GOVP1199603917

제 1차년도
중간보고서

生物工學的技法을 利用한 굴香味製品製造 및 굴煮熟濃縮液의 效果的인 利用

Development of Oyster Flavoring Agents from Oyster and Oyster Cooker Effluents Using Enzymes

1995년 12월

주관연구기관 여수수산대학교

농 림 수 산 부

대한민국
기증등록
1996. 5. 18.
668094
국회도서관

生物工學的技法을 利用한 굴香味製品製造 및 굴煮熟濃縮液의 效果的인 利用

Development of Oyster Flavoring Agents from Oyster and Oyster Cooker Effluents Using Enzymes

1995년 12월

주관연구기관 여수수산대학교

농 림 수 산 부

제　　출　　문

농림수산부장관　　귀하

본 보고서를 "生物工學的技法을 利用한 굴香味製品製造 및 굴煮熟濃縮液의 效果的인 利用" 과제의 중간보고서로 제출합니다.

1995년　　12월　　13일

주관연구기관명: 여수수산대학교
총괄연구책임자: 김　형　락
협동연구자　　: 안　창　범
협동연구자　　: 정　규　진

요 약 서

I. 제목 (최종연구개발 사업목표 포함)

生物工學的技法을 利用한 굴香味製品製造 및 굴煮熟濃縮液의 效果的인 利用 (Development of Oyster Flavoring Agents from Oyster and Oyster Cooker Effluents using Enzymes)

최근 가공식품의 위해성 여부에 대한 소비자들의 인식이 높아짐에 따라 반가공처리 또는 천연상태의 식품에 대한 기호도가 높아지고 있다. 특히 식품의 안정성 및 영양적인 측면이 충족되면서 자연의 맛을 살린 천연조미료의 개발에 관심이 집중됨으로서 풍부한 영양성분과 특유의 향미성분을 함유하는 수산 연체동물과 갑각류를 이용한 천연향미제 개발에 관한 연구가 최근 국외에서 활발하게 이루어지고 있다. 따라서 본 연구는 굴조직 자체가 지니고 있는 가수분해효소류 및 첨가한 단백질 분해효소와 α-amylase를 이용하여 굴 조직단백질과 glycogen의 분해를 촉진시켜 조직중에 함유되어 있는 향미성분들의 추출을 향상시키고 생성된 분해생성물인 아미노산, 당류, peptide류 및 각종 정미성분들과 어울린 고품질의 향미제품을 제조함으로서 굴 가공공장의 수익을 향상시키고자 한다.

II. 연구개발사업의 목적 및 중요성

연간 우리나라의 양식산 굴생산고는 23만 5천톤에 달하며, 이중 22만톤이 남해구에서 양식,생산된다. 이 중 4,600톤이 훈연통조림 제품으로 가공된 후 외국으로 수출되며 이는 전체 굴생산량의 약 80%에 달하는 양이다. 굴의 생산이 3, 4, 5, 6월에 한정되어 있기 때문에 굴가공 공장은 연중 4개월

만 가동되며 나머지 9개월은 생산의 부재로 가동을 않으므로 막대한 시설비를 낭비하고 있는 실정이다. 따라서 굴수확기에 굴을 냉동저장하여 이들 냉동굴을 원료로 한 굴향미성분을 제품화함으로서 가공공장의 가동율을 증가시켜 단위공장당 수익을 증가시킬 뿐만 아니라 제품의 다양화를 꾀할 수 있다.

UR타결 이후 수입수산물의 물량은 해마다 증가하고 있으며, 1997년 이후에는 거의 모든 수산물의 수입이 자유화될 것에 대비하여 저가의 원료로 부터 고부가가치의 가공식품 개발이 시급하며, 수산 가공폐기물을 자원화함으로써 가공폐기물에 의한 환경오염을 방지함과 동시에 수산자원의 효율적인 이용을 위한 연구가 시급한 실정이다. 따라서 굴의 통조림 가공중의 부산물인 굴자숙액은 방류로 인한 수질오염을 피하고자 높은 연료비를 소비하면서까지 자숙액을 농축하여 저가의 자숙농축액으로 제조 후 판매하고 있다. 현재 판매되는 굴자숙농축액의 가격은 염농도에 따라 좌우되며, 현재 20% 가량의 염을 함유하는 자숙농축액은 1L 당 1$에 수출되고 있다. 년간 18만톤 이상의 굴을 자숙처리 함으로서 부산물로 얻어지는 굴자숙액의 양은 막대하나 저가로 수출되기 때문에 부가가치가 낮은 실정이다. 따라서 저가의 굴자숙농축액을 나노여과로 부분적인 탈염을 행한 후에 단백질분해효소와 당분해효소를 이용하여 자숙액중의 단백질과 글리코겐을 분해하여 이들을 원료로하여 굴향미제품을 개발함으로서 굴가공공장의 수익을 증가시키고자 한다.

III. 연구개발사업의 내용 및 범위

여수 해역에서 생산되는 굴을 구입하여 원료로 사용하며, 단백질분해효소는 덴마크제 (Novo 사)와 한국제 (태평양화학)를 구입하여 굴조직에 대

한 활성도를 기질대비 효소의 량, 온도, pH 및 반응시간에 대한 활성도를 고려하여 반응조건을 설정하였다. 글리코겐의 분해는 α-amylase와 γ-amylase의 활성도를 측정하여 이들의 동일활성도를 나타내는 비율 (1:10)로 혼합하여 사용하였다. 굴가수분해물의 제조는 500 g 씩의 pilot scale로 처리하여 시험관처리조건과 비교 검토하며, 효소처리 후 고압멸균기로 처리하여 효소의 불활성화와 동시에 갈변반응을 통하여 향을 증진시킨다. 제품의 품질을 지배하는 요소인 유리아미노산 조성, 정미성분 및 지방산 조성을 분석하였다.

굴자숙농축액은 다량의 단백질과 glycogen을 함유하기 때문에 점도가 높아 한외여과시 투수율이 매우 낮다. 따라서, 자숙액을 단백질분해효소와 α-amylase로 처리하여 고분자물질을 분해한 후 이들을 동결건조하여 유리아미노산과 정미성분을 분석하여 식품첨가물로서의 이용도를 평가하였다.

IV. 연구개발사업결과 및 활용에 대한 건의

1차년도의 연구는 굴향미성분의 생성을 위한 굴조직의 최적분해반응 조건확립과 한외여과와 나노여과를 통해 굴 자숙농축액의 염도를 저하시키는데 그 목적이 있다. 현재까지의 결과는 주로 효소반응에 의해 생성되는 가수분해물의 정미성분 및 향미성분의 분석에 중점을 두고 있으며, 1차 년도에 확립된 효소반응조건에 의하여 pilot scale의 가수분해물을 제조하여 향미제품의 안전성과 기호도를 평가한 후에 이들 제품의 산업적인 활용도를 평가할 예정이다.

SUMMARY

The Korea oyster industry is the largest commertial shellfish aquaculture with an annual production in excess of 250,000 tons. 80% of annual production are cooked and processed to oyster canning products. Harvesting season of oyster from aquaculture farm is limited from December to May. Thus oyster processing plant is no more operate other season. The objectives of this study was establishment of enzymatic reaction condition for generating oyster flavoring agent to maximize operation period of oyster plants. Also, this process generates a large quantity of cooker effluent containing appreciable amount of soluble organic compounds such as peptides, amino acids, glycoges, and other organic components. In most processing plants, the liquid effluent produced during boiling has been discarded into waterways.

Oyster tissue was hydrolyzed with 2% alcalase, neutrase or protease NP and 0.1% of alpha- and beta-amylase mixture and determined optimum temperature, pH, and reaction time. The concentrated oyster cooker effluent also hydrolyzed with 0.2% protease NP and 0.1% of alpha- and beta-amylase mixture and determined optimum temperature, pH, and reaction time. During enzymatic reaction, free amino acids, fatty acids, total extractable nitrogen, betaine, TMA, TMAO, and total creatinine were analyzed.

The genreral composition of oyster and concentrated oyster cooker effluent was moisture 81.1 and 80.3%, total nitrogen 10.5 and 6.7%, glycogen 4.5 and 2.4%, and ash 2.1 and 8.5, respectively. 53% of total

nitrogen in the effluent were estimated as free amino acids. Taurine was comprized to 27% of the total free amino acids and of about 1% of concentrated effluent. The optimum conditiond for hydrolysis of the concentrated effluent were at 50°C and 2 hr reaction time with 0.1% of amylases and 0.2% proteases. With 2 hr reaaction, extractable nitrogen increased 2-folds, however, TMA and total creatinine increased about 20% compared to control.

With enzyrnatic hydrolysisof 2 hr at 45°C and pH 7.0, free amino acids increased 4-fold compared to raw oyster tissue. The level of taurine was not changed by enzymatic reaction, but the amount of threonine, valine, methionine, leucine, isoleucine, phenylalanine, lysine, and histidine increased 5-200 times by proteolytic reaction. Also favor tasting amino aacids such as glutamic acid, glycine, and proline increase by enzymatic hydrolysis. The composition and level of fatty acids were not changed by enzymatic reaction.

An analysis of cooker effluent from oyster processing industry as flavoring agents may provide an economical by-product to the oyster processing industry. Also hydrolysate of oyster tissue with protease aided with amylases is good source for oyster flavoring agents.

