증가하는 것으로 나타난 반면, 온도는 상승함에 따라 감소하는 부의 상관을 보였다. 한편 반응 시간은 6-24시간의 구간 내에서 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(Fig. 18). 이 같은 결과는 가수분해도가 최대에 도달하는 시간은 6시간 이내임을 제시한다. Alkalase, Neutrase, Flavourzyme, Protamex, trypsin 및 pepsin으로 가수분해한 굴의 trichloroacetic acid 가용성 물질로 측정된 가수분해도는 가수분해 시간 6시간 이후에는 최대에 도달하여 더 이상 증가하지 않는 것으로 보고하였다(Chung et al., 2006; Choi, 2007).

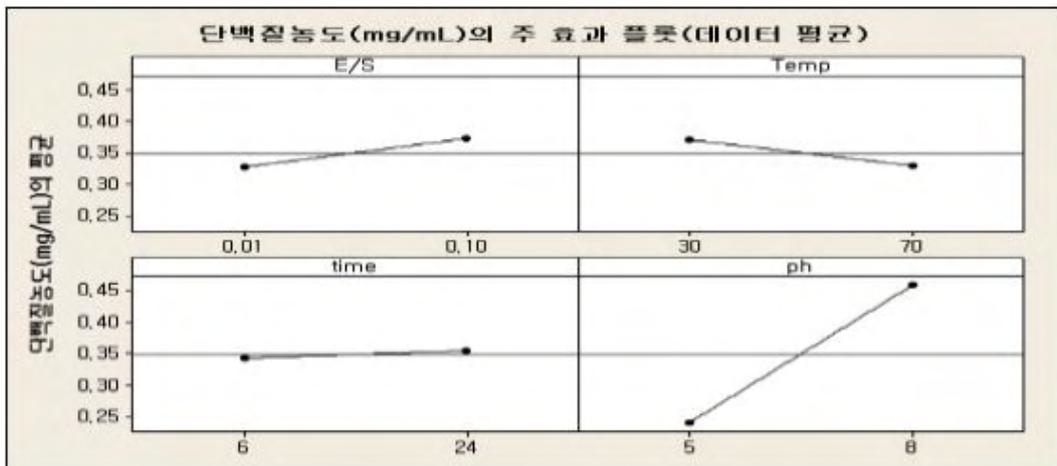


Fig. 18. Major effect on substrate, temperature, reaction time and pH in Protamex hydrolysis against MDCM.

Protamex 가수분해물 제조를 위한 최적 조건을 구하기 위해 요인분석을 통해 얻은 3개의 인자, 즉 최적의 효소 대 기질, pH 및 반응온도를 인자로 표면반응 분석을 실시하여(Table 141) 최적 가수분해 조건을 설정하였다(Fig. 19). 가수분해를 위한 최적 효소 대 기질 비는 0.06, 최적 pH 7.0, 최적 반응온도는 43°C로 나타났으며, 이때 MDCM 회수단백질의 가용성 물질의 가수분해도는 58.8 %였다. 이 같은 가수분해도는 동결 깡치에서 알칼리 pH 전이로 회수한 단백질의 Protamex 가수분해도인 46.7%(Choi et al., 2009), Alcalase로 가수분해한 청어 압축 cake와 청어 육의 26.8%와 44.7%(Hoyle and Merritt, 1994)에 비하여 다소 높았다. 가수분해물의 가수분해도는 가수분해 반응 중 단백질 분해효소의 농도, 기질의 상태(마쇄육, cake 혹은 가수분해물)에 영향을 받는다. 본 연구의 가수분해도가 냉동 깡치 알칼리 pH 전이 회수단백질에 비하여 다소 높은 것은 MDCM 제조 공정 중의 기계 발골 과정에서 육 단백질의 파편을 미세화하였고, MDCM 제조에 따른 추가적인 공정에 의한 단백질의 변성 정도가 높기 때문에 효소 작용이 보다 용이하기 때문인 것으로 추정된다. Protamex의 최적 pH와 가수분해온도는 냉동 깡치 알칼리 pH 전이 회수 단백질의 9.5와 60°C(Choi et al., 2009)에 비하여 pH는 낮고 온도는 높았다. 가수분해도 48% 이상을 얻기 위한 인도 잉어 내장 폐기 단백질에 대한 multifect-neutral 단백질 분해효소의 최적 가수분해 조건이 효소 대 기질의 비 1.25%(v/w), 온도 55°C라는 보고(Bhaskar and Mahendrakar, 2008).

Table 141. Response surface design for optimum hydrolysis conditions of Protamex hydrolysate

Run	Protamex			Protein, mg/mL	Run	Protamex			Protein, mg/mL
	E/S	pH	Temp, °C			E/S	pH	Temp, °C	
1	0.055	6	50	0.33±0.00	21	0.055	6	50	0.37±0.01
2	0.01	5	70	0.14±0.00	22	0.055	5	50	0.40±0.00
3	0.1	6	50	0.40±0.00	23	0.01	5	30	0.16±0.00
4	0.01	7	30	0.38±0.00	24	0.055	6	50	0.39±0.01
5	0.055	6	50	0.37±0.01	25	0.1	5	30	0.30±0.00
6	0.1	7	30	0.41±0.01	26	0.055	6	50	0.39±0.00
7	0.1	5	70	0.18±0.00	27	0.055	6	30	0.34±0.00
8	0.055	6	50	0.35±0.00	28	0.01	6	50	0.36±0.00
9	0.1	7	70	0.31±0.00	29	0.055	6	70	0.37±0.00
10	0.01	7	30	0.38±0.00	30	0.01	5	70	0.12±0.00
11	0.01	7	70	0.34±0.00	31	0.055	6	50	0.33±0.01
12	0.01	6	50	0.34±0.01	32	0.1	5	70	0.21±0.00
13	0.055	6	50	0.38±0.00	33	0.01	5	30	0.14±0.00
14	0.055	5	50	0.43±0.00	34	0.055	7	50	0.38±0.01
15	0.055	6	30	0.37±0.00	35	0.1	6	50	0.41±0.01
16	0.055	6	50	0.37±0.00	36	0.055	7	50	0.33±0.00
17	0.055	6	50	0.32±0.00	37	0.1	5	30	0.29±0.00
18	0.055	6	70	0.39±0.01	38	0.1	7	30	0.37±0.01
19	0.055	6	50	0.35±0.00	39	0.055	6	50	0.29±0.00
20	0.01	7	70	0.34±0.00	40	0.1	7	70	0.34±0.01

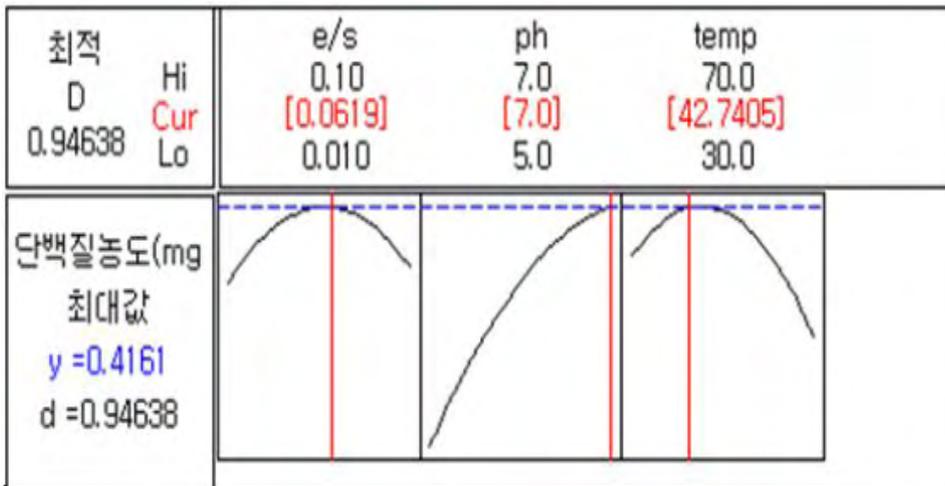


Fig. 19. Optimum ratio of enzyme to substrate, pH and temperature for Protamex hydrolysate.

(다) 가수분해물의 유리아미노산 및 무기질 함량

MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질의 유리아미노산과 Protamex 가수분해물의 유리아미노산 함량은 각각 42.8 ± 0.1 mg/100 g과 428.27 ± 1.1 mg/100 mL였다(Table 142). MDCM의 유리 아미노산은 pH 전이 공정 중 알칼리 pH에서 용해한 저분자 질소화합물이 등전점 침전 조작에서 침전하지 않고 침전물의 회수 과정에서 상등액으로 유실되었기 때문에 일반적인 육단백질의 유리 아미노산 함량에 비하여 극히 낮은 것으로 판단되었다. Protamex 가수분해물의 유리아미노산 함량은 428.27 ± 1.1 mg/100 mL로서 참치 자숙액 가수분해물의 유리아미노산 함량인 483 mg/mL과 비슷한 수준이었다(Kim et al. 1999). Protamex 가수분해물의 유리아미노산은 proline이 가장 높은 131.7 ± 4.2 mg/100 mL로서 전체 유리아미노산 함량의 30.8%를 차지하였고, 그 외 hydroxylysine, homocysteine 및 β -alanine이 비교적 높은 수준이었다. 육 효소 가수분해물이 일종인 어장류의 유리아미노산은 glutamic acid의 함량이 가장 높고, alanine, leucine, lysine의 함량이 높다는 보고(Lopetcharat et al., 2001)에 비추어 가수분해물에서 거의 검출되지 않는 hydroxylysine, homocystein 및 β -alanine 검출되는 것은 특이적이다. Hydroxylysine이 다량 검출되는 것은 MDCM에 다량 함유된 근막에 기인하는 것으로 보인다.

Table 142. Free amino acid composition of MDCM and Protamex hydrolysate (unit: mg/mL)

Amino acid	Recovered protein	Protamex hydrolyssate	Amino acid	MDCM	Protamex hydrolysate
Tau	5.1±0.0	2.4±0.10	Tyr	0.1±0.0	1.7±0.1
Ser	0.3±0.0	-	β-Ala	-	20.2±0.3
Thr	-	2.3±0.0	Phe	-	10.0±0.3
Glu	1.53±0.0	7.6±0.1	aaiba	-	2.9±0.1
Sar	0.6±0.0	6.4±0.2	Homocys	-	28.9±0.5
AAAA	-	9.9±0.3	Gaba	-	2.5±0.1
Pro	-	131.7±4.2	Ethanol-amine	-	7.7±0.2
Gly	0.7±0.0	2.8±0.1	Ammonia	3.3±0.0	9.9±0.1
Ala	0.8±0.0	9.3±0.3	Hylys	-	39.0±0.8
Cit	-	7.8±0.1	Orn	-	2.8±0.0
aaba	-	1.9±0.2	Lys	0.6±0.0	18.1±0.1
Val	-	10.7±0.5	His	-	12.7±4.1
Cys	-	2.9±0.5	3 - Methyl His	-	7.8±0.2
Met	-	7.8±3.5	Ans	17.9±0.2	13.1±0.6
Cysth	-	3.3±0.1	Car	11.3±0.2	15.7±1.2
Ile	-	3.8±1.5	Arg	-	10.1±0.1
Leu	0.4±0.0	15.0±0.3	Total	42.8±0.1	428.3±1.1

한편 MDCM에서 회수한 단백질의 주요 무기질은 Na가 5162.3±15.7 mg/100 g으로서 가장 높았고, 인산, 칼슘, 칼륨이 151.1±0.4-114.6±0.5 mg/100g의 범위임에 반하여 Protamex 가수분해물은 인산과 칼슘 함량이 각각 419.7±3.2와 365.3±2.4 mg/100 mL로서 거의 1:1의 비를 유지하였고, 칼륨의 함량이 비교적 높았다(Table 143). 회수 단백질의 Na 함량이 비정상적으로 높은 것은 pH 전이 공정 중에 사용한 HCl과 NaOH의 중화 작용에 의해 생성된 NaCl의 영향 때문으로 추정된다. 본 연구의 결과 Na 함량을 제외하면 회수단백질과 Protamex 가수분해물 사이의 주요 무기질의 함유 순서는 일치하며 Ca과 인의 비율이 높은 것은 미세분말의 뼈에 기인하는 것으로 추정된다.

Table 143. Mineral content of recovered protein from MDCM and its Protamex hydrolysate (mg/100 g)

Class	Mineral	Recovered protein	Protamex hydrolysate
Major	K	114.6±0.5	119.4±0.1
	Ca	142.2±1.0	365.3±2.4
	Mg	11.1±0.0	19.4±0.1
	Na	5162.5±15.7	248.9±1.8
	P	151.1±0.4	419.7±3.2
	S	26.8±0.3	22.5±0.1
Minor	Li	6.7±0.0	3.4±0.1
	B	1.5±0.0	1.5±0.0
	Ba	1.4±0.0	0.1±0.0
	Sr	0.1±0.0	0.2±0.0
	Al	5.6±0.0	7.9±0.1
	Si	1.0±0.0	1.7±0.0
	Cu	1.1±0.0	1.3±0.0
	Mn	1.3±0.0	1.4±0.0
	Fe	11.3±0.0	12.9±0.1
	Co	1.1±0.0	1.1±0.0
	Ni	1.0±0.0	1.0±0.0
	Ge	0.5±0.1	0.3±0.0
	Heavy metal	Cd	1.1±0.0
Pb		1.2±0.0	0.6±0.2
Cr		1.2±0.0	0.5±0.1
Zn		9.9±0.0	13.8±0.1
As		0.7±0.0	0.1±0.0

Protamex 가수분해물의 중금속 함량은 카드뮴, 납 및 크롬의 함량이 각각 4 ppm, 6 ppm 및 5 ppm으로서 카드뮴의 함량은 허용 기준값인 2 ppm을 상회하는 나타나 MDCM을 식품 ingredient로 활용하기 위해서는 카드뮴의 함량을 기준 이하로 낮출 필요가 있다.

(라) 식품학적 기능성

① 용해도

Protamex 가수분해물의 용해도는 pH 및 NaCl 농도에 따라 용해도에 차이를 보였다(Fig. 20, 21). pH 8까지는 pH가 증가함에 따라 용해도는 증가하는 경향이었으나, pH 9 이상에서는 용해도가 오히려 감소하였다. 냉동 깡치에서 알칼리 pH 전이 공정으로 회수한 단백질의 Protamex 가수분해물은 pH 변화에 다른 용해도를 차이를 보이지 않은 반면, 유장단백질 농축물, 혈장 단백질, 대두단백질 농축물 및 난백의 용해도는 pH 7까지 증가하다가 이후 감소하는 경향을 보였다(Choi et al., 2009). 이 같은 결과에 미루어 pH 에 따른 단백질의 용해도는 분자량에 크게 영향을 받는 것으로 보인다.

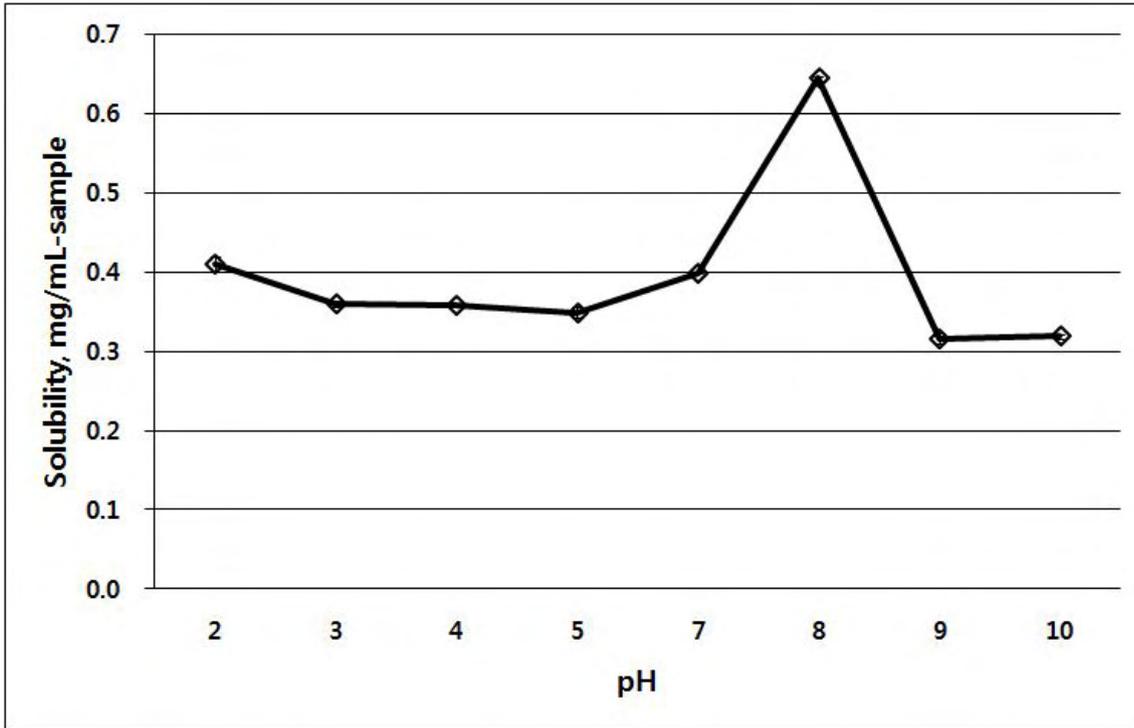


Fig. 20. Effect of pH on solubility of Protamex hydrolysates from the MDCM recovered protein.

한편 가수분해물의 용해도는 0.5-3.5 M NaCl 농도에서 용해도는 1.5-1.8 mg/mL로서 거의 변화를 보이지 않아 NaCl 농도에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 이온강도의 변화가 가수분해물의 하전 변화에 미치는 영향이 거의 없음을 반영한다. Choi et al.(2009)도 냉동강치의 Protamex 및 Flavourzyme 가수분해물은 0.5-3.0 M NaCl 농도에서 용해도에 차이를 보이지 않았다고 보고하여 본 연구의 결과와 일치하였다.

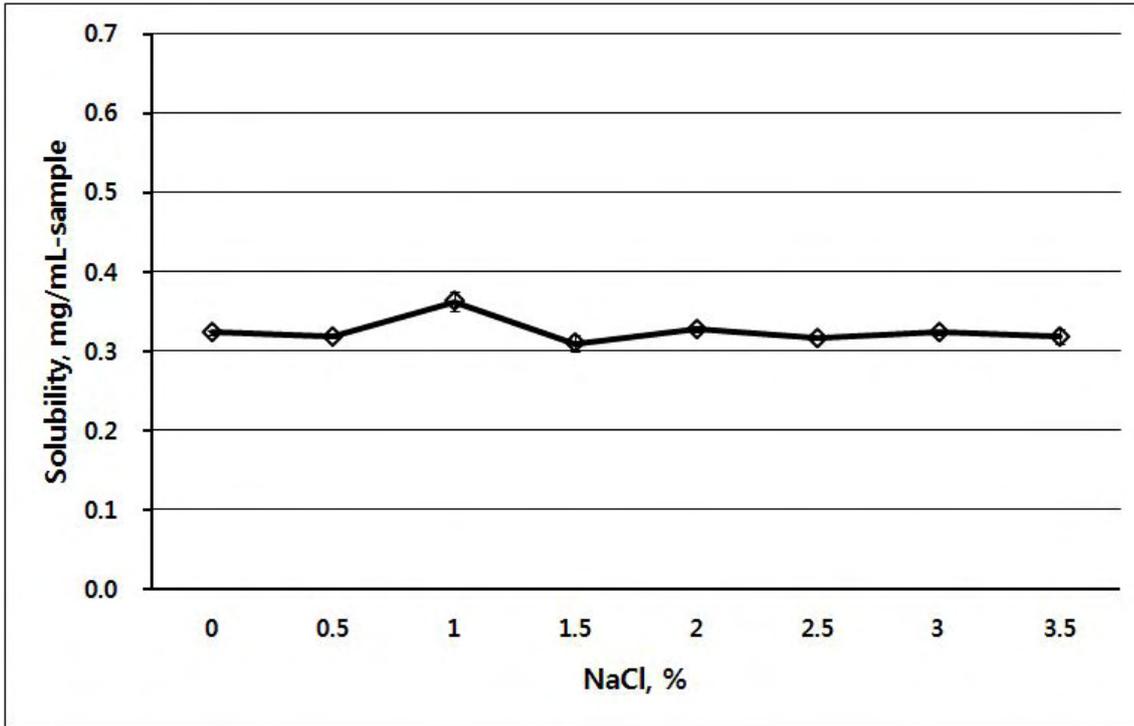


Fig. 21. Effect of NaCl on the solubilities of Protamex hydrolysates from the MDCM recovered protein.

② 유화능과 유화안정성

MDCM 알칼리 추출물의 Protamex 가수분해물의 건조분말 단백질, 밀단백질(Wheat Protein, WP), 소혈청알부민(BSA, Bovine Serum Albumin) 및 분리대두단백질(Soy Protein Isolate, SPI)의 유화능과 유화안정성을 비교하였다(Fig. 22, 23). 가수분해물의 유화능(m^2/g)은 0.108이었으나, WP는 0.062, BSA는 0.960, SPI는 0.392로 가수분해물의 유화능은 WP보다는 높았지만 BSA나 SPI보다는 현저히 낮았다. 그리고 안정성은 가수분해물의 경우 6시간 경과 후부터 약간 감소하기 시작하였으나 24시간 동안 거의 변화가 없었고, WP, BSA 및 SPI는 6시간 이후부터 급속히 안정성이 감소하기 시작하여 24시간 이후에는 21.0%, 26.1%, 12.8%가 감소하여 BSA의 유화안정성이 가장 낮게 나타났다.

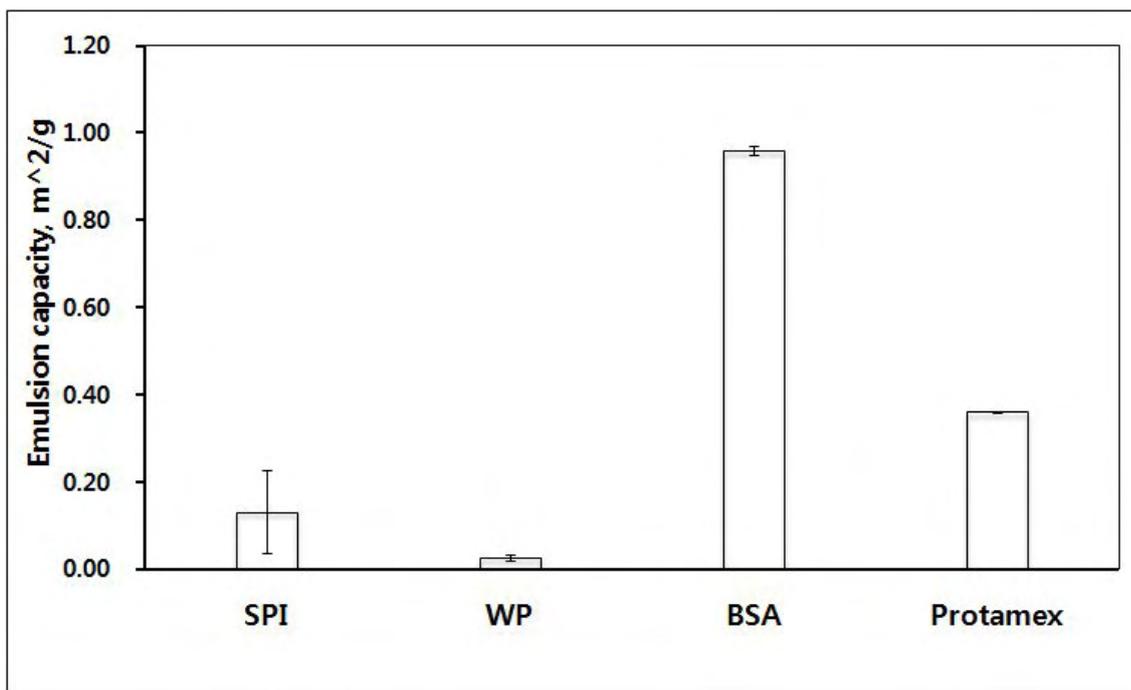


Fig. 22. Emulsion activity index of Protamex hydrolysate, wheat protein (WP), bovine serum albumin (BSA), soy protein isolate (SPI).

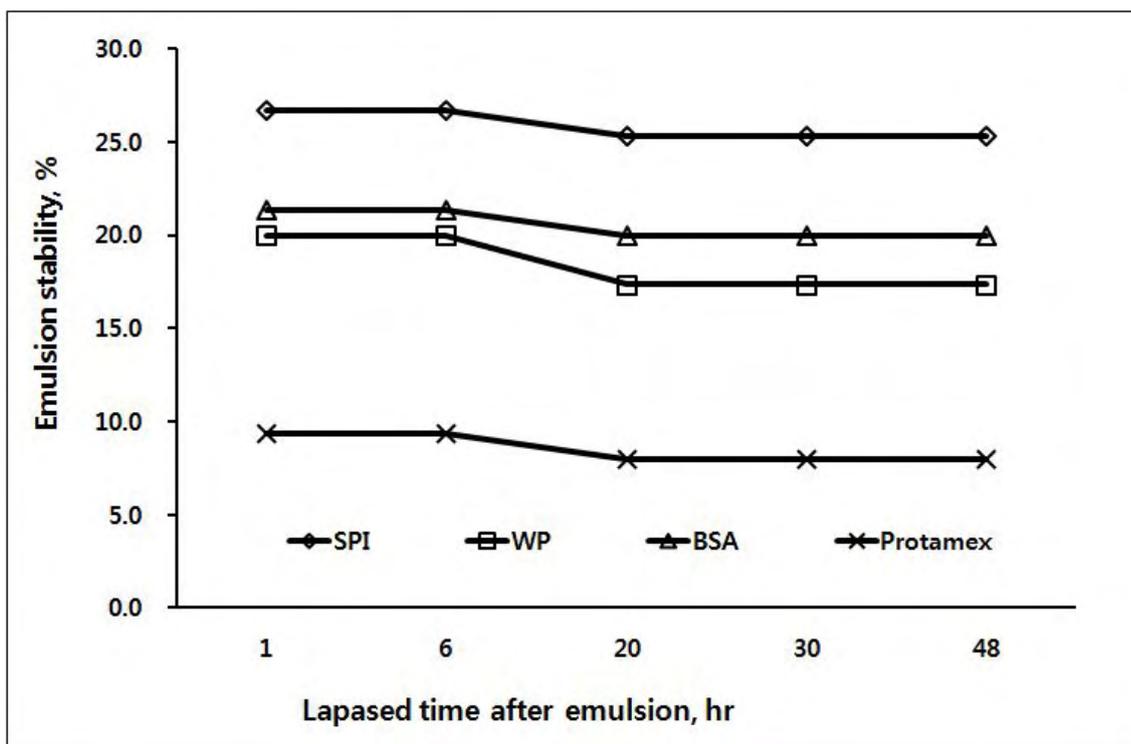


Fig. 23. Emulsion stability of Protamex hydrolysate, wheat protein (WP), bovine serum albumin (BSA), soy protein isolate (SPI).

(4) 요약

MDCM에서 알칼리 pH 전이공정으로 회수한 단백질의 수율은 56.7%였으며, 가수분해를 위한 최적 효소로 Protamex 를 선정하였다. 가용성 가수분해물을 최대로 생성하는 최적의 반응조건은 최적 효소 대 기질 비 0.06, pH 7.0, 반응온도 43°C이었다. 가수분해 반응 시간은 6 시간으로 설정하였다. MDCM 회수단백질의 Protamex 가수분해물의 유리아미노산 함량은 428.27±1.1 mg/100 mL였고, 주요 무기질은 인, 칼슘, 나트륨과 칼륨이었다. 카드뮴의 함량이 4 ppm으로 나타나 식품 첨가물로 사용할 때 주의가 필요하다. 용해도는 pH 8까지 증가하였으며, NaCl에 농도에 따른 영향을 받지 않았다. 유화활성 지표는 밀단백질 보다 높았으나, 소혈청알부민과 대두단백질 분리물에 비하여 현저히 낮았다. 유화 안정성 역시 비교 단백질에 비하여 현저히 낮은 것으로 나타났다. 본 연구의 결과, MDCM 회수단백질의 Portamex 가수분해물은 조미 혹은 식품 소재로서 활용 잠재성은 낮기 때문에 조미료로 활용하기 위해서는 다른 효소 화학적 수식이 필요할 것으로 판단하였다.

(5) 참고문헌

1. Althouse PI, Dinakar P, Kilara A. 1995. Screening of proteolytic enzymes to enhance forming of whey protein isolates. J Food Sci. 60: 1110-1112.
2. AOAC. 1984. Official methods of analysis. Washington D.C.: Assn. of Official Agricultural Chemists. p. 16, 334, 431.
3. Bhaskar N, Mahendraker NS. 2008. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla(*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. Bioresource Technol. 99: 4105-4111.
4. Chobert JM, Haertle T. 1997. Protein-lipid and protein-flavor interaction, In Food proteins and their applications. S. Damodaran and A. Paraf (eds), Marcel Dekker Inc., N.Y., p. 143-170.
5. Choi YJ. 2007. Production of microbial media and functional peptides using under-utilized oyster. R&D Number 20040078, Marine Affair.
6. Choi YJ, Hur S, Choi BD, Konno K, Park JW. 2009. Enzymatic hydrolysis of recovered protein from frozen small croaker and functional properties of its hydrolysates. J Food Sci. 74:C17-C24.
7. Chung IK, Kim HS, kang KT, Choi YJ, Choi JD, Kim JS, Heu MS. 2006. Preparation and functional properties of enzymatic oyster hydrolysates. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 35:919-925.
8. Doucet D, Gauthier SF, Otter DE, Foegeding EA. 2003. Enzyme-induced gelation of extensively hydrolyzed whey proteins by Alcalase: comparison with the plastein reaction

- and characterization of interactions. J. Agric. Food Chem. 51:6036-6042.
9. Feng J, Xiong YL. 2003. Interaction and functionality of mixed myofibrillar and enzyme-hydrolyzed soy proteins. J. Food Sci. 68:803-809.
 10. Jin SK, Kim IS, Kim DH, Jeong KJ, Choi YJ. 2006a. Comparison of yield, physico-chemical and sensory characteristics for chicken surimi manufactured by alkaline adjustment with different raw materials. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 26: 431-440.
 11. Jin SK, Kim IS, Hur SJ, Park KH, Ha JH, Kang SM, Choi YJ, Kim JS. 2006b. Effect of pH control on physico-chemical characteristics of chicken breast surimi. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 26:64-69.
 12. Jung CH, Kim JS, Jin SK, Kim IS, Jung KJ, Choi YJ. 2004. Gelation properties and industrial application of functional protein from fish muscle-2. Properties of functional protein gel from fish, chicken breast and pork leg and optimum formulation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33:1676-1684.
 13. Kim GB, Lee KW, Hur S, Choi YJ. 2007. Lysinoalanine in protein recovered from frozen Belanger's croaker, *Johnius grypotus*, using alkaline processing. J. Kor Fish Soc. 40:337-342.
 14. Kim, BG. 2009. Properties of surimi gel from pork leg and chicken breast muscle. Gyeongsang National University, MS thesis.
 15. Kim SK, Byun HG, Jeon YJ, Joo DS, Kim JB. 1999. Development of natural seasoning using desalinated tuna boiled extract. J. Korean Fish Soc. 32:75-82.
 16. Kristinsson HG, Rasco BA. 2000a. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. Criti Rev. Food Sci. Nutri. 40:43-81.
 17. Kristinsson HG, Rasco BA. 2000b. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*salmo salar*) muscle protein hydrolyzed with various alkaline proteases. J. Agric. Food Chem. 46:657-666.
 18. Kuipers BIH, van Koningsveld GA, Alting AC, Driehuis F, Gruppen H, Voragen AGI. 2005. Enzymatic hydrolysis as a means of expanding the cold gelation conditions of soy proteins. J. Agric. Food Chem. 53:1031-1038.
 19. Lapetcharat K, Choi YJ, Park, JW, Daeschel MA. 2001. Fish sauce products and manufacturing: A review. Food Reviews Internal 17:65-88.
 20. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol Chem. 193:265-275.
 21. Nowsad AAK, Kanoh S, Niwa E. 2000. Thermal gelation characteristics of breast and

- thigh muscles of spent hen and broiler and their surimi. *Meat Sci.* 54: 169-175.
22. Park JD, Yoon SS, Jung CH, Cho MS, Choi YJ. 2003. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from fish muscle surimi prepared by acid and alkaline processing. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32:567-573.
 23. Pearce KN, Kinsella JE. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of turbidimeter technique. *J. Agric. Food Chem.* 26:716-723.
 24. van der Ven C, Gruppen H, de Bont DBA, Voragen AGJ. 2001. Emulsion properties of casein and whey protein hydrolysates and the relation with other hydrolysate characteristics. *J. Agric Food Chem.* 49:5005-5012.
 25. Umemoto S. 1966. A modified methods for estimation of fish muscle protein by Biuret method. *Bull Japan Soc. Sci. Fish* 32:427-435.

나. Plastein 반응에 의한 회수단백질 가수분해물의 특성 변화

(1) 서론

기계발골계육(MDCM)에서 알칼리 pH 전이 공정으로 회수한 단백질의 Protamex 가수분해물은 유리아미노산의 함량이 낮을 뿐 아니라 맛성분에 기여하는 glycine, alanine 및 glutamic acid의 함량이 낮기 때문에 조미소재로 적당하지 않고 (Choi et al, 2012), 가수분해 공정 중에 형성되는 계육의 독특한 냄새 성분으로 인하여 조미 소재로서 관능적 특성을 감소시킨다. 이 같은 계육 가수분해물의 특성을 개선하기 위해 가수분해물의 효소 화학적 수식이 필요한 것으로 판단하였다. MDCM회수단백질의 Protamex 가수분해물의 86%가 분자량 약 90 Da에서 300 Da의 아미노산 및 야 혹은 tripeptide인 것으로 추정된다(Choi et al., 2012).