목 차

제 출 문 ----------1

요 약 서 ----------2

SUMMARY ----------5

목차 ----------7

표목차 ----------9

그림목차 ----------10

Appendix 목차 ----------12

제 1 장 서 론 ----------13
제 1 절 연구배경 ----------13
제 2 절 연구의 필요성 및 국내외 기술현황 ----------16
제 3 절 현 기술상태의 취약성 ----------19

제 2 장 연구개발사업의 내용 및 범위 ----------20
제 1 절 실험재료 ----------21
제 2 절 실험방법 ----------21
1. 일반성분분석 ----------21
2. 가수분해조건의 확립 ----------21
3. 가수분해물의 제조 및 분말화 ----------22

4. 원료 및 가수분해물의 정미성분분석 ----------23
5. 굴자숙농축액의 가수분해 및 정미성분분석 ----------23
6. 자숙농축액의 염도저하 실험 ----------23

제 3 장 연구개발사업의 결과 및 고찰 ----------24
제 1 절 생굴 및 자숙농축액의 일반성분 ----------24
제 2 절 굴 분해를 위한 효소농도 및 반응시간 조건 -------24
제 3 절 굴 분해를 위한 pH 및 온도 조건 ----------28
제 4 절 굴 자숙농축액 분해를 반응시간 조건 ----------36
제 5 절 Protease NP에 의한 굴 분해를 반응시간 조건 -----36
제 6 절 굴 자숙액중의 염도 저하 방법 ----------49
제 7 절 굴 자숙액 및 자숙농축액의 유리아미노산 ----------51
제 8절 굴 자숙액 및 자숙농축액의 정미성분 ----------53

제 4 장 결론 및 요약 ----------57

표 목 차

표. 1. 최근 8년간 굴 생산량 - ----------14
표. 2. 1993년 수산가공품별 굴 처리량 ----------14
표 3. 생굴의 일반성분 ----------25
표 4. 굴과 가수분해물의 유리아미노산의 조성 ----------48
표 5. 굴 및 가수분해물의 지방산 조성 ----------50
표 6. 한외여과와 나노여과에 의한 염도의 변화 ----------52
표 7. 자숙농축액과 자숙액의 여과방법에 따른 유리아미노산의 조성 ---55
표 8. 굴자숙액과 생굴중의 핵산관련물질의 함량 ----------56

그 림 목 차

그림 1. 단백질분해 효소량에 따른 자숙굴 조직중의 단백질의
분해정도 ----------26
그림 2. 반응시간에 따른 자숙굴 조직중의 단백질의
분해정도 ----------27
그림 3. 반응시간에 따른 자숙굴 조직중의 글리코겐의
분해정도 ----------29
그림 4. Neutrase 효소에 의한 자숙굴 조직의 45°C에서의 pH에
따른 가수분해 정도 ----------30
그림 5. Neutrase 효소에 의한 자숙굴 조직의 pH 7.0에서의
온도에 따른 가수분해 정도----------32
그림 6. Alcalase 효소에 의한 자숙굴 조직의 45°C에서의
pH에 따른 가수분해 정도----------33
그림 7. Alcalase 효소에 의한 자숙굴 조직의 pH 7.0에서의
온도에 따른 가수분해 정도----------34
그림. 8. 반응시간에 따른 자숙굴 조직중의 단백질과 글리코겐의
가수분해 정도 ----------35
그림 9. 반응시간에 따른 굴자숙 농축액중의 글리코겐의 가수분해와
염도의 변화 정도 ----------37
그림 10. 반응시간에 따른 굴자숙 농축액중의 단백질의 가수분해와
염도의 변화 정도 ----------38

그림 11. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합액에
의한 굴자숙 농축액의 총 extractable nitrogen의
반응시간에 따른 변화 ----------39
그림 12. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합액에
의한 굴자숙 농축액의 총 creatinine의 반응시간에
따른 변화 ----------40
그림 13. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합액에 의한
굴자숙 농축액의 TMA의 반응시간에 따른 변화 -----41
그림 14. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합액에 의한
굴자숙 농축액의 TMAO의 반응시간에 따른 변화-----42
그림 15. Protease NP 효소에 의한 35°C에서의 자숙굴 조직의
분해 정도 ----------44
그림 16. Protease NP 효소에 의한 45°C에서의 자숙굴 조직의
분해정도 ----------45
그림 17. Protease NP 효소에 의한 55°C에서의 자숙굴
조직의 분해정도 ----------46
그림 18. 당분해효소 혼합액에 의한 자숙굴 조직중의 48
글리코겐의 반응시간에 따른 분해정도 ----------47

Appendix 목 차

Appendix 1. 단백질분해효소 활성을 결정하기 위한 검량곡선----------60

Appendix 2. 당분해효소 활성을 결정하기 위한 검량곡선----------61

Appendlx 3. 단백질분해효소 농도에 따른 Kjeldahl법과
Lowry법에 의한 글 자숙농축액의 가수분해율의 비교-----62

제 1 장　　서　　론

제 1 절 연구배경

굴 (Oyster)은 우리나라 남해안에서 어획되는 대표적인 수산 패류로서 식품학적인 요소에서 보면 굴은 특유의 풍미, 육질, 촉감 등이 있으며 영양적인 면에서 굴은 양질의 단백질과 지방 그리고 다량의 글리코겐, 무기질 및 비타민 B를 함유하고 있기 때문에 수산물을 기피하는 선진국에서도 즐겨 이용하는 패류중의 하나이다. 이들의 이용 가공면에서는 신선한 날것으로 이용하든가 또는 굴 기름담금통조림, 굴 보일드통조림 등으로 가공되어 내수 또는 수출되고 있으며, 그외 다른 가공 형태로는 굴 젓갈류, 건제품 또는 냉동품의 형태로 이용되고 있는 실정이다.

최근 몇년간의 생산 현황을 보면 1990과 1991년에 생산이 감소되었다가 1992년부터 급격히 증가하여 1993년에는 286,427 M/T이 생산되었으며 우리나라의 연근해에서 생산되는 패류 생산량의 1위를 차지하고 있으며, 이들 생산량의 대부분이 양식에 의존하고 있음을 알 수 있다 (표 1). 이들 수확된 제품에서 대부분인 약 80%에 달하는 량이 통조림으로 가공되어지며 나머지는 생굴 또는 1차 가공에 의해서만 유통되고 있음을 알 수 있다 (표 2).

특히 굴조직은 어체와는 달리 보존성이 낮아 환경적인 면이나 미생물에 의해 오염을 받기 쉽다. 따라서 봄부터 여름에 이르기까지 굴을 생식하여 발생하는 식중독 사례는 많이 보고되고 있으며, 미국 FDA에서는, 굴의 산란기에 빈번하게 발생되는 식중독사고 때문에 일정 기간을 정하여 그 동안에는 시판 및 생식을 금지하고 있다. 우리나라에서도 이러한 산란기나 식중독 우려가 있는 시기에 패류를 생식은 크게 문제시되고 있는 것은 사실이다. 이

표. 1. 최근 8년간 굴 생산량

(M/T)

년도별	천연산	양식산
1986	13,769	255,006
1987	15,145	288,078
1988	14,247	284,472
1989	13,306	242,956
1990	16,152	219,124
1991	16,518	215,418
1992	17,526	235,326
1993	28,215	258,212

수산년감(1992, 1994년)

표. 2. 1993년 수산가공품별 굴 처리량

(M/T)

품목별	처리량
자건품	4,673
염신품	26
통조림	3,503
동결처리	2,277

수산년감(1994년)

러한 이유 때문에 굴의 생산은 12월부터 이듬해 5월까지 한정되어 있으므로 굴 가공공장은 년중 5개월만 가동되며 나머지 7개월은 생산의 부재로 막대한 시설비를 낭비하고 있는 실정이다. 따라서 굴수확기에 굴을 냉동저장하여 이들 냉동굴을 원료로 한 굴향미성분을 제품화함으로서 가공공장의 가동율을 증가시켜 단위공장당 수익을 증가시킬 뿐만 아니라 굴이 수확되지 않는 비수기에는 홍합 등 부가가치가 낮은 어패류를 원료로 한 천연 향미제 등을 제품화함으로써 가공공장의 가동율을 증가시킬 뿐만 아니라 제품의 다양화를 꾀할 수 있다.

최근 가공식품의 위해성 여부에 대한 소비자들의 인식이 높아짐에 따라 반가공처리 또는 천연상태의 식품에 대한 기호도가 높아지고 있다. 특히 식품의 안정성 및 영양적인 측면이 충족되면서 자연의 맛을 살린 천연조미료의 개발에 관심이 집중됨으로서 풍부한 영양성분과 특유의 향미성분(유리아미노산, 5'-mononucleotide, TMAO, betaine, creatinine, pyrazine 등)을 함유하는 수산 연체동물과 갑각류를 이용한 천연향미제 개발에 관한 연구가 최근 국외에서 활발하게 이루어지고 있다. 수산 연체동물과 갑각류를 소재로 한 천연조미료는 이미 일본 등 구미각국에서 여러가지 종류와 형태로 제조되어 판매되고 있으며, 현재 시판되고 있는 대부분의 수산물 천연 향미제품들은 자숙, 분쇄 및 건조과정을 거쳐 분말화 시키거나 열수추출 후 증량제와 조미료를 가한 후 paste상으로 제품화시키기 때문에 조직중에 향미성분이 함입되어 발현되지 못하는 상태이므로 상대적인 정미성이 떨어진다. 따라서 본 연구자들은 굴조직 자체가 지니고 있는 가수분해효소류 및 첨가한 단백질 분해효소와 amylase들을 이용하여 굴 조직단백질과 glycogen의 분해를 촉진시켜 조직중에 함유되어 있는 향미성분들의 추출을 향상시키고 생성된 분해생성물인 아미노산, 당류, peptide류 및 각종 정미성분들과 잘 어울린 고품질

의 향미제품을 얻고자 한다.

UR타결 이후 수입수산물의 물량은 해마다 증가하고 있으며, 1997년 이후에는 거의 모든 수산물의 수입이 자유화될 것에 대비하여 저가의 원료로부터 고부가가치의 가공식품 개발이 시급하며, 수산 가공폐기물을 자원화함으로써 가공폐기물에 의한 환경오염을 방지함과 동시에 수산자원의 효율적인 이용을 위한 연구가 시급한 실정이다. 따라서 굴의 통조림 가공중의 부산물인 굴자숙액은 방류로 인한 수질오염을 피하고자 높은 연료비를 소비하면서까지 자숙액을 농축하여 저가의 자숙농축액으로 제조 후 판매되고 있다. 자숙액 중에는 다량의 고형분과 함께 굴 고유의 향미 및 정미성분들이 함유되어 있다. 최근 환경보호의 문제와 맞물려 이러한 자숙액의 처리는 굴가공공장에 새로운 문제를 제시하고 있다. 현재 판매되는 굴 자숙농축액의 가격은 염농도에 따라 좌우되며, 염농도가 20%일때는 1L 당 1$, 염농도가 10%일때는 1L 당 5$, 그리고 염농도가 10%이하인 농축액은 현재상태로는 국내에서 생산이 되지는 않으나 외국에서는 상당히 높은 가격으로 판매되고 있는 실정이다. 따라서 년간 18만톤 이상의 굴을 자숙처리 함으로서 부산물로 얻어지는 굴자숙액의 양은 막대하며 이러한 막대한 양이 저가로 수출되어 탈염된 후에 고농축액으로 역수입되고 있는 실정이다. 따라서 굴 자숙액 중의 향미성분과 유용성분을 회수하여 식품첨가물로서 이용하고자 본 연구를 시도하고자 한다.

제 2 절 연구의 필요성 및 국내외 기술현황

최근 국민소득의 증대와 식생활 구조의 변화로 가공식품의 생산이 날

로 증가하고 있으며 가공식품의 제품 다양화를 꾀하기 위해 보다 다양한 식품첨가물의 개발이 시급하며, 합성 식품첨가물의 위해성 여부에 대한 소비자들의 인식이 높아짐에 따라 천연 식품첨가물에 대한 기호도가 높아지고 있다. 우리나라의 식품첨가물 산업은 기업의 영세성과 축적된 기술의 부재로 인해 대부분의 원료를 일본과 미국에서 수입 또는 재래식 제조방법에 의존하고 있다. 향미제 개발은 미국의 IFF(International Flavor & Fragnant Co.)가 합성향료를 주체로 주도적인 역할을 해왔으나, 소비자들의 천연향미제의 선호도에 부응하여 현재 구미의 많은 식품공장에서 천연 식품향미제 개발에 관심이 집중되고 있다. 최근 DNA 재조합기술의 발달로 말미암아 저가의 다양한 효소 구입이 용이해짐으로서 의학과 더불어 식품공업의 급속한 발달에 기여하고 있다. 특히 서구에서의 이 분야의 연구는 대부분이 천연소재의 식품을 단백질분해효소로 처리하여 조직 단백질을 분해하여 조직내에 함입되어 있는 향미성분을 추출한 후 열처리하여 보다 강하고 다양한 열발현 향미제의 개발에 치중하고 있다.

특히 식품의 안정성 및 영양적인 측면이 충족되면서 자연의 맛을 살린 천연조미료의 개발에 관심이 집중됨으로서 풍부한 영양성분과 특유의 향미성분(유리아미노산, 5'-mononucleotide, TMAO, betaine, creatinine, pyrazine 등)을 함유하는 수산 연체동물과 갑각류를 이용한 천연향미제 개발에 관한 연구가 최근 국외에서 활발하게 이루어지고 있다. 수산 연체동물과 갑각류를 소재로 한 천연조미료는 이미 일본 등 구미각국에서 여러가지 종류와 형태로 제조되어 판매되고 있으며, 현재 시판되고 있는 대부분의 수산물 천연 향미제품들은 자숙, 분쇄 및 건조과정을 거쳐 분말화시키거나 열수추출 후 증량제와 조미료를 가한 후 paste상으로 제품화시키기 때문에 조직중에 향미성분이 함입되어 발현되지 못하는 상태이므로 상대적인 정미성이

떨어진다. 따라서 본 연구자들은 굴조직을 단백질 분해효소와 당분해효소를 이용하여 굴 조직단백질과 glycogen의 분해를 촉진시켜 조직중에 함유되어 있는 향미성분들의 추출을 향상시키고 생성된 분해생성물인 아미노산, 당류, peptide류 및 각종 정미성분들을 가압 열처리하여 열발현 향미성분의 생성을 유도하여 고품질의 향미제품을 얻고자 한다.

환경보호에 대한 사회적 관심이 높아지면서 산업폐수 유출에 대한 보다 강력한 규제들이 생김으로서 폐수처리에 대한 업계의 부담비용이 증가일로에 있으며, GR협정과 더불어 환경보호차원에서 오염물질의 배출규제가 더욱 강력해지리라 예상된다. 식품산업은 가공원료의 특성상 다른 산업과는 달리 배출되는 공장용수에 유해물질이 섞여 있지 않은 대신에 다량의 유기물질을 함유하고 있기 때문에 담수 또는 해수의 COD를 상승시킨다. 굴의 통조림 가공시의 부산물인 굴 자숙액 중에는 자숙시에 굴에 함유되어 있는 생체수가 유출됨으로서 자숙액 중에는 glycogen, 단백질 및 비단백태 질소화합물 등이 다량 존재하며, 굴 고유의 향미 및 정미성분들을 함유하고 있기 때문에 조미료로서의 이용가치는 높으나 높은 염도 때문에 저가로 수출되고 있는 실정이다. 이러한 자숙액으로 굴스프 등의 제조에 관한 연구가 되어 있으나 높은 염도 때문에 식품첨가물로서의 이용은 미미한 실정이다. 최근 환경보호의 문제와 맞물려 이러한 COD가 높은 자숙액의 처리는 굴가공공장의 새로운 문제점으로 부각되고 있다. 따라서 굴가공공장으로 부터 유래되는 자숙액 중의 COD상승 요인인 유기물을 회수.이용함으로서 수질오염의 문제가 해결될 수 있다.

따라서 본 연구는 일시 다획성인 굴을 적절한 방법으로 저장하거나 저가의 다른 어패류를 원료로 하여 단백질 가수분해효소로써 굴 조직중에 함유되어 있는 정미성분들의 추출을 향상시키고 동시에 조직단백질을 가수

분해시켜 굴 향미성분의 개량조건을 개발함으로서 현재 4개월간인 가공공장의 가동율을 증가시켜 고부가가치의 제품을 생산하여 단위공장당 소득증대 추구하며, 굴자숙액의 염도를 저하시켜 가공공장의 부산물을 효과적으로 자원화함으로써 공해문제를 해결하는 효과를 얻고자 한다.

제 3 절 현 기술상태의 취약성

우리나라 식품산업은 기업의 영세성으로 인해 연구의 부재와 축적된 기술의 빈곤때문에 새로운 제품의 개발대신에 선진국 제품의 모방 또는 향미제품을 수입하여 이들의 적절한 배합과 포장 판매로 일관하고 있는 실정이다. 국내의 천연식품 향미제품의 생산은 재래식 생산방법에 의존하고 있다. 즉, 원료를 자숙, 분쇄 및 건조과정을 거쳐 분말화하거나 열수추출 후 증량제와 조미료를 가한 후 paste상으로 제품화시켜 판매해오고 있는 실정이다. 우리나라의 천연 향미식품으로는 장류와 젓갈류가 대표적으로 꼽을 수 있으며, 이들 제품은 상당기간 숙성중 효소작용에 의한 가수분해 산물에 의해 독특한 향미를 갖도록 한 것으로 장기간 숙성으로 인한 식품성분간의 상호작용 또는 미생물의 작용으로 원료물질 자체가 지닌 향미가 저하되고 염분함량이 높은 것이 단점이다. 국내의 간편식품 등의 가공식품에 사용되고 있는 천연향미제품은 주로 일본과 미국으로부터의 수입에 의존하고 있으며, 국내 생산은 재래식 생산방법에 의존하고 있다. 즉, 원료를 자숙, 분쇄 및 건조과정을 거쳐 분말화 하거나 열수추출 후 증량제와 조미료를 가한 후 paste상으로 제품화시킴으로서 원료자체에 비해 상대적인 향미치가 떨어진다.