합성 peptide는 식품산업에서 매우 유용한 원료로서 구조나 특성에 따라 달고, 짜고, 시고, 쓰고, 감칠맛을 보인다. 단 맛의 경우 Asp-Phe-Ome의 서열을 갖는 일련의 peptide가 설탕보다 200배 이상의 당도를 가진 것으로 확인하였고(Yamazaki et al., 1991), Alitame라는 peptide 물질의 고당도에 관해 연구하였다(Wasik et al., 2007). 짠 맛을 가진 peptide의 경우 ornithyltaurine 라는 peptide가 짠 맛을 생성한다고 보고된 바 있다(Nakamura et al., 1996). ornithyltaurine는 Na 이온이 없이 짠 맛을 생성하므로 무염이식으로 이용될 수 있다. oligopeptide는 신 맛에 영향을 미친다고 보고하였다(Park et al., 2002). 쓴 맛의 경우 쓴 맛을 제거하는 연구가 많이 진행되었다. plastein 반응을 이용하여 phe, leu, trp, ile, pro, val 등의 소수성 아미노산을 중합시켜 소수성 잔기를 줄임으로써 쓴 맛은 감소되는 경향을 보고한 연구(Synowiecki et al., 1996; Suh et al., 1992)와 plastein 반응과 쓴 맛 간의 관계를 연구한 보고(Stevneson et al., 1999)가 있다. Umami peptide는 감칠맛을 내는 peptide로 알려져 있다. Umami peptide에 관한 연구로는 flavourzyme을 이용한 가수분해물에서 glutamic acid, serine, alanine, methionine 등 umami를 내는 아미노산이 증가하였음을 연구한 결과(Cho and

Ahn, 1992)와 패류의 가수분해를 이용하여 umami peptide를 증가시키는 연구(Moon et al., 2003), gluten koji를 이용하여 fish source의 umami 증가에 관한 연구 등이 이루어졌다(Kaoru et al., 2006).

Plastein 반응은 쓴 맛 제거에 탁월한 효과가 있고(Arai et al., 1970) 점도를 지닌 부드럽고 냄새가 없는 액상 물질의 제작이 가능하기 때문에 식품적인 응용이 유용하다. 그리고 glutamic acid를 도입하여 plastein 반응한 결과 glutamic acid가 17.8% 증가하였고 plastein 반응 시 수분 용해도가 크게 증가하고 가열 안정성이 증가한 것을 발견하였다(Arai et al., 1978). 용해도와 가열 안정성의 증가는 높은 glutamic acid의 함량과 저분자량 때문인 의한 것으로 추측된다. 그 밖에 대두 단백질에 황함 아미노산인 cystein과 methionine을 도입하여 pepsin으로 plastein 반응 한 결과 81.5 %의 methionine의 증가를 확인하였고 반응의 최적조건은 에탄올로 에스테르화된 상태에서 pH 범위가 알칼리 경우 일 때 가장 큰 methionine의 증가를 보인다고 발표하였다. 그리고 이 같은 황함 아미노산의 증가는 효소적 변형이 그 원인이며 plastein 반응으로 영양학적으로 가치가 높은 단백질 식품의 개발이 가능할 것이라 보고하였다(Yamashita et al., 1974). 그리고 tryptophan, threonine, lysine등을 plastein 반응을 이용하여 zein에 투입하여 tryptophan의 함량을 9.71 % 상승시킨 연구 결과가 있으며(Aso et al., 1974), Yamashita는 albumin과 globulin protein에 plastein 반응을 이용하여 phenylalanine 도입하였고 phenylalanine의 증가를 확인하였다(Yamashita et al., 1974). Aso는 plastein 반응을 통하여 peptide와 amino acid ester 간의 새로운 peptide bond의 생성에 관해서 연구하였는데 기질의 농도가 높을 수록 peptide bond의 생성이 높아지는 것을 발견하였다(Aso et al., 1977). Arai는 plastein 반응이 식품 단백질 기능 향상에 미치는 영향에 관하여 연구하였는데 기질의 농도가 높을수록 plastein 물질의 생성량이 높아지고, 대두단백질에서 plastein 반응시 glutamic acid의 함량이 31.7 %, gluten에서 Lysine 함량이 14.6 % 증가한다는 것을 보고 하였고 plastein 반응 산물이 FAO/WHO의기준에 부합하여 식품학적으로 쓰이는 데 문제가 없음을 보고하였다(Arai et al., 1976).

국내에서 plastein 반응에 관한 연구는 단백질의 기능성 개선이나 물성의 변화 등에 관한 연구가 주를 이루었다. 고온 조리 어육 추출물을 plastein 반응하여 기능성의 개선을 연구한 결과 점도, 유화능의 증가를 발견하였다(Lee et al., 1998). 말쥐치육의 단백질에 plastein 반응을 통하여 L-glutamic acid 및 L-leucine을 도입한 결과 glutamic acid 및 leucine의 함량이 24.7 %, 31.6 % 증가하고 그 반응물인 말쥐치 육 단백질의 유화능 및 포말성, 가열 안정성의 개선을 보고하였다(Kim et al., 1987a, 1987b, 1987c). Suh 등은 명태단백 가수분해물을 이용하여 plastein 반응으로 단백질 가수분해물의 쓴 맛 제거를 연구하였다. 명태단백질의 쓴 맛 성분은 plastein 반응 시간의 경과에 따라 감소하였고 수율 또한 증가하였다(Suh et al., 1992).

Umami 향미는 유리 산으로서는 아니지만 sodium 염으로 존재할 때 glutamic acid와 aspartic acid를 포함하는 여러 di 및 tripeptide에 기인하며, 콩에서 단리한 거의 맛이 없는 수용성 추출물의 첨가는 농후감과 complexity를 강화하고 혀의 좋은 맛 감각을 훨씬 오래 유지

한다. 젤 여과 크로마토그래피와 친수적 상호작용 액체 크로마토그래피/비교 맛 회석 분석 (HILIC/cTDA)에 이은 LC-MS/MS 및 1D/2D-NMR 실험으로 이런 맛을 수식하는 효과를 포함하는 주요 분자로서 γ -L-glutamyl-L-leucine, γ -L-glutamyl-L-valine 및 γ -L-glutamyl-L-cysteinyl- β -alanine을 확인하였다. 이들 펩티드들의 수용성 용액의 관능 분석은 비특이적인 다소 수렴적인 감각에 대하여 각각 3.3~9.4 mmol/L 사이의 역치 농도를 보였다. 더 흥미로운 것은 NaCl 과 Na-Glu 혹은 닭고기 국물 같은 풍미있는 matrix에 첨가했을 때, 이들 γ -glutamyl 펩티드의 검출 역치는 유의적으로 감소하고 현저하게 강화된 농후감과 complexity 및 풍미의 오랜 지속을 관측하였다 (Dunkel et al., 2007). 그리고 maillard 모방 합성 시도로 2개의 새로운 umami 맛 화합물을 제조하였다. 이들 새로운 glycoconjugate들의 화학 구조는 Amadori 화합물은 N-(D-glucose-1-yl)L-l-glutamate로 해석되었으며 N-(1-deoxy-D-fructose-1-yl)-L-glutamate에 해당하였다 (Rober et al., 2004). Glutamate, glutamine 및 lysine의 다른 glycoconjugates의 존재는 물론 많은 친수적 glytanyl di 및 tripeptide을 나타낸다. 가장 풍부한 Amadori 화합물인 N-(1-deoxy-fructose-1-yl) glutamate가 강한 umami 맛을 보이는 것으로 확인되었다 (Schlichtherle et al., 2004). 식품의 맛을 향상시키기 위해 bacterial γ -glutamyltranspeptidase (GGT, EC 2.3.2.2)를 적용할 수 있으며, 아미노산의 쓴맛을 감소시키고 신맛을 생성하며 γ -glutamylation으로 기호도를 증가시켰다 (Suzuki et al., 2004).

본 연구는 화학적 오염물이 없는 풍미 천연 조미료의 배합을 위해 umami 맛이 풍부한 기본 base를 다량 생산할 목적으로 밀 글루텐과 대두 단백질 단리물을 Flavouzyme 가수분해, Flavouzyme과 Glutaminase에 의한 2단계 가수분해, Flavourzyme과 Glutaminase의 1단계 가수분해, deamidation에 이은 Flavouzyme 가수분해 및 Transglutaminase 중합에 이은 Flavourzyme 가수분해의 최적 공정을 설계하고 생성된 아미노산 및 펩티드화합물의 분자량과 아미노산 조성 및 관능검사를 통하여 최적의 가수분해물 제조 공정을 확립하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 재료

MDCM은 경상남도 진주시 소재의 폐계육 처리공장에서 25 kg의 동결 블록의 포장 단위로 구입하여 계육 단백질 회수를 위한 원료로 사용하였다. 동결 MDCM은 실온의 수도수를 공급하면서 해동함과 동시에 포함된 혈액과 일부의 부유물질을 제거하고 1점의 가아제를 깐 tray에서 수도수를 충분히 제거한 후 -20C에 동결 저장하면서 단백질 회수를 위한 시료로 사용하였다.

식품급 단백질 분해효소로서 Protamex 1.5 MG (Bacillus protease complex) 는 Biosis (부산, 한국)에서 구입하였으며, 플라스테인 반응에 사용한 papain(Sigma xxx)는 Sigma-Aldrich사(St Louis, U.S.A)에서 구입하였다. 그 외의 시약은 모두 분석급을 사용하였다.

(나) 가수분해물의 제조

Protamex 가수분해물 제조의 최적 반응 조건인 효소 대 기질 비 0.06, pH 7.0, 반응온도 43°C에서 6시간 동안 반응시킨 후, 85-90°C에서 30분 동안 가열 변성하여 효소를 불활성화하였다. 반응 혼합물은 5,000xg에서 20분 동안 원심분리(Supra 22K plus, Hanil Scientific Inc., Daejeon, Korea)하여 얻은 상등액을 플라스테인 반응을 위한 기질로 사용하였다.

(다) Deamidation과 플라스테인 반응

Gluten에 있는 glutamine을 glutamic acid로 전환시키기 위해 gluten 단백질 분산액(20 g/100 mL 증류수)을 염산 용액으로 pH 1로 조정하고 하루밤 저어주면서 deamidation하였다. 플라스테인 반응은 deamidation한 글루텐 분산용액, Protamex 가수분해물과 papain의 비를 70-90: 10-30:0.06-0.1 (v/v/v)로 조정한 구간에서 표면반응 분석을 실시하였다(Table 1). 이때 반응 값은 플라스테인 반응을 실시하지 않은 대조군의 원심분리 상등액의 단백질 농도와 반응 실시 후의 원심분리 상등액의 단백질 농도를 측정하여 다음의 식에 따라 계산한 중합도(%)로 표시하였다.

(라) TCA 가용성 지표의 측정

Trichloroacetic acid(TCA) 가용성 index의 측정은 플라스테인 반응 후 최종 농도가 4%가 되도록 첨가하여 30분 동안 실온에서 방치하여 단백질을 침전시킨다. 반응물을 10,000 rpm의 Eppendorf type 원심분리기(C-5150, Eppendorf, xxx)에서 10분 원심분리하여 얻은 상등액의 단백질 농도를 Lowry 법(1951)으로 측정하였다. TCA 가용성 index는 다음의 식과 같이 계산하였다.

TCA 가용성 지표(%)=[(플라스테인 반응 후 단백질 농도 - 플라스테인 반응전 단백질 농도)/플라스테인 반응 전 단백질 농도]x100

(마) 유리아미노산 및 무기질 함량의 측정

유리아미노산 함량은 plastein 반응으로 gluten의 glutamic acid 자기를 도입한 반응혼합물 5 mL에 5'-sulfosalicylic acid 250 mg을 첨가하고 잘 혼합한 다음, 실온에서 30분 동안 방치하여 단백질을 침전시켰다. 혼합용액을 원심분리(2,500xg, 15분)하여 얻은 상등액을 0.22 um nylon filter로 여과한 후 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, LKB Biochrom Ltd., Cambridge, U.K.)로 분석하였다. 무기질은 AOAC법(1984)으로 유기질을 건식분해한 후 ICP(Atomscan 25, TJA, U.S.A.)로 분석하였다.

(바) 식품학적 기능성의 측정

① 용해도의 측정

동결건조한 플라스테인 반응물 50 mg을 5 mL의 용매에 녹인 후 거품이 일어나지 않도록 천천히 흔들어서 용해시킨 후 원심분리(2,500xg, 15분)하여 얻은 상등액의 단백질 농도를 Lowry 법(1951)으로 측정하였다. 용해도는 시료 mL 당 가용성 단백질의 mg으로 표시하였다. 회수 단백질 용해도의 pH 의존성은 0.1 M HCl-KCl(pH 2.0), 0.1 M citrate-phosphate (pH 3.0-5.0), 0.1 M sodium phosphate(pH 7.0-8.0) 및 glycine-NaOH(pH 9.0-10.0)에 분말 시료를 용해시킨 후 측정하였으며, 실시하였으며, NaCl 농도에 따른 용해도는 sodium phosphate 완충액(pH 7.0)에 각각의 NaCl 농도를 포함하도록 하여 위의 방법에 따라 용해도를 측정하였다.

② 유화능과 유화안정성

유화능은 Pearce and Kinsella의 방법(1978)에 따라 탁도법으로 측정하였다. 즉 125 mg의 플라스테인 동결건조물을 0.6 M KCl을 포함하는 20 mM sodium phosphate(pH 7.0)에 녹인 후 25 mL로 정용하여 50 mL의 원심관에 넣고, 6.7 mL의 옥수수 기름을 첨가하였다. Biohomogenizer(M133, Biospec Products, Inc., Barlesville, OK, U.S.A.)로 8,000 rpm에서 15초 동안 균질화한 다음 유화액 50 uL를 5 mL의 0.1% sodium dodecyl sulfate 용액에 첨가하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

유화능(m^2/g) = $2 \times 2.303 \times \text{흡광도} \times \text{희석배수} / \text{시료용액 중 단백질 농도}(g/mL) \times (1 - \text{기름 부피} / \text{총 부피}) \times 1000$

한편 유화안정성은 유화액 14 mL를 Falcon tube에 넣고 냉장실에 보관하면서 기름과 수용상의 분리를 측정하여 전체 유화액 중 크림 층의 부피를 %로 표시하였다.

③ 수분 및 기름 흡착능

정확히 무게를 단 50 mL Falcon tube에 건조분말 시료 0.5 g을 넣고 증류수와 대두유 10 mL를 각각 첨가하여 biohomogenizer(M 133/1281-0, Biospec Products Inc., Bartiesville, OK, USA)로 30초 동안 균질화하여 상온에서 20분 동안 방치하고 원심분리(2,500xg, 10분)한 다음, 상등액은 버리고 여과지 위에 원심관을 뒤집어 잔여 상등액을 최대한 제거한 후 남은 잔사의 무게를 w_{djghkr}g_l 달았다. 수분 및 유지 흡착력은 시료 g 당 잔산물의 g수로 표시하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) Plastein 반응의 최적화와 가수분해도

Deamidation한 gluten 단백질 0.7-0.9 mL, Protamex 0.1-0.3 mL, Papain 반응을 위한 최적 pH 조절을 위한 Na-phosphate 완충액(pH 6.0) 0-0.3 mL, papain 0.15-0.25 mL의 범위에서 실시한 deamidation gluten과 Protamex 가수분해물의 plastein 반응의 분산분석 결과, 변

수인 TCA 가용성 지표값과 중합도는 deamidation gluten에 대하여 유의적인 독립항을 보였으며, deamidation과 deamination, protamex와 papain, deamination과 papain에 대하여 교호작용을 보이는 것으로 나타났다. Gluten 0.7 mL, Protamex 가수분해물 0.1 mL, pH 완충액 0.4 mL, papain 0.4 mL에서 가장 높은 77.1%의 plastein중합도를 보였다 (Table 144). 최소의 TCA 가용성 물질과 최대의 중합도를 보이는 deamidation gluten과 Protamex 가수분해물의 plastein 반응은 deamidation gluten 0.9 mL, Protamex 가수분해물 1.50 mL, pH 완충액 0.4 mL, papain 0.25 mL인 것으로 나타났다(Fig. 24). 굴 pepsin 가수분해물 같은 반응 조건에서도 가수분해물의 종류에 따라 plastein 생성량은 차이를 보였다(Lim, 2009). 효소 대 기질의 비, 가수분해물의 가수분해도가 plastein 생성량에 가장 큰 영향을 미친다고 보고하였다(Yamashita et al., 1970). 본 연구에서도 plastein 반응생성물에는 기질로 사용한 deamidation 한 gluten 단백질이 유의적인 영향을 갖는 것으로 나타났다.

Table 144. Experimental design for plastein reaction with deamidated gluten

Run	Deamidated gluten	Protamex	Total	0.1M Na-Phosphate, pH 6.0	Papain	TCA-soluble index, %	Polymrization ratio, %
1	900	100	1000	200	200	28.3	71.7
2	900	200	1100	100	150	36.1	63.9
3	900	300	1100	100	250	45.5	54.5
4	900	100	1200	0	200	42.5	57.5
5	800	100	900	300	250	38.9	61.1
6	800	200	900	300	150	33.9	66.1
7	800	200	1000	200	200	34.5	65.5
8	800	200	1000	200	200	32.3	67.7
9	800	200	1000	200	200	33.3	66.7
10	800	300	1100	100	150	37.8	62.2
11	800	300	1100	100	250	27.5	72.5
12	700	100	800	400	200	22.9	77.1
13	700	200	900	300	250	29.3	70.7
14	700	200	900	300	150	27.7	72.3
15	700	300	1000	200	200	24.0	76.0

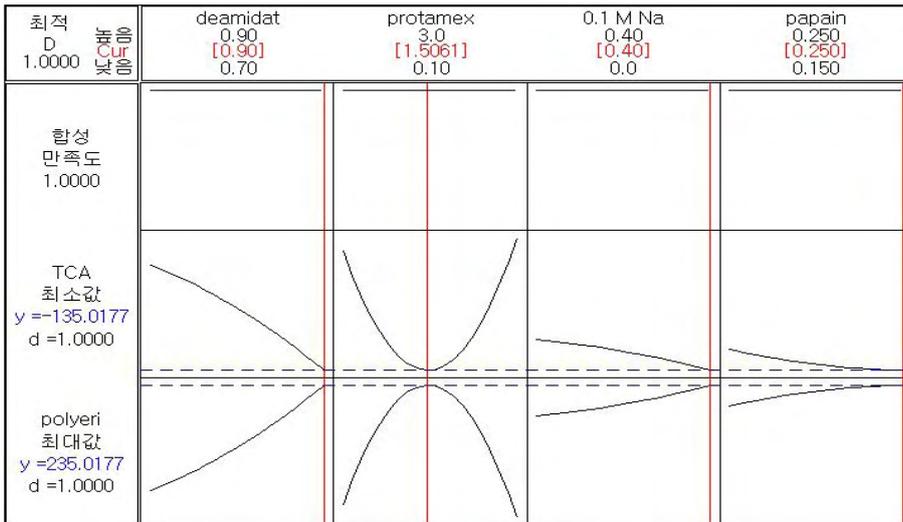


Fig. 24. Optimum conditions for plastein reaction.

(나) 구성 아미노산과 유리아미노산의 함량

Plastein 반응을 수행하여 얻은 반응물을 동결건조하여 얻은 제품의 total 아미노산 조성과 제품을 물에 녹여 5'-sulfosalysilic acid로 제단백 처리한 후 유리아미노산의 조성을 분석하여 plastein 반응에 의한 맛성분 아미노산의 도입 여부를 확인하였다(Table 145).

Table 145. Total amino acid composition of MDCM plastein material (g/100 g plastein)

Amino acid	Plastein hydrolysates
Asp	1.17±0.13
Thr	0.72±0.10
Ser	1.04±0.11
Glu	5.05±0.48
Pro	-
Gly	0.79±0.08
Ala	0.83±0.09
Cys	0.61±0.07
Val	0.44±0.04
Met	0.25±0.05
Ile	0.80±0.09
Leu	1.65±0.19
Tyr	0.72±0.08
Phe	1.11±0.14
His	0.47±0.06
Lys	0.98±0.11
Ammonia	0.75±0.07
Arg	0.79±0.09
Total	18.16±1.97

Table 146. Free amino acid composition of MDCM plastein hydrolysates (mg/100 g-plastein)

Amino acid	Plastein hydrolysates
Tau	14.3± 0.4
Pea	3.1±4.4
Urea	8.1±0.7
Asp	-
Hypro	-
Thre	94.0±4.4
Ser	22.6±1.3
Asn	149.5±7.6
Glu	255.7±13.1
AAAA	36.2±1.5
Pro	205.4±17.2
Gly	256.1±4.1
Ala	191.0±7.8
AABA	54.0±1.7
Val	141.5±6.1
Cys	12.8±0.4
Met	155.4±5.2
Cysth-1	26.8±0.7
Ile	63.0±0.9
Leu	400.5±3.3
Tyr	3.1±0.1
B-ala	45.8±0.2
Phe	169.2±5.7
aaiba	58.4±1.7
homocys	5.1±0.0
gaba	70.9±1.8
Ethamin	19.1±0.0
Ammonia	60.2±0.2
Hyls	22.2±0.1
Orn	297.5±10.3
Lys	171.4±6.7
1-Mhis	5.3±0.4
His	84.0±0.7
3-Mhis	50.9±0.9
Ans	144.1±1.7
Car	120.0±2.6
Arg	48.5±1.7
Total	3465.7±114.68

전체 아미노산 조성에서 차지하는 glutamic acid의 비는 22.0%로서 가장 높은 비율을 나타내었고, glycine, serine 및 alanine이 각각 7.2%, 6.3%와 5.1%를 차지하였다(Table 146). 이 같이 glutamic acid 조성비가 높은 것은 plastein 반응의 도입 기질로 사용한 deamidated gluten에 기인한 것으로 판단하였다. glutenin과 gliadin의 glutamic acid 함량은 각각 28.9

mol%와 34.6 mol%로서 다른 단백질에 비하여 glutamic acid의 함량이 다른 단백질에 비하여 현저히 높다(MacRitchie and Lafiandra, 1997). Plastein 반응물의 유리아미노산 함량은 3226.7 mg/100g였고 glutamic acid의 조성비는 3.5%였다. MDCM 1차 가수분해물, 2차 가수분해물 및 가수분해 탈취물의 428.3 mg/100 mL, 678.5 mg/100 mL, 683.2 mg/100 mL에 비하여 4.7-7.5배에 해당하였다. 대두 단백질에 glutamic acid를 도입하여 glutamic acid 함량이 41.93%인 plastein 물질을 합성하였으며(Yamashita et al., 1975), 비단백태 아미노산을 포함하는 여러 가지 dipeptide를 효소적으로 합성하였고(Krix et al., 1997), 펩신 대두단백질 가수분해물에 methionine ethyl ester를 도입하여 plastein을 합성하였다(Monti and Joset, 1979).

(다) 식품학적 특성

① 용해도

Plastein 동결건조물의 용해도는 NaCl의 농도와 pH 변화에 따른 영향을 받지 않고 0.3 mg/mL의 용해도를 유지하는 것으로 나타났다(Fig. 25, 26). 이 같은 결과는 알칼리 pH 전이 공정으로 냉동깡치에서 회수한 육단백질의 Flavourzyme 가수분해물 잔사의 용해도는 NaCl 농도에 관계없으나, pH 6.0 이상에서는 증가한다는 보고(Choi et al., 2009)와 다소 차이가 있었다. 한편 비근육 참가물로 사용하는 유장단백질 농축물과 난백 단백질도 NaCl 농에 따른 용해도 차이를 보이지 않았다(Choi et al., 2009). 대두단백질 펩신 가수분해물과 L-glutamic acid α , γ -diethyl ester의 2:1 혼합물을 papain과 항온하여 만든 plastein 반응물의 용해도는 pH 1-9에서 완전히 용해한다고 하였으며(Yamashita et al., 1975), palstein 반응물의 용해도는 도입한 시약에 따라 차이가 있으며, citric acid와 lactic acid같은 유기산의 plastein 물질의 용해도 가장 효과적이었다(Brownsell et al., 2001).

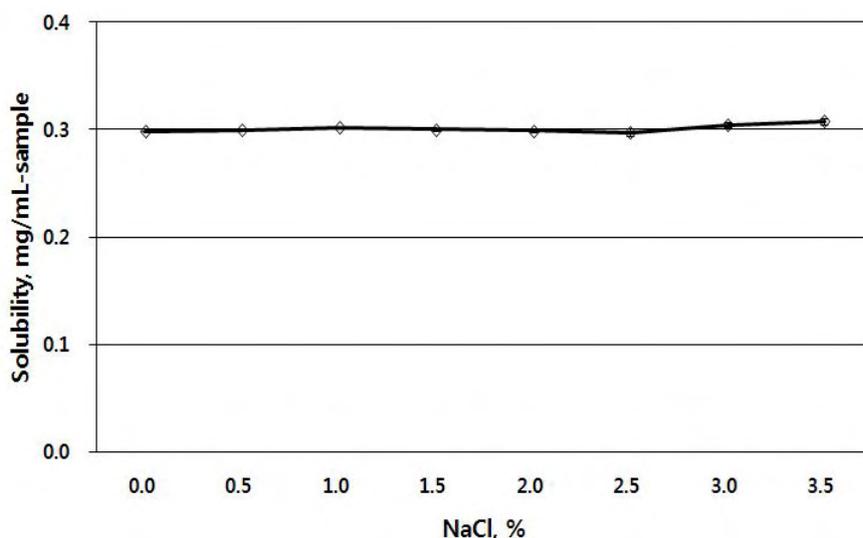


Fig. 25. Effect of NaCl concentration on the solubility of plastein material.

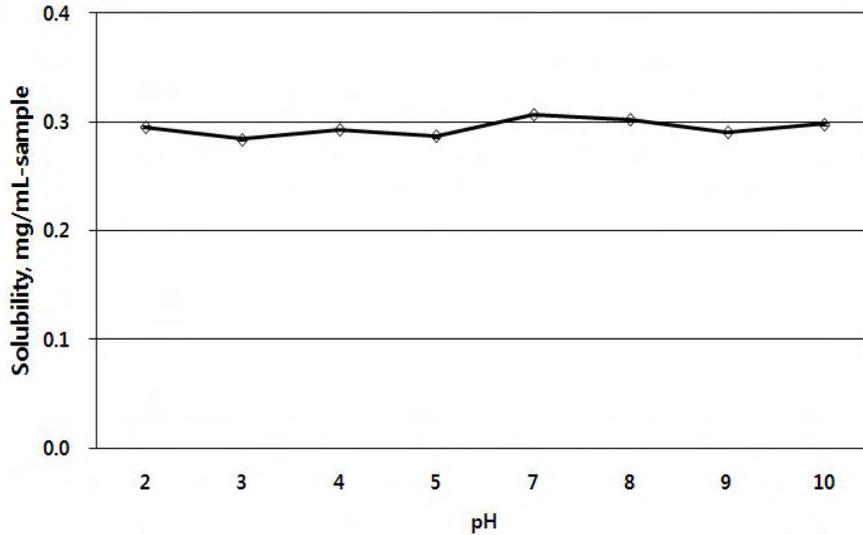


Fig. 26. Effect of pH on the solubility of plastein material.

② 유화능과 유화안정성

Plastein 동결건조물의 유화능은 bovine serum albumin에 비하여 높았으나, 대두단백질 단리물과 유장단백질농축물에 비하여 유의적으로 낮았다($p < 0.05$, Fig. 27). 냉동깡치 알칼리 pH 전이 회수단백질 Flavourzyme 가수분해물의 유화 활성 지표는 약 $14 \text{ m}^2/\text{g}$ 으로서 대두단백질농축물과 유장단백질농축물과 유의적인 차이를 보이지 않았으나($p < 0.05$) Protamex 가수분해물은 현저히 낮은 값을 보였다(Choi et al., 2009). 이 같은 유화활성 지표의 차이는 단백질의 가수분해 효소의 종류에 기인하는 것으로 보인다. 시판 가수분해효소의 활성은 효소의 종류에 따라 차이가 있고 이 같은 차이는 가수분해도에 영향을 미칠 것으로 예상된다. 따라서 최종 가수분해물의 극성 대 비극성 아미노산의 비의 변화는 유화능의 변화에 큰 영향을 미칠 수 있다. 단백질 가수분해물의 유화능은 가수분해도와 효소의 종류에 의존한다고 보고하였다(Nielsen, 1997).

한편 유화안정성은 Plastein 반응물의 가용성 성분은 bovine albumin 단백질과 큰 차이를 보이지 않았으나, Plastein 동결건조물은 대조 단백질로 사용한 대두단백질 단리물, 유장단백질 및 bovine serum albumin 단백질에 비하여 낮았다(Fig. 28). 이 같은 결과는 가수분해로 인하여 극성기의 수와 친수성이 증가하였기 때문으로 추정된다. 단백질의 부분적인 가수분해는 일반적으로 극성기의 수와 친수성을 증가시키고, 분자량을 감소시키며, 단백질의 구상구조를 변화시켜 묻혀있는 소수성 영역을 노출시켜 유화 특성에 영향을 미친다(Nielsen, 1997).

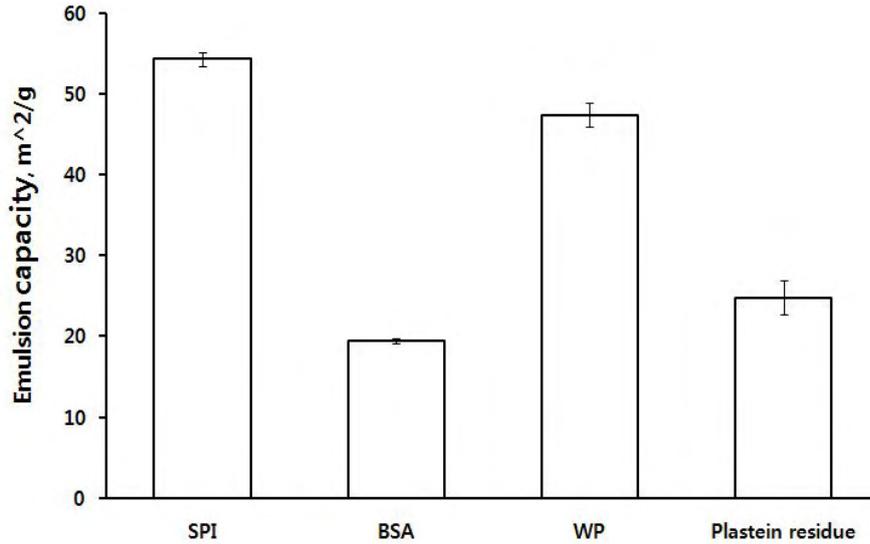


Fig. 27. Emulsion capacity of plastein material and non-muscle protein.

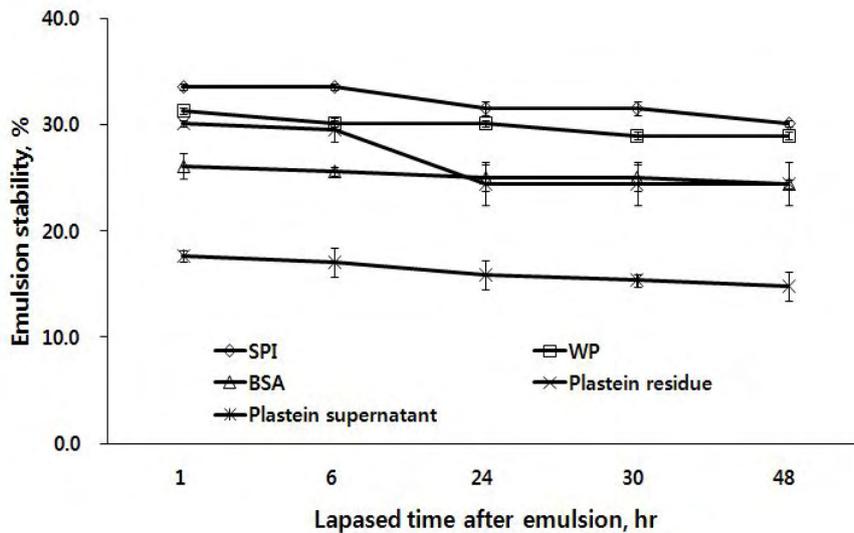


Fig. 28. Emulsion stability of plastein material and non-muscle protein.

③ 수분 및 유지 흡착능

Plastein 동결건조물의 수분 흡착능과 유지흡착능은 plastein 가용성 물질에 비하여 높은 것으로 나타났으나, 비교 단백질인 대두단백질 단리물과 유장단백질의 수분 및 유지 흡착능에 비하여 현저히 낮았다(Fig. 29, 30). 이 같은 결과는 냉도 깡치 Flavourzyme 및 Protamex 가수분해물의 수분 흡착능은 대두단백질 단리물과 유장단백질농축물에 비하여 낮았으나, 지방 흡착능은 이들 비교 단백질에 비하여 높은 값을 보였다는 보고(Choi et al., 2009)와는 많은 차이를 보인다. 이 같은 차이는 가수분해에 사용한 효소의 차이와 plastein 반응에

다른 물성 형태의 차이에 기인할 것으로 추정된다. Plastein 반응의 특징은 겔과 단백질 응집물의 형성이며, plastein 형성을 위한 가장 중요한 3가지의 지표는 펩타이드의 형태와 크기, 펩타이드의 농도 및 반응의 pH이다(Nielsen, 1997). 겔 혹은 단백질 응집물의 형성은 수분과 유지를 흡착하는 능력의 소실과 상관이 있다.

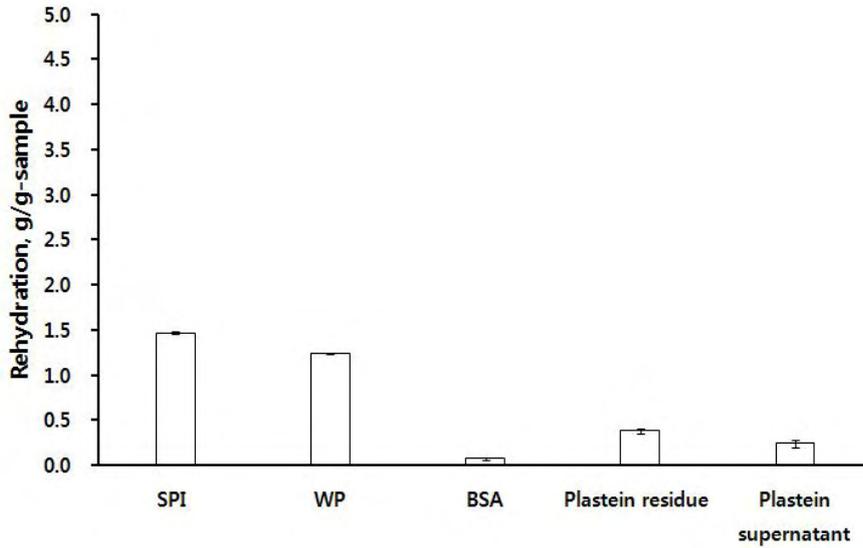


Fig. 29. Water absorption capacities of plastein material and non-muscle protein.