일반적으로 어육이나 어육가공잔사를 원료로하여 여기에 상업용 효소

를 처리하여 제조한 엑스분 및 조미료등은 단백질의 가수분해율 뿐만 아니라 제품의 쓴맛이 문제점으로 많이 지적되고 있다. 이러한 원인은 단백질의 3차, 4차구조 내에 존재하던 소수성 아미노산이 분해과정에서 노출됨에 따라 쓴맛의 원인 물질로 작용하기 때문이다. 따라서 본 실험에서는 가공적성이 우수한 굴을 원료로 가수분해도를 결정하며 최적 조건에서 산업적으로 적용될 수 있는 범위를 선정한 다음 살균을 겸한 열처리 과정에서 열발현 향미성분의 생성을 유도함으로서 신선한 패류 자체의 맛과 냄새에 반응 화합물이 혼재된 양호한 천연 조미료제 (Natural oyster flavoring agent)를 얻을 수 있으리라 기대된다.

제 2 장 연구개발사업의 내용 및 범위

최근 생산량이 증가하고 있는 굴은 여천지역에서 구입하며, 단백질분해효소는 한국산 (태평양화학) 및 덴마크산 (Novo 사)을 그리고 당분해효소는 덴마크산 (Novo 사)을 구입하여 자숙굴 조직에 대한 온도, pH, 반응시간, 기질에 대한 효소량 및 기호도를 산정하여 자숙굴조직 및 자숙농축액의 가수분해조건을 결정한다. 가수분해물의 제조는 2 L 규모로 처리하며, 효소반응 후 가수분해물을 고압멸균기 처리하여 효소의 불활성화와 갈변반응을 유도하여 맛과 향을 향상시킨다. 가수분해에 따른 굴의 유리아미노산, 정미성분, 향미성분을 분석하며 그 결과에 따라 2차년도에는 10 L 규모의 pilot scale로 처리하여 제품의 안정성 및 이화학적인 특성을 분석하여 향미제 개발 가능성 여부를 판정하여 수산가공분야에 적용시킨다. 본 연구의 구체적인 내용 및 방법은 다음과 같다.

제 1 절 실험재료

95년 4월 10일 여천군소재 굴 양식장에서 생굴 30Kg을 구입하여 이들을 500g 포장단위로 포장하여 -35°C에서 동결 저장하면서 본 연구에 사용하였다.

제 2 절 실험방법

1. 일반성분분석

동결중인 생굴 시료를 해동 마쇄 후 AOAC법에 따라 수분, 단백질, 지질 및 회분을 정량하였으며, glycogen은 Carroll 등의 방법(1956)에 따라 정량하였다.

2. 가수분해조건의 확립

냉동굴을 해동한 후 100°C에서 10분간 열처리하여 조직중에 오염되어 있을 가능성이 있는 미생물을 처리함과 동시에 굴 향미성분의 생성을 유도하였다. 산업적인 응용에 최대한 접근하기 위하여 가능한한 화학약제의 사용을 피하기 위하여 자숙굴의 pH범위에서 활성도가 높은 단백질분해효소를 사용하였다. 생굴 500 g을 자숙하여 마쇄한 후 동량의 증류수를 가하고 2 L의 효소반응조에서 150 rpm의 속도로 교반하면서 굴조직의 분해를 유도하며, 효소반응의 영향인자인 온도, pH, 반응시간 및 기질에 대한 효소량에 대한 기질의 가수분해조건을 결정하였다. 본 연구에서의 온도 조건은 30 - 70°C이며, pH조건은 0.2 M sodium citrate (pH 5.0-6.5), 0.2 Msodium phosphate (pH 6.5-8.5) 및 0.2 M sodium carbonate buffer (pH 8.5-10.0)를 사용하였으

며, 반응시간은 6시간까지 설정하였다. 기질에 대한 효소의 비율은 0.2%-4%로 설정하였으며, 굴의 가수분해율은 전체 분해생성된 아미노산에 대한 상대적인 가수분해율로 계산하며, 가수분해율은 다음의 식에 의하여 결정한다.

$$\text{가수분해율} = \frac{D' - Do}{D'' - Do} \times 100\ (\%)$$

여기서 Do는 Blank치이며, D'는 일정반응시간 후에 생성된 아미노산 량이며, D"는 기질이 완전히 가수분해되었을때 생성되는 아미노산으로 환산한 값이다. 반응중에 생성된 아미노산량은 반응중 반응혼합물 일정량을 취하여 동량의 20% TCA를 가하여 단백질을 침전시킨후 침전된 단백질과 TCA 용해성 상등액을 각각 황산으로 분해하여 이들을 semimicro kjeldahl법으로 질소함량을 정량하였다.

실험의 간편성을 위하여 semimicro kjeldahl법과 Lowery (1958)법에 의한 아미노산검량곡선을 만들어 가수분해율을 결정하였다.

3. 가수분해물의 제조 및 분말화

상기실험에서 설정된 반응조건에서 pilot scale의 가수분해물을 제조하기 위하여 10 L 용량의 간이 발효조를 제작하여 가수분해물을 만들었으며, 가수분해 후 15%의 말토덱스트린과 5%의 아라빅검을 부형제로 첨가하여 분산시킨 후에 고온고압멸균기로 10분간 처리하여 효소의 불활성화, 발효중에 오염될 가능성이 있는 미생물의 사멸 및 갈변반응에 의한 향미성분의 생성을 유도한 후에 이들을 동결건조하여 분말화시킨다.

4. 원료 및 가수분해물의 정미성분분석

향미제품의 맛에 가장 영향을 미치는 유리아미노산과 정미성 질소성분을 아미노산 자동분석기 또는 고속액체크로마토그래피로 분석하여 원료와 가수분해물의 정미성분을 비교하였다. 향미성분은 현재 분석중에 있으며, 저장중의 제품의 품질변화는 2차년도에 수행할 예정이다.

5. 굴자숙농축액의 가수분해 및 정미성분분석

굴 자숙농축액은 다량의 굴향미와 정미성분을 함유하고 있으며 굴 향미제로서의 이용도는 높을 것으로 추정되기 때문에 맛에 가장 영향을 미치는 유리아미노산과 정미성 질소성분을 아미노산 자동분석기 또는 고속액체크로마토그래피로 분석하여 원료와 가수분해물의 정미성분을 분석하였다.

6. 자숙농축액의 염도저하 실험

굴 자숙농축액은 다량의 단백질과 glycogen을 함유하기 때문에 점도가 높아 한외여과시 투수율이 매우 낮다. 따라서, 자숙액을 단백질분해효소와 α- 및 β-amylase로 처리한 후 미세여과로 미세고형물을 제거한 후에 nanofiltration에 의해 염도를 저하시키고자 시도하였다.

제 3 장　연구개발사업의 결과 및 고찰

제 1 절　생굴 및 자숙농축액의 일반성분

생굴 및 굴 자숙농축액의 일반성분을 분석한 결과를 표 3에 나타내었다. 생굴의 경우 수분은 81.1%, 단백질은 10.54, 지질과 회분은 2.05 그리고 글리코겐은 4.54%로 나타났다. 자숙농축액의 경우 수분은 80.27%, 단백질은 6.69%, 지질은 0.1%, 회분은 8.48% 그리고 글리코겐은 2.42%였다. 자숙농축수의 높은 회분함량은 고농도의 염도 때문이며, 생굴과 굴 자숙농축액중에는 다량의 단백질과 당질을 함유하고 있으므로 굴 향미제 개발을 위한 조직의 가수분해를 위해서 단백질분해효소와 당질분해효소의 병합처리가 요망된다.

제 2 절　굴 분해를 위한 효소농도 및 반응시간 조건

생굴 25 g을 100℃에서 10분간 자숙한 후 동량의 증류수를 가하여 균질기로 3분간 마쇄하여 시판되는 alcalase를 기질에 대하여 0.05-4%를 가하여 자숙굴의 pH인 pH 5.8와 45℃에서 굴조직의 가수분해를 유도하였다. 그림 1에 나타난 바와 같이 기질에 대하여 1%의 효소농도 까지는 단백질의 가수분해가 급격하게 일어났으며, 2-4%의 효소농도에 의하여 약간의 가수분해반응의 증가가 일어났다.

기질에 대한 효소농도실험과 동일한 조건하에서 기질량에 대하여 2%의 효소를 가하여 반응시간에 따른 굴 조직의 분해정도를 측정한 결과 반응 2시간 까지는 단백질의 분해가 증가하였으나 반응 2시간 후 부터는 단백질의 분해도는 거의 변화가 나타나지 않았다 (그림 2).

표 3. 생굴의 일반성분

(%)

구 분	수분	단백질	지질	회분	글리코겐
생 굴	81.10	10.54	2.05	2.05	4.54
자숙수	96.44	0.45	0.01	1.59	0.50
자숙농축수	80.27	6.69	0.10	8.48	2.42

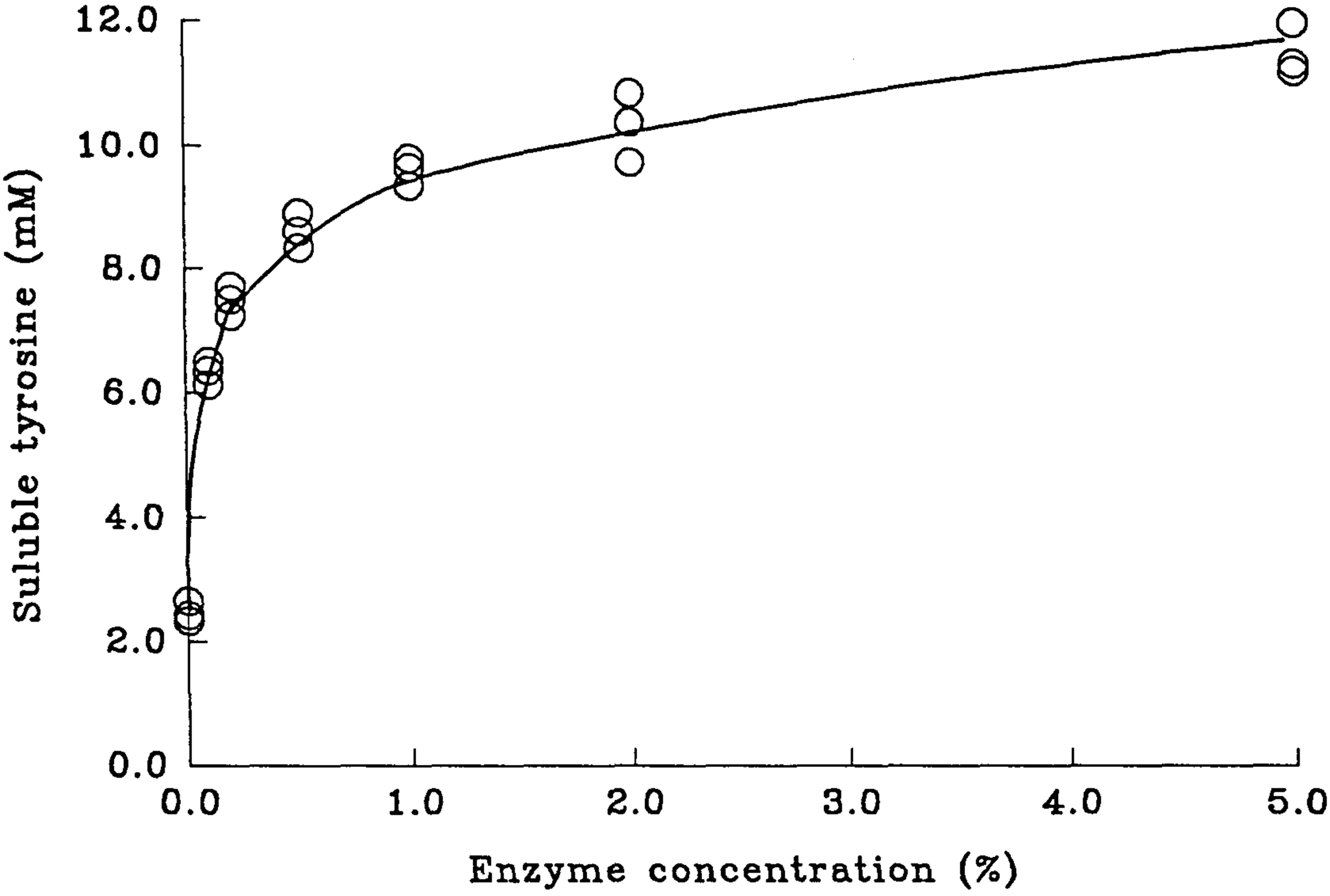


그림 1. 단백질분해효소 농도에 따른 자숙굴 조직중의 단백질의 분해정도.

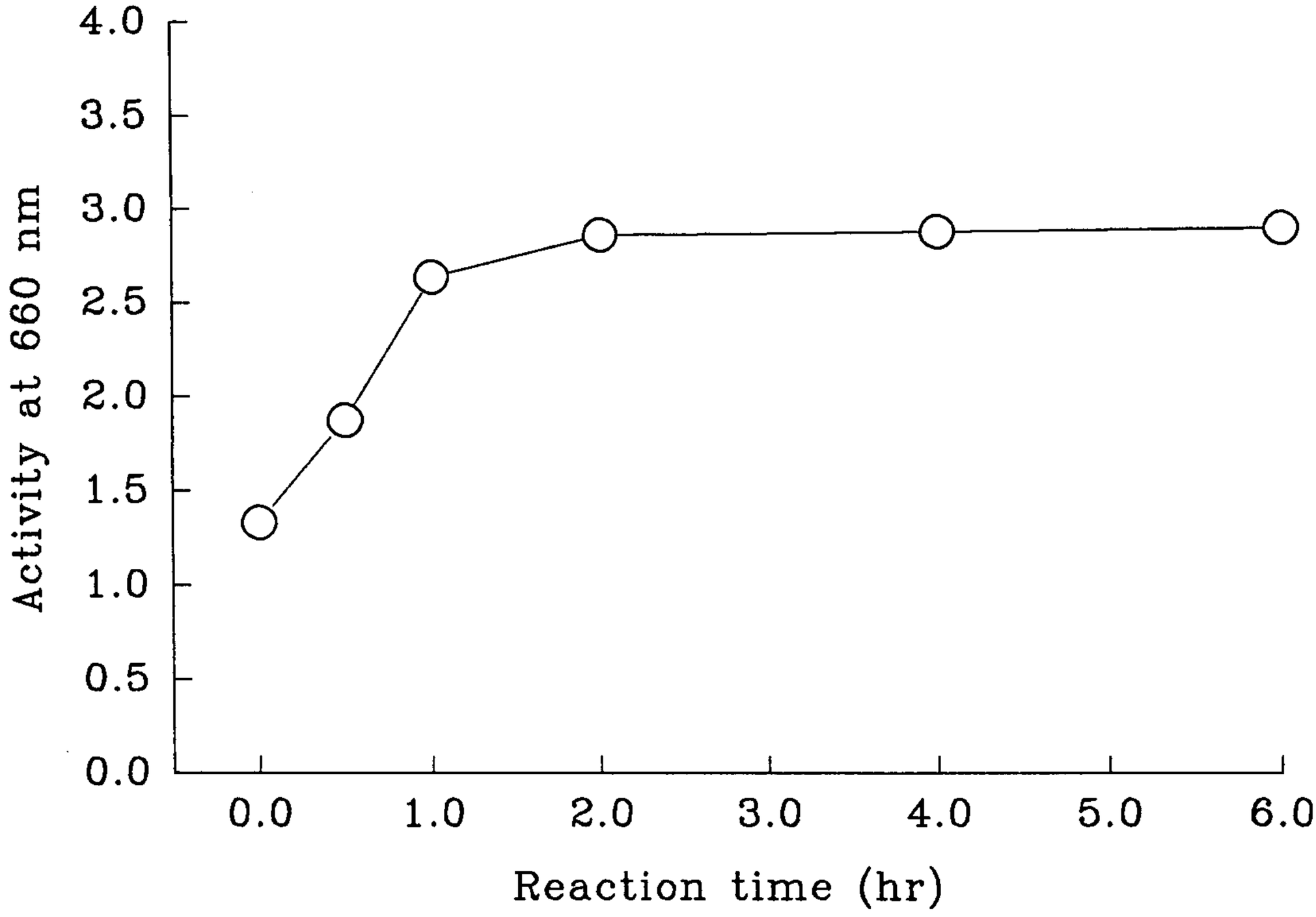


그림 2. 반응시간에 따른 자숙굴 조직중의 단백질의 분해정도.

본 실험에 사용된 굴 조직중에는 약 4.54%의 글리코겐이 함유되어 있으므로 당질분해효소를 이용하여 글리코겐을 분해시킴으로써 생성되는 포도당은 가압가열시에 아미노화합물과 열축합하여 피라진과 같은 질소화합물을 생성시킴으로서 굴 향미성분을 개량시킬수 있으므로 향미성분의 전구물질의 량을 증가시키기 위하여 α-amylase와 β-amylase의 혼합액을 제조하여 글리코겐의 분해를 유도하였다. 예비실험에 의하면 굴의 글리코겐에 대한 α-amylase의 활성도는 β-amylase에 비하여 약 10배 가량 높았으므로 α-amylase와 β-amylase를 1:10으로 혼합시켜 amylase 혼합액을 제조하였다. 그림 3에서 보는 바와 같이 굴 조직에 대하여 0.1%의 amylase 혼합액을 가하여 글리코겐의 분해를 유도한 결과 반응 1시간내에서 대부분의 글리코겐이 분해되었으며, 반응 1시간 후에는 반응시간의 경과와 더불어 반응생성물의 증가가 나타나지 않았다.