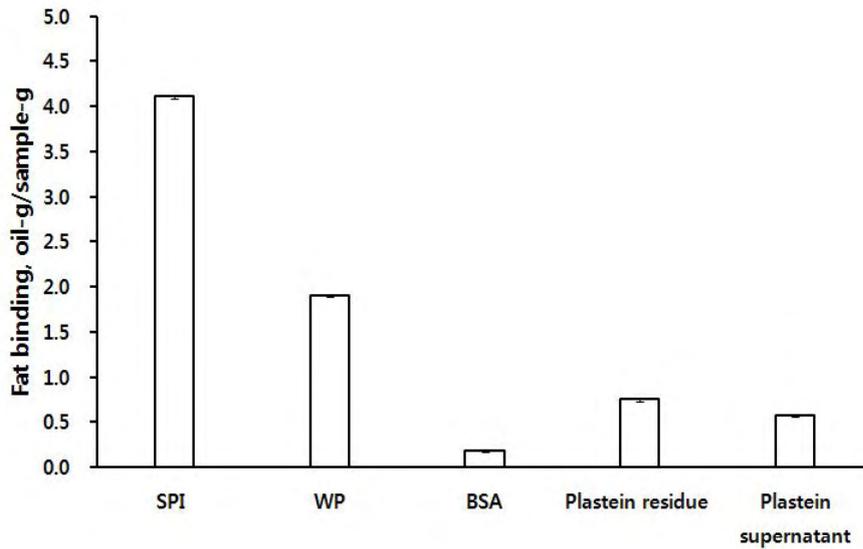


Fig. 30. Fat adsorption capacities of plastein material and non-muscle protein.

(4) 요약

Gluten 0.7 mL, Protaemx 가수분해물 0.1 mL, pH 완충액 0.4 mL, papain 0.4 mL에서 가장 높은 77.1%의 plastein중합도를 보였다. 최소의 TCA 가용성 물질과 최대의 중합도를 보이는 demaidation gluten과 Protamex 가수분해물의 plastein 반응은 deamidation gluten 0.9 mL, Protamex 가수분해물 1.50 mL, pH 완충액 0.4 mL, papain 0.25 mL인 것으로 나타났다. 전체 아미노산 조성에서 차지하는 glutamic acid의 비는 22.0%로서 가장 높은 비율을 보였고, Plastein 반응물의 유리아미노산 함량은 3226.7 mg/100g로서 glutamic acid의 조성비는 3.5%였다. 용해도는 NaCl 농도와 pH에 영향을 받지 않았다. 유화능과 유화안정성, 수분 및 지방 흡착능은 bovine serum albumin에 비하여 우수하였으나, 비근육 단백질인 대두단백질 단리물과 유장단백질에 비하여 현저히 떨어지는 것으로 나타났다.

(5) 참고문헌

1. Arai S, Yamashita M, Fujimaki K. 1970. Plastein reaction for food protein improvement. J. Agric. Food Chem. 24:1100-1104.
2. Arai S, Yamashita M, Fujimaki M. 1978. Nutritional improvement of food proteins by means of the plastein reaction and its novel modification advances in experimental medicine and biology. J. Agric. Food Chem. 105:663-680.
3. Aso K, Yamashita M, Arai S, Fujimaki M. 1974. Tryptophan, threonine and lysine riched plasteins from zein. Agr. Biol. Chem. 38:679-680.
4. Aso K, Yamashita M, Arai S, Fujimaki M, Suzuki J. 1977. Specificity for incorporation of α -amino acid esters during the plastein reaction by papain. J. Agr. Biol. Chem. 25: 1138-1141.
5. Brownsell VL, Williams RJH, Andrews AT. 2001. Application of plastein reaction to mycoprotein; II Plastein properties. Food Chem. 72:337-346.
6. Cho HY, Ahn CB. 1992. Production and characteristics of protein hydrolysate from sharp toothed eel (*Muraenesox cinereus*). Bull Korean Fish Soc. 35:97-104.
7. Choi YJ. 2012. Seasoning resource and physiological peptides from the MDCM recovered protein. Agricultural and Fisheries Affairs. Korea.
8. Choi YJ, Hur S, Choi BD, Konno K, Park JW. 2009. Enzymatic hydrolysis of recovered protein from frozen small croaker ad functional properties of its hydrolysates. J. Food Sci. 74:C17-C24.
9. Dunkel A., Koster J., and Hofmann T. 2007. Molecular and sensory characterization of γ -glutamyl peptides as key contributors to the Kokumi taste of edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Agric. Food Chem. 55:6712-6719.

10. Kaoru I, Sadao N, Ken K, Kiwamu S, Toshihide N. 2006. Comparison of characteristics of fermented salmon fish sauce using wheat gluten koji with those using soy sauce koji. *Food Sci. Technol. Res.* 12:206-212.
11. Kim, S.K., Lee, E.H. 1987a. Synthesis and functional properties of plasteins from the enzymatic hydrolysates of filefish protein 1. The conditions of protein hydrolysis and plastein synthesis from peptic hydrolysate. *Bull Korean Fish Soc.* 20(4):282-292.
12. Kim, S.K., Lee, E.H. 1987b. Synthesis and functional properties of plastein from the enzymatic hydrolysates of filefish protein 2. General properties and IR Spectrum of plasteins. *Bull Korean Fish Soc.* 20(5):431-440.
13. Kim, S.K., Lee E.H. 1987c. Synthesis and functional properties of plastein from the enzymatic hydrolysates of filefish protein. 3. Functional properties of plasteins. *Bull Korean Fish Soc.* 20(6):582-590.
14. Krix G, Eichhorn U, Jakubke, HD, Kula MR. 1997. Protease-catalyzed synthesis of new hydrophobic dipeptides containing non-proteinogenic amino acids. *Enzyme Microbial Technol.* 21:252-257.
15. Lee KT, Park SM, Lee SH, Ryu HS. 1998. Improvement of functional properties of extracts from hydrothermal cooked fish meat by plastein reaction. *J. Korean Soc. Food Sci. Nut.* 27:93-101.
16. MacRitchie F, Lafiandra D. 1997. Structure-function relationships of wheat proteins. In *Food proteins and their applications*. Damodaran S. and Paraf A. (Eds.), Marcel Dekker Inc, N.Y., p. 293-324
17. Monti JC, Joset R. 1999. Papain-catalyzed synthesis of methionine-enriched soy plasteins. Average chain length of the plastein peptides. *J. Agric. Food Chem.* 27: 1281-1285.
18. Moon JH, Kim JT, kang ST, Hur JH, Oh KS. 2003. Processing and quality characteristics of flavoring substance from the short-neck clam, *Tapes philippinarum*. *J. Korean Fisher Sci.* 36:210-219.
19. Nakamura K, Kuramitu R, Kataoka S. 1996. Convenient synthesis of L-ornithyltaurine. HCl and the effect on saltiness in a food material. *J. Agric. Food Chem.* 44:2481-2485.
20. Nielsen PM. 1997. Functionality of protein hydrolysates. In *Food proteins and their applications*. Damodaran S. and Paraf A. (Eds.), Marcel Dekker Inc, N.Y., p. 443-472.
21. Park JN, Ishida K, Watanabe T. 2002. Taste effects of oligopeptides in a vietnamese fish sauce. *Fisheries Sci.* 68:921-928.
22. Rober F., Blank I., Fay L.B., Blank E., Hofmann T., and Schieberle P. 2004. Synthesis,

- structure, and activity of novel glycoconjugates exhibiting umami taste. In *Challenges in taste chemistry and biology*, T Hofmann, C-T Ho, and W Pickenhagen (Eds.), American Chemical Society, Washington DC, 195-209.
23. Schlichtherle-Cerny H., Affolter M., and Cerny C. 2004. Taste-active glycoconjugates of glutamate: New umami compounds. In *Challenges in taste chemistry and biology*, T. Hofmann, C-T Ho, and W Pickenhagen (Eds.), American Chemical Society, Washington DC, 210-222.
 24. Tevenson DE, Morgan KR, Fenton GA. 1999. Use of NMR and mass spectrometry to detect and quantify protease-catalyzed peptide bond formation in complex mixtures-bitterness demonstration and characterization. *Enzyme and Microbial Technol* 25 357-363.
 25. Suh HJ, Lee H, Cho HY, Yang HC. 1992. Production of protein hydrolysate and plastein from Alaska pollack. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol* 35:339-345.
 26. Suzuki H., and Kumagai H. Application of bacterial γ -glutamyl -transpeptidase to improve the taste of food. In *Challenges in taste chemistry and biology* (T Hofmann, C-T Ho, and W Pickenhagen Editors), American Chemical Society, Washinton, DC, 223-237.
 27. Synowiecki J, Jagielka R, Shahidi F. 1996. Preparation of hydrolysates from bovine red blood cells and their debittering following plastein reaction. *Food Chem.* 57:435-439.
 28. Wasik A, McCourt J, Buchgraber M. 2007. Simultaneous determination of nine intense sweeteners in foodstuffs by high performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection-development and single-laboratory validation. *J Chromatography A* 1157:187-196.
 30. Yamashita M, Arai S, Matsuyama J, Gondo M, Fujimaki M. 1970. Enzymatic modification of protein in foodstuffs. Part III. Phenomenal survey on α -chymotrypsin plastein synthesis from peptic hydrolyzate of soy protein. *Arg. Biol. Chem.* 34:1484-1491.
 29. Yamashita M, Arai S, Tsai SJ, Fujimaki M. 1971. Plastein raction as a method for enriching the sulfur-containing amino acid level of soybean protein. *J. Agr. Food Chem.* 19:1151-1154.
 30. Yamashita M, Arai S, Hokubo S, Aso K, Fukimaki M. 1974. A plastein with an extremely high amount of glutamic acid. *Agr. Biol. Chem.* 38:1269-1271.
 31. Yamashita M, Arai S, Hokubo S, Aso K, Fukimaki M. 1975. Synthesis and characterization of a glutamic acid enriched plastein with greater solubility. *J. Agr. Food Chem.* 23:27-30.

32. Yamazaki T, Zhu YF, Chadha RK, Mooray G. 1991. Probing a molecular model of taste utilizing peptidomimetic stereoisomers of 2-aminocyclopentanecarboxylic acid methyl ester. *J. Org. Chem.* 56: 6644-6655.

2. 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명(2차년)

가. MDCM 회수단백질 2단 가수분해물의 생리활성

(1) 서론

육단백질의 가수분해물은 천연 의약품으로서 뿐 아니라 식품 첨가물의 잠재적인 자원이 다. 특히 분자량 500 da 이하의 작은 펩타이드는 장내의 dipeptidase에 의해 더 이상 분해되지 않고 흡수가 가능하다. Gastrin과 cholecystokinin은 생체 단백질 합성의 자극과 gastric acid의 분비에서 장운동의 조절과 소화 효소의 분리까지 광범위한 활성을 보인다(Johnson et al., 1997). 새우 폐기물, 대두 머리, 새우머리 추출물과 같은 재료의 부분 가수분해물은 성장인자와 유사한 활성을 보인다(Cancer et al., 1999), 분자량 1-1.5 kDa 범위인 어육 단백질 가수분해물은 장의 endocrine 세포(STC-1)으로부터 cholecystokinin의 유리 활성을 자극할 수 있고 이런 자극은 펩타이드 분자 때문이다(Cudennec et al., 2008). 부분적으로 가수분해된 민대구 육의 생물활성 제품은 apoptosis와 indomethacin의 장 손상 효과를 감소시킨다(Marchbank et al., 2009). 저분자량의 육 가수분해물은 항암 작용을 가지나(Picot et al., 2006), 항암 펩타이드의 조성은 분명치 않다.

카제인 가수분해물은 배양 세포에 대하여 면역 조절 특성을 보이거나 독성, 항산화능과 genoprotective 효과에 관한 정보는 거의 없다(Mao et al., 2005a,b). Phelan et al.(2009)는 세포 생존, membrane integrity 및 인간 Juret T 세포의 항산화 상태를 조사하여 가수분해물의 생물활성 특성을 시험하는 방법을 제시하였으며, 유단백질 가수분해물은 면역 조절 효과를 가지고(Fiat et al., 1993), lactoferrin 유래의 펩타이드는 혈소판 응집을 저해한다(Mazoyer et al., 1990).

항산화 활성을 가진 단백질 가수분해물은 식품 가공·저장 산업 뿐 아니라 제약 및 건강 식품의 주요 과제이다. 어육 단백질의 항산화 활성과 기능성은 가수분해도(Theodore et al., 2008)와 효소의 종류(Klompong et al., 2007)에 의해 결정되며, 가수분해 전 탈지 공정 역시 가수분해물의 항산화 활성에 영향을 미친다(Thiansilakul et al., 2007). 저 분자량 펩타이드는 높은 ORAC 값과 금속 킬레이트능을 가지고, 분자량이 높은 펩타이드는 높은 환원력과 DPPH 라디칼 소거능을 가진다(Theodore et al., 2008). Black scabbardfish Protamex 가수분해물은 1 kDa 미만의 펩타이드 비율이 높고 가수분해도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능과 환원력이 증가한다(Batista et al., 2009). Nakajima et al.(2009)은 어종에 따른 DPPH 라디칼 소거능에 유의적인 차이가 없음을 보고하였고, 미세조류의 펩신 가수분해물의 아미노산 서열

VECYGPNRPQF의 펩타이드는 OH 라디칼, superoxide 라디칼, peroxy 라디칼, DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼을 효과적으로 소거하며 BHT에 비하여 효율적임을 보고하였다(Sheih et al., 2009). 한편 yellowfin sole의 frame에서 정제한 항산화 펩티드의 아미노산 서열은 RPDFDLEPPY라고 보고하였다(Jun et al., 2004).

ACE는 혈관과 신장의 근위세뇨관 내피 심장, 폐, 활성화된 대식세포, 뇌조직 등에서 발견되는 dicarboxy peptidase로서 포유류의 혈압 및 수분균형 조절기구인 renin-angiotensin system에서 renin에 의해 angiotensinogen으로부터 활성화된 angiotensin I을 angiotensin II로 전환시킨다(Lapointe and Rouleau, 2002; Esther et al., 1997). angiotensin II는 부신, 혈관평활근세포, 신장, 심장 등에 존재하는 4종의 AT receptor에 작용하며 이들은 혈관수축, aldosterone과 vasopressin의 방출, 세뇨관의 나트륨 흡수, 신장으로의 혈류량 감소 등을 유발함으로써 심혈관, 신장 및 중추에 여러 가지 병변을 가져온다(Unger, 2002). ACE의 저해물질인 ACE inhibitor는 뇌출혈, 심장병 및 신장병 등과 합병증으로 나타나는 고혈압을 직접적으로 억제할 수 있는 물질로서 많은 연구가 되어왔다. 그리고 만성신장병, 동맥경화, 심장발작과 그로 인한 사망 등을 효과적으로 감소시킬 수 있으며 이러한 효과는 여러 임상실험결과가 뒷받침하고 있다(Thurman and Schrier, 2003; Bakris, 2001). 현재 captopril, enalapril 등 많은 ACE 저해제를 화학적으로 합성하여 고혈압 치료제로 사용하고 있다(Cheung et al., 1980). 그러나 이러한 ACE 저해제는 다른 세포에 작용하여 두통, 식욕부진, 미각이상 등 부작용이 있기 때문에 더욱 안전하고 효과적인 천연의 ACE 저해제에 대한 탐색과 개발이 이루어 지고 있다(Webster, 1996).

식품 유래의 ACE 저해제는 α -zein(Miyoshi et al., 1991a), 정어리(Matsui et al., 1993), 다랑어(Kohama et al., 1988), 가다랭이(Yokoyama et al., 1992) 등의 식품단백질 가수분해물에서 보고되었다. 이러한 식품내의 ACE 활성 억제 인자는 다양한 동물, 식물 및 어류의 단백질 가수분해물에 존재한다고 알려져 있다(Kohmura et al., 1990; Miyoshi et al., 1991b; Seki et al., 1993). 이는 단백질의 가수분해시 생성되는 peptide이며 따라서 이들의 분리정제 방법에 관한 연구가 수행되었다(Matsuda et al., 1992). 이들의 활성 저해효과는 기존의 혈압강하제에 비해 낮은 활성을 가지고 있지만 섭취량이 대량인 측면과 식품이라는 안정적 측면에서 그 유용성이 기대되고 있다(Shimizu, 1994). 그리고 효소를 이용한 가수분해방법을 사용하면 수용성 추출물으로써 생리활성물질을 식품의 첨가제나 건강식품소재로 사용하여 생체 내에 쉽게 전달할 수 있는 장점과 화학약품을 사용하지 않기 때문에 안전성에 대한 문제도 감소하며 단백질의 효소적 가수분해는 2차 구조가 다른 분자 질량이 적은 물질을 생성한다(Aldler-Nissen and Olsen, 1979). ACE저해작용은 3000 Da 이하의 저분자 peptide에서 높은 효과를 나타낸다고 보고(Yokoyama et al., 1992)하였으며, Ariyoshi(1993)는 식품 단백질의 ACE 저해효과가 높은 peptide의 분자량은 1000 Da 이하라고 보고하였다.

본 연구는 MDCM 회수단백질 가수분해물의 생물학적 기능성을 확인할 목적으로 항산화능, ACE 저해능, 킬레이트능, 환원력, 항미생물능을 조사하고, ACE 저해능을 가진 펩타이드를 분리 정제하여 아미노산 결합서열을 확인하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 재료

MDCM은 경상남도 진주시 소재의 폐계육 처리공장에서 25 kg의 동결 블록의 포장 단위로 구입하여 계육 단백질 회수를 위한 원료로 사용하였다. 동결 MDCM은 실온의 수도수를 공급하면서 해동함과 동시에 포함된 혈액과 일부의 부유물질을 제거하고 1겹의 가아제를 깐 tray에서 수도수를 충분히 제거한 후 -20°C에 동결 저장하면서 단백질 회수를 위한 시료로 사용하였다.

식품급 단백질 분해효소로서 Alcalase (endopeptidase, *Bacillus licheniformis*), Neutrase 0.8 L (endopeptidase, *Bacillus amyloliquefaciens*), Protamex 1.5 MG (*Bacillus protease complex*) 및 Flavourzyme 500 MG (endopeptidase and exopeptidase, *Aspergillus oryzae*)는 Biosis (부산, 한국)에서 구입하였으며, papain (P3375)은 Sigma 사(Sigma-Aldrich, St Louis, MI, U.S.A)에서 구입하였다. ACE저해능 측정을 위한 angiotensin-I 전환효소(ACE)는 토끼의 허파에서 얻은 아세톤 침전 분말(Sigma, A6778)을 사용하였고, 기질로 N-benzoyl-Gly-His-Leu(Sigma, H1635)를 사용하였다.

(나) 2단 효소 가수분해물의 제조

Protamex 가수분해물 제조의 최적 반응 조건인 효소 대 기질 비 0.06, pH 7.0, 반응온도 43°C에서 6시간 동안 반응시켜 회수한 MDCM 1단 가수분해물을 1 N HCl 용액으로 pH 7.0으로 조정하였다. 2단 가수분해물 제조를 위한 최적 효소를 선정하기 위해 Neutrase, Flavourzyme, Alalase, Bromelain를 가수분해물 중량에 대하여 각각 1%를 첨가하여 50°C에서 2단 가수분해 후, 85-90°C에서 15분 동안 불활성화 시켰다. 2단 가수분해물을 2500xg에서 15분 원심분리(Mistral 2000, MSE, U.K.)하여 불용성 물질을 제거하고 상등액을 분석용 시료로 사용하였다.

(다) 이취제거 가수분해물의 제조

이취제거 가수분해물은 가수분해물에 치킨 훈연액(1-10%), 치킨 오일(0.5-5%), 식물성 단백질 가수분해물(HVP, hydrolyzed vegetable protein, 0.5-5%)와 glucose(0.5-5%)를 종속변수로 각각 첨가하여 85-95°C에서 50분 동안 가열하면서 Maillard 반응을 진행하였다. 반응값은 2단 가수분해물을 대조군으로 사용하여 실험군을 5점법으로 관능평가하여 평균값을 사용하였다.

(라) 일반성분, 아미노태 질소 함량 및 가수분해도

일반성분은 AOAC법(1984)에 따라 수분함량은 상압가열 건조법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조지방은 Folch법(1957), 조회분은 건식회화법으로 각각 함량을 측정하였다. 아미노태 질소화합물의 함량은 ninhydrine법(Spies, 1957)으로 측정하여 L-leucine으로

작성한 표준곡선에 따라 계산하였다. 효소 가수분해물에 같은 양의 20%(w/v) trichloroacetic acid(TCA)를 넣고 혼합하여 제단백한 다음 원심분리(1,000×g, 20분)하여 상층액 사용을 분석에 사용하였다. 가수분해도는 제조한 시료 일정량을 semi-micro Kjeldahl법으로 정량하여 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{가수분해도(\%)} = 10\% \text{ TCA 가용성 질소량/총 질소량} \times 100$$

(마) 유리아미노산, 무기질 함량

유리 아미노산 함량은 시료 1-5 g에 탈이온수 30 mL를 가하고 밀봉한 다음, 95℃의 항온수조에서 20 분간 교반하여 유리아미노산을 추출하고, 원심분리기 (3200rpm, 20분, RPR20-2, Hitachi Ltd, Tokyo, Japan)에서 분리하여 상층액을 25 mL로 정용하였다. 상층액 5 mL에 0.25 g의 5'-sulfosalicylic acid를 첨가하고 완전히 녹인 후 실온에서 30분 방치한 다음 다시 원심분리(3200×rpm, 20분)하여 침전한 단백질을 제거하고 0.20 μm nylon filter에 여과한 후 유리 아미노산 자동 분석기(Biochrom20, LKB Biochrom Ltd., Cambridge, UK)로 분석하였다.

무기질은 AOAC법으로 유기질을 건식 분해한 후 ICP(Inductively coupled plasma spectrophotometer, Atomscan 25, TJA, USA)로 분석하였다.

(바) 분자량의 분포

효소 처리한 가수분해물의 분자량 분포는 HiLoad Superdex 30 prep grade(1.6×60 cm) 칼럼에 시료 2.0 mL를 loading하여 0.1 N NaCl을 포함하는 20 mM Tris-HCl (pH 8.0) 용액을 2.0 mL/min의 속도로 용출하면서 254 nm에서 검출하였다. 분자량은 같은 조건에서 용출한 carbonic anhydrase (MW 29,000), cytochrome C (MW 12,400), aprotinin (MW 6,500), vitamine B₁₂ (MW 1,355) 및 carnosine (MW 225)로 작성한 검량곡선에 따라 측정하였다.

(사) 기능성의 측정

① 항균활성

항균 활성은 paper disc법(Davidson and Parish, 1989)으로 측정하였다. 실험용 평판 배지에 tryptic agar 20 mL를 분주하여 건조시키고, 각 균주(*Staphylococcus aureus*, *Salmonella tryphimurium*, *Escherichia coli* 및 *Vibrio parahaemolyticus*) 배양액 100 uL 씩을 분주하고 도말함. 이어 시료 용액을 멸균된 disc(8 mm, Toyo Seisashusho Co., Tokyo, Japan)에 40 uL 씩 흡수 건조시켜 plate 표면에 붙인 다음 37℃에서 24-48 시간 배양한 후 disc 주위에 생성된 clear zone을 측정하여 직경(mm)으로 항균활성을 표시하였다.

② DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Park 등의 방법(2005)에 따라 측정하였다. 즉 시험관에 시료 용액 500 μ L를 넣고, 500 μ L의 ethanol과 250 μ L의 0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) /ethanol 용액을 첨가하여 25 $^{\circ}$ C의 실온에서 30분 동안 방치한 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 500 μ L의 탈이온수를 사용하였으며, Blank 시험은 DPPH와 증류수 대신 750 μ L의 ethanol을 사용하였다. Antiradical 활성은 다음의 식에 따라 DPPH 탈색의 %로 계산하였다.

$$\text{Antiradical 활성} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

③ Fe²⁺ - chelating 활성

Fe²⁺ - chelating 활성은 Rajapakse 등의 방법(2005)을 다소 변형하여 측정하였다. 즉 시험관에 시료 용액 0.5 mL를 넣고, 1.85 mL의 증류수, 50 μ L의 1% FeCl₂, 0.1 mL의 5 mM Ferrozine 용액을 가하고 25 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 반응시킨 후, 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신에 증류수 0.5 mL를 사용하였고, 공시험은 Ferrozine 대신에 증류수 0.1 mL를 사용하였다. 활성은 다음의 식에 따라 계산하여 %로 표시하였다.

$$\text{Chelating 활성(\%)} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

④ Ferricyanide의 환원력 측정

자가산화 및 Protamex 가수분해물의 환원력은 Nam 등의 방법(2005)에 따라 측정하였다. 즉 0.3 mL의 시료가 들어있는 시험관에 0.7 mL의 50 mM phosphate buffer(pH 6.6)와 0.5 mL의 1% potassium ferricyanide 용액을 넣은 다음 50 $^{\circ}$ C에서 20분 동안 항온하였다. 여기에 0.5 mL의 10% TCA 용액을 첨가하고 2,500 \times g에서 10분 동안 원심하였다. 상층액 0.5 mL를 취해 여기에 0.5 mL의 탈이온수와 0.1 mL의 0.1% FeCl₃ 용액을 첨가하여 10분 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 시료 대신 동량의 증류수를 사용하였다.

⑤ Linoleic acid의 항산화 활성

Linoleic acid의 항산화 활성은 Chen 등의 방법(1996)을 다소 변형한 Ferric thiocyanate 법으로 측정하였다. 즉 산화를 위해 1 mL의 0.1 M sodium phosphate (pH 7.0)과 0.25 mL의 시료 용액, 0.25 mL의 탈이온수, 1.0 mL의 50 mM linoleic acid/ethanol 용액을 유리 시험관에서 혼합하고 뚜껑을 닫아 밀봉한 다음, 어두운 60 $^{\circ}$ C의 항온 수조에서 산화시켰다. 이때 대조구 시료는 시료 대신 탈이온수를 사용하였다. 산화 후 4시간 간격으로 적당량의 시료를 들어내어, 반응 혼합 용액 50 μ L에 75% ethanol 2.35 mL, 30% ammonium thiocyanate 용액 50 μ L, 20 mM ferrous chloride/3.5% HCl 용액 50 μ L를 첨가하고 실온에서 3분 동안 방치하고 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 공시험은 반응 혼합 용액 대신 50 μ L의 탈이온수를 사용하였

다. 항산화 활성은 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{항산화 활성(\%)} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

⑥ ACE 저해활성

ACE 저해활성은 Janitha 등의 방법(2002)에 따라 기질로 hippuryl-His-Leu (HHL)을 사용하여 고속액체 크로마토그래피(HPLC, Hitachi, Japan)의 hippuric acid의 함량을 측정하였다. 시약 조제를 위한 완충액은 0.1 M Borate buffer(pH 8.3)을 사용하였다. 시험관에 시료 용액 40 μ L와 ACE(25 mU/mL) 150 μ L를 가한 후 37°C 항온 수조에서 10분간 반응한 후, 5 mM HHL-0.3 M NaCl/0.1 M Borate buffer(pH 8.3) 100 μ L를 첨가하여 다시 30분 동안 반응시킨 후, 1 M HCl 150 μ L를 가하여 ACE 활성을 중지시킨 다음 HPLC로 hippuric acid의 함량을 측정하였다. Hippuric acid(HA)의 정량을 위해 guard column(Bonclone C₁₈, 10 μ m, 50 \times 1.0 mm, Phenomenex Co., Torrance, CA, USA)와 C₁₈ 역상 칼럼(Bonclone C₁₈, 5 μ m, 250 \times 4.6 mm)를 장착한 HPLC에 반응중지 용액 20 μ L를 주입하고, 0.1% trifluoroacetic acid(TFA)/DW 와 0.1% trifluoroacetic acid(TFA) /acetonitrile 용액으로 용출하면서 228 nm에서 검출하였다. 대조구 용액은 시료 대신 40 μ L의 완충액을 사용하며, 효소 저해 %는 다음 식으로 계산하였다. 시료 농도별로 ACE 저해 활성을 측정하여 농도별 저해 활성을 선형 회귀 분석한 후 ACE 활성의 50%를 저해하는 데 필요한 시료 농도를 IC₅₀으로 정의하였다.

$$\text{ACE 저해(\%)} = \frac{\text{대조구의 HA} - \text{시료의 HA}}{\text{대조구의 HA}} \times 100$$

⑦ Xanthin oxidase 활성

Hypoxanthine에서 생성되는 urate의 생성속도를 290 nm에서의 흡광도로 측정하였다. 즉 먼저 cell에 가수분해물 1.0 mL, 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 1.9 mL, 0.1 mL의 0.25 unit/mL xanthine oxidase를 넣어 25°C로 조절하고 기질인 hypoxanthine 용액 1.0 mL(20 μ g)을 첨가하여 반응 시간 간격으로 흡광도의 증가를 측정하였다. 대조구는 기질 대신 증류수를 사용하였으며, 생성된 uric acid의 양은 uric acid의 molar 흡광계수를 사용하여 다음의 식으로 계산하였으며, 효소의 활성 단위는 25°C에서 분당 1 μ mole의 urate 생성량을 1 단위로 하였다.

$$\text{units/mg protein} = \Delta A/\text{min} \times 1,000/1.22 \times 10^{-4} \times \text{mg/mL reaction mixture}$$

$$\text{units/mL} = \Delta A/\text{min} \times 1,000 \times 3 \text{ mL} \times \text{dilution}/1.22 \times 10^{-4} \times 0.1 \text{ mL}$$

(3) 결과 및 고찰

(가) 2단 가수분해물의 특성

회수단백질을 이용하여 생리 기능성을 향상시킬 목적으로 Protamex 가수분해물을 이용하여 2단 가수분해 실시하였다. 먼저 효소 선정을 위하여 Protamex 가수분해물에 각각 1%(w/w)가 되도록 Neutrase, Flavourzyme, Alcalase, Bromelain을 첨가하여 50℃에서 1 시간 가수분해하여 85-90℃에서 2차 효소를 불활성 시킨 후, 반응물을 원심분리하고 상등액의 단백질 농도를 측정하였다(Fig. 31). 가용성 단백질의 양은 2.7-2.8 mg/mL로서 효소 종류에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다.

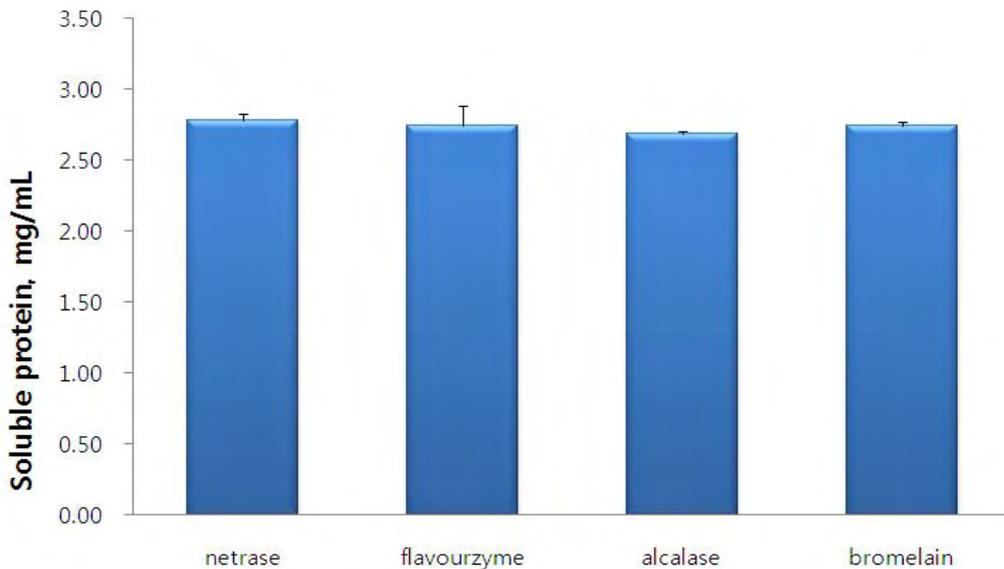


Fig. 31. Soluble protein of hydrolysates by 2 step hydrolysis with neutrase, flavourzyme, Alcalase and bromelain as the second protease.

그러나 bromelain에 의한 2차 가수분해물의 DPPH radical 소거활성이 다른 단백질 분해효소를 사용한 것에 비하여 월등히 우수한 것으로 나타났다(Fig. 32). 이 같은 결과는 Protamex 가수분해물을 Alcalase, Neutrase, pepsin, trypsin, Flavourzyme으로 2단 가수분해했을 때 Flavourzyme의 28.3%를 제외한 나머지 단백질 분해효소의 가수분해도는 32.7-33.0%로서 효소 종류에 따른 큰 차이를 보이지 않았다는 보고(Choi, 2007)와 일치하였다. 그러나 ACE 저해활성은 효소의 종류에 따라 큰 차이를 보여 2단 가수분해로 Neutrase를 사용했을 때 IC₅₀ 값이 0.40 mg/mL로 가장 우수하다고 보고하였다(Choi, 2007). 이 같은 결과는 효소의 기질 특이성에 따라 아미노산 절단 부위에 차이를 보임으로서 생리활성물질의 생성은 효소의 종류와 밀접한 관련이 있는 것으로 추정된다.