제 3 절 굴 분해를 위한 pH 및 온도 조건

시판되는 Novo 사제 neutrase를 사용하여 반응 pH 및 반응온도에 따른 굴 조직단백질의 분해정도를 Anson (1938)법에 의하여 결정하였다. 본 실험에 사용된 효소량은 기질에 대하여 2%를 사용하였으며, 반응온도 45°C에서 pH 4.5 - 9.0 영역에서의 pH에 의한 굴 조직단백질의 분해도는 그림 4에 나타난 바와 같다. 그림에서 나타난 바와 같이 자숙굴의 효소적인 가수분해는 pH 5.7-7.0의 영역에서 높은 활성도를 지니고 있었으므로 굴조직 자체의 pH는 neutrase의 높은 활성영역에 포함되고 있다. 따라서 neutrase를 단백질분해효소로 사용할 경우, pH를 조정하기 위하여 완충물질을 첨가할 필요가 없기 때문에 굴조직의 가수분해를 위한 적당한 효소제로 판단된다. 그

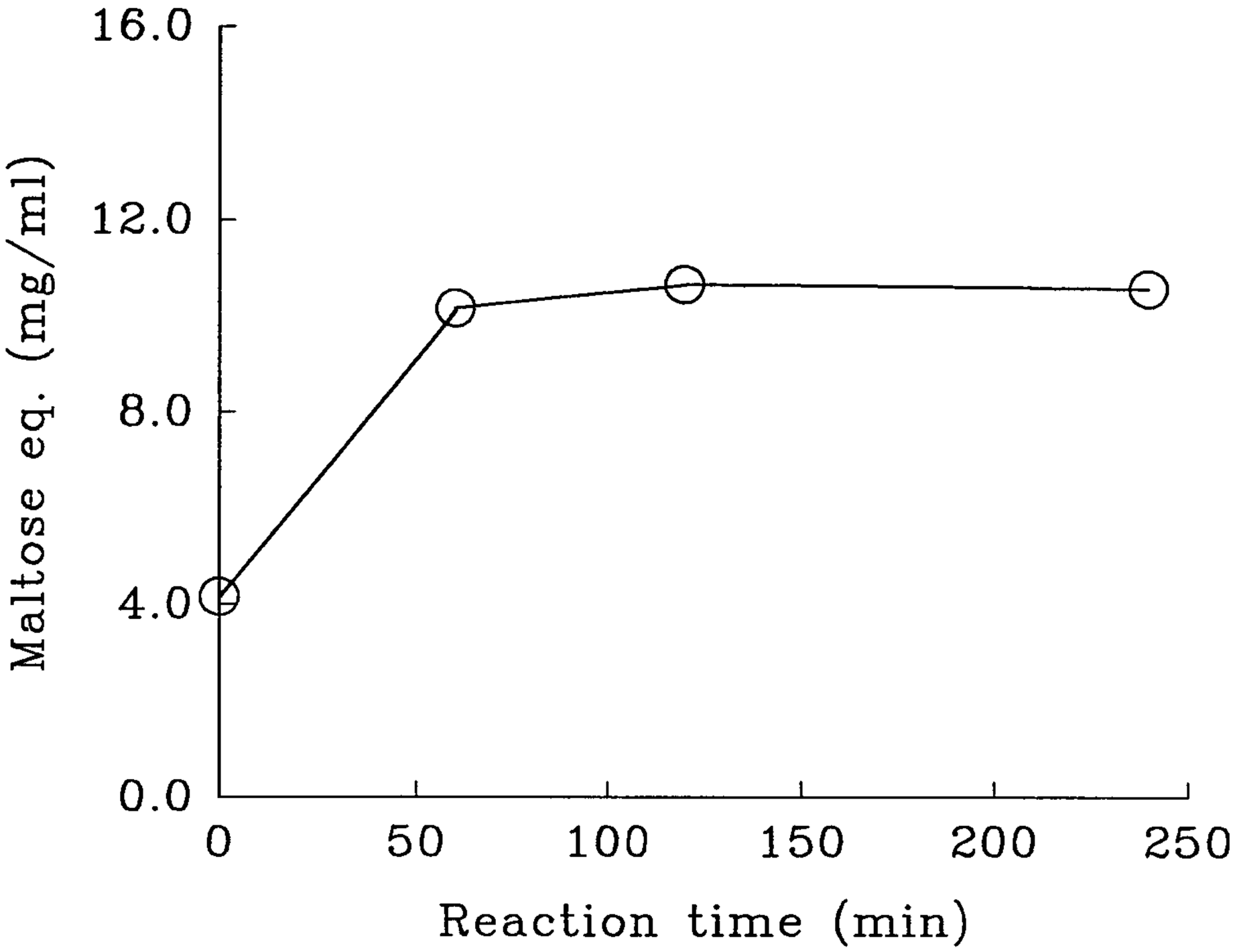


그림 3. 반응시간에 따른 자숙굴 조직중의 글리코겐의 분해정도.

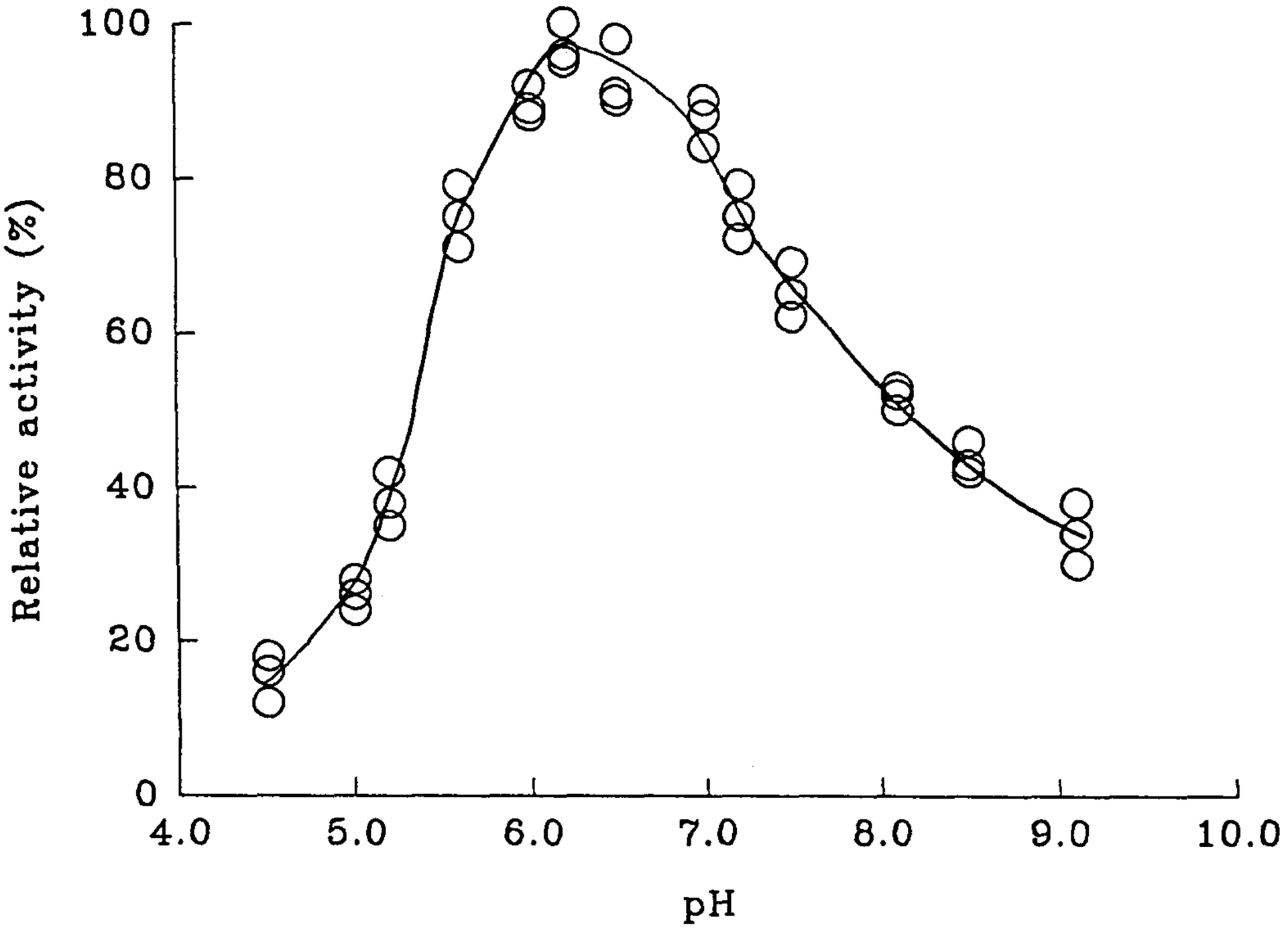


그림 4. Neutrase 효소에 의한 자숙굴 조직의 45℃에서의 pH에 따른 가수분해 정도.

리고 pH 7.0에서의 온도에 따른 활성도의 결과는 그림 5에 나타낸 바와 같이 neutrase는 45℃에서 가장 높은 활성도를 나타내고 있으므로 굴 천연향미제 개발을 위하여 neutrase를 사용하여 굴 조직단백질을 분해시킬 경우 굴조직자체의 pH와 45℃에서 2시간 동안의 가수분해를 유도함으로써 가능하리라 판단된다.

시판되는 Novo 사제 alcalase를 사용하여 반응 pH 및 반응온도에 따른 굴 조직 단백질의 분해정도를 측정한 결과, 반응온도 45℃에서 pH 5.0 - 10.0 영역에서의 pH에 의한 굴조직 단백질의 분해도는 그림 6에 나타난 바와 같이 자숙굴의 효소적인 가수분해는 pH 6.5 - 9.0의 넓은 pH 영역에서 높은 활성도를 지니고 있었다. 그리고 반응 온도에 대한 영향을 측정한 결과 60℃에서 가장 높은 활성도를 나타내고 있었다 (그림 7). 따라서 alcalase를 단백질 분해효소로 사용할 경우, 가수분해율을 높이기 위하여 pH를 조정을 위한 완충물질을 첨가해야하기 때문에 산업적인 이용면에서 neutrase보다는 다소 작업의 어려움이 야기될 수 있다.

굴 조직단백질을 분해하기 위한 이상의 실험조건을 이용하여 100 g의 생굴을 마쇄하여 굴 중량에 대한 2%의 neutrase와 0.1%의 α-amylase와 β-amylase의 혼합액 (1: 10)을 첨가하여 45℃에서 4시간 동안 반응시키면서 측정한 단백질의 분해도를 그림 8에 나타내었다. 그림에서 나타난 바와 같이 반응 2시간 까지 TCA 불용성 단백질은 감소하였으며, TCA 가용성 펩타이드는 증가하였다. 이러한 결과는 단백질 분해효소에 의하여 굴 조직단백질이 분해되어 저분자의 펩타이드 또는 아미노산으로 분해된 결과로써 굴향미제를 제조하기 위한 효소적인 반응은 45℃에서 2시간 동안의 반응으로서 충분하리라 예상된다. 그러나 alcalase와 마찬가지로 neutrase를 조직단백질 분해용 효소로 사용할 경우 효소 안정제로 첨가된 물질로부터 기인되는 이취의

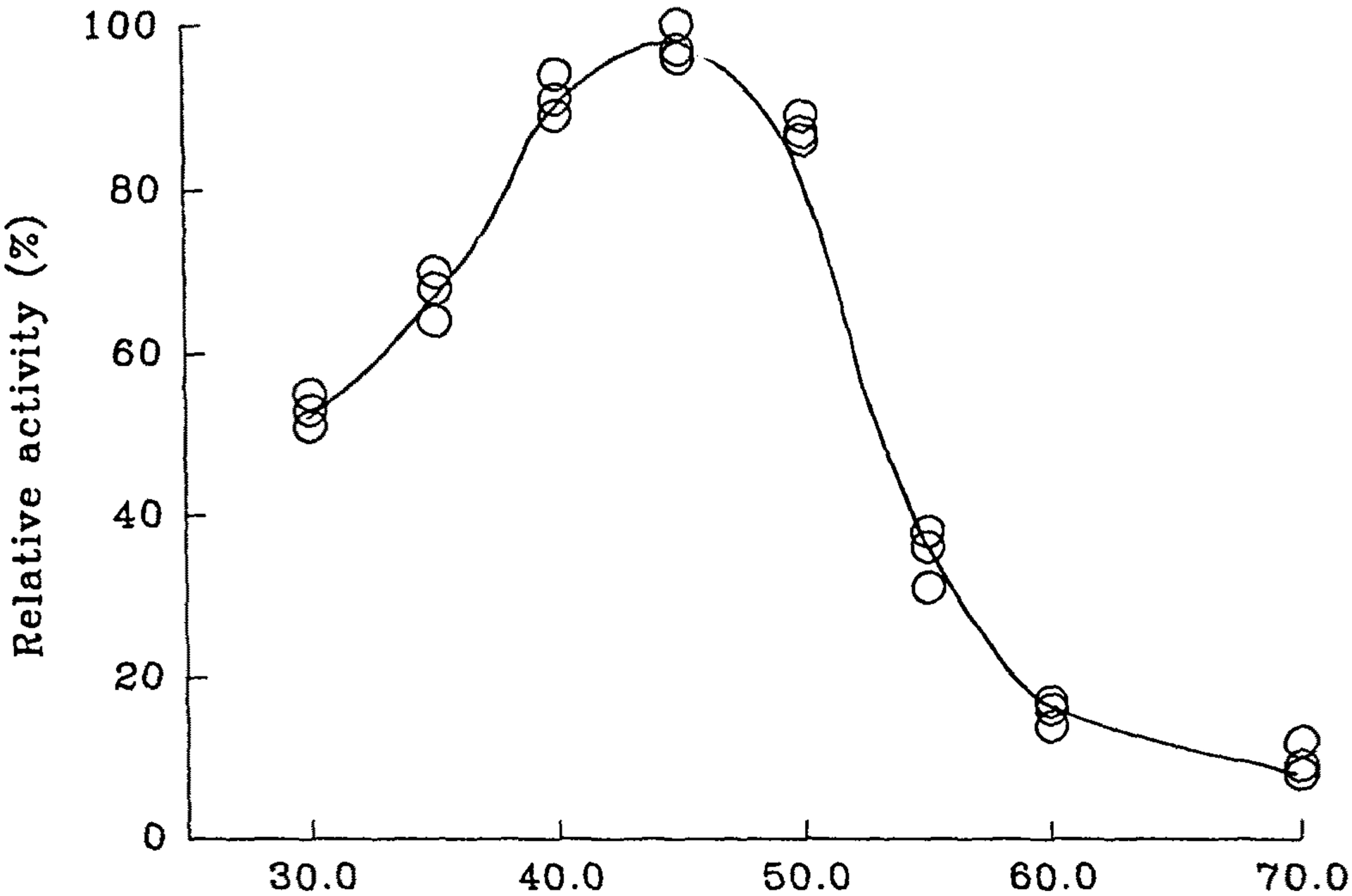


그림 5. Neutrase 효소에 의한 자숙굴 조직의 pH 7.0에서의 온도에 따른 가수분해 정도.

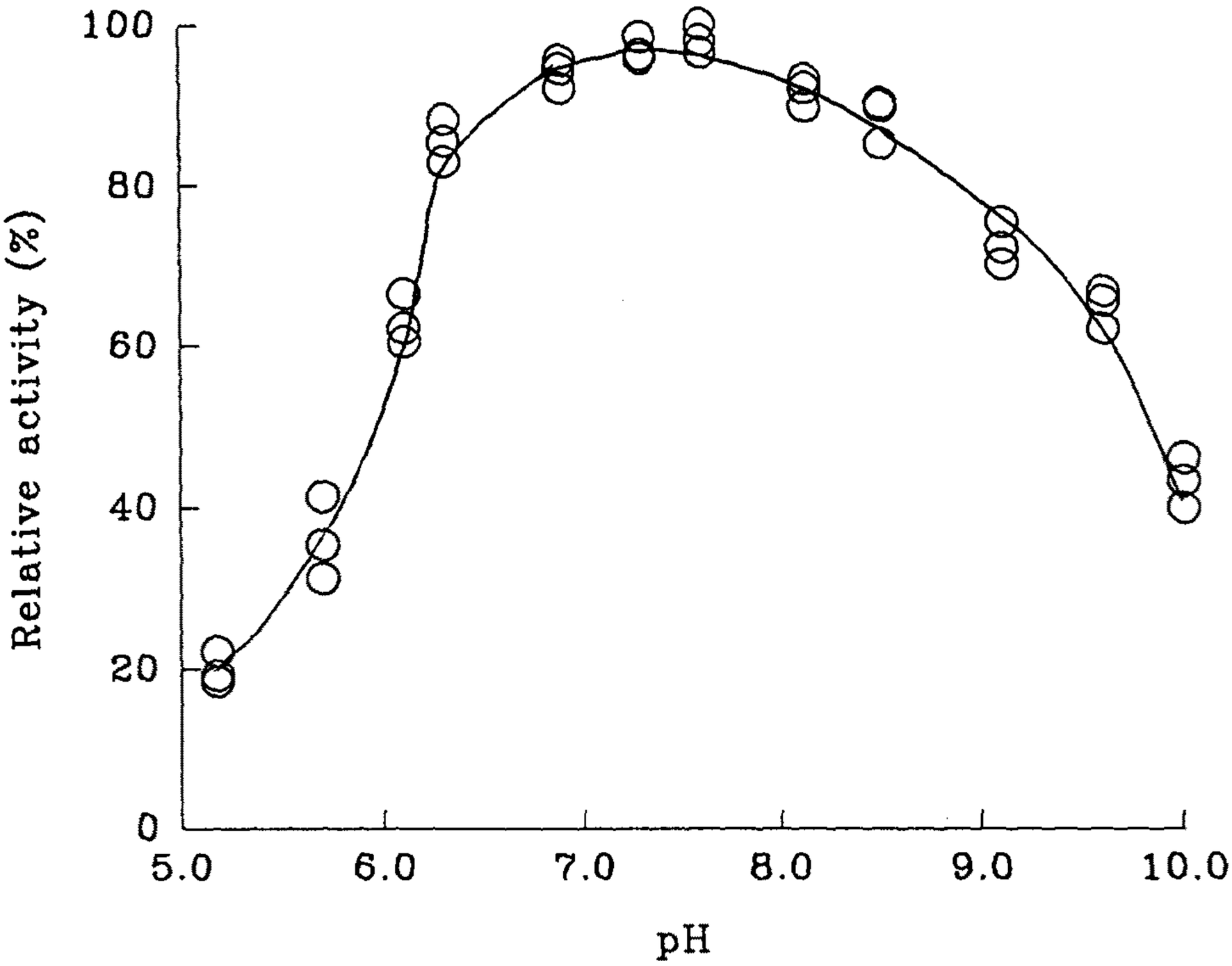


그림 6. Alcalase 효소에 의한 자숙굴 조직의 45°C에서의 pH에 따른 가수분해 정도.