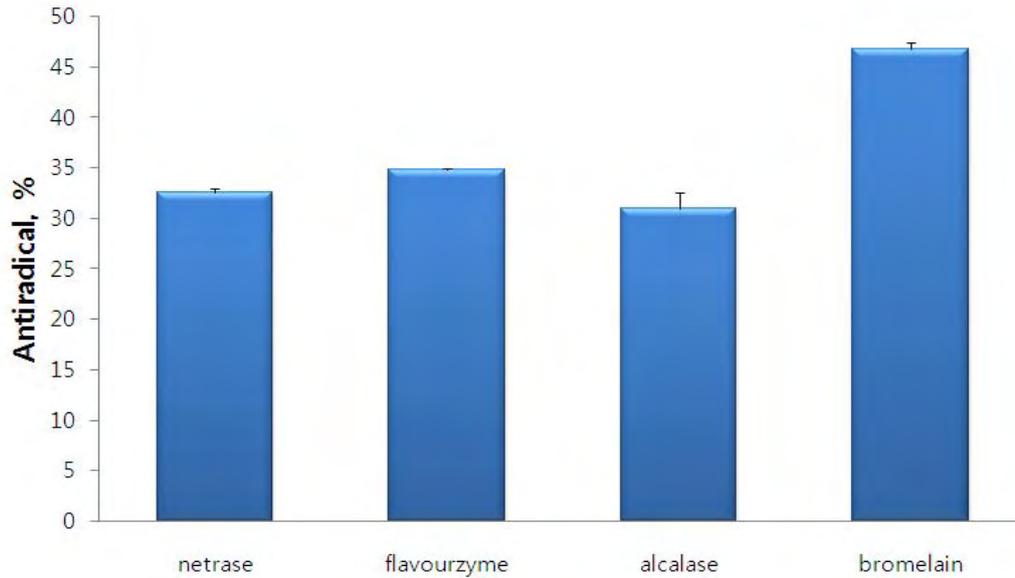


Fig. 32. DPPH radical scavenging of hydrolysates by 2 step hydrolysis with Neutrased, Flavourzyme, Alcalase and bromelain as the second protease.

본 연구의 결과에 따라 2단 가수분해효소로 bromelain을 선택하여 2단 가수분해에 영향을 미치는 요인을 E/S ratio 0.5-5, temp 30-70°C, pH 5.0-7.0의 범위에서 Box-Behnken법으로 분석하여 반응값은 각각 생성된 가용성 단백질의 양과 생성된 반응물의 DPPH radical 소거 활성의 최대값을 만족하는 인자의 범위를 결정하였다(Table 147). 그 결과 단백질 농도는 정규 확률도가 일직선으로 나타나지 않아 반응값으로 사용하기 적절치 않았으며, DPPH radical 소거 활성은 정규 확률도가 일직선으로 나타나 반응값으로 사용하기 적절하다고 판단하여 DPPH 라디칼 소거능을 반응의 종속 변수로 활용하였다. DPPH 라디칼 소거능에 대해 추정된 회귀 계수에 의하면 2단 가수분해물의 활성에 영향을 미치는 독립변수 중 E/S ratio, Temp는 유의적인 상관을 나타내지 않았으나, pH는 유의적인 영향을 미치는 것으로 나타났다(p,0.05). 한편 또한 교호 작용에서는 모든 변수에 대해 유의적인 영향을 갖지 않았다. 한편 DPPH에 대한 분산 분석 결과, 선형 분석에 높은 상관을 보였으며(P<0.05), 제곱과 상호작용에 대하여 유의성을 나타내지 않았다. 한편 적합성 결여값은 0.414로서 본 회귀분석이 적절한 것으로 나타났다(Fig. 33). Protamex 가수분해물의 Bromelain 2단 가수분해를 위한 최적 조건은 E/S ratio 3.56, Temp 50.23°C, pH 5.06으로 확인되었다(Fig. 34).

Table 147. Response surface design for preparation of two steps hydrolysate from the recovered protein of MDCM

Run	E/S	temp	pH	Protein, mg/mL	DPPH radical scavenging, %
1	2.75	50	6.0	46.42±0.00	85.69±0.13
2	0.5	70	6.0	48.77±0.52	85.36±0.07
3	5.0	30	6.0	48.89±0.35	85.83±0.07
4	2.75	30	7.0	46.91±0.00	77.16±0.13
5	2.75	50	6.0	49.88±0.00	85.69±0.00
6	5.0	70	6.0	55.31±0.70	85.50±0.13
7	5.0	50	5.0	44.20±0.00	90.24±0.13
8	2.75	70	5.0	49.01±0.17	90.38±0.07
9	2.75	70	7.0	48.89±0.35	78.01±0.13
10	0.5	30	6.0	48.64±0.00	85.26±0.07
11	2.75	50	6.0	47.16±0.00	77.58±0.07
12	0.5	50	7.0	47.04±0.17	67.35±0.34
13	5.0	50	7.0	53.46±0.52	57.54±0.67
14	2.75	30	5.0	45.31±0.17	84.31±0.20
15	0.5	50	5.0	43.95±0.35	87.39±0.00

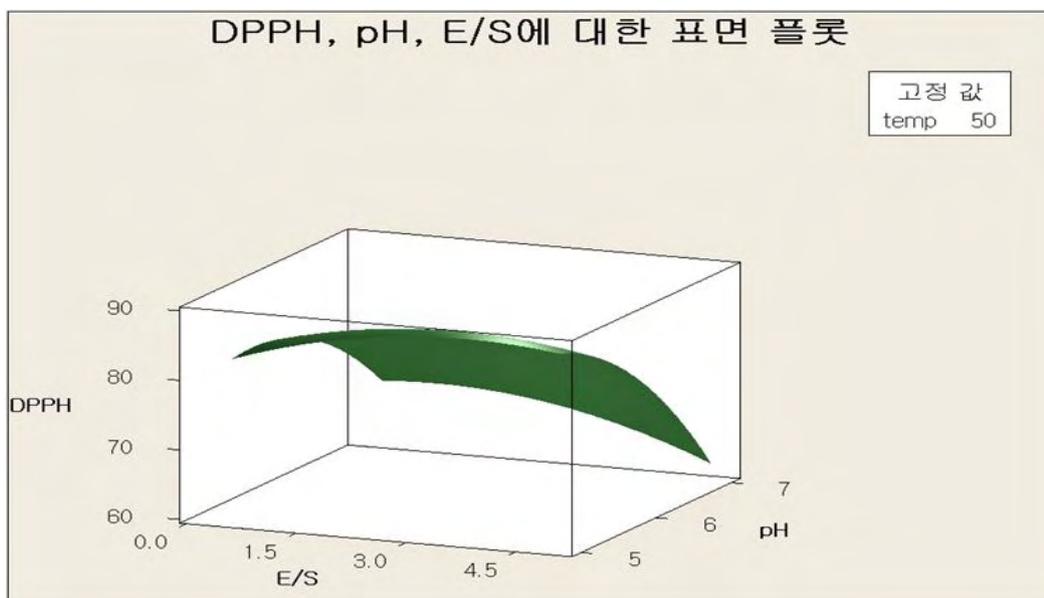


Fig. 33. Surface plot of ratio of protease to substrate and pH on DPPH radical scavenging.

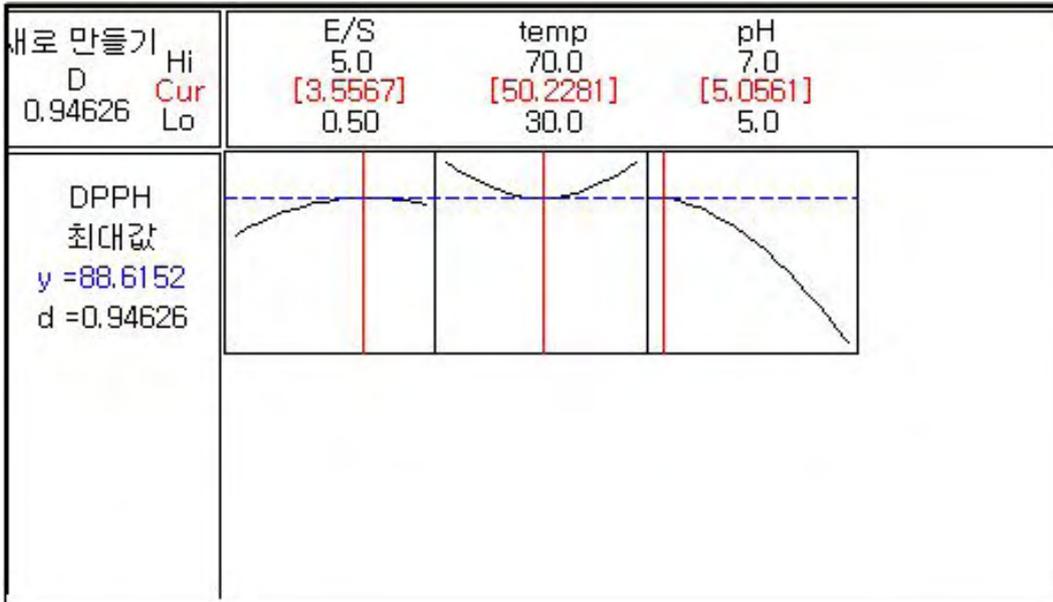


Fig. 34. Optimum conditions for the second hydrolysate with bromelain from the recovered MDCM.

(나) 이취제거 가수분해물 제조의 최적화

2단 가수분해물의 이취를 제거하기 위하여 치킨 훈연액(1-10), 치킨 오일(0.5-5), 식물성 단백질 가수분해물(HVP; Hydrolyzed Vegetable Protein, 0.5-5), Glucose(0.5-5)와 같은 첨가물을 85-95°C에서 50분 동안 항온하여 요인분석을 실시하였으며(Table 148). 반응값은 2단 가수분해물을 대조군으로 사용하여 관능 평가로써 실험군을 5점법으로 평가하였다. 그 결과 관능평가를 실시한 패널에 따른 오차가 크게 나타났으며, Pareto 그림을 분석한 결과 모든 인자가 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(Fig. 35). 그러나 치킨훈연액*치킨오일, 가수분해물*glucose의 교락 작용이 가장 큰 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다. 한편 요인 분석으로 이취를 제거하기 위한 인자를 찾을 수 없어 Table 149와 같이 임의로 첨가물 조성비, 반응 온도 및 반응 시간을 5가지 실험군으로 설정하여 5점법으로 관능 평가하여 가장 높은 점수를 얻은 것을 이용하여 가수분해하였다. 그 결과 5번 실험군인 가수분해물 95.2%, 치킨 훈연액 1.9%, 치킨 오일 1.0%, 식물성 단백질 가수분해물 0.5%, glucose 0.5%, xylose 0.5%, 양파 마쇄물 0.5%을 첨가한 것이 가장 높은 4.8의 관능평가 점수를 보였다.

Table 148. Factor analysis for deodor of the second hydrolysate from MDCM

	가수분해물	치킨혼연액	치킨 오일	HVP	glucose	sensory score
1	85	10	5	5	0.5	4.0
2	85	10	0.5	5	5	2.7
3	97	1	5	0.5	5	3.1
4	97	10	5	0.5	0.5	2.9
5	97	1	0.5	0.5	0.5	2.8
6	85	10	0.5	0.5	0.5	3.2
7	85	1	0.5	0.5	5	2.6
8	85	10	5	0.5	5	2.8
9	97	10	5	5	5	3.4
10	85	1	0.5	5	0.5	2.9
11	97	10	0.5	5	0.5	2.2
12	97	1	5	5	0.5	2.0
13	97	1	0.5	5	5	2.2
14	85	1	5	5	5	2.7
15	85	1	5	0.5	0.5	2.5
16	97	10	0.5	0.5	5	2.2

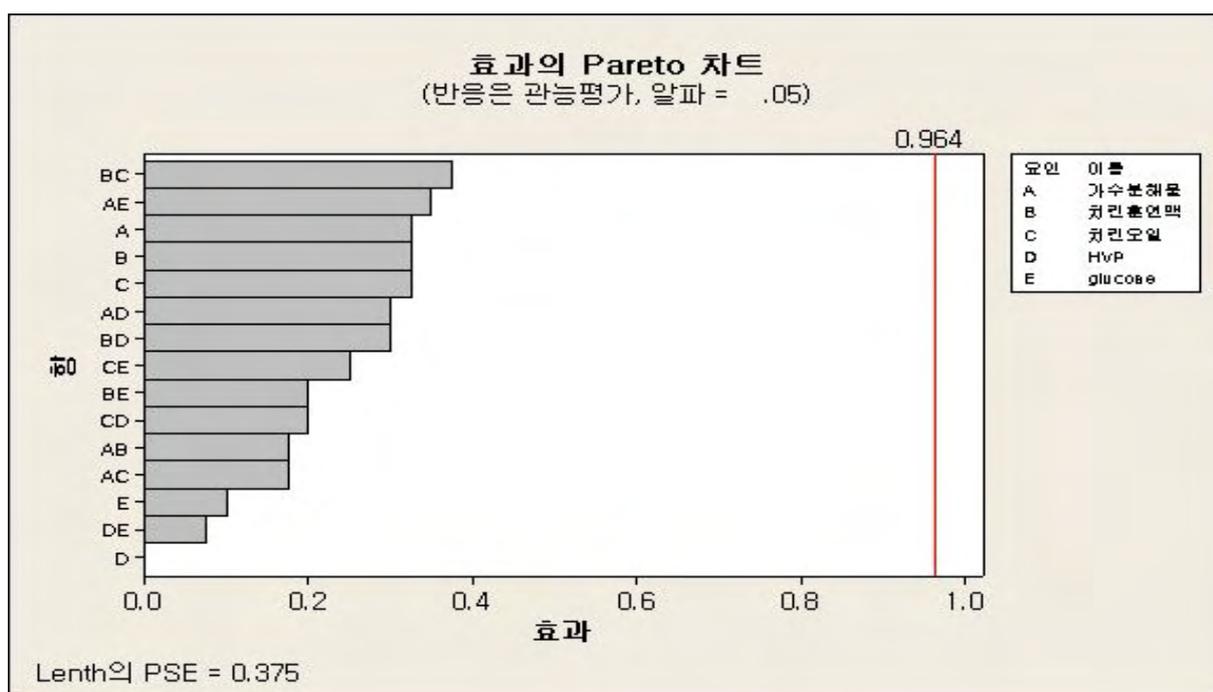


Fig. 35. Pareto chart of the results of factor analysis for deodor the second hydrolysate from MDCM.

Table 149. Experimental design and sensory score for deodor of the second hydrolysates

Additives	Recruitment stock (%)				
	1	2	3	4	5
2st hydrolysates	96.6	84.8	86.9	93.8	95.2
Chichen smoke solution	1.9	4.9	9.9	1.9	1.9
Chichen oil	0.5	8.4	0.9	0.9	1.0
HVP	-	4.8	0.8	1.7	0.5
Thiamine HCl	-	-	0.0	0.0	0.0
Cysteine HCl	0.5	0.4	0.0	0.0	-
Glucose		2.1	-	-	0.5
Xylose	0.5	2.1	0.9	0.9	0.5
Onion(chopping)	-	-	0.6	0.6	0.5
Total	100	100	100	100	100
Reaction temperature	103°C	110°C	110°C	110°C	95°C
Reaction time	90 min	75 min	90 min	90 min	50 min
Sensory score	3.5	4.2	4.0	4.0	4.8

(다) 일반성분, 아미노태 질소함량 및 가수분해도

MDCM을 이용한 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 일반성분 조성 및 아미노태 질소 함량은 Table 150과 같다. 가수분해물 상층액으로 분석한 결과 조단백질, 조지방 및 조회분 함량은 이취제거 가수분해물이 0.74%, 4.61%, 0.94%로 2단 가수분해물 0.35%, 4.63%, 0.71%로 이취제거 가수분해물이 다소 높게 나타났다. 이는 이취제거를 위해 첨가된 식물성 단백질 가수분해물과 치킨 혼연액, 치킨 오일 등의 영향인 것으로 보인다.

한편 아미노태 질소 함량은 2단 가수분해물이 0.36 mg/mL, 이취제거 가수분해물이 0.43 mg/mL로 이취제거 가수분해물이 더 높게 나타난 것을 확인할 수 있다. 이는 아미노태 질소를 구성하는 Ans와 Glu함량이 이취제거 가수분해물에서 더 많이 함유되어 있기 때문으로 추정된다.

Table 150. Proximate composition and amino-N content and hydrolysis of degree (%)

	2st hydrolysates	Deodorizing hydrolysates
Proximate composition		
Moisture (%)	89.50±0.00	88.90±0.00
Crude protein (%)	2.16±0.01	4.64±0.12
Crude lipid (%)	4.61±0.18	4.63±0.04
Ash (%)	0.71±0.02	0.94±0.04
Amino-N (mg/100mL)	36±1	43±1
Degree of hydrolysis (%)	80.72	50.97

(라) 유리아미노산과 무기질 조성

MDCM에서 회수한 단백질의 Protamex 가수분해물과 이를 bromelin으로 가수분해한 2단 가수분해물의 유리아미노산 조성에서 2단 가수분해물의 유리아미노산의 총함량은 678.5±1.5 mg/100 mL로서 Protamex 가수분해물의 유리아미노산 함량 428.3±1.1 mg/100 mL

에 비하여 1.58배에 해당하였다(Table 151). 특히 glutamic acid, alanine, valine, gaba, ornithine, lysine, histidine, anserine의 함량이 20 mg/100 mL 이상 증가한 반면, proline은 현저히 감소하였고, β -alanine과 homocysteine이 큰 폭으로 감소하였다. glutamic acid와 alanine 함량의 증가는 가수분해물의 정미에 기여할 것으로 추정된다. 이취제거 가수분해물의 총 유리 아미노산 함량은 683.2 \pm 6.9 mg/100 g으로서 2단 가수분해물에 비하여 다소 높았으며, leucine, glutamic acid, alanine, lysine, isoleucine, phenylalanine, anserine, α -amino butyric acid, methionine 및 gaba의 함량이 높게 나타났다.

Table 151. Free amino acid composition of hydrolysate from the recovered protein of MDCM (mg/100 g)

Amino acid	1st hydrolysates	2st hydrolysates	Deodorizing hydrolysates
Tau	2.4 \pm 0.1	6.4 \pm 0.1	7.2 \pm 0.2
Pea	none	0.2 \pm 0.0	0.8 \pm 0.0
Urea	none	2.2 \pm 0.0	3.9 \pm 0.3
Asp	none	7.7 \pm 0.4	13.7 \pm 0.2
Hypro	none	95.3 \pm 4.2	59.3 \pm 2.1
Thre	none	8.2 \pm 0.0	12.1 \pm 0.2
Ser	none	5.2 \pm 0.0	9.8 \pm 0.2
Asn	2.3 \pm 0.0	12.4 \pm 0.1	9.1 \pm 0.1
Glu	7.6 \pm 0.1	40.9 \pm 0.2	58.7 \pm 0.6
Sar	6.4 \pm 0.2	none	none
AAAA	9.9 \pm 0.3	3.0 \pm 0.0	2.6 \pm 0.0
Pro	131.7 \pm 4.2	25.2 \pm 0.3	36.0 \pm .3
Gly	2.8 \pm 0.1	9.6 \pm 0.0	10.8 \pm 0.1
Ala	9.3 \pm 0.3	29.6 \pm 0.2	28.8 \pm 0.2
Citr	7.8 \pm 0.5	none	none
AABA	10.7 \pm 0.5	20.1 \pm 0.1	19.8 \pm 0.1
Val	7.8 \pm 3.5	27.7 \pm 0.1	27.6 \pm 0.1
Cys	2.9 \pm 0.5	1.2 \pm 0.1	1.1 \pm 0.0
Met	7.8 \pm 3.5	20.3 \pm 0.1	19.9 \pm 0.1
Cysth-1	3.3 \pm 0.1	0.7 \pm 0.0	0.6 \pm 0.0
Ile	3.8 \pm 1.5	22.0 \pm 1.0	22.7 \pm 0.1
Leu	15.0 \pm 0.3	16.6 \pm 2.5	18.7 \pm 0.1
Tyr	1.7 \pm 0.1	15.9 \pm 0.0	18.2 \pm 1.
B-ala	20.2 \pm 0.3	1.5 \pm 0.0	0.9 \pm 0.2
Phe	10.0 \pm 0.3	25.1 \pm 0.1	25.4 \pm 0.3
AAIBA	2.9 \pm 0.1	0.2 \pm 0.2	0.4 \pm 0.0
Hmocys	28.9 \pm 0.5	0.6 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0
GABA	2.5 \pm 0.1	30.0 \pm 0.1	27.9 \pm 0.2
Ethamin	7.7 \pm 0.2	0.2 \pm 0.3	0.1 \pm 0.0
Ammonia	9.9 \pm 0.1	20.1 \pm 0.1	20.4 \pm 0.1
Hylys	39.0 \pm 0.8	31.2 \pm 0.5	27.9 \pm 0.3
Orn	2.8 \pm 0.0	25.8 \pm 0.1	24.5 \pm 0.1
Lys	18.1 \pm 0.1	40.1 \pm 0.2	39.2 \pm 0.0
1-mhis	none	3.6 \pm 0.0	3.8 \pm 0.1
His	12.7 \pm 4.1	30.9 \pm 0.1	29.7 \pm 0.4
3-mhis	7.8 \pm 0.2	13.4 \pm 0.0	7.0 \pm 0.1
Ans	13.1 \pm 0.6	59.4 \pm 0.2	56.5 \pm 0.4
Car	15.7 \pm 1.2	20.8 \pm 0.6	21.2 \pm 1.0
Arg	10.1 \pm 0.1	4.8 \pm 0.4	16.4 \pm 0.1
Total	428.3\pm1.1	678.5\pm1.5	683.2\pm6.9

2단 가수분해물과 탈취가수분해물의 Na 함량은 Protasmex 가수분해물에 비하여 각각 6.8배

와 10.3배까지 현저히 증가하였다(표 152). 2단 가수분해물과 탈취 가수분해물은 주요 무기질 중에서 칼륨이 2.2배와 2.7배 증가한 반면 칼슘과 인은 큰 폭으로 감소하였다. 이 같은 주요 무기질의 증감은 원료로 사용한 MDCM의 제조사 차이에 기인하는 것으로 추정되나 이유는 분명치 않다. 미량 원소로서 Al, Zn, Fe가 2단 가수분해물에서 감소하였다. 한편 2단 가수분해물과 탈취 가수분해물에서 전체적으로 중금속의 함량이 감소하였다. 특히 Cd는 검출되지 않아 식품 안전에 문제가 없는 것으로 나타났다.

Table 152. Mineral content of hydrolysates from the recovered protein of MDCM (mg/100 g)

Mineral	1st hydrolysates	2st hydrolysates	Deodorizing hydrolysates
K	238.9±1.0	528.8±0.8	650.3±0.8
Ca	730.5±2.4	378.1±0.8	400.5±0.7
Mg	38.8±0.1	58.0±0.1	76.5±0
Na	497.7±1.8	3,388.0±6.4	5,130.0±4.2
P	839.4±3.2	483.5±1.7	579.0±0.3
B	3.0±0.0	0.7±0.0	0.5±0.0
Al	15.8±0.1	1.6±0.0	1.8±0.0
Si	3.1±0.0	9.1±0.1	10.7±0.0
Cu	2.5±0.0	4.8±1.3	0.5±0.1
Mn	2.8±0.0	1.0±0.3	0.1±0.0
Zn	27.5±0.1	8.6±0.0	6.9±0.0
Fe	25.8±0.1	6.8±0.0	7.3±0.0
Ge	0.6±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
Cd	1.9±0.1	none	none
Pb	3.0±0.2	0.1±0.0	none
Cr	2.3±0.1	0.2±0.0	0.3±0.0
Li	16.9±0.9	2.1±0.0	2.9±0.0
Sr	0.6±0.0	0.2±0.0	0.4±0.0
As	1.1±0.0	0.1±0.0	none
Total	2,452.5±10.3	4,871.8±11.6	6,867.8±6.2

(마) 분자량의 분포

MDCM을 이용한 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 분자량 분포는 Fig. 36 및 Table 153과 같다. 2단 가수분해물의 경우 600 Da은 13.4%, 260 Da은 22.3%, 120 Da이 21.1%를 차지하고 있었으나, 이취제거 가수분해물의 경우 320 Da은 69.1%, 120 Da이 11.3%로 2단 가수분해물에 비하여 비교적 저분자로 분포되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 이는 이취제거를 위하여 사용된 첨가물에 의하여 가수분해가 더 진행되었기 때문으로 추정된다.

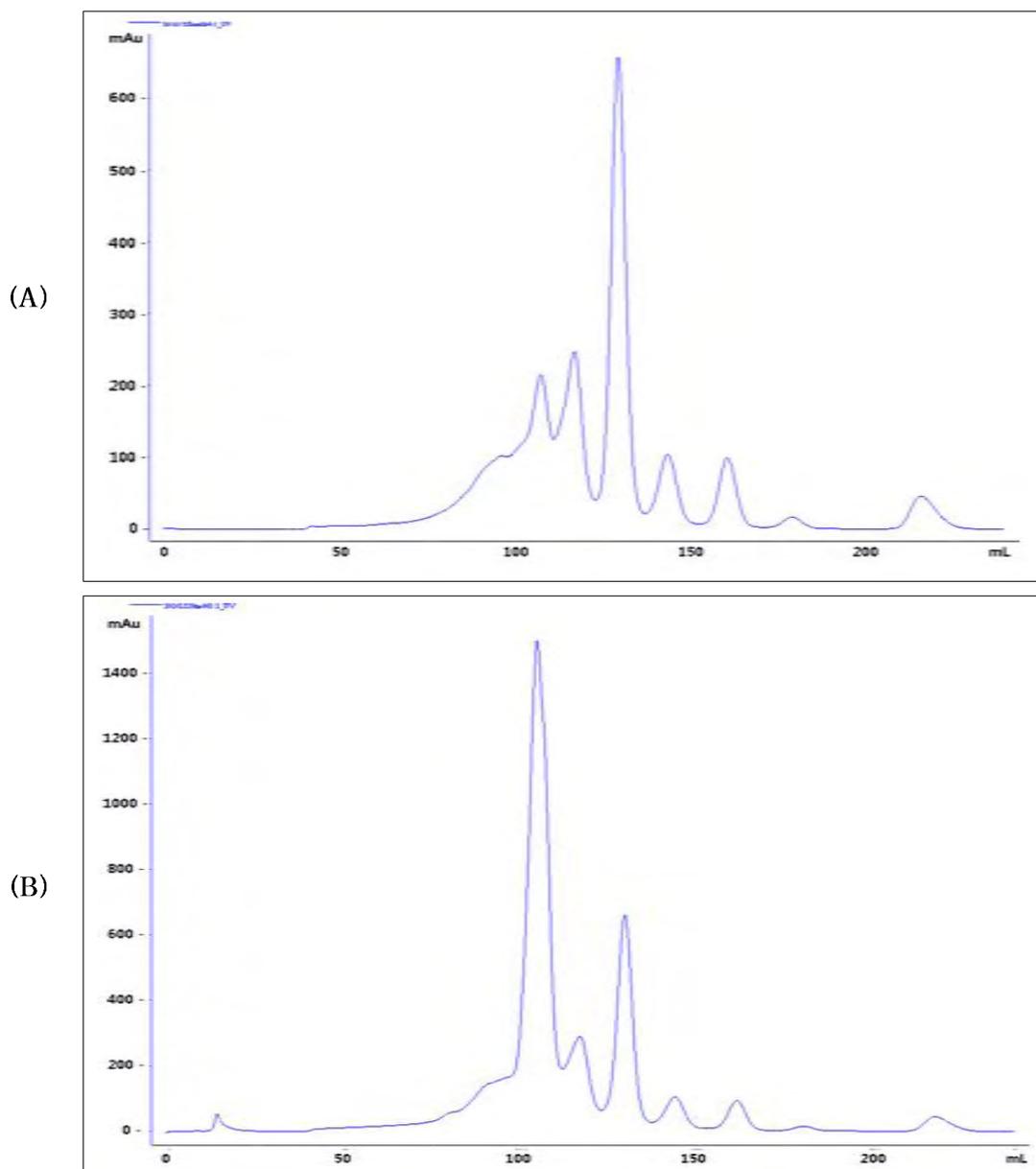


Fig. 36. Molecular weight distribution of 2st hydrolysates (A) and deodorizing hydrolysates (B) from MDCM.

Table 153. Molecular weight distribution of 2st hydrolysates and deodorizing hydrolysates from MDCM

Molecular weight (Da)	Area %	
	2 st hydrolysates	deodorizing hydrolysates
600	13.4	-
260	22.3	69.1
120	21.1	11.3
50	43.3	19.6

(바) 2단 가수분해물의 기능 특성

① 항균활성

가수분해 효소의 종류에 따라 제조하 폐계육 가수분해물은 Gram positive 3종(*S. Aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*)와 Gram negative 종(*S. typhimurium*, *E. coli*, *V. aprahaemolyticus*)에 대하여 항균 활성을 보이지 않았다(Table 154). 이 같은 결과는 폐계육 가수분해물이 항균성 보다는 오히려 미생물의 영양원으로 이용된 것으로 추정된다. Pellegrini et al.(2001)은 단백질 효소 가수분해물은 *E. coli*와 같은 gram 음성균에 대하여 항균 활성을 보이지 않는다고 보고하였다.

Table 154. Antimicrobial effects of 2st hydrolysates from MDCM

Protease	Gram positive			Gram negative		
	S. aureus	L. Monocytogenes	B. cereus	S. typhimurium	E. coli	V. parahaemolyticus
Alcalase	-	-	-	-	-	-
Flavourzyme	-	-	-	-	-	-
Neutrase	-	-	-	-	-	-
Bromelaine	-	-	-	-	-	-

② DPPH 라디칼 소거능과 ACE 저해활성

MDCM을 이용한 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 DPPH radical 소거능은 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 EC50은 각각 13.0 mg/mL, 5.04 mg/mL로 이취제거 가수분해물의 DPPH radical 소거능이 약 2.6 배 가량 우수한 것으로 나타났다(Table 165). 그러나 positive 대조군으로 사용된 Ascorbic acid에 비하여는 다소 낮은 DPPH radical 소거능을 보였다.

MDCM을 이용한 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 ACE 저해능은 각각 0.032 mg/mL, 0.018 mg/mL로 이취제거 가수분해물의 ACE 저해능이 약 2 배 가량 우수한 것으로 나타났다(Table 155).

Table 155. The EC₅₀ value of DPPH antiradical activity and the IC₅₀ of Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity 2st hydrolysates and Deodorizing hydrolysates from MDCM

	Sample	mg/mL
EC ₅₀	2 st hydrolysates	13.00
	Deodorizing hydrolysates	5.04
	Ascorbic acid	0.01
IC ₅₀	2 st hydrolysates	0.032
	Deodorizing hydrolysates	0.018

③ Fe²⁺ chelating 활성과 Fe²⁺-ion 환원력

MDCM을 이용한 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 Fe²⁺-chelating 활성을 측정 한 결과는 Table 166과 같다. Fe²⁺ 이온은 ferrozine과 반응하여 보라색 복합체를 형성하는데, 시료 중에 항산화 성분이 있으면 ferrozine과 경쟁적으로 반응하여 Fe²⁺-ferrozine 복합체의 생 성을 억제하고 결과적으로 보라색이 줄어들게 된다. 2단 가수분해물의 경우 농도에 따른 큰 차이가 없었으나, 이취제거 가수분해물의 경우 0.5 mg/mL의 농도에서 가장 높은 Fe²⁺-chelating 활성을 나타내었다. 그러나 positive control로 사용된 EDTA에 비하여 다소 낮 은 Fe²⁺-chelating 활성을 나타내었다.

MDCM을 이용한 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 Ferricyanide의 환원력을 700 nm에서 흡광도 값으로 알아 본 결과는 Table 156과 같다. 환원력은 철 이온의 환원력 (Fe³⁺→ Fe²⁺로 변화)에 대한 대상 물질의 항산화력을 측정하는 것으로서 항산화 능력의 중요한 지표 가 된다. 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물 모두 농도가 증가할수록 환원력이 증가하였 으나, 2단 가수분해물의 경우 다소 낮은 환원력을 보였다. 그러나 이취제거 가수분해물의 경우 저농도에서부터 높은 환원력을 보였다. 이는 이취제거를 위해 사용된 첨가물의 영향인 것으로 추정된다.

Table 156. Fe²⁺-chelating activities and Fe²⁺-ion reducing powder of 2st hydrolysates and deodorizing hydrolysates from MDCM (unit; OD)

Concentration (mg/mL)	Fe ²⁺ -chelating ¹⁾		Fe ²⁺ -ion reducing powder ²⁾	
	2st hydrolysates	Deodorizing hydrolysates	2st hydrolysates	Deodorizing hydrolysates
0.5	0.172±0.000	0.135±0.011	0.047±0.001	0.207±0.007
1.0	0.208±0.000	0.210±0.013	0.071±0.002	0.355±0.002
1.5	0.171±0.002	0.186±0.020	0.086±0.003	0.471±0.001
2.0	0.197±0.016	0.219±0.006	0.116±0.002	0.602±0.016

¹⁾ Fe²⁺-chelating activities; Absorbance at 562 nm, 1mM EDTA.2a; 0.929±0.003.

²⁾ Fe²⁺-ion reducing powder; Absorbance at 700 nm, 1 mM Ascorbic acid; 0.112±0.004.

④ Linoleic acid 활성

MDCM을 이용한 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물의 시간 경과에 따른 linoleic acid 항산화 활성을 500 nm에서 흡광도 값으로 측정한 결과는 Fig. 37과 같다. 시료를 첨가하 지 않은 control의 경우 산화 시간이 경과할수록 급격하게 산화가 진행되었으나 2단 가수분해 물과 이취제거 가수분해물 모두 25 mg/mL의 농도에서 가장 높은 활성을 보였다. 또한 2단 가수분해물의 경우 산화 8시간 경과까지 1 mg/mL, 5 mg/mL, 25 mg/mL의 농도에서 positive control로 사용된 tocopherol에 비하여 산화가 더 늦게 진행되었다. 그러나 산화 유도 20시간 경과 후 2단 가수분해물과 이취제거 가수분해물 모두 급속도로 산화된 것을 확인 할 수 있었 다. 또한, 이취제거 가수분해물이 2단 가수분해물에 비하여 다소 높은 산화력을 나타내었는데 이는 이취제거 시 사용된 치킨 훈연액과 치킨 오일에 의한 것으로 추정된다.

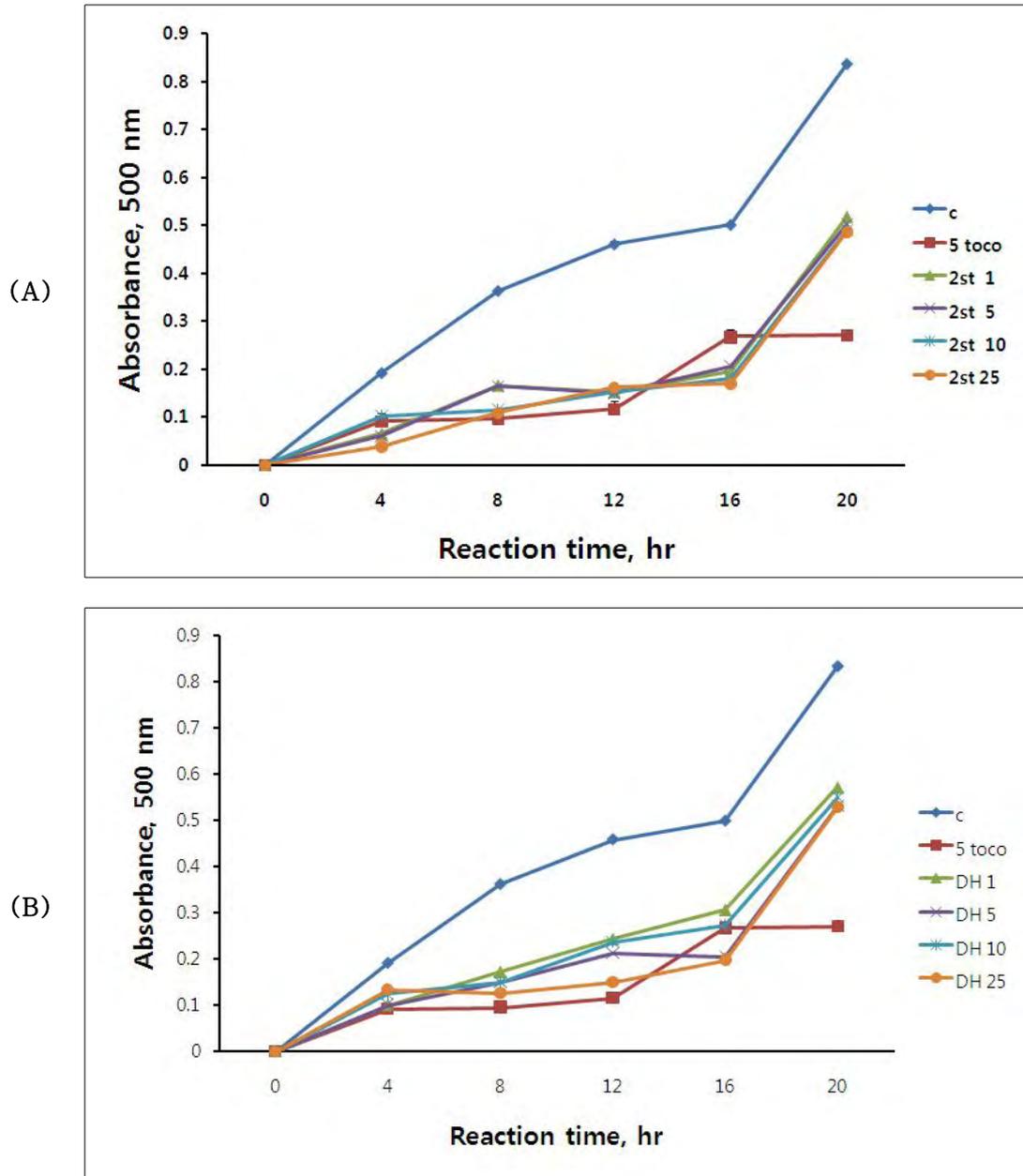


Fig. 37. Antioxidative effect of 2st hydrolysates and deodorizing hydrolysates from MDCM on oxidation of linoleic acid. C, Control; T, Tocopherol; 2st, 2st hydrolysates., DH; Deodorizing hydrolysates.

(4) 요약

2단 가수분해물 제조를 위해 사용한 단백질 분해효소 Alcalase, Neutrase, Flavourzyme 과 bromelain 간에 가용성 단백질 농도의 차이는 보이지 않았으나, DPPH 라디칼 소거능은 bromelain 가수분해물에서 현저히 증가하였다. Bromelain 2단 가수분해물 제조를 위한 최적 조건은 효소대 기질비 3.56, 반응 온도 50.2°C, pH 5.06일 때 88.62%의 최대 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 2차 가수분해물의 이취제거를 위한 maillard 반응의 최적 첨가물은 Protamex

가수분해물 95.2%, 닭 혼연액 1.9%, 닭 기름 1.0%, 식물성 단백질 가수분해물 0.5%, glucose 0.5%, xylose 0.5%, 양과즙 0.5%였으며, 반응 온도와 시간은 각각 95°C와 50분 이었다. 2차 가수분해물과 탈취 가수분해물의 유리 아미노산 함량은 각각 678.5±1.5와 683.2±6.9 mg/100 g 으로서 1차 가수분해물에 비하여 1.58배 증가하였다. 2차 가수분해물과 탈취 가수분해물에서 Na 함량이 현저히 증가한 반면, 칼슘과 인은 오히려 감소하였다. 한편 양쪽 가수분해물에서 Cd는 검출되지 않았다. 2단 가수분해물은 분자량 50 Da에 해당하는 물질이 43.4%를 차지한 반면 탈취가수분해물은 분자량 260 Da의 물질이 69.1를 차지하였다. 2단 가수분해물과 탈취가수분해물의 DPPH 라디칼 소거능(EC50)과 ACE 저해능(IC50)은 각각 13.0 mg/mL와 0.032 mg/mL 및 5.04 mg/mL와 0.018 mg/mL로서 탈취 가수분해물이 우수하였다. Fe-킬레이트능 및 환원력은 탈취 가수분해물이 우수하였다. 양쪽 가수분해물 모두 linoleic acid 향산화력을 보이고 있었다. 본 연구의 결과 MDCM 회수단백질의 2단 가수분해물은 향산화제로서 보다는 ACE 저해제로서 생물 활성을 기대할 수 있다.

(5) 참고문헌

1. Alder-Nissen, J. and Olsen, HS 1979. The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy proteins. In *Functionality and protein structure*. A Poru-El(ed.), Washington, DC, ACS Symposium Series. p. 125-146.
2. AOAC. 1984. *Official methods of analysis*. Washington, D.C.: Assn of Official Agricultural Chemists. p 16, 334, 431.
3. Ariyoshi, Y. 1993. Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food protein. *Trends Food Sci. Technol.* 4:139-144.
4. Bakris, GL. 2001. Angiotensin-converting enzyme inhibition to enhance vascular health-clinical and research models. *Am. J. Hypertension* 14:264-269.
5. Cancre J, Ravallec R, Wormhoudt AV, Stenberg E, Gildberg A. 1999. Secretagogues and growth factors in fish and crustacean protein hydrolysates. *Mar Biotechnol*, 1:489-494.
6. Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Nokihara K. 1996. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2619-2623.
7. Cheung, HS., Wang, FL., Ondetti, MA., Sabo, EF. and Cushman, DW. 1980. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin converting enzyme. *J. Biol. Chem.* 255:401-407.
8. Cudennec B, Ravallec-Ple R, Courois E, Fouchereau-Peron M. 2008. Peptides from fish and crustacean by-products hydrolysates stimulate cholecystokinin release in STC-1 cells. *Food Chem.* 111:970-975.
9. Davisdon PM and Parish ME. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* 1:148-151.

10. Esther, CR., Jr Marino, EM. and Bernstein, KE. 1997. The role of angiotensin converting enzyme in blood pressure control, renal function, and male fertility. *Trends Endocrinol Metabol* 8:181-186.
11. Fiat, AM., Migliore-Samour, D., Jolles, P., Drouet, L., Bal dit Sollier C. and Caen, J. 1993. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities. *J. Dairy Sci.*, 76: 301-310.
12. Folch J, Lee M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
13. Janitha PK, Wanasundara PD, Ross ARS, Amarowicz R, Ambrose SJ, Pegg RB, Shand PJ. 2002. Peptide with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibiting activity from defibrinated, hydrolyzed bovine plasma. *J. Agric. Food Chem.* 50:6981-6988.
14. Johnsen AH, Jonson L, Rourke IJ, Rehfeld JF. 1997. Elasmobranchs express separate cholecystokinin and gastrin genes. *Proc Natl. Acad. Sci.*, 94:10221-10226.
15. Jun SY, Park PJ, Jung WK, Kim SK. 2004. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. *Eur Food Res Technol.* 219:20-26.
16. Klompong V, Benjakul S, Kantachote D, Shahidi F. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chem.* 102:1317-1327.
17. Kohama, Y., Matsumoto, S., Oka, H., Teramoto, T., Okabe, M. and Mimura, T. 1988. Isolation of angiotensin-converting enzyme inhibitor from tuna muscle. *Biochiml Biophys Res. Commun* 155:332-337.
18. Kohmura, M., Nio, N.N. and Ariyoshi, Y. 1990. Inhibition of angiotensin converting enzyme by synthetic peptide fragment of human κ -casein. *Agric. Biol. Chem.* 54:853.
19. Lapointe, N. and Rouleau, JL. 2002. Activation of vascular tissue angiotensin converting enzyme(ACE) in heart failure. *J. Am College of Cardiol.* 39(5):776-779.
20. Mao XY, Nan QXL, Li YH, Ni JR. 2005a. Effects of different casein-derived hydrolysates and their separated fractions on mouse cell immunity. *Milchwissenschaft*, 60:10-14.
21. Mao XY, Ren FZ, Nan QXL, Li YH, Ni JR. 2005b. Immunomodulating effects of casein hydrolysates on murine peritoneal macrophages. *Milchwissenschaft*, 60:119-121.
22. Mazoyer, E., Lévy-Toledano, S., Rendu, F., Hermant, L., Lu, H., Fiat, AM., Jollès, P. and Caen, J. 1990. A new peptide derived from human lactotransferrin, inhibits platelet aggregation and release reaction. *Eur. J. Biochem.*, 194:43.

23. Matsui, T., Matsufuji, H., Seki, E., Osajima, K., Nakashima, M. and Osajima, Y. 1993. Inhibition of angiotensin I converting enzyme by *Bacillus licheniformis* alkaline protease hydrolysates derived from sardine muscle. *Biosci. Biotech Biochem.* 57:922–925.
24. Matsuda, H., Nagaoka, T., Morita, H. and Osajima, K. 1992. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides generated from sardine muscle by protease for food industry. 39(8):678–683.
25. Miyoshi, S., Ishikawa, H. and Tanaka, H. 1989. Angiotensin converting enzyme inhibitors derived from *Ficus carica*. *Agric. Biol. Chem.* 53:276.
26. Miyoshi, S., Ishikawa, H., Kaneko, T., Fukui, F., Tanaka, H. and Maruyama, S.. 1991a. Structures and activity of angiotensin converting enzyme inhibitors in an α -zein hydrolysate. *Agric. Biol. Chem.* 55:1313–1318.
27. Miyoshi, S., Ishikawa, H., Kaneko, T., Fukui, F., Tanaka, H. and Maruyama, S. 1991b. Structure and activity of angiotensin converting enzyme inhibitors in an alpha-zein hydrolysate. *Agric. Biol. Chem.* 55:1313.
28. Nakajima K, Yoshie-Stark Y, Ogushi M. 2009. Comparison of ACE inhibitory and DPPH radical scavenging activities of fish muscle hydrolysates. *Food Chem.* 114:844–851.
29. Nam SH, Choi SP, Kang MY, Kozukue N, Friedman M. 2005. Antioxidant, antimutagenic and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assay. *J. Agric. Food Chem.* 53:816–822.
30. Park EY, Murakami H, Mori O, Matsumura Y. 2005. Effect of protein and peptide addition on lipid oxidation in powder model system. *J. Agric. Food Chem.* 53:137–144.
31. Phelan M, Aheme-Bruce SA, O’Sullivan D, FitzGerald RJ, O’Brien, NM. 2009. Potential bioactive effects of casein hydrolysates on human cultured cells. *Internal Dairy J.* 19:279–285.
32. Picot L, Boedenave S, Didelot S, Fruitier-Arnaudin I, Sannier F, Thorkelsson G, Berge JP, Guerard F, Chabeaud A, Piot JM. 2006. Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. *Process Biochemistry* 41:1217–1222.
33. Rajapakse N, Mendis E, Jung WK, Je JY, Kim SK. 2005. Purification of radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Res. Internal* 38:175–181.
34. Seki, E., Osajima, K., Matsui, T. and Osajima, Y. 1993. Separation and purification of angiotensin converting enzyme inhibitors peptides from heated sardine meat by treatment with alkaline protease. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 40:783.
35. Sheih IC, Wu TK, Fang TJ. 2009. Antioxidant properties of a new antioxidative

- peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. *Bioresource Technol*, 100:3419–3425.
36. Shimizu, M. 1994. Bioactive peptides from bovine milk proteins. Paperat Animal S(1ecetions in 24th International Dairy Congress. Melbourne Sept. P. 18.
 37. Theodore AE, Raghavan S, Kristinsson HG. 2008. Antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolates. *J. Agric. Food Chem.*, 56:7459–7466.
 38. Thiansilakul Y, Benjakul S, Shahidi F. 2007. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using Alcalase and Flavourzyme. *J. Food Biochem.*, 31:266–287.
 39. Thurman, J.M. and Schrier, R.W. 2003. Comparative effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers on blood pressure and the kidney. *Am. J. Med.* 114:588–598.
 40. Unger, T. 2002. The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol.* 89(suppl):3A–10A.
 41. Webster, J. and Koch, H.F. 1996. Aspects of tolerability of centrally acting antihypertensive drugs. *J. Cardiovascular Pharm.* 27:S49–54.
 42. Yokoyama, K., Chiba, H. and Yoshikawa, M. 1992. Peptide inhibitors for angiotensin I converting enzyme from thermolysin digest of dried bonito. *Biosci. Biotechnol Biochem.* 56:1541–1545.

나. MDCM 회수단백질로 제조한 2단 가수분해물의 생물활성 펩티드의 정제와 활성

(1) 서론

항산화 특성을 갖는 단백질 가수분해물은 제약, 건강식품, 식품 저장 및 가공 산업에서 많은 관심을 가진 주제이다. 단백질 가수분해물 중에서 항산화 특성을 갖는 생물 활성물질은 주로 펩타이드로써 어육에 존재하는 단백질 분해 효소와 어육에 첨가한 여러 종류의 단백질 분해효소에 의해 생성된다. 자가소화 혹은 Validase BNP 혹은 Flavourzyme 500L로 얻은 민대구육 가수분해물은 높은 항산화능을 보이고, 52°C, pH 5.5에서 1시간 자가소화시킨 가수분해물은 항산화 활성은 162 시간까지 linoleic acid의 과산화를 연장시킴에 있어 BHA와 α -tocopherol 보다 효과적이었다(Samaranayaka and Li-Chan, 2008). 단백질 가수분해물의 항산화 활성과 기능성은 가수분해도(Theodore et al., 2008)과 단백질 분해효소의 종류(Klompong et al., 2007)에 의존하며, 가수분해 전의 탈지 공정은 가수분해물의 항산화 활성에 영향을 미친다(Thiansilakul et al., 2007). 가수분해도 약 50%의 오징어육 가수분해물은 소수성 아미노산 함량이 낮음에도 불구하고 높은 FRAP, ABTS 항산화능과 금속 킬레이트능을 보

였고, 대왕 오징어육의 Alcalase 가수분해물은 높은 ABTS 라디칼 소거능을 가지며 30 kDa 이하의 분자량 분포를 보였다(Gimenez et al., 2009). 북양 명태 표피에서 얻은 항산화 펩타이드는 C-말단에 Gly를 포함하는 Gly-Pro-Hyp의 반복적인 모티브를 가진다고 보고하였다(Kim et al., 2001). Nakajima et al.(2009)는 DPPH라디칼 소거능은 어종에 따른 유의차를 보이지 않는다고 보고하였다. 미세조류 부산물의 펩신 가수분해물에서 얻은 펩타이드 VECYGPNRPQF는 OH, superoxide, peroxy, DPPH 및 ABTS 라디칼을 포함하여 다양한 라디칼을 효과적으로 소거하였다(Sheih et al., 2009).

레닌-안지오텐신계의 활성 호르몬인 안지오텐신 II(A II, Asp-Arg_VI-Tyr-Ile-His-Pro-Phe)의 생산계를 억제하는 레닌저해제 및 ACE 저해제 그리고 수용체 레벨로 A II의 작용을 저해하는 A II 수용체 길항제는 1982년 captopril의 발매 이래 안전하고 유용한 혈압강하제로 평가되었으며, 현재 11종이 사용되고 있다. 돼지 근육단백질의 미오신을 thermolysine으로 가수분해하여 얻은 가수분해물 중에서 ACE 저해능을 가진 펩타이드의 아미노산 서열은 Met-Asn-Pro-Pro-Lys과 Ile-Thr-Thr-Asn-Pro 였고 각 펩타이드의 IC50 값은 945.5와 549 uM이었다(Arihara et al., 2001). 단백질분해효소 SM98011로 가수분해한 상어육 가수분해물을 한외여과, 겔 여과, 역상-hplc로 정제하여 새로운 CF, EY 및 MF의 ACE 저해 펩타이드를 얻었으며 각 펩타이드의 IC50 값은 1.96, 2.68 및 1.45 uM이었다(He et al, 2007; Wu et al., 2008). 위장관 소화효소와 같은 조건에서 가수분해하여 얻은 돼지육의 소화물에서 IC50값이 46.56 uM인 KAPVA를 확인하였으며, 근육 단백질 titin에서 유래한다고 보고하였다(Escudero et al., 2010). Beef rump에서 추출한 근형질 단백질의 thermolysine과 Proteinase A 가수분해물을 한외여과, 겔여과, 역상-hplc로 얻은 ACE 저해 펩타이드의 아미노산 서열은 Val-Leu-Ala-Gln-Tyr-Lys임을 확인하였다(Lee, 2005). 돼지 근육 단백질 troponin의 펩신 가수분해물에서 얻은 펩타이드 EKERERQ와 KRQKYDI는 각각 552.5와 26.2 uM의 IC50 값을 가지며, 경구 투여한 쥐에 대하여 3-6시간에서 혈압강하작용을 보였다(Katayama et al, 2008). 오리육 단백질 가수분해물을 막여과, 음이온교환, 겔여과, 정상 hplc로 얻은 Glu-Asp-Leu-Glu는 85.9 uM의 IC50을 보였다(Kim et al., 2003). 닭가슴육에서 GFHypGTHypGLHypGF의 ACE 저해 펩타이드(IC50=46 uM)를 단리하여 ACE 저해기작을 밝혔으며(Siaga et al., 2006a)펩타이드의 아미노산 서열 중에서 HypGLHypGF가 더 강한 ACE 저해능(IC50=10 uM)을 보였고, 펩타이드의 C-말단인 F를 제거하면 ACE 저해능이 25000 uM까지 증가하여 ACE 저해활성에 미치는 말단 아미노산의 중요성을 제시하였다(Saiga et al., 2003; 2006). 인공 위장관 효소로 소화시킨 뼈없는 닭다리 가수분해물에서 확인한 미오신 중쇄의 아미노산 서열 825에서 834에 해당하는 펩타이드 MNVKHWPWMK와 서열 125에서 135에 해당하는 VTVNPKWLP의 ACE 저해능(IC50)은 각각 228과 5.5 uM로서 캡토프릴의 0.022 uM에 비하여 월등히 높았다(Terashima et al., 2010). ACE 저해제에 관한 보고는 어육 부산물, 식물성 및 유단백질에 대하여 집중되어 있으며, 축육 부산물에 관한 연구는 거의 진행되어 있지 않다. 이 같은 원인은 축육 단백질이 다른 자원에 비하여 비교적 비싸

기 때문에 가수분해물로 이용할 필요가 dqjtrl 때문인 것으로 추정된다.

본 연구는 축육 부산물인 기계발골육에서 알칼리 pH 전이공정으로 단백질을 회수하고 Protamex와 bromelain의 2단 가수분해물에서 DPPH 라디칼 소거능과 ACE 저해능 있는 펩타이드를 한외여과, 음이온교환, 겔여과 크로마토그래피 및 역상-hplc법으로 정제하여 아미노산 결합서열을 확인하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 재료

MDCM은 경상남도 진주시 소재의 폐계육 처리공장에서 25 kg의 동결 블록의 포장 단위로 구입하여 계육 단백질 회수를 위한 원료로 사용하였다. 동결 MDCM은 실온의 수도수를 공급하면서 해동함과 동시에 포함된 혈액과 일부의 부유물질을 제거하고 1겹의 가아제를 칸 tray에서 수도수를 충분히 제거한 후 -20C에 동결 저장하면서 단백질 회수를 위한 시료로 사용하였다.

1단 가수분해 효소인 Protamex 1.5 MG와 bromelain(1200 GDU)는 Biosis(Pusan, Korea)에서 구입하였다. 분리 정제를 위한 acetonitrile과 증류수는 모두 HPLCrmq(Fisher Scientific Co., U.S.A.)를 사용하였으며, ACE 저해능 측정을 위한 angiotensin-I 전환효소(ACE)는 토끼의 허파에서 얻은 아세톤 침전분말(Sigma, A6778)을 사용하였고, 기질로 N-benzoyl-Gly-His-Leu(HHL, Sigma H1635)를 사용하였다. 그 외의 분석용 시약은 모두 Sigma-Aldrich 사(St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입하였다.

(나) 2단 효소 가수분해물의 제조

해동한 기계발골육에 10배량의 증류수를 가한 후 주문 제작한 산업용 호모게나이저(Myung Sung Electric Co., Dajeon, Korea)로 균질화하고 4-7°C의 저온실에 보관하면서 지방층이 보이지 않을 때까지 2겹의 가아제로 상층에 부유하는 지방을 제거하였다. 균질물에 최종농도 5%가 되도록 Protamex 1.5 MG를 첨가하여 43°C에서 1 시간 가수분해한 후, 6 N Hcl 용액으로 pH 7.0으로 조절하였다. pH를 조절한 1차 가수분해물에 최종농도 1%가 되도록 bromelain 1200GDU를 첨가하여 50°C에서 1시간 가수분해하고 중심온도 85°C에서 15 분동안 실활시켰다. 저온실에서 냉각하면서 부유하는 상층의 지방을 제거하고 5,000xg에서 20분 동안 원심분리(Supra 22K plus, Hanil Scientific Co., Dajeon, Korea)하여 상등액을 얻었다. 상등액으로 회수한 2차 가수분해물에 1:1의 비율이 되도록 ethanol을 첨가하여 불용성 단백질을 침전시켜 여과 판넬(Toyo No. 2)에서 여과하고, 40°C 이하에서 회전진공증발기로 ethanol을 증발시키고, 농축물은 동결건조하여 항산화 및 ACE 저해펩티드 정제를 위한 시료로 사용하였다.

(다) 이취제거 가수분해물의 제조

2단 가수분해물 95.5%에 닭 혼연액 1.9%, 닭기름 1.0%, 식물성 단백질 가수분해물 0.5%, 포도당 0.5%, xylose 0.5% 양과즙 0.5%를 첨가하여 95°C에서 50분 동안 갈변반응을 진행한 가수분해 제품을 동결건조하여 이취제거 가수분해물로 사용하였다.

(라) 총 아미노산 및 유리 아미노산의 분석

유리 시험관(1.2x25 cm)에 10 mg의 동결건조한 시료를 넣고 1 mL의 1%의 phenol을 포함한 12 N HCl을 가한 다음 탈기하면서 밀봉한 후 110°C의 heating block(HB-96D, Dainhan Scientific Co., Ltd, Seoul, Korea)에서 24시간 가수분해하였다. 상온에서 완전히 식힌 후 회전진공증발기(R-3000, Elyela, Tokyo, Japan)로 50°C 이하의 온도에서 HCl을 완전히 제거하고 탈이온수를 이용해 10 mL로 정용하였다. 정용한 시료를 0.20 µm nylon filter로 여과하고 40 µL를 아미노산 자동분석기(Biochrom 20, LKB Biocheom Ltd., Cambridge, U.K.)로 분석하였다.

한편 유리 아미노산 함량은 동결건조한 시료 0.5 g에 20 mL의 70% ethanol 을 가하고 실온에서 잘 혼합하여 유리 아미노산을 추출하여 2,500xg에서 15분 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 이 같은 조작을 1회 반복하여 얻은 상등액을 50°C 이하의 온도에서 회전진공증발기로 ethanol을 완전히 증발시킨 후 탈이온수를 이용해 10 mL로 정용하였다. 유리아미노산 추출 용액 5 mL에 5'-sulfosulysilic acid 150 mg을 가하여 침전 단백질을 제거한 후 0.20 µm nylon filter에 여과하여 아미노산 자동 분석기로 분석하였다.

(마) DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Park 등의 방법(2005)에 따라 측정하였다. 즉 시험관에 시료 용액 500 µL를 넣고, 500 µL의 ethanol과 250 µL의 0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)/ethanol 용액을 첨가하여 25°C의 실온에서 30분 동안 방치한 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 500 µL의 탈이온수를 사용하였으며, Blank 시험은 DPPH와 증류수 대신 750 µL의 ethanol을 사용하였다. Antiradical 활성은 다음의 식에 따라 DPPH 탈색의 %로 계산하였다.

$$\text{Antiradical 활성} = \frac{1 - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

(바) Angiotensin I-converting enzyme(ACE) 저해능의 측정

ACE 저해활성은 Wu et al.의 방법(2002)을 다소 변형하여 측정하였다. 즉 0.3 M NaCl을 포함한 0.1 M borate 완충액(pH 8.3)을 용매로 5 mM N-benzoyl-Gly-His-Leu(HHL, Sigma H1635)와 0.25mUnit의 ACE를 제조하였다. Eppendorf tube에 시료 40 µL, ACE 150 µL를 첨가하여 37°C 항온수조에서 30분간 교반하면서 반응시켰다. 반응 종결 후 150 µL의 1

M HCl을 가하여 효소 반응을 중지시킨 다음 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리(5415C, Eppendorf, Hamburg, Germany)하여 상등액을 취하였다. 유리 hippuric acid의 함량은 역상 칼럼(Watchers 120 ODS-AP, 4.6x250 mm, 5 um, Daiso, Japan)을 장착한 HPLC(Hitachi, Tokyo, Japan)에 20 uL를 주입하여 측정하였다. 분리를 위해 A 용매로 0.1% TFA를 포함한 증류수를 사용하였고, B 용매로 0.1%를 TFA를 포함하는 100% acetonitrile을 사용하였다. 농도 구배는 5-60% B 용매/20 min의 조건으로 선형 균배하면서 228 nm에서 흡광도로 검출하였다. 대조구 용액은 시료 대신 20 uL의 A 용매를 사용하였고 유속은 1 mL/min의 조건으로 용출하였다. 효소 저해능은 다음의 식으로 계산하였으며 시료 농도별로 ACE 저해활성을 측정하여 농도별 저해활성을 선형 회귀분석하였다. 그리고 ACE 저해활성의 50%를 저해하는 데 필요한 시료의 농도를 IC50으로 정의하였다.

$$\text{ACE 저해능(\%)} = [(\text{대조구의 HA} - \text{시료의 HA}) / \text{대조구의 HA}] \times 100$$

(사) DPPH 라디칼 소거능 및 ACE 저해 펩타이드의 정제

DPPH 라디칼 소거능과 ACE 저해능을 가진 펩타이드 정제를 위한 칼럼 크로마토그래피의 조건은 Table 157과 같다. 즉 DPPH 라디칼 소거능 및 ACE 저해 펩타이드를 정제하기 위해 동결건조한 시료를 0.5 g을 12 mL의 20 mM Tris-Cl (pH 8.0)에 용해시키고 HiLoad 16/10 Q-Sepharose 칼럼(16x100 mm)에 5 mL를 injection하였다. 1 mL/min의 유속에서 1 칼럼 부피의 20 mM Tris-Cl(pH 7.5)로 비결합 물질을 세척한 후 100 mL의 0.75 M NaCl을 포함하는 20 mM Tris-Cl(pH 7.5)으로 선형 균배하여 수지에 결합한 물질을 용출하였다. 펩타이드는 254 nm에서 검출하였고, 2 mL를 분획하였다. DPPH 활성을 보이는 분획을 모아 Amicon Stirrer cell(MWCO, 10 kDa)에서 농축한 후 superdex peptide 칼럼(10x300 mm)에 injection하고 20 mM Tris-Cl(pH 7.5) 용액으로 용출하였다. 이때 유속은 0.5 mL/min을 사용하였고, 216 nm와 254 nm에서 검출하였으며, 1 mL 씩 분획하였다. DPPH 라디칼 소거능과 ACE 활성 분획을 모아 Micro-Cenvac(NB-503CIR, N-Biot다 Inc., Seoul, Korea)에서 농축하였다. 농축물을 최소량의 0.1% TFA를 포함하는 증류수에 녹여 Source 5RPC ST 칼럼(46x150mm)에 injection하고 1 칼럼 부피로 세척한 다음 0.09% TFA를 포함하는 60% acetonitrile 용액 90 mL로 선형 균배 용출하였다. 유속은 1 mL/min을 사용하였고, 214 nm와 254 nm에서 검출하였다. DPPH 라디칼 소거능과 ACE 저해 활성을 보이는 분획을 모아 Micro-Cenvac에서 농축하여 MALDI-TOF 질량분석과 Edman 법에 의한 아미노산 서열 분석용 시료로 사용하였다.

Table 157. Column chromatography conditions for purification of bioactive peptides

Chromatography	Column	Solvent	Flow rate	Detection
Anion-exchange	HiLoad Q-Sepharose (16x100 mm)	A: 20 mM Tris-Cl, pH 7.5 B: 0.75 M NaCl-20 mM Tris-Cl, pH 7.5	0.5 mL/min	254 nm
Size exclusion	Superdex peptide (10x300 mm)	A: 20 mM Tris-Cl, pH 7.5	1 mL/min	216 nm 254 nm
Reversed phase	Source 5RPC ST (4.6x150 mm)	A: 0.1% TFA/water B: 0.09% TFA/60% ACN	1 mL/min	214 nm 254 nm

(아) 아미노산 서열 분석

DPPH 라디칼 소거능과 ACE 저해 펩타이드의 아미산 서열을 결정하기 위해 역상 크로마토그래피로 얻은 분획물을 Micro-Centvac에서 완전히 건조시켰다. 건조한 시료를 20 uL의 0.1% TFA를 포함한 증류수에 용해시키고 시료 중의 염을 제거하기 위해 50% acetonitrile로 활성화시켜 0.1% TFA를 포함하는 증류수로 평행시킨 ZipTip C18(Pierce #87782)에 loading하였다. 0.1% TFA를 포함하는 증류수로 2-3회 세척하고 ZipTip C18에 결합된 펩타이드를 0.1% TFA를 포함하는 70% acetonitrile 용액을 용출하였다. 용출한 펩타이드 용액을 biobrene(AB Systems Co., U.S.A.)이 전처리된 microfilter에 10 uL를 loading하고 아르곤 가스로 건조시켰다. 건조가 끝난 filter를 cartridge에 장착하여 아미노산 자동 서열기(ABI492 automated protein sequencer, Applied Biosystem, Foster, CA, U.S.A.)의 pulsed-liquid 법을 통해 아미노산 서열을 결정하였다.

(자) ESI/Q-TOF 분석

전기분무 이온화(ESI)법을 이용하여 질량분석기로 분자량 오온 및 분해된 이온을 검출하여 정제된 펩타이드 분자량을 확인하였다. 질량스펙트럼은 Q-TOF2(Micromass, U.K.) 질량분석기에 Nano-ESI interface를 이용하여 data dependant MS/MS 방법으로 얻었다.

(차) 펩타이드 합성

펩타이드는 ASP48S(Peptron Inc., Dajeon, Korea)를 이용하여 Fmoc 고상 펩타이드 합성을 수행하고 Vydac Everest C18 칼럼(22x250 mm, 10 um)를 사용하여 역상 HPLC로 정제하였다. 즉 펩타이드의 C-말단에 첫 번째 아미노산이 수지에 부착된 것을 사용하여 Na-말단이 Fmoc로 보호된 아미노산을 순서에 따라 부착하였으며 잔기는 TFA에서 제거되는 보호기를 사용하였다. coupling 시약으로 HBTU/HOBt/NMM을 사용하였으며, Fmoc의 제거는 20% piperidine/DMF를 사용하였다. 합성 펩타이드를 수지에서 분리하고 잔기의 보호기 제거를 위해 TFA/EDT/thioanisole/TIS/H2O(90/2.5/2.5/2.5/2.5, v/v)를 사용하였다. 펩타이드는 0.1% TFA를 포함하는 40% acetonitrile 용액으로 선형 균배하여 용출하였다. 정제한 펩타이드의 분

자량은 LC/MS (Agilent HP1100 시리즈)로 확정하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 일반성분

시료로 사용한 MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질, 이취제거 가수분해물과 초임계 추출 건조물의 조단백질 함량은 각각 $56.4 \pm 0.8\%$, 52.1 ± 0.7 및 $74.7 \pm 0.4\%$ 로서 이 큰 차이를 보이고 있었다(Table 158).

Table 158. Proximate composition of the MDCM hydrolysate, deodorizing hydrolysate and CO₂ supercritical extract (%)

	Moisture	Crude protein	Crude Fat	Ash	Carbohydrate
MDCM hydrolysate	6.0 ± 0.1	56.4 ± 0.8	3.5 ± 0.1	30.6 ± 0.2	3.5
Deodorizing hydrolysate	6.5 ± 0.1	52.1 ± 0.7	25.2 ± 0.4	7.9 ± 0.5	8.4
CO ₂ supercritical extract	4.5 ± 0.2	74.7 ± 0.4	8.6 ± 0.2	3.2 ± 0.7	9

이취제거 가수분해물은 지방 함량이 $25.2 \pm 0.4\%$ 로서 현저히 높았고, 초임계 추출물 역시 $8.6 \pm 0.2\%$ 로서 높았다. 이 같이 높은 지방함량은 펩타이드 정제에 방해가 된다. 한편 MDCM pH 전이 회수단백질의 가수분해물은 회분의 함량이 $30.6 \pm 0.2\%$ 로서 대단히 높은 비율을 점하고 있었으나, 펩타이드 정제 시 문제가 되지 않고 단백질 함량이 비교적 높아 펩타이드 정제를 위한 가장 적절한 시료인 것으로 판단하였다.

(나) 전 아미노산과 유리아미노산의 함량

MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질과 이취제거 가수분해물의 전 아미노산 함량은 각각 $52.80\text{g}/100\text{g}$ 및 $48.12\text{ g}/100\text{g}$ 으로서 조단백질 함량의 93.6%와 92.4%가 회수되었다(Table 159). 각각의 가수분해물에서 glutamic acid가 가장 많았고, lysine, aspartic acid의 순으로 함량이 높았으나, proline 함량은 MDCM 가수분해물은 $7.82\text{ g}/100\text{g}$ 이었으나, 이취제거 가수분해물에서는 검출되지 않은 것이 특이적이었다. 이취제거 가수분해물에서 cysteine 함량이 다소 높게 나타난 것은 maillard 반응을 위해 첨가한 cysteine에 기인한다.

Table 159. Total amino acid composition of MDCM and deodorizing hydrolysates (g/100 g hydrolysate)

Amino acid	MDCM hydrolysate	Deodorizing hydrolysate
Asp	4.50	4.37
Thr	1.95	1.57
Ser	2.15	1.70
Glu	7.88	9.79
Pro	7.82	0.00
Gly	2.59	2.33
Ala	3.33	3.79
Cys	0.29	0.58
Val	2.35	2.68
Met	1.11	1.14
Ile	1.98	2.16
Leu	3.74	3.83
Tyr	1.59	1.37
Phe	2.11	1.92
His	1.39	1.42
Lys	4.43	5.35
Ammonia	0.92	1.42
Arg	2.66	2.71
Total	52.80	48.12

유리아미노산 함량은 MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질과 이취제거 가수분해물의 유리아미노산 함량은 각각 17.649 g/100 g과 26.373 g/100g으로서(Table 160) 전 아미노산 함량의 33.4%과 54.8%에 해당하여 약 66.6%와 45.2%가 아미노산 자동 검출기에서 확인되지 않는 펩타이드 인 것으로 추정된다. MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질 가수분해물의 유리아미노산 중에서 proline과 hydroxyproline의 함량이 전체 유리아미노산의 53.9%를 차지하였고, 이취제거 가수분해물에서는 proline은 확인되지 않았으나 hydroxyproline의 함량의 54.3%를 차지하여 주요 유리아미노산임을 확인하였다. 그 외의 유리아미노산으로서 glutamic acid, leucine, phenylalanine, lysine이 풍부하였다.

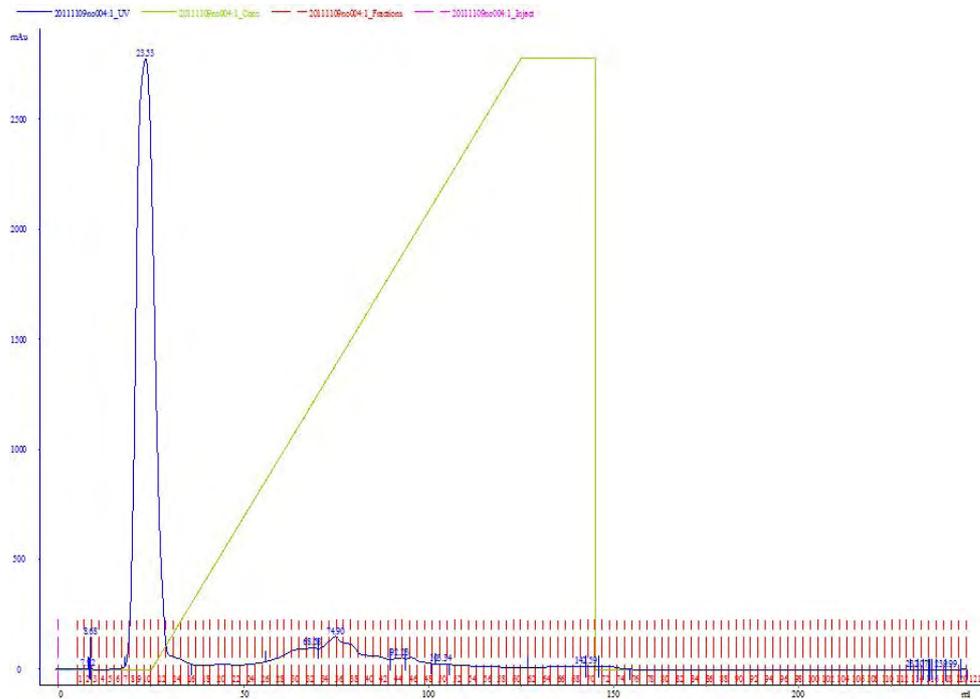
Table 160. Free amino acid composition of MDCM and deodorizing hydrolysates (mg/100 g-hydrolysate)

Amino acid	MDCM hydrolysate	Deodorizing hydrolysate
Phosphoserine	43.0	-
Taurine	265.4	96.6
Hydroxyproline	7743.0	14322.6
Threonine	155.9	192.6
Serine	166.0	147.8
Glutamic acid	633.1	1646.2
α -Amino adipic acid	146.5	-
Proline	1774.6	-
Glycine	319.6	209.9
Alanine	491.7	1342.4
Citrulline	-	145.9
α -aminobutylic acid	138.1	518.1
Valine	364.8	905.1
Cysteine	14.6	35.8
Methionine	515.5	566.8
Cystathion	34.1	123.7
Isoleucine	217.0	746.0
Leucine	1229.5	1563.0
Tyrosine	131.5	292.1
β -Alanine	71.6	-
Phenylalanine	612.2	686.7
α -Aminoisobutylic acid	-	51.6
Homocysteine	71.6	14.9
γ -aminobutylic acid	-	348.5
Ethanolamine	-	83.1
Ammonia	291.0	264.2
Hydroxylysine	83.2	178.0
Ornithine	278.5	295.0
Lysine	651.6	832.8
Histidine	293.6	282.9
3-Methylhistidine	48.7	-
Anserine	296.1	332.3
Carnosine	229.7	47.2
Arginine	337.0	101.7
Total	17648.8	26373.2

(다) 기능성 펩타이드의 정제

MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질을 Protamex와 bromelain으로 2단 가수분해하여 얻은 가수분해물의 동결 건조물 0.5 g을 12 mL의 20 mM Tris-Cl (pH 7.5)에 용해시켜 Q-Sepharose 칼럼(16x100 mm)에 injection하여 0.75 M NaCl을 포함한 20 mM Tris-Cl (pH 7.5)로 선형 균배하여 펩타이드를 용출하였다(Fig. 38). 비흡착 영역에서 2개의 peak(Fr1과 Fr2)와 균배 용출에서 6개의 분리 peak를 얻었으며(FR 3-8), Fr 2는 44.3%의 DPPH 활성 소

거능은 나타난 반면, Fr 6, 7, 8은 각각 0.4%, 6.1%, 24.2%의 ACE 저해능을 보였다. 이 같은 결과는 DPPH 라디칼 소거능과 ACE 저해능을 보이는 펩타이드의 전기적 성질에 차이가 있음을 가르킨다.



Elution volume, mL

Fig. 38. Q-Sepharose chromatogram of MDCM hydrolysate.

음이온교환 칼럼에서 가장 큰 DPPH 소거능과 ACE 저해능을 보인 분획 2와 8을 모아서 Micro-Centrivac에서 농축한 후 Superdex peptide 칼럼(10x300 mm)에 200 uL를 injection하여 분자량 크기 배제 크로마토그래피를 수행하였다. DPPH 라디칼 소거능을 보이는 Q-Sepharose 분획 2는 크기 배제 크로마토그래피 상에서 총 6개의 peak(2-20, 2-21, 2-23, 2-26, 2-29, 2-36)로 분리되었으며(Fig. 39a), ACE 저해능을 보이는 Q-Sepharose 분획 8은 크기 배제 크로마토그래피 상에서 총 6개의 peak(8-19, 8-22, 8-23, 8-26, 8-29, 36-6)를 보였다(Fig. 39b).

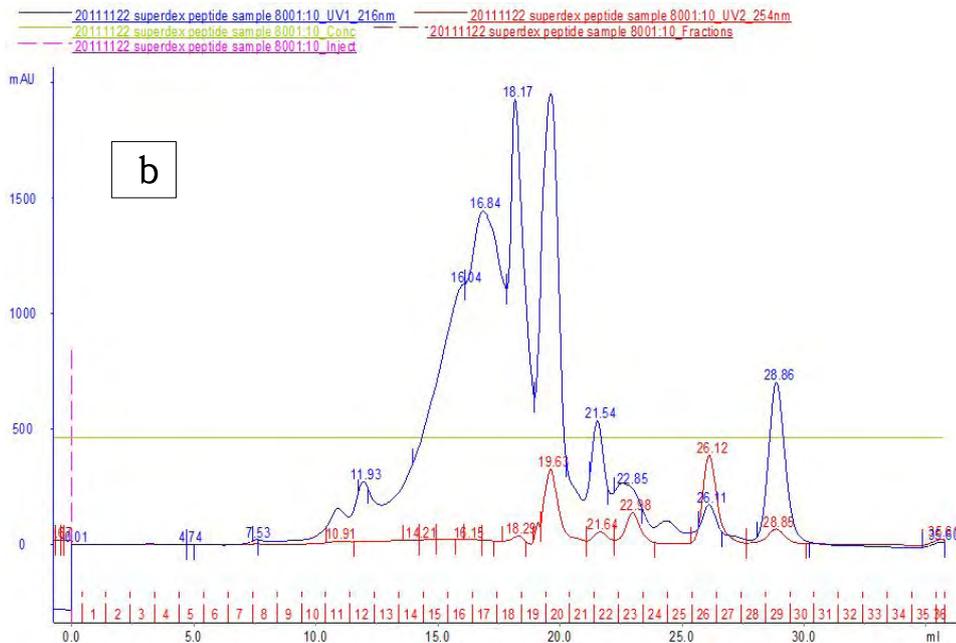
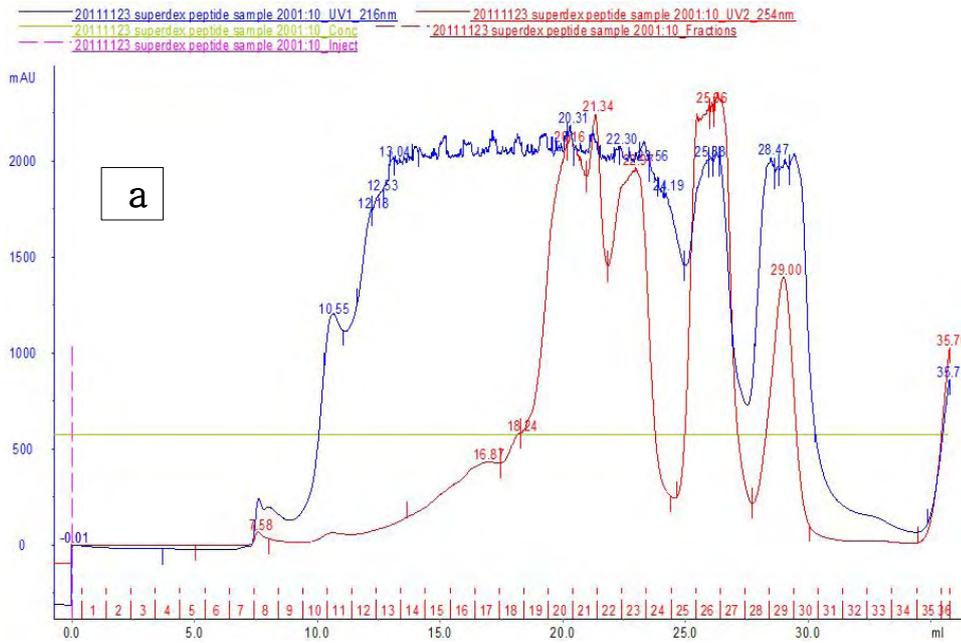


Fig. 39. Size exclusion chromatogram of the active fraction from Q-Sepharsoe 2 (a) and 8 (b) fraction.

크기배제 크로마토그래피에서 DPPH 라디칼 소거능은 2-20의 peak에서만 2.57%의 활성을 보인 반면, ACE 저해능은 2-20, 2-29, 2-36, 8-19, 8-22, 8-23, 8-24 peak에서 각각 5.1%, 12.7%, 15.5%, 11.1%, 11.2%, 11.4%, 13.0%를 나타내었다. 크기 배제 크로마토그래피에서 DPPH 라디칼 소거능과 ACE 저해능을 보인 총 7개의 peak들을 각각 Source 5 RPC ST 칼

럼(4.6x150 mm)에서 0.09% TFA를 포함한 60% acetonitrile 용매로 균배용출하여 214 nm와 254 nm에서 분릿되는 펩타이드를 검출하고 각 peak들의 생물활성을 측정하였다. 크기 배제 크로마토그램에서 얻은 2-20의 역상 HPLC 크로마토그램 상은 Fig. 40과 같았으며, 주요 peak의 DPPH 라디칼 소거능과 AC 저해능은 Table 161과 같이 2-20-3 분획과 2-20-21분획이 각각 4.85%와 3.95%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였으나, 2-20-3의 분획은 injection 후 2.95 mL에 용출되는 획분으로 오염의 여지가 있어 DPPH 라디칼 소거능의 아미노산 서열 분석을 위해 2-20-20과 21 획분을 취하였다.

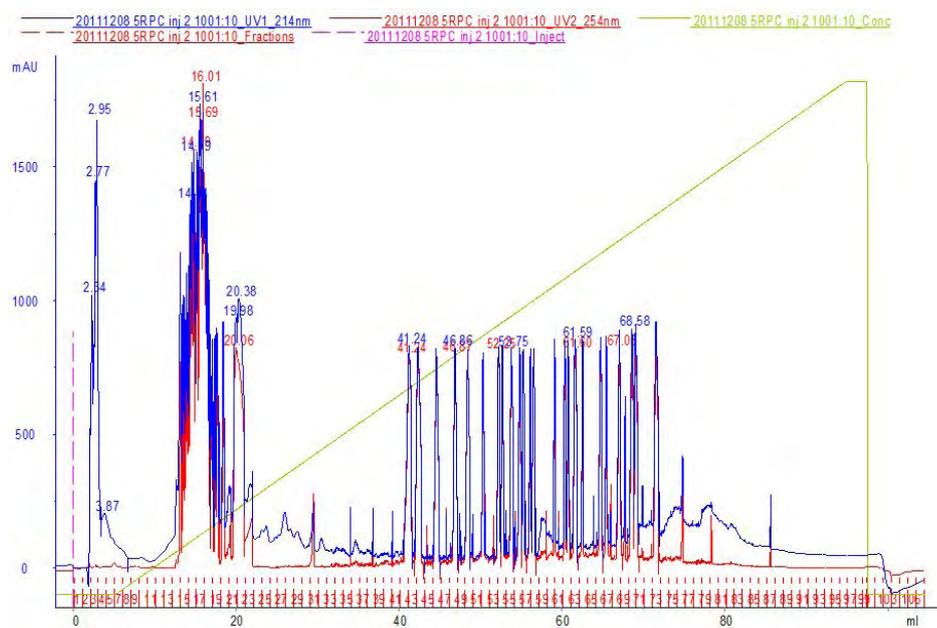


Fig. 40. Reversed phase chromatogram of the DPPH active fraction from Superdex peptide HR.

Table 161. DPPH radical scavenging activity and ACE inhibition (%) after reversed phase chromatography.

Fraction	DPPH radical scavenging activity	ACE inhibition
2-20-3	4.85	-
2-20-21~22	3.95	-
2-1-55	-	1.7
2-1-67	-	5.2
2-1-68	-	2.5
2-1-70	-	2.6

한편 크기 배제 크로마토그래피에서 비교적 높은 12.7%와 15.5%의 ACE 저해능을 보이는

2-29와 2-36 분획을 역상 크로마토그래피(Fig. 41)하여 주요 peak의 ACE 저해능을 확인한 결과, 2-29의 17번과 19번 분획 및 2-36의 17번과 19번 분획에서 각각 2%, 4%, 1% 및 0.7%의 ACE 저해능을 보였다. 이 같이 대단히 약한 ACE 저해능은 Lowry법으로 단백질 농도가 검출되지 않는 것에 미루어 분획 단계 중에 펩타이드의 농도가 상대적으로 현저히 감소하였기 때문인 것으로 추정된다.

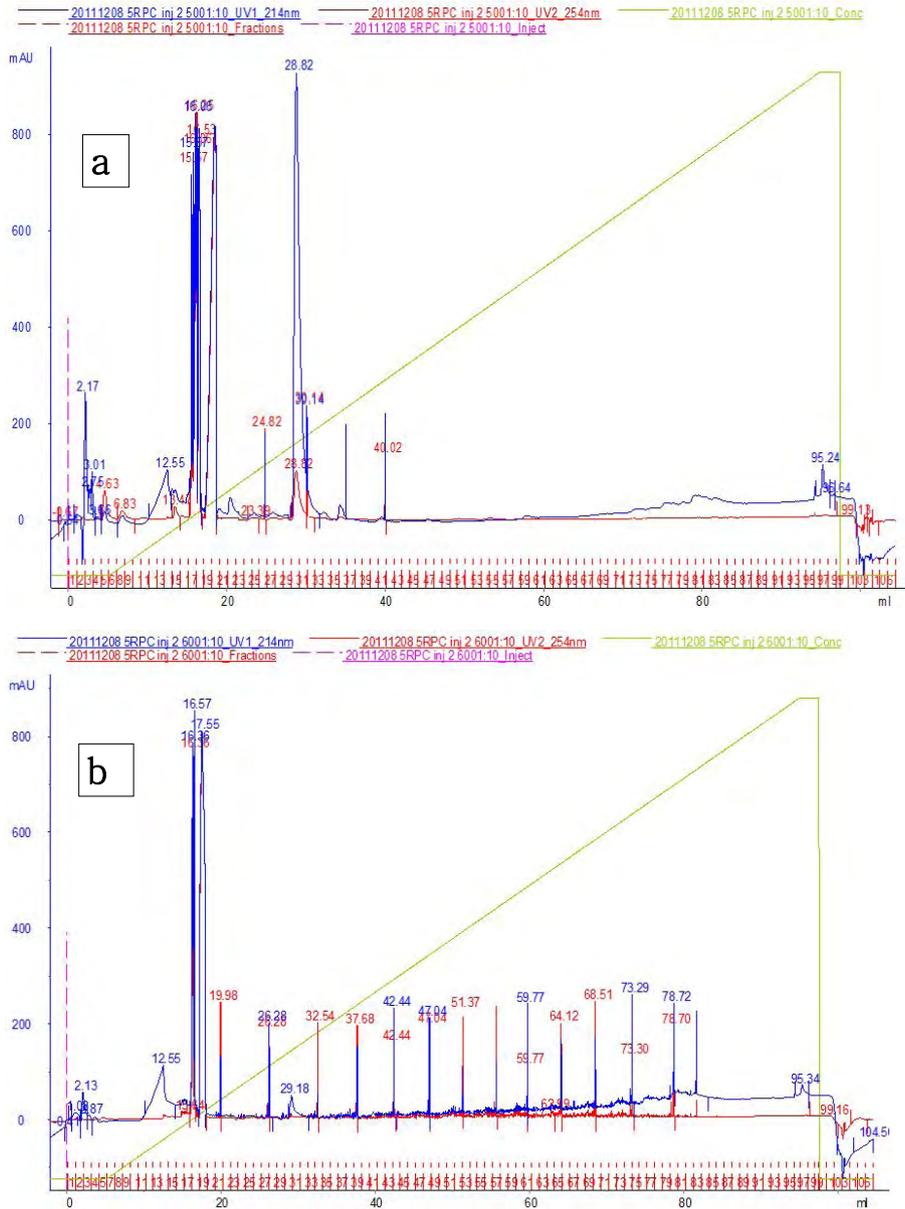


Fig. 41. Reversed phase chromatogram of the ACE active 2-29 (a) and 2-36 (b) fractions from Superdex peptide HR.

(라) 정제 펩타이드의 분자량 분포와 아미노산 서열

정제한 DPPH 라디칼 소거능을 보이는 펩타이드는 MALDI-TOF 상에서 500 Da까지

는 CHCA matrix와 구분되는 주요 peak를 관찰할 수 없었다. 이 같은 결과는 아미노산 서열 분석을 위해 정제한 펩타이드의 분자량이 500 Da 이상에 해당함을 제시한다. 그러나 700 Da 이상에서는 CHCA matrix와 구분되는 소수의 minor peak가 관측되는 것에 미루어 정제 펩타이드의 분자량은 700 Da 이상임을 추정하였으며(Fig. 42), DPPH 활성을 보이는 아미노산 서열은 Table 6과 같다. 그러나 아미노산 서열 분석 중 중복되거나 불명으로 나타난 서열이 많아 정확한 아미노산 서열의 추정은 불가능하였다. 이 같은 결과는 DPPH 라디칼 소거능의 정확한 아미노산 서열을 확인하기 위해 몇 단계의 정제 과정이 더 필요함을 제시한다.

ACE 저해 펩타이드의 정제물은 모두 500 Da 미만의 분자량에서 CHCA matrix와 차이를 보이는 주요 peak를 확인하였고(Fig. 42) 총 5개 펩타이드의 아미노산 결합서열을 확인하였다(Table 162). 그러나 아미노산 서열 중 leucine은 isoleucine과 분자량이 동일한 이성체로서 본 연구에 사용한 질량 분석기로 확인할 수 없었다. 따라서 합성 펩타이드는 모두 leucine 잔기로 합성하였다. 확인한 아미노산 서열 중 LY는 Herregods et al.(2011)이 송아지 켈라틴의 thermolysin 가수분해물에서 분리 정제하였으나, YAK, LTK, TYP 및 FQNPD는 MDCM 가수분해물에서 새로이 확인하였고 각각의 IC₅₀ 값은 0.197, 0.171, 22.585 및 1.908 μ M이었다.

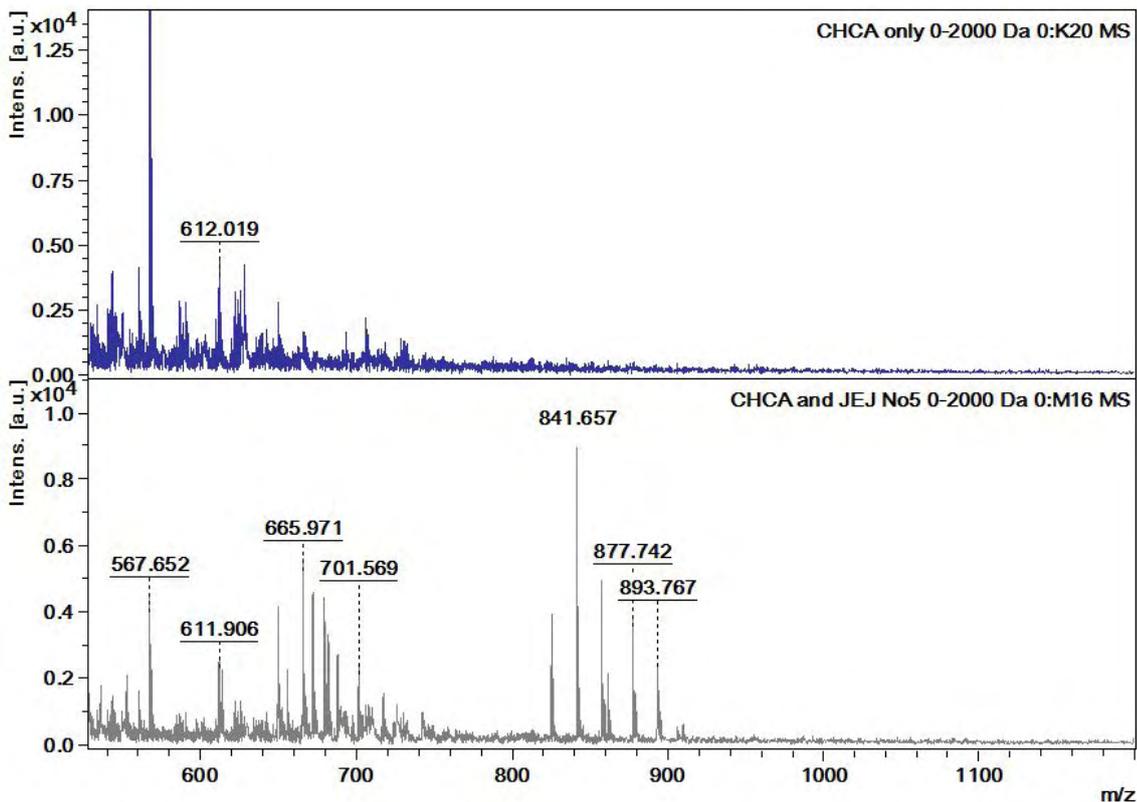


Fig. 42. Mass spectrum of the purified peptides for DPPH scavenging activities from MDCM hydrolysate.

Table 162. Amino acid sequence of purified peptides from MDCM hydrolysate

DPPH scavenging peptide		ACE inhibition peptide	
Peptide	EC50	Peptide	IC50, uM
K(G)L(G)G(S,L)XX	–	YAK	0.197
GGXXX	–	LTK	0.171
KG(L,Q)G(Q)G(E)X	–	LY	2.344
XG(L,P)XR(Q)Y	–	TYP	22.585
XQPQX	–	FQNPD	1.908
XQPQV	–		

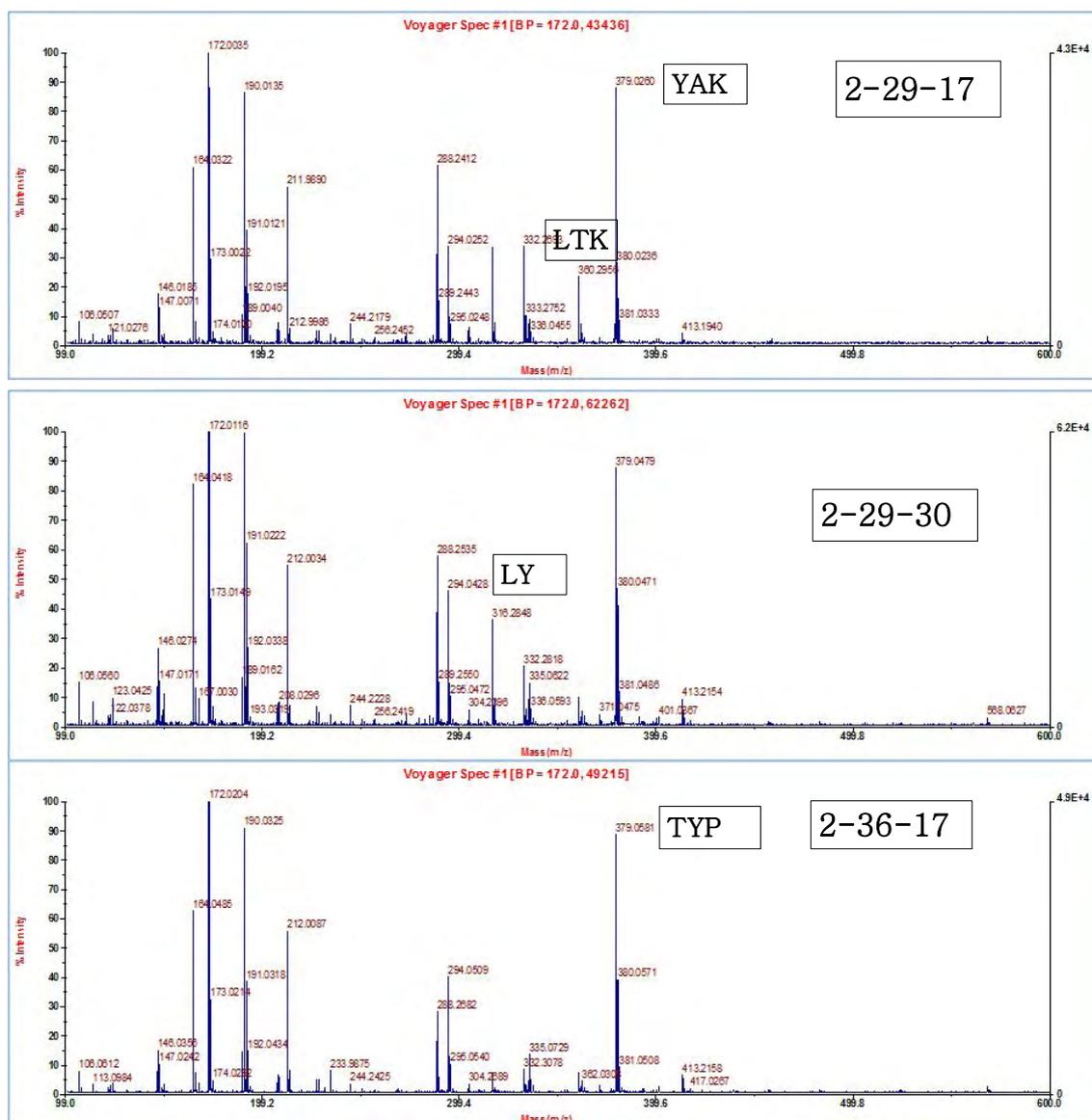


Fig. 43. Mass spectrum of the purified peptides for ACE inhibitory from MDCM hydrolysate.

(마) 합성 펩타이드의 정제

합성한 ACE 저해 펩타이드는 HPLC에서 단일의 peak를 나타내었으며(Fig. 43), YAK, LTK, LY, TYP 및 FQNPD의 retention time은 각각 2.300, 2.208, 9.875, 4.617 및 6.025분 이었다. 한편 합성 펩타이드는 MALDI-TOF 질량 분석기에서 단일 peak의 분자량을 나타내고 있었다.

(4) 요약

MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질의 Protamex와 bromelain 2단 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 및 ACE 저해펩타이드를 한외여과, 음이온 교환수지 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 및 역상 크로마토그래피로 정제하였다. 정제한 DPPH 라디칼 소거능을 가진 펩타이드의 아미노산 서열은 K(G)L(G)G(S,L)XX, GGXXX, KG(L,Q)G(Q)G(E)X, XG(L,P)XR(Q)Y, XQPQX, XQPQV로서 분명한 아미노산 서열을 확인하지 못했다. 한편 ACE 저해 펩타이드는 YAK, LTK, LY, TYP 및 FQNPD의 아미노산 서열을 확인하였으며, IC₅₀ 은 각각 0.197 uM, 0.171 uM, 2.344 uM, 22.585 uM 및 1.908 uM 이었다.

(5) 참고문헌

1. Arihara K, Nakashima Y, Mukai T, Ishikawa S, Titoh M. 2001. Peptide inhibitors for angiotensin I-converting enzyme from enzymatic hydrolysates of porcine skeletal muscle proteins. *Meat Sci.* 57:319-324.
2. Escudero E, Sentandreu MA, Arihara K, Toldra F. 2010. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides generated from in vitro gastrointestinal digestion of pork meat. *J. Agric. Food Chem.* 58:2895-2901.
3. Gimenez B, Aleman A, Montero P, Gomez-Guillen MC. 2009. Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chem.* 114:976-983.
4. Herregods G, Camp JV, Morel N, Ghesquiere B, Gevaert K, Vercruyse L, Dierckx S, Quanten E, Smagghe G. 2011. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of gelatin hydrolysates and identification of bioactive peptides. *J. Agric. Food Chem.* 59:552-558.
5. He HL, Chen XL, Sun CY, Zhang YZ, Zhou BC. 2007. High throughput and rapid screening of marine protein hydrolysates enriched in peptides with angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity by capillary electrophoresis. *Bioresour Technol.* 98:3499-3505.
6. Katayama K, Anggraeni HE, Mori T, Ahhmed AM, Kawahara S, Sugiyama M,

- Nakayama T, Maruyama M, Muguruma M. 2008. Porcine skeletal muscle troponin is a good source of peptides with angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity and antihypertensive effects in spontaneously hypertensive rats. *J. Agric. Food Chem.* 56:355-360.
7. Kim SK, Kim YT, Byun HG, Nam KS, Joo DS, Shahidi F. 2001. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollock skin. *J. Agric Food Chem.* 49:1984-1989.
 8. Kim SY, Kim SH, Song KB. 2003. Purification of an ACE inhibitory peptide from hydrolysates of duck meat protein. *Nutraceutical and Food* 8:66-69.
 9. Klompong V, Benjakul S, Kantachote D, Shahidi F. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chem.* 102:1317-1327.
 10. Lee AJM. 2005. Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from beef hydrolysates. *Meat Sci.* 69:653-661.
 11. Nakajima K, Yoshie-Stark Y, Ogushi M. 2009. Comparison of ACE inhibitory and DPPH radical scavenging activities of fish muscle hydrolysates. *Food Chem.* 114:844-851.
 12. Park EY, Murakami H, Mori O, Matsumura Y. 2005. Effect of protein and peptide addition on lipid oxidation in powder model system. *J. Agric. Food Chem.* 53:137-144.
 13. Saiga A, Okumura T, Makihara T, Katsuta S, Shimizu T, Yamada R, Nishimura T. 2003. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in a hydrolyzed chicken breast muscle extract. *J. Agric. Food Chem.* 51:1741-1745.
 14. Saiga A, Okumura T, Makihara T, Katsuda SI, Morimatsu F, Nishimura T. 2006. Action mechanism of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from chicken breast muscle. *J. Agric. Food Chem.* 54:942-945.
 15. Samaranayaka AGP, Li-Chan ECY. 2008. Autolysis-assisted production of fish protein hydrolysates with antioxidant properties from Pacific hake (*Merluccius productus*). *Food Chem.* 107:768-776.
 16. Sheih IC, Wu TK, Fang TJ. 2009. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. *Bioresource Technol.*, 100:3419-3425.
 17. Terashima M, Baba T, Ikemoto N, Katayama M, Morimoto T, Matsumura S. 2010. Novel angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from boneless chicken leg meat. *J. Agric. Food Chem.* 58:7432-7436.

18. Theodore AE, Raghavan S, Kristinsson HG. 2008. Antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolates. *J. Agric. Food Ceh.*, 56:7459-7466.
19. Thiansilakul Y, Benjakul S, Shahidi F. 2007. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using Alcalase and Flavourzyme. *J. Food Biochem.*, 31:266-287.
20. Wu J, Aluko RE, Muir AD. 2002. Improved method for direct high-performance liquid chromatography assay of anhiotensin converting enzyme-catalyzed reactions. *J. Chromatography A.* 950:125-130.

3. 합성 펩티드의 안전성 검증(3차년)

가. MDCM 회수단백질로 제조한 2단 가수분해물과 합성 펩티드의 안전성

(1) 서론

약물이 독성을 가지는 경우 투여량이 제한을 받기 때문에 약물의 독성이 감소된 전구약물을 설계하여 투여하면 모 화합물에 비하여 치료계수를 개선할 수 있다 한편 건강 기능식품의 안전성과 기능성이 과학학적으로 입증되어야 하며, 제품의 섭취시 안전성이 보장되고 기능성이 나타날 수 있도록 일일섭취량, 섭취횟수, 섭취방법을 설정해야한다(Kim and Shin, 2004). 본 연구에 사용한 합성펩타이드는 기원을 MDCM pH 전이 회수단백질의 가수분해물에 근거를 두고 있고, MDCM은 육제품의 가공 원료로 사용하고 있어서 원료의 기원과 관련한 안전성은 확보되어 있다고 할 수 있다. 그러나 합성 펩타이드로서 안전성을 확인할 필요가 있다.

본 연구는 MDCM 알칼리 pH 전이 회수 단백질 가수분해물과 가수분해물 중에서 확인된 ACE 저해능을 가진 합성 펩타이드의 기능성과 안전성을 확인할 목적으로 항균활성, 항산화능, 항고혈압성, 항면역 기능을 평가하였고, 세포독성, 용혈성 및 발암성을 확인하였다.

(2) 재료 및 방법

(가) 재료

실험에 사용한 Protaemx와 bromelain 2단 가수분해물은 전보에 따라 제조하였으며, 합성 펩타이드는 전보에 따라 고상합성법으로 합성한 YAK, LTK, LY, TYP 및 FQNPD의 아미노산 서열을 가진 합성 펩타이드를 사용하였다.

본 실험에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MI, USA)에서 구입하여 사용하였다. 세포 실험에 사용된 배지는 Dulbecco's modified Eagle's Medium(DMEM), RPMI 1640 및 fetal bovine serum(FBS)은 Hyclone Co.(Logan, UT, USA)의 제품을 사용하였고, penicillin-streptomycin 혼합용액, lipopolysaccharide(LPS) 등은 Sigma Co.(St. Louis, MO,

USA)에서 구입하였으며 MTT[3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-5-carboxy-methoxyphenyl]-2-(4-sulfo-phenyl)-2H-tetrazolium]는 Promega Co.(Medison, WI, USA)에서 구입하였다. 배양에 관련된 기기는 NUNC Co.(Langensfeld, Germany)의 제품을 사용하였다.

실험에 사용한 세포주는 모두 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 각 세포주를 10 cm well plate에서 배양하여 1주일에 2-3회 계대하였으며, 배지는 10% FBS 배지를 함유한 성장배지를 이용하였다. 세포주는 습도 95%, 5% CO₂, 36.5°C로 조절된 배양기에서 배양하였으며, 배지는 2일에 한번 씩 교환하였다.

(나) 세포독성의 측정

세포독성은 정상 간세포인 Chang cell로 확인하였다. 즉 세포 배양용 플라스크에 배양한 Chang cell을 10% FBS가 함유된 MEM 배지로 배양하였다. 1×10^4 cells/well의 농도로 96 well plate에 분주하고, 24시간 동안 35°C, 습도 95%, CO₂ 5%로 조절된 CO₂배양기에서 배양하였다. 새로운 배지에 시료를 최종 농도가 50, 100, 200 및 300 µg/mL이 되도록 녹여 세포주에 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 세포 증식률은 모두 Promega사에서 구입한 CellTiter 96[®] Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay를 이용하여 microplate reader(Perkin Elmer 1420, VICTOR[™] X Multilabel Plate Readers, Waltham, MA, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 생존율은 시료를 처리하지 않은 대조군에 대비한 시료 처리군의 흡광도로 표시하였다.

항염증 효능을 알아보기 위하여 이 시료의 RAW 264.7 cell에 대한 독성 유무를 확인하였다. 즉 세포 배양용 플라스크에 배양한 RAW 264.7 cell을 10% FBS가 함유된 Dulbecco's modified Eagle's Medium(DMEM) 배지로 배양하였다. 1×10^4 cells/well의 농도로 96 well plate에 분주하고, 24시간 동안 35°C, 습도 95%, CO₂ 5%로 조절된 CO₂배양기에서 배양하였다. 새로운 배지에 시료를 최종 농도가 50, 100, 200 및 300 µg/mL이 되도록 녹여 세포주에 처리한 후 24시간 동안 배양하여, 시료를 처리하지 않은 대조군에 대비한 시료 처리군의 흡광도로 세포 생존률을 측정하였다.

(다) 간보호활성의 측정

간세포주인 Chang 세포는 10% FBS, 10% NEAA(non essential amino acid) 와 10% Sodium pyruvate가 함유된 MEM(modified Eagle's Medium) 배지를 사용하여 37°C에서 5% CO₂가 유지되도록 배양하였다. 이 때 세포의 오염이나 증식을 억제하기 위해 Penicillin (100units/ml)과 Streptomycin(100 ug/ml)을 배지에 첨가하였다. 세포가 80% 정도 dish를 덮으면 phosphated-buffered saline-EDTA(PBS-EDTA)로 세척한 후 trypsin 처리하여 계대 배양하였으며 배지는 48시간마다 교환하였다.

Chang cell을 96 well plate에 세포농도 1×10^5 cells/ml로 100 µl씩을 분주한 후 세포부착을 위해 37°C, 5% CO₂ 가 유지되도록 배양하였다. 24시간 배양한 후 대조군의 배지에는

serum free MEM 배지만을, 실험군에는 조제한 시료를 포함한 serum free MEM 배지로 갈아 주었다. 시료의 농도는 MEM 배지에 최종농도가 각각 50 ug/ml, 100 ug/ml, 200 ug/ml 및 300 ug/ml 로 하였다. 24시간 동안 시료처리를 한 후 3.5% 알코올을 배지에 가하여 2시간 동안 배양하였다. 배양액을 제거하고 PBS 용액으로 2회 세척한 다음 MTT 시약으로 처리하였다. 살아있는 세포의 미토콘드리아에 있는 reductase에 의해 MTT가 blue formazan을 형성하는 것을 ELISA plate reader로 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 간세포 보호효능은 3.5% 에탄올 처리 대조군에 대한 에탄올과 함께 시료를 처리한 시험군의 세포 생존률을 비교하여 측정하였다.

(라) 함암 효능의 측정

암세포에 대한 성장 억제력을 측정하기 위하여 AGS 세포주(인간 위암세포주)와 HT-29(대장암 세포주)를 96 well plate에 1×10^4 cells/well의 농도로 분주하고 24시간 동안 안정화시켰다. 시료의 농도를 달리하여 24시간 동안 처리한 후 세포의 생존률을 측정하였다. 즉 CellTiter 96[®] Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay를 이용하여 microplate reader(Perkin Elmer 1420, VICTOR[™] X Multilabel Plate Readers, Waltham, MA, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정한 후 대조군에 대한 암세포의 생존률로 암세포에 대한 성장 억제율을 확인하였다.

(마) NO 생성량의 측정

RAW 264.7 세포주를 96 well에 분주한 후 세포가 바닥의 약 70~80% 정도를 덮을 때까지 배양하였다. 대조군으로는 시료 미처리군을, 양성 대조군으로는 대식세포 활성화를 위해 lipopolysaccharide (LPS)를 1 μ g/mL의 농도로 처리하였다. 시험군에는 양성대조군과 같이 LPS 1 μ g/mL과 시료의 최종 농도가 0.1, 1, 10, 100, 200 μ g/mL가 되도록 배지를 제조하여 세포에 처리하였고, 시료 처리 후 24시간 동안 배양하였다. NO 생성량은 Griess 시약으로 측정하였다. Griess 시약은 5%의 질산용액에 1% sulfanilamide를 넣고 0.1% naphthylethylene-diamine dihydrochloride를 섞어 만들었다. 위에 배양한 세포의 상등액 50 μ L를 96 well plate에 취하고 여기에 Griess 시약 50 μ L를 가해 15분 동안 실온에서 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO 생성량의 변화는 시료를 처리하지 않은 대조군의 NO 생성량에 대한 시료 처리군의 NO 생성량으로 표시하였다.

(바) Collagenase 활성 저해능의 측정

Collagenase 활성 저해능은 Invitrogen사의 EnzChek[®] Gelatinase/Collagenase Assay Kit - 250-2000 Assays 시약을 구입하여 사용하였다. 먼저 1 mg DG gelatin vial에 1.0 mL의 DDW를 가해 DG gelatin stock solution(1 mg/mL)을 만든다. 10 x reaction buffer 2 mL에 DDW 18 mL를 가해 reaction buffer를 희석한다. 다음으로 collagenase 효소 시약을 제조

한다. Working solution으로 최종 농도가 0.2 unit/mL이 되도록 reaction buffer로 희석한다. 실험에 사용할 시료는 농도가 0.01, 0.1, 1, 10 mg/mL가 되도록 제조하여, 시료를 96 well plate에 20 uL씩 triple로 준비한다. DQ gellatin 10 uL와 sample blank에는 reaction buffer 100 uL, sample에는 working solution 100 uL를 시료에 가하고, 빛을 차단한 상태로 실온에서 1-2시간 동안 방치한 후 형광 강도 excitation wavelength 495 nm 및 emission wavelength 515 nm에서 ELAZA plate reader(SpectraMax M2 & M2e Multi-Mode Microplate Reader. Molecular Devices Corporation. USA)로 형광강도를 측정하였다. 대조군으로는 adenosine을 0.1, 1, 10 mg/mL로 녹여 같은 방법으로 측정하였다.

그리고 bovine achilles tendon을 기질로 사용한 collagenase 활성은 Worthington enzyme manual(1972)에 따라 측정하였다. 즉 capped test tube에 기질인 collagen(Sigma C9879)의 무게를 정확히 달고, 2.0 mL의 0.36 mM CaCl₂를 포함하는 50 mM TES 완충액(pH 7.5)과 collagenase(0.2 mg/mL, Sigma C0130) 0.1 mL를 가하여 37°C의 항온조에서 흔들며 주면서 5시간 가수분해하였다. 1 mL의 2% ninhydrin 용액이 들어있는 capped test tube에 가수분해물 0.2 mL를 가하여 반응을 중지시키고, 100°C의 건조기에서 20분 동안 발색 시킨 후, 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 유리된 아미노산의 함량은 L-leucine으로 작성한 표준곡선에 따라 정량하였으며 collagenase 활성은 uM leucine/hr/g-collagen으로 표시하였다. 한편 합성 펩타이드에 의한 collagenase의 저해는 합성 펩타이드와 collagenase의 비가 각각 8.3배와 12.5배가 되도록 혼합한 후 저온고에서 15시간 충분히 반응 시킨 후, collagenase 활성 측정방법에 따라 측정하였으며, 잔여활성은 저해제 첨가 유무에 따른 활성의 비로 계산하여잔여활성의 %로 표시하였다.

(사) 연변이원성의 측정

돌연변이원성 실험은 *Salmonella Typhimurium*의 변이종인 TA98을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation법(Maron and Ames, 1983)으로 실시하였다. 합성 펩타이드를 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 농도별로 50 uL 씩을 가하고 여기에 전배양시킨 *S. Typhimurium* 배양균액을 100 uL 씩 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 uL가 되도록 하였다. 혼합물을 37°C에서 20분 동안 진탕 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar(45°C)를 2 mL 씩 가하여 혼합하여 미리 제조한 minimal glucose agar plate상에 도말하고 고화시켜 37°C의 배양기에서 48시간 배양하여 생긴 복귀돌연변이 수를 측정하여 합성 펩타이드의 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

(3) 결과 및 고찰

(가) 세포독성

MDCM 알칼리 pH 전이로 회수한 단백질 가수분해물과 이취 제거 가수분해물은 정상 간세포에 대하여 200 ug/mL의 농도까지 세포 독성을 나타내지 않았다(Fig. 44).

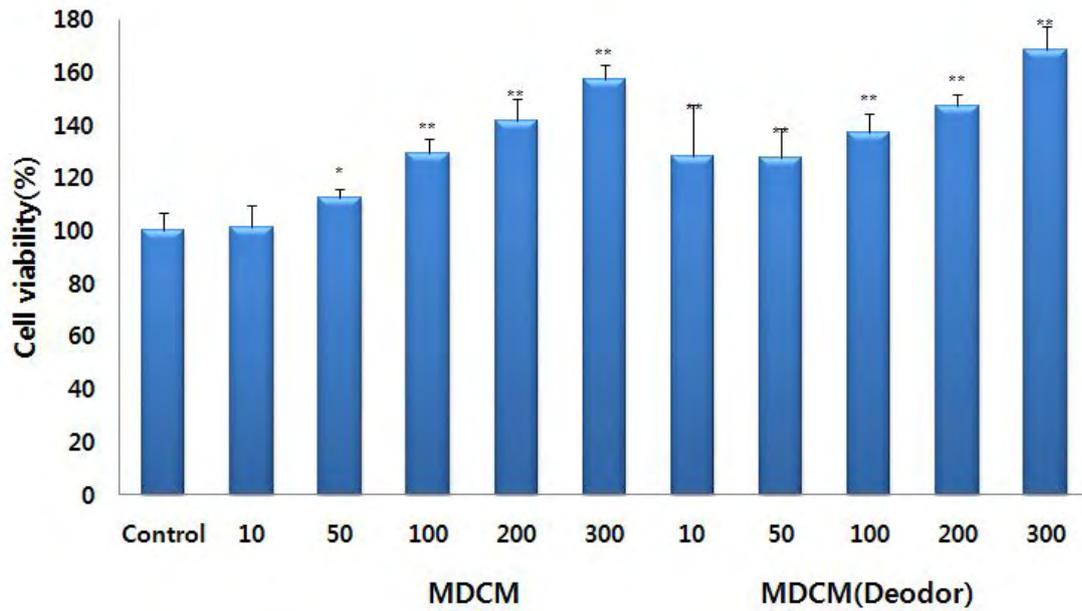


Fig. 44. Cell viability of Chang cell by MDCM and deodorized MDCM hydrolysates.

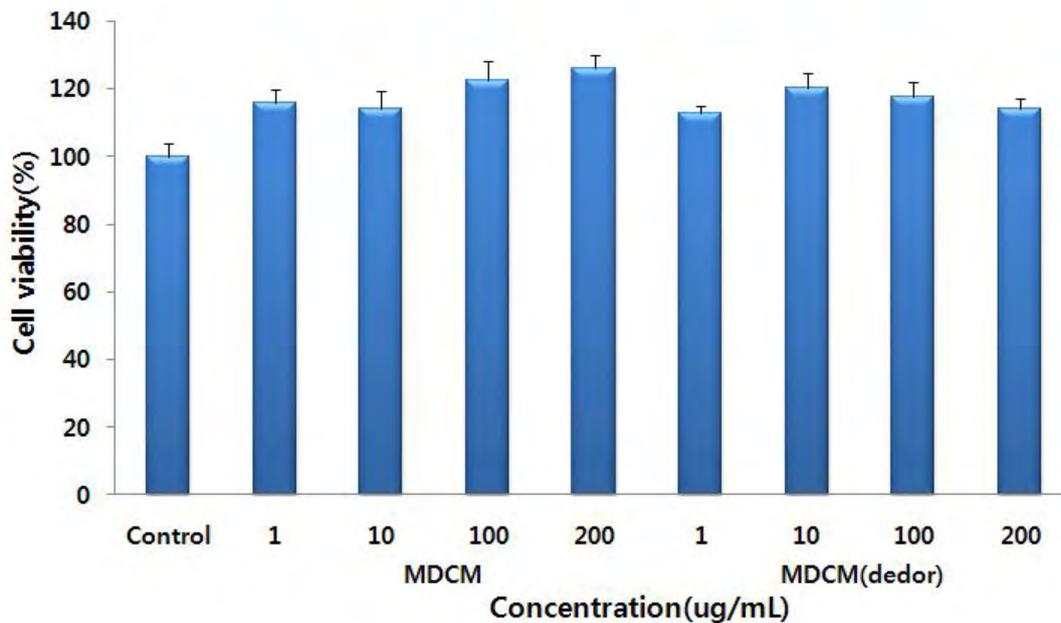


Fig. 45. Cell viability of RAW264.7 by MDCM hydrolyzates and deodorized MDCM hydrolyzates.

그리고 이들 두 가수분해물은 RAW 264.7 세포주에 대하여도 200 ug/mL까지 세포독성을 나타내지 않는 것에 미루어(Fig. 45), 가수분해물은 세포독성이 없는 것으로 판단하였다. 한편 합성 펩타이드도 정상 간세포에 대하여 세포 독성을 보이지 않았다(Fig. 46). 굴 가수분해물은

상피세포주에 대하여 세포독성을 보이지 않았고(Choi et al., 2004), rat 혈청의 superoxide radical을 감소시켰다(Hur, 2008). 그리고 오징어 간 자가소화물과 Protamex 가수분해물 및 오징어 내장과 혼합한 연어육 가수분해물 역시 HepG2 세포주에 대하여 200 ug/mL의 농도 범위에서 세포독성을 보이지 않았다(Lee, 2011).

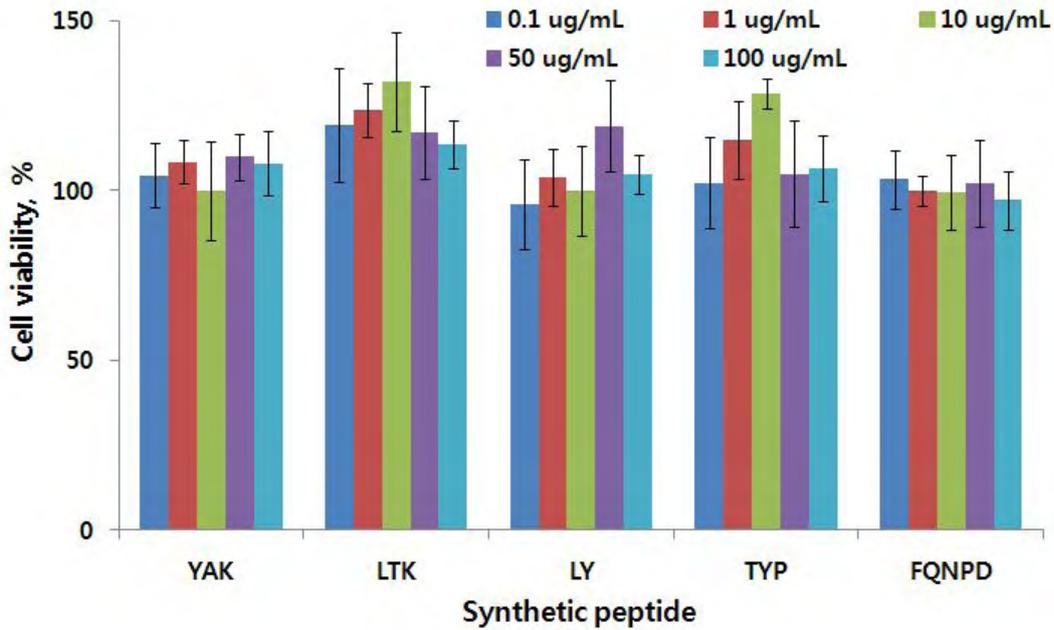


Fig. 46. Cell viability of Chang cell by synthetic peptides.

(나) 간세포 보호능

간세포 보호능은 3.5% ethanol로 처리한 Chang 세포주와 가수분해물의 세포 생존능을 비교하여 측정하였다. 3.5% ethanol로 처리하여 약 60%의 생존능을 보이는 세포주에 가수분해물을 50-300 ug/mL의 범위로 처리하여 생존능을 확인하였다(Fig. 47). MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질의 2단 가수분해물은 200-300 ug/mL의 처리구에서 약 80%의 세포 회복능을 보였고, 이취제거 가수분해물은 약 90%의 세포 회복능을 보였다($p < 0.05$).

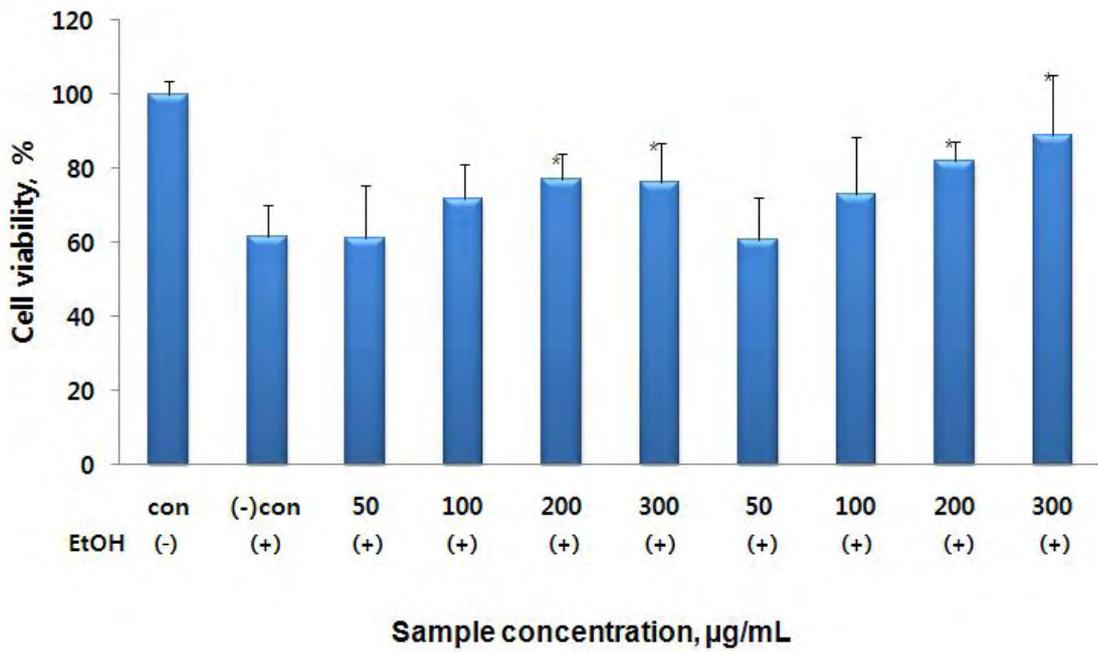


Fig. 47. Liver protecting effect of Chang cell by MDCM and deodorized hydrolysates.

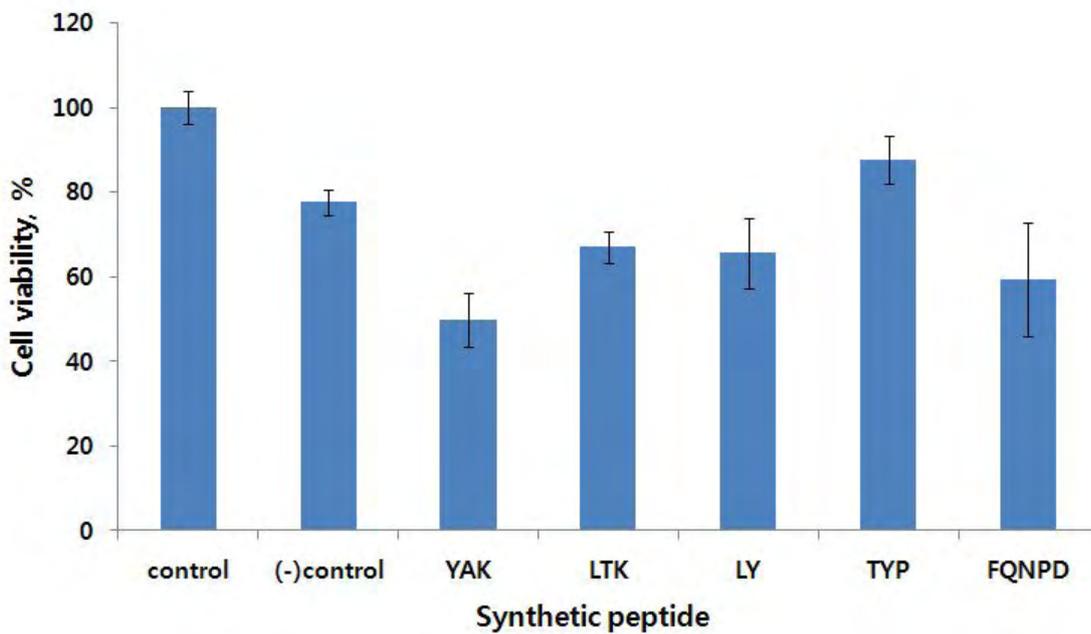


Fig. 48. Liver protecting effect of Chang cell by synthetic peptides.

10% ethanol로 처리하여 약 60% 손상된 HepG2 세포에 200 ug/mL 농도의 굴 가수분해물로 처리하여 24 시간 배양 후에 82.7±3.1%의 유의적인 세포 회복 기능을 보여 20 ug/mL의 silibinin 처리구의 73.6±7.1%와 유사한 회복 기능을 보였다(Hur, 2008). 이 같은 연구 결과는

효소 가수분해물이 간기능의 회복에 기여하고 있음을 제시한다.

(다) 항암 효과

가수분해물은 위암 세포주 AGS와 대장암 세포주 HT 29에 대하여 유의적인 항암 효과를 보이지 않았다(Fig. 49, 50). 이 같은 결과는 펩타이드성 물질의 항암 효과는 기대할 수 없음을 제시한다. 군소 다당 추출물은 100 ug/mL의 농도에서 AGS 세포주의 성장을 40% 이상 억제하였고(Yoon, 2010), Jurkat 세포의 증식률을 40% 이상 증가시켰으며 RAW 264.7 세포주에 대하여 IL-12을 47%까지 증가 시켜 면역 기능 조절의 가능성을 제시하였다(Park, 2011).

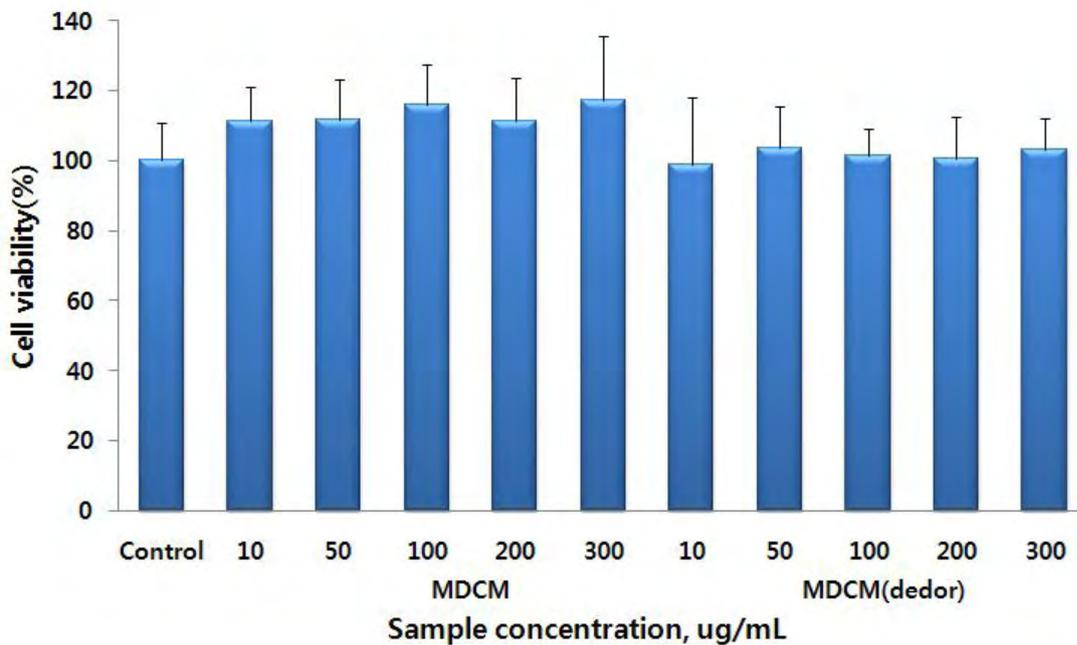


Fig. 49. Cell viability of AGS by MDCM and deodorized hydrolysates.

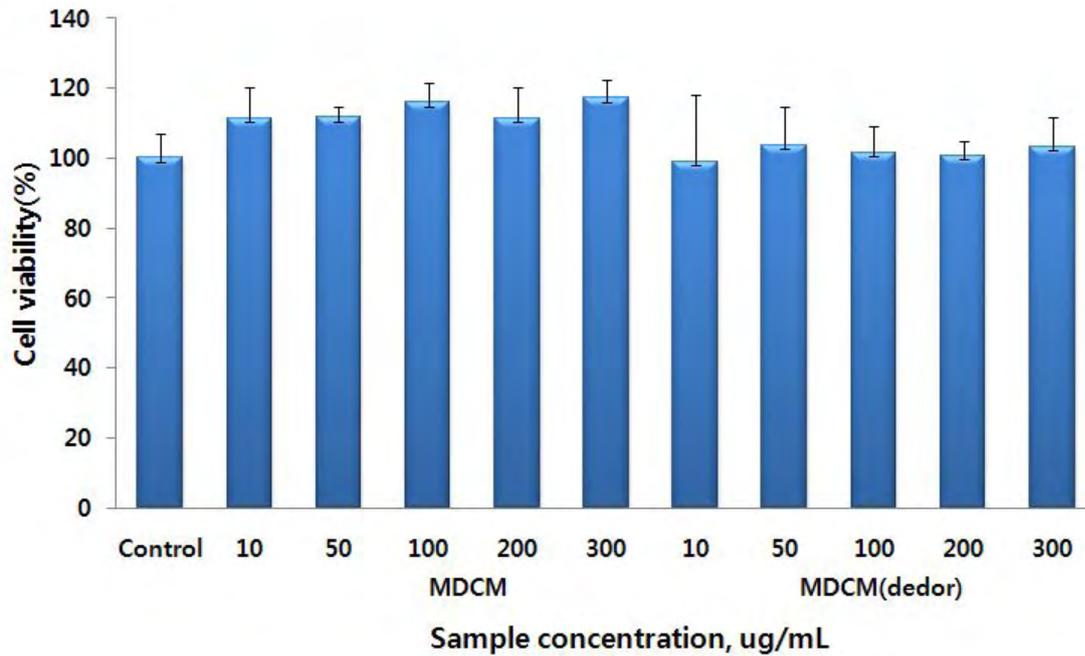


Fig. 50. Cell viability of HT 29 by MDCM and deodorized hydrolysates.

(라) NO 생성량에 미치는 영향

두 종류의 가수분해물 모두 NO의 생성량에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다 (Table 163). 균소 다당 추출물과 glycosaminoglycan(GAG) 분획물은 LPS 및 비처리대조군의 NO 생성량에 비하여 LPS 1 ug/mL 처리군의 약 31배에 해당하는 NO 생성량을 보였고, GAG 분획물도 농도 증가에 따라 유의적인 NO 생성량의 증가를 보였다(Yoon, 2010). 이 같은 보고에 미루어 유리 아미노산과 펩타이드를 다량 함유하고 있는 가수분해물은 대식세포의 성장에 영향을 미치지 않는 것으로 추정된다.

Table 163. NO production of RAW 264.7 cell line by MDCM hydrolysates and deodorized MDCM hydrolysates treatment

Sample(ug/ml)	NO production(%)
Control	65.3 ± 1.1
LPS*	100.0 ± 3.1
MDCM 1 + LPS	107.5 ± 12.4
10 + LPS	103.6 ± 5.0
100 + LPS	98.2 ± 2.7
200 + LPS	101.9 ± 3.6
MDCM 1 + LPS	100.4 ± 1.5
10 + LPS	104.0 ± 6.7
100 + LPS	101.4 ± 2.6
200 + LPS	104.9 ± 8.0

* LPS; lipopolysaccharide.

(마) Collagenase 활성의 저해

합성 펩타이드 중 TYP와 FQNPD는 1 mg/mL의 농도에서 각각 33.7%와 53.6%의 collagenase에 대하여 농도 의존적인 저해활성을 보였다(Fig. 51). 그리고 collagenase의 기질로 bovine achilles tendon을 사용하여 효소 대 합성펩타이드의 비 8.3과 12.5에서 저해활성을 측정된 결과(Fig. 52), 효소 대 저해제 비 8.3에서 LY와 TYP는 collagenase 활성의 69.1%와 70.3%를 억제하여 제해 효과를 보인 반면, FQNPD는 저해 효과를 나타지 않았다. 한편 효소 대 저해제의 비 12.5에서 LY와 TYP는 collagenase 활성을 완전히 억제하였고, FQNPD는 60.9%를 억제하였다.

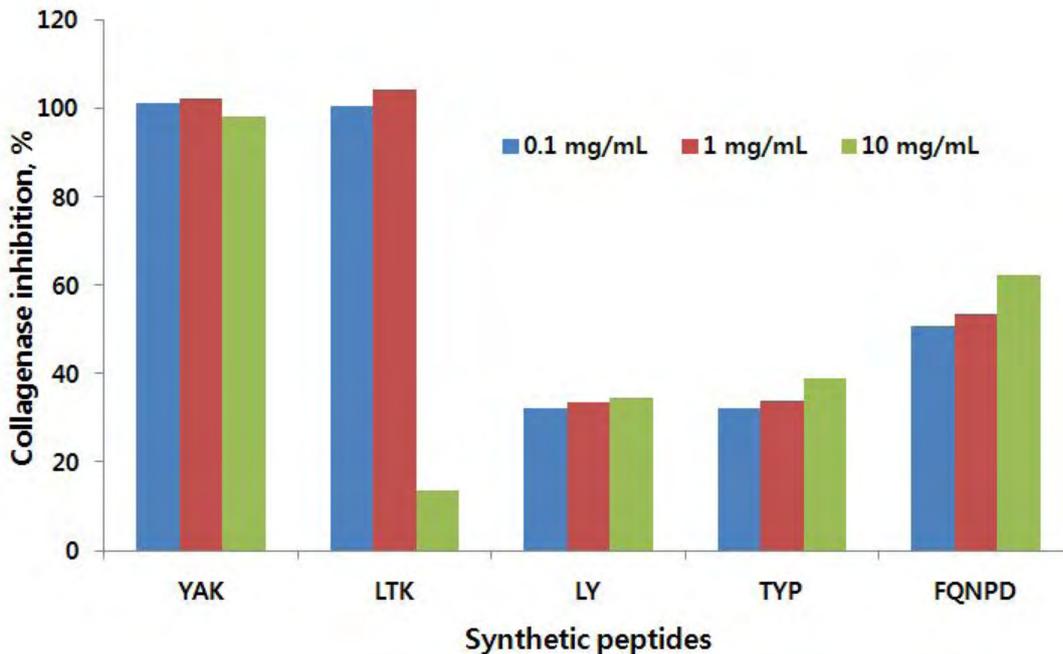


Fig. 51. Inhibition of synthetic peptides against collagenase by cell-line.

Matrix metalloproteinase 저해제는 유방암 모델 시험에서 일차 및 이차 암의 성장속도를 유의적으로 감소시키고 metastasis의 과정을 막을 수 있으며, 여러 가지의 합성 MMP 저해제가 현재 개발되어 metastatic 과정의 여러 단계의 전임상 시험과 진행 악성종양을 가진 환자에 대하여 임상시험을 수행하고 있다(Denis and Verweij, 1997; Brown, 1998). 몇 가지 hydroxamate 유도체는 sulfonamide에서 취환 형태에 따라 효과적인 collagenase/gelatinase 저해제로 입증되었으며, 상응하는 carboxylate보다 100-500배 이상 활성이 높다(Scozzafava and Supuran, 2000; Scozzafava et al., 2000). 합성 MMP 저해제의 대부분은 치환된 펩타이드 유도체이며, 금속 결합 기인 thiol, sulphhydryl, carboxyl 혹은 hydroxamate 기가 MMP의 활성 부위에 있는 아연 원소와 결합한다(Denis and Verweij, 1997). 이 같은 보고에 미루어 LY, TYP 및 FQNPD의 collagenase 저해 효과는 collagenase의 금속 이온과의 결합에 의한 것으로 추정되며, 이들 합성 펩타이드의 hydroxamate 유도체에 관한 활성은 추후 진행되어야 할 것이다.

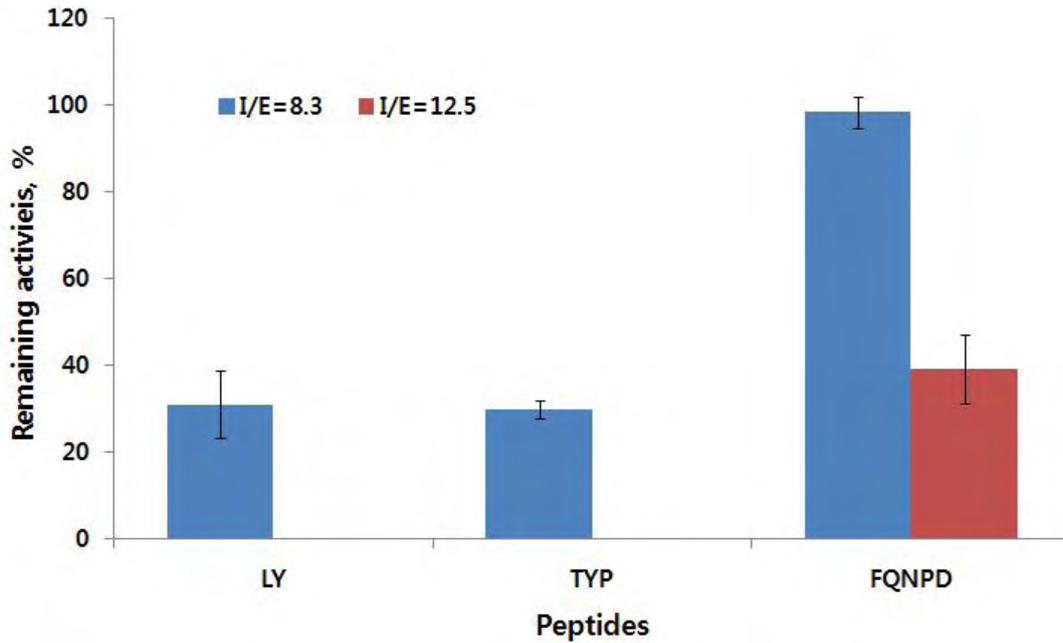


Fig. 52. Remaining collagenase activities after treatment of synthetic peptides.

(바) 돌연변이원성

합성 펩타이드의 음성 대조군 자연 복귀 돌연변이 집락수는 20 ± 3 에서 22 ± 2 의 범위로써 펩타이드의 종류에 따른 차이를 보이지 않았으며(Table 164), 50-100 ug/plate의 농도로 합성 펩타이드를 첨가한 실험군에서 20 ± 3 에서 25 ± 4 의 범위로써 농도 의존성이 없을 뿐 아니라 유의적인 차이를 보이지 않는 것에 미루어 돌연변이원성을 나타내지 않는 것으로 추정하였다.

Table 164. Mutagenicity of synthetic peptide in Salmonella Tphimurin TA98

Dose (ug/plate)	YAK	LTK	LY	TYP	FQNPD
spontaneous	22 ± 2	21 ± 3	21 ± 2	20 ± 3	21 ± 3
50	23 ± 1	20 ± 3	21 ± 3	21 ± 1	23 ± 4
100	22 ± 5	22 ± 1	22 ± 3	23 ± 4	25 ± 4

(4) 요약

MDCM 알칼리 pH 전이로 회수한 단백질 가수분해물과 이취 제거 가수분해물은 정상 간세포와 RAW 264.7 세포주에 대하여 200 ug/mL의 농도까지 세포 독성을 나타내지 않았다. 그리고 합성 펩타이드 역시 정상 간세포에 대하여 세포 독성을 보이지 않았다. MDCM 알칼리 pH 전이 회수단백질의 2단 가수분해물은 200-300 ug/mL의 처리구에서 약 80%의 세포 회복능을 보였고, 이취제거 가수분해물은 약 90%의 세포 회복능을 보인 반면, 합성 펩타이드는 간세포 회복능을 보이지 않았다. 가수분해물과 합성 펩타이드에서 위암 세포주 AGS와 대장암

세포주 HT 29에 대하여 유의적인 항암 효과를 보이지 않았다. 가수분해물 모두 NO의 생성량에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 호소 대 저해제의 비 12.5에서 LY와 TYP는 collagenase 활성을 완전히 억제하였고, FQNPD는 60.9%를 억제하였다. 합성 펩타이드는 유의적인 돌연변이원성을 나타내지 않았다.

(5) 참고문헌

1. Brown PD. Matrix metalloproteinase inhibitors. *Breast Cancer Research Treatment* 52:125-136.
2. Choi YJ. 2007. Production of microbial media and functional peptides using under-utilized oyster. R&D Number 20040078, Marine Affairs.
3. Denis LJ, Verweij. 1997. Matrix metalloproteinase inhibitors: Present achievements and future prospects. *Investigational New Drugs* 15:175-185.
4. Hur SI. 2008. Isolation of bioactive peptide from oyster hydrolysate and its functional effect on the serum and liver of SD-rat. Gyeongsang National University, MS thesis.
5. Lee SS. 2011. Optimum processing for hydrolysates using squid liver and its properties. Gyeongsang National University, MS thesis. Fig. 5. Cell viability of RAW264.7 by MDCM hydrolyzates and deodorized MDCM hydrolyzates treatment.
6. Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.* 113:173-215.
7. Park S, Choung SY, Choi YJ. 2011. Immune regulating effect of polysaccharide fraction from sea hare (*Aplysia kurodai*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40:372-378.
8. Scozzafava A, Supuran CT. 2000. Protease inhibitors-Part 5. Alkyl/arylsulfonyl- and arylsulfonylureido-/arylureido-glycine hydroxamate inhibitors of *Clostridium histolyticum* collagenase. *Eur. J. Med. Chem.* 35:299-307.
9. Scozzafava A, Ilies MA, Manole G, Supuran CT. 2000. Protease inhibitors. Part 12. Synthesis of potent matrix metalloproteinase and bacterial collagenase inhibitors incorporating sulfonylated N-4-nitrobenzyl- β -alanine hydroxamate moieties. *Eur. J. Pharma Sci.* 11:69-70.
10. Worthington enzyme manual. 1972. Collagenase. Worthington Biochemical Corporation, Freehold, NJ, U.S.A. p. 138-139.
11. Yoon BY. 2010. Functional properties of glycosaminoglycans extracted from sea hare, *Aplysia kurodai*. Hyeongsang National University, MS thesis.
12. Kim DB, Shin DG. 2004. 건강기능성식품의 기능성 시험 가이드. 한국보건공정서 연구회

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 연구개발 목표의 달성도

1. 연구성과 달성도

가. 연구성과 실적/목표

(1) 연구성과 실적/목표

(단위 : 건수)

구분	특허		논문		학술발표		포럼발표	수상
	출원	등록	SCI	비SCI	등재	SCI		
1차년도			1/1	0/1	2/0			
2차년도	1/0		2/2	2/2	2/0	4/0		1/0
3차년도	2/1	1/0	5/4	1/2	3/0	7/0	1/0	
계	3/1	1/0	8/7	3/5	7/0	11/0	1/0	1/0
달성도(%)	300	200	114	60	800	1200	200	200

* 특허 등록: “계육 가수분해물을 포함하는 기능성 조성물 및 이의 제조방법”(2012. 2. 3, 10-1115041)

출원: “콜라게나제의 활성 저해 효과를 갖는 신규 펩타이드 및 그의 용도”(2012. 4. 6, 10-2012-0036110)

“안지오텐신 전환효소 저해활성을 갖는 신규 펩타이드 및 그의 용도”(2012. 4. 6, 10-2012-0036109)

* 포럼발표: “폐계육을 이용한 조미소재 개발 및 펩타이드 함유 고부가가치 제품 산업화”(2011 범부처 녹색기술 포럼, 2011. 2. 9)

* 수상: 세계 3대 인명사전 Marquis Who's Who 등재(2010. 3. 8)

(2) 연구성과 활용 실적/목표

(단위 : 건수)

구분	정책자료	교육지도	언론홍보	저서	인력양성		
					박사	석사	학사
활용건수	1/2	9/5	8/5	6/0	3/0	3/0	7/0
달성도(%)	50	180	160	700	400	400	800

2. 연도별 연구개발목표의 달성도

가. 1차년도 연구목표와 달성도

연차별 목표	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 결과
[주관기관] 단백질 회수방법 최적화	단백질 회수방법 정립	150	<ul style="list-style-type: none"> - pH 조절 회수단백질의 겔 보강 시험 : 결합제 (ISP) 및 소금 첨가 효과 분석 - 케이크 여과법 여과 조건 설정 : 플라스틱 및 삼베망 각 2겹 적절 <ul style="list-style-type: none"> . ISP 겔 향상 기여도 낮은 반면 소금은 높음 - pH 조절법(40)과 케이크 여과법 (30)보다 수율이 2배 이상인 커팅법(100%) <u>추가 개발</u> <ul style="list-style-type: none"> . 커팅 시간은 8분, 최종 유화물 온도 15℃ 적절
	회수방법별 품질 특성 분석	150	<ul style="list-style-type: none"> - 커팅법이 pH 조절법보다 겔 특성 양호 (전단가 및 접기 시험 등) 및 수율 향상 - 3방법(pH 조절법, 케이크 여과법, 커팅법) 비교 현장 크래미 시제 시 노계 커팅육 15% 연육 대체 가능
	폐계 가슴육 회수단백질 제조	100	<ul style="list-style-type: none"> - 커팅법에 의한 폐계 가슴육 제조: 추후 현장시제 활용
[협동기관] 회수단백질을 이용한 조미소재 특성 구명	MDCM을 이용한 조미소재 추출방법 정립	100	<ul style="list-style-type: none"> - pH 전이공정 회수단백질 수율 56.7%
	가수분해 조건 설정	100	<ul style="list-style-type: none"> - 최적 효소 Protamex 선정 - 효소 대 기질 비 0.06, pH 7, 43℃, 6시간 반응 최적 - 용해도 pH 8까지 증가하며 소금 영향 없음
	가수분해물의 특성 구명	100	<ul style="list-style-type: none"> - 가수분해물 특성 <ul style="list-style-type: none"> . 카드늄 4 ppm 주의, 유화능 및 유화 안정성 낮음 - Plastein 반응물 특성 <ul style="list-style-type: none"> . Deamidation gluten 0.9 mL, Protamex 가수분해물 1.50 mL, pH 완충액 0.4 mL, papain 0.25 mL 비율 적정 . 유화능 및 안정성 BSA보다 높으나 ISP와 유청단백질보다 낮음

나. 2차년도 연구목표와 달성도

연차별 목표	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 결과
[주관기관] 회수단백질을 이용한 조미소재 함유 제품 개발	회수단백질 적정 첨가 수준 설정	100	- 커팅육 크래미 20%, 어묵 10% 연육 대체 가능 . 염용성단백질 함량 높고, 겔 향상 기여(크래미) . TBARS 및 VBN 약간 증가하나 관능상 차이 없음 (크래미 및 어묵)
	가수분해물 및 축육 함유 섭취상 연제품 개발	150	- 가수분해물 게맛살 및 소시지 1.0%, 어묵 0.4% 첨가 가능 . 향산화성, 겔 향상 기여 및 관능상 차이 없음 (게맛살 및 어묵) . 불포화지방산 및 가능 관련 아미노산 증가(게맛살) . 콜레스테롤 감소(어묵) . 적색도 및 겔 특성 증가, POV 저하(소시지 추가 개발)
	개발 연제품 품질 특성 분석	100	- 개발 연제품 및 소시지 특성 분석 완료
[협동기관] 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 특성 구명	2단 가수분해 효소 및 조건 설정	100	- Alcalase, Neutrase, Flavourzyme과 Bromelain 중 Bromelain 최적
	가수분해물의 생리활성 물질 생산 최적화 조건 정립	150	- 효소 대 기질 비 3.56, 50.2℃, pH 5.00일 때 88.62%의 최대 DPPH 라디칼 소거능 - 이취제거 maillard 반응 조성물 개발(기 특히 등록, 추가 개발) . Protamex 가수분해물 95.2, 닭 혼연액 1.9, 계지 1, HVP, glucose, xylose 및 양파즙 각 0.5%, 95℃/50분 - 한외여과, 음이온 교환수지 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 및 역상 크로마토그래피로 정제
	가수분해 펩티드 특성 분석	100	- 탈취 가수분해물이 라디칼 소거능을 포함한 항산화성 및 특히 ACE 저해능 우수 . ACE 저해 펩타이드는 YAK, LTK, LY, TYP, FQNPD의 아미노산 서열로 YAK가 가장 효과적

다. 3차년도 연구목표와 달성도

연차별 목표	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 결과
[주관기관 회수단백질을 이용한 생리활성 펩티드 함유 제품 개발	MDCM 추출 생리활성 펩티드 특성 구명 및 적정 첨가 수준 설정	150	- 펩티드는 항산화성보다 ACE 저해능 탁월 - 계맛살(1%), 소시지(0.5%, <u>추가 개발</u>), 어묵(1%)에 펩티드 적정 첨가 수준 설정
	펩티드 및 축육 함유 섬유상 연제품 개발	150	- 세계 최초 축육 함유 섬유상 연제품 개발 - 킹크랩 개발시 커팅 폐계 가슴살 17%까지 연육 대체 가능(<u>추가 개발</u>) . 수분 함량 높고 TBARS 낮은 반면 조직감 약간 저하
	개발 제품의 품질 특성 분석 및 유통기한 설정	150	- 계맛살 펩티드 1.0% 첨가시 ACE 저해능 및 간 보호능 . 켈 향상 기여하나 TBARS 및 VBN 상승 - 소시지에 펩티드 첨가시 조직 개선에는 ISB보다 감자 전분 효과 높음(<u>추가 개발</u>) - 어묵에 동결건조 펩티드 첨가시 POV 낮으나 켈 및 관능 특성 저하 - 대부분의 개발 연제품 및 소시지류 공히 냉장온도에서 4주 이상 유통 가능
[협동기관 합성 펩티드의 안전성 검증	기능성 합성 펩티드 제조	100	- 기능성 합성 펩티드 제조
	기능성 합성 펩티드 특성 평가	200	- 펩티드의 collagenase 저해제 개발(기 특히 출원) . 효소 대 저해제 비(12.5): LY와 TYP collagenase 활성 완전 억제, FQNPD 60.9% 억제 - 펩티드의 혈압 억제제 개발(기 특히 출원) - <u>목표 대비 특히 2건 추가 출원</u> - 탈취 가수분해물은 간세포 회복능이 90% 정도이나 합성 펩티드는 없음 - 위암 및 대장암에 대한 항암 효과 없으며 NO 생성량에 영향 없음
	기능성 펩티드의 안전성 검증	100	- 탈취 가수분해물 및 합성 펩티드 간세포 독성 없음 - 합성 펩티드 돌연변이원성 없음

제2절 관련분야의 기술발전예의 기여도

1. 기술적 측면

- 가. 저가 MDCM으로부터 가수분해물 및 생리활성 펩티드 추출 기술 정립으로 부가가치 향상 기여
- 나. MDCM 가수분해물 탈취 방법 정립, 펩티드의 collagenase 및 ACE 저해제 합성 기술 확보
- 다. 폐계 가슴육 및 MDCM을 활용한 생리활성 단백질 회수기술 개발 및 대량 생산기술 정립
- 라. 폐계 가슴육 단백질 회수방법 정립으로 연육 대체 축육 함유 섬유상 연제품 대량 생산 기술 정립

2. 경제·산업적 측면 : 1,277억원

- 가. 연제품 수출 및 수입 대체 효과: 42+96=138억원
 - (1) 연제품 수출 증대 효과: 국내 연제품 총 수출량(6,393톤)×6,000원/kg×1.1배 증가×10% 적용 =42억원
 - (2) 연육 수입물량(43천톤/년)×4,455원/kg×5%=96억원
- 나. 폐계 가슴육 및 MDCM 비선호 부위 부가가치 향상 금액: 786억원+108=894억원
 - (1) 폐계 가슴육 및 MDCM 생산량(483,540톤/년)×5%×[제품가(7,250원/kg)-원료가(4,000원/kg)]=786억원
 - (2) 폐계육 생산량(66,150톤/년)×5%×[제품가(7,250원/kg)-원료가(4,000원/kg)]=108억원
. 폐계육 생산량: 연간 사육두수(4억 5천수)×0.7kg/수×가슴살 21%=66,150톤/년
- 다. 폐계육으로부터 회수한 생리활성 소재 활용 가치: 60억원/년
 - (1) 기능성 펩티드 시장(1,176억원/년)의 5% 적용시: 59억원/년
 - (2) 수입대체 효과: 수입액(12억원/년)의 5% 대체시: 0.6억원/년
- 라. 무기물 처리로 인한 기능성 제품 대체 효과: 185억원/년

3. 산업·문화적 측면

- 가. 폐계 가슴육 및 MDCM의 선호 부위로 둔갑 판매 억제로 소비자 보호
- 나. 어육과 축육 Fusion 제품 보급으로 건강 및 고기 식문화 변화 유도
- 다. 새로운 찢어 먹는 축육제품 보급으로 신규 시장 선도
- 라. 실질적인 산학 공동연구로 개발제품의 산업화 구현
- 마. 육가공 기술에 관한 학술 발전에 기여
- 바. 가장 문제시 되고 있는 비선호 부위를 해결하는 획기적이고 차별화된 방안으로 축산 발전에 지대한 공헌을 할 것으로 기대됨

제5장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제1절 연구개발 성과

1. 특허

구분	제목	출원, 등록번호	일자	발명자수
1	콜라게나제의 활성 저해 효과를 갖는 신규 펩타이드 및 그의 용도	10-2012-0036110	2012. 4. 6	2
2	안지오텐신 전환효소 저해활성을 갖는 신규 펩타이드 및 그의 용도	10-2012-0036109	2012. 4. 6	2
3	계육 가수분해물을 포함하는 기능성 조성물 및 이의 제조방법	제 10-1115041호	2012. 2. 3	2

2. 논문

구분	논문 제목	게재지	등급	저자수 (역할)
1	Effect of cryoprotectants on chemical, mechanical and sensorial characteristics of spent laying hen surimi	Food & Bioprocess Technol. 4:1407-1413, 2011	SCIE	6(주)
2	동충하초 분말, 누에고치 분말 또는 Conjugated Linoleic Acid의 첨가가 산란 노계 회수단백질을 이용하여 제조한 Cremi의 품질에 미치는 영향	한국가금학회지 38(3):197-204, 2011	등재	3(주)
3	The development of imitation crab sticks by substituting spent laying hen meat for Alaskan pollack	Poultry Sci. 90:1799-1808, 2011	SCI	7(주)
4	Effect of NaCl on physical characteristics and qualities of chicken breast surimi prepared by acid and alkaline processing	LWT-Food Science and Technology 44:2154-2158, 2011	SCI	4(주)
5	Quality characteristics of imitation crab sticks made from Alaska Pollack and spent laying hen meat	LWT-Food Sci. and Technol. 44(6):1482-1489, 2011	SCI	5(교)
6	Effect of substitution of chicken breast for Alaska pollack on physico-chemical characteristics and quality in surimi-like materials contained different cryoprotectants	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 31(2):215-223, 2011	SCIE	3(주)
7	기능성 물질의 첨가가 폐계육이 함유된 계맛살의 저장중 품질에 미치는 영향	생명과학회지 20(6):861-869, 2010	등재	3(주)
8	폐계가슴살 회수단백질을 활용한 돈육소시지의 품질 특성에 영향을 미치는 동충하초, 누에고치 및 Conjugated Linoleic Acid (CLA) 첨가 효과	한국동물자원과학회지 52(2):131-140, 2010	등재	7(주)
9	Changes in quality characteristics of fresh pork patties added with tomato powder during storage	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 30(2):216-222, 2010	SCIE	4(공)
10	Effect of cordyceps ochraceostromat, silkworm cocoon, and conjugated linoleic acid on the quality and storage characteristics of pork sausage manufactured by MDCM (mechanically deboned chicken meat) recovered protein	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 30(2):243-251, 2010.4	SCIE	9(주)
11	Effect of olive-oil prepared tomato powder (OPTP) and refining lycopene on the physicochemical and sensory characteristics of seasoned raw pork during storage	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 29(3):334-339, 2009	SCIE	5(공)

3. 학술발표

구분	발표지	등급	일자 (장소)	저자수 (역할)	발표제목
1	한국동물자원과학회 학술발표회 PE12019	등재	2012. 6. 28 (충남대)	4(주)	Quality characteristics of imitation cab stick contained protein hydrolysate of mechanically deboned chicken meat
2	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-136. p.219	SCIE	2012. 5. 24 (성우리조트)	5(주)	Physicochemical Properties of Red Beet Powder-Added Sausage
3	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-135. p.219	SCIE	2012. 5. 24 (성우리조트)	4(주)	Effects of Purple-fleshed Sweet Potato (<i>Ipomoea batatas</i> Cultivar Ayamurasaki) Powder Addition on Color and Texture Properties and Sensory Characteristics of Cooked Pork Sausages during Storage
4	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-134. p.218	SCIE	2012. 5. 24 (성우리조트)	4(주)	우슬 추출물과 Ascorbic acid 첨가가 소시지의 이화학 적 특성에 미치는 영향
5	한국동물자원과학회 PE11027, p.175	등재	2011. 6. 23 (부산대)	4(주)	Effect of packaging methods and storage temperature on quality characteristics in low-grade Hanwoo beef
6	한국동물자원과학회 PE11028, p.176	등재	2011. 6. 23 (부산대)	8(주)	소목(<i>Caesalpinia Sappan L.</i>) 첨가 수준이 소시지의 저장성에 미치는 영향
7	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-136, p.219	SCIE	2011. 5. 19 (국과원)	6(주)	Effects of substitution of spent laying hens for Alaska pollack surimi on quality characteristics of fish cake
8	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-135, p.219	SCIE	2011. 5. 19 (국과원)	6(주)	Effect of natural spices on color change, microbial growth and lipid oxidation in sausage
9	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-134, p.218	SCIE	2011. 5. 19 (국과원)	6(주)	Effect of spices on color and physicochemical property of emulsion type sausage
10	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-124, p.212	SCIE	2011. 5. 19 (국과원)	6(주)	Effect of addition of MDCM (mechanically deboned chicken meat) hydrolysate on physico-chemical properties of fish cake
11	한국생명과학회 학술발표회 P4-22. p.225	등재	2010. 10. 21 (진주산업대)	5(공)	Relationship between muscle type and meat color oxidation of Hanwoo muscle during cold storage
12	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-137. p.106	SCIE	2010. 8. 20 (제주컨벤션)	4(교)	Effect of nitrite and red beet on color and texture characteristics of emulsion sausage during cold storage
13	Korean J. Food Sci. Ani. Resour. P-130, p.102	SCIE	2010. 8. 20 (제주컨벤션)	7(교)	Effect of spent hen breast as substitute for Alaska pollack on gel property and characteristics of imitation crab stick for cold storage
14	ICoMST2010 C-045. p.99	SCIE	2010. 8. 15 (제주컨벤션)	4(교)	Meat color deterioration characteristic in major porcine muscles during cold storage
15	ICoMST2010 E-030, p.197	SCI	2010. 8. 15 (제주컨벤션)	2(교)	Effects of substitution of spent laying hen meat on the quality characteristics of imitation crab sticks during storage
16	한국동물자원과학회 PE10040, p.178	등재	2010. 6. 24 (진산대)	3(주)	Effect of substitution of spent laying hen meat on color, textural and sensory properties of imitation crab sticks during storage
17	한국동물자원과학회 PE29058, p.164	등재	2009. 6. 25 (순천대)	9(교)	Quality characteristics analysis on dry-cured ham circulated in the market
18	한국동물자원과학회 PE29063, p.165	등재	2009. 6. 25 (순천대)	9(교)	Effect of fermented garlic on quality characteristics of meat patties during storage

4. 포럼

구분	포럼명	주최	일자(장소)	발표자	제목
1	2011 범부처 녹색기술 포럼	범부처	2011. 2. 9 (제주 롯데호텔)	진상근	폐계육을 이용한 조미소재 개발 및 펩티드 함유 고부가가치 제품 산업화

5. 수상

구분	수상기관	수상	일자
1	세계 3대 인명사전(Marquis Who's Who)	등재	2010. 3. 8

6. 정책제안 후 채택

구분	시책건의명	건의부처	일자
1	건조 발효햄의 축산물가공품의 유형 추가 명시	국립수의과학검역원	2010. 12. 10

7. 교육

구분	교육명	일자	장소	인원	주요내용
1	한우마이스터대학(발골 및 정형)	2012. 3. 2	경남과기대	20	한우 발골 및 숙성
2	연세대 외식산업 경영자과정 경남지부 (외식산업)	2012. 1. 26	대가삼계탕	25	외식산업의 미래와 고기 관련 상식
3	양돈마이스터대학(유통 및 마케팅)	2011. 7. 1	경남과기대	28	유통체계 이해 및 전략
4	양돈마이스터대학(지적재산권)	2011. 6. 24	경남과기대	28	지적재산권 보호 방법 및 절차
5	양돈마이스터대학(유통 및 마케팅)	2011. 5. 13	경남과기대	28	브랜드 돈육 가공공정
6	식육기술교육 전문과정(종합반 43기)	2010. 3. 8	농협	30	육제품 제조 원리 및 위생
7	식육기술교육(판매반 12기)	2009. 10. 23	농협	30	식육 판매 관련 전문 지식
8	식육기술교육 전문과정(종합반 42기)	2009. 8. 27	농협	30	육제품 제조 원리

8. 언론 홍보

구분	홍보유형	매체명	제목	일시
1	중앙 TV 방송	KBS 1 TV	“생로병사의 비밀” 삼겹살 레포트	2012. 2. 11
2	지방 TV 방송	KBS 창원 TV	“행복한 돼지” 고품질 돈육이란	2011. 7. 6
3	지방 라디오	진주 MBC 라디오	“좋은 돼지고기 선택과 저장관리”	2011. 6. 14
4	진주 서경방송	진주 서경방송	마르퀴스 후즈 후 등재	2010. 3. 15
5	주간 잡지	Weekly people	세계 3대 인명사전 등재	2010. 3. 22
6	중앙 일간지	국제신문	마르퀴스 후즈 후 인물사전 등재	2010. 3. 10
7	지방 전문지	경남도민일보	세계 3대 인물사전 마르퀴스 후즈 후 등재	2010. 3. 8

9. 저서

구분	저서명	일자	출판처	저자수
1	동물소재공학 탐구 ISBN 978-89-961859-1-8	2012. 2. 1	경남과학기술대학교	8
2	동물소재공학 탐구 ISBN 978-89-961859-1-8 93520	2011. 2. 1	경남과학기술대학교	8
3	식육 및 육제품 기술 공학 ISBN 978-89-92651-39-4 93570	2010. 7. 1	이타출판사	7
4	식육기술교육 전문과정(종합반 43기) 교재	2010. 3. 8	농협	13
5	식육기술교육(판매반 12기) 교재	2009. 10. 23	농협	14
6	식육기술교육 전문과정(종합반 42기) 교재	2009. 8. 27	농협	13

10. 인력양성

연도	학사	석사	박사
2012	황진원, 우경민, 신지민	허인철, 김영중	
2011	이중근	이수선	김병균, 홍유미
2010	허인철, 최승연, 정현정	전용균	김진홍
소계	7명	3명	3명

제2절 성과활용 계획

1. 실용화·산업화 계획

가. 축육 함유 섬유상 연제품 기술이전 및 상품화: 2014년까지

나. Collagenase 및 ACE 저해제 펩티드의 기능성 식품이나 화장품 등에 적용 시험 추가 계획(실용화 지원사업 신청)

2. 교육·지도·홍보 등 기술 확산 계획

가. 연구결과를 토대로 언론홍보 및 학생과 산업체 인사 대상 교육시 활용

3. 특허·논문 등 지식재산권 확보 계획

가. 기 등록된 특허 “계육 가수분해물을 포함하는 기능성 조성물 및 이의 제조방법” 기술 이전 추진: 2014년까지

나. 기 출원 2건 특허 보완 및 추가 특허 출원(계육 가수분해물의 이취제거를 위한 maillard반응 조성물): 2012년 내

다. 전문 학술지 SCI(E) 및 등재지 7편 추가 투고 계획: 2012년 이후 지속 투고

4. 추가연구 · 타연구에 활용 계획

가. 실용화를 위한 in vivo 및 ACE 저해제의 약물 효과 검증 및 구조 개선: 2012년 내

나. 커팅법에 의한 회수단백질 기술을 근막 등이 많은 타 부위육에 추가 적용 시험 계획

다. 기 확보된 기술로 저가 축산 부산물 및 비선호 부위육으로부터 생리활성 펩티드 탐색 연구 계획

라. 기 확보된 생리활성 펩티드의 기능성을 타 식품 연구에 활용

마. 조미소재 활용방안

- Soup, Sauce의 기본 소재
- 면류 제품의 국물 소재
- 천연 조미소재
- 육류 조리 제품의 기본 base

바. 조미 소재 활용을 위한 추가 연구

- 최종 제품 ingredients 조성의 최적화
- 소비자 기호도 조사 및 pre-marketing
- 최적 제품 제형화(분말, 액상 등)

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 해당사항 없음 -

제7장 참고 문헌

1. Abrahamson, M. Dalbege, H. Olafsson, I. Carlsen, S., and Grubb, A. 1988. Efficient production of native, biologically active human cystatin C by *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 236:14-18.
2. AMSA. 1995. Research guidelines for cookery, sensory evaluation and tenderness measurements of fresh meat. Am. Meat Sci. Assoc., Chicago, IL. USA.
3. AOAC. 1995. Official method of analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemist., Washington, DC.
4. Buege, J. A. and Aust, J. D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52:302-309.
5. Chen, H. H. 2002. Decoloration and gel-forming ability of horse mackerel mince by air-flotation washing. *J. Food Sci.* 67:2970-2975.
6. Eurofish, 2007. Fish Infonetwork market report on fishmeal. <http://www.eurofish.dk/>
7. Folch, J., Lees, M., and Sloane Stanley, G. H. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. of Biological Chem.* 226:497-509.
8. Janitha, P. K., Wanasundara, P. D., Ross, A. R. S., Amarowicz, R., Ambrose, S. J., Pegg, R. B., and Shand, P. J. 2002. Peptides with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity from defibrinated, hydrolyzed bovine plasma. *J. Agric. Food Chem.* 50:6981-6988.
9. Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227:680-185.
10. Lanier, T. C. and Lee, C. M. 1992. Surimi technology. Marcel Dekker, Inc., NY, USA, pp. 144-158.
11. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
12. Meilgaard, M., Civille, G. V., and Carr, B. T. 1991. Sensory evaluation techniques (2nd ed.). CRC Press, Boca Raton, FL. USA.
13. Miwa, K. and Iida. H. 1973. Studies on ethylalcohol determination in “Shiokara” by the microdiffusion method. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46:1189-1194.
14. Nose, M. and Fijino, N. 1982. Antioxidative activities of some vegetable foods and active component of avocado epicarp. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 29:507-513.
15. Okada, M. 1964. Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 30:255-261.
16. Park, E. Y., Murakami, H., Mori, O., and Matsumura, Y. 2005. Effects of protein

- and peptide addition on lipid oxidation in powder model system. *J. Agric. Food Chem.* 53:137-144.
17. Pellegrini, A. Dettling, C. Thomas, U., and Hunziker, P. 2001. Isolation and characterization of four bactericidal domains in the bovine β -lactoglobulin. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1526:131-140.
 18. Roura, S. I., Pecci Saavedra, J., Trucco, R. E., and Crupkin, M. 1992. Conformational change in actomyosin from post-spawned hake stored on ice. *J. Food Sci.* 57:1109-1111.
 19. SAS 2002. SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
 20. Stirpe F. and Della C. E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase(type D) to oxidase(type O). *J. Biol Chem.* 244:3855-3863
 21. Woessner, J. F. 1961. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. 119 *Arch. Biochem. Biophys.* 93:440-447.
 22. 高坂和久. 1975. 肉製品の鮮度保持と測定. *食品工業.* 18:105-111.
 23. 농수축산신문. 2007. 한국식품연감.
 24. 임재각, 김도연. 2006. 대두 펩타이드의 시장형성과 마케팅전략. *식품산업과 영양.* 11:13-18.
 25. 한국무역협회. 2007. www.kita.net/
 26. 한국육가공협회. 2007. www.kmia.or.kr/
 27. 한국육류수출입협회. 2007. 식육편람.
 28. 해양수산부. 2000. 해양수산통계연보.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.