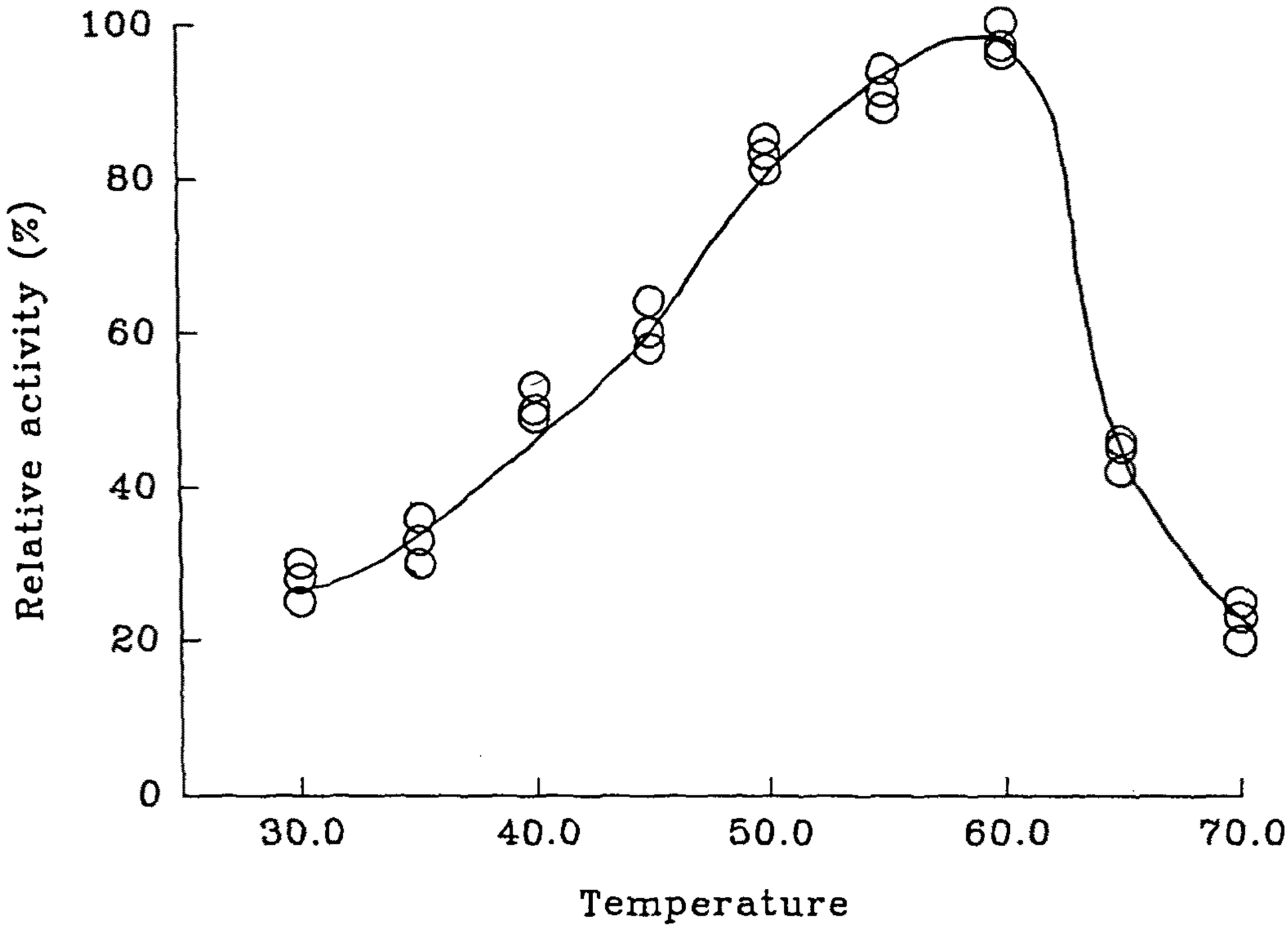


그림 7. Alcalase 효소에 의한 자숙굴 조직의 pH 7.0에서의 온도에 따른 가수분해 정도.

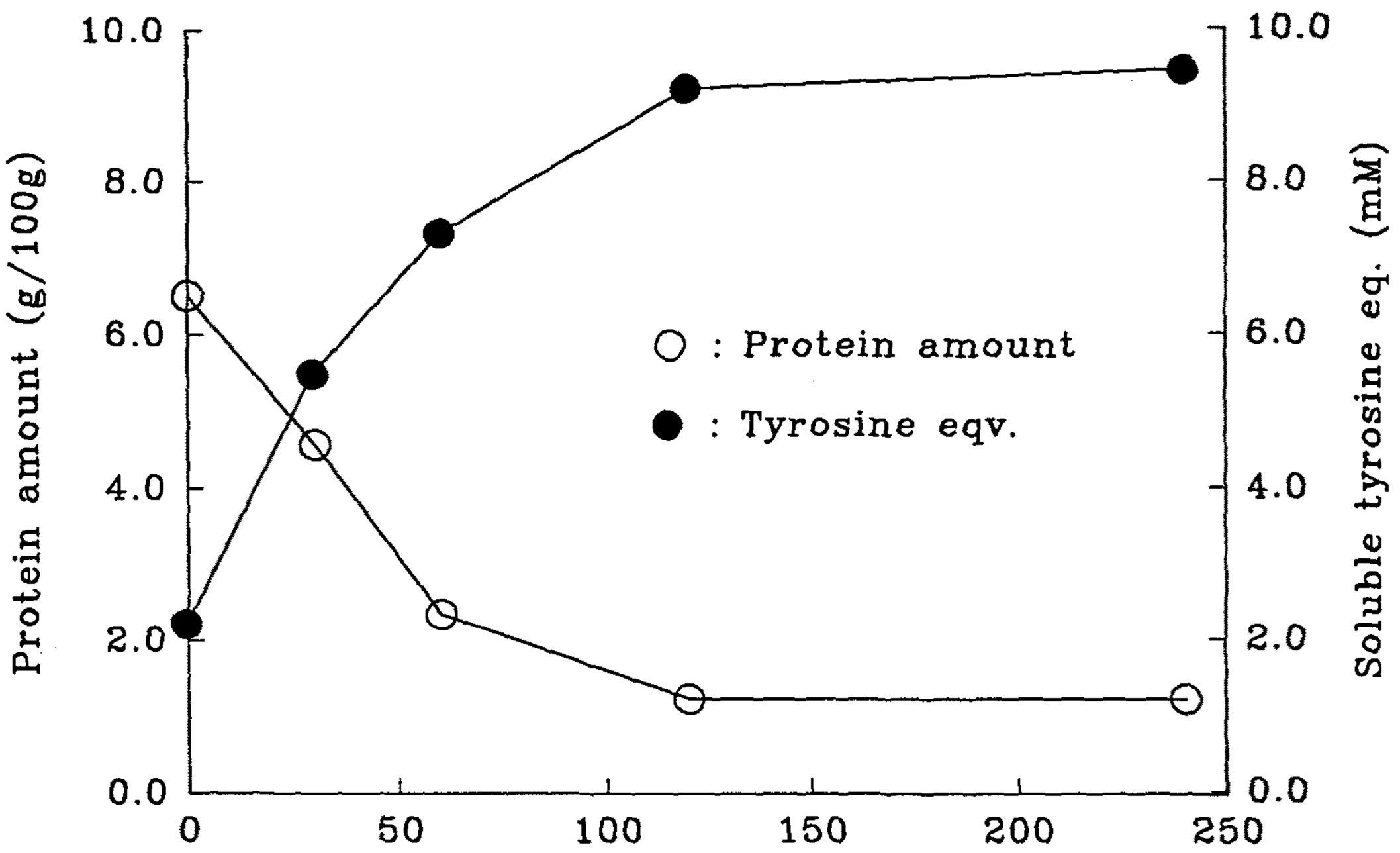


그림. 8. 반응시간에 따른 자숙굴 조직중의 단백질과 글리코겐의 가수분해 정도. 효소반응에 사용된 단백질분해효소는 Neutrase (2%)이며 당분해효소는 0.1%의 α-amylase와 β-amylase의 혼합효소용액 (1:10)이며 효소반응 온도는 45℃이다.

생성이 미미하게나마 관능적으로 검지되었다.

제 4 절 굴 자숙농축액 분해를 반응시간 조건

굴 자숙농축액중에 함유되어 있는 6.69%의 단백질과 2.42%의 글리코겐을 분해시킴으로써 향미성분의 전구물질인 아미노산과 단당류의 생성을 유도함으로써 향미성분의 증가를 꾀할 수 있다. 따라서 자숙농축액중의 단백질과 글리코겐을 분해하기 위하여 0.2%의 neutrase와 0.1%의 α-amylase 및 β-amylase의 혼합 효소액을 자숙농축액에 가하여 45°C에서 4시간 동안 반응시키면서 글리코겐과 단백질의 분해 및 당도의 변화를 그림 9와 10에 나타내었다. 그림 9에 나타난 바와 같이 반응시간의 경과에 따라 글리코겐의 분해산물인 말토스의 량은 반응 2시간까지 점차적으로 증가하였으며, 반응 2시간 후부터는 큰 변화가 없었다. 당도 또한 말토스의 변화와 유사한 경향을 나타내었으며, 반응 2시간의 결과 약 3 brix 정도 증가하였다.

상기의 조건에서 6시간 동안의 효소반응중에 일어나는 총 extractable nitrogen, 총 creatinine, TMA 및 TMAO의 변화를 그림 11-14에 나타내었다. 그림에 나타난 바와 같이 총 extractable nitrogen과 총 creatinine은 반응 2시간까지 증가하였으며, 반응 2 시간 이후에는 큰 변화가 나타나지 않았다. 그러나 TMA는 반응 4시간까지 지속적으로 감소하는 경향을 나타내고 있었으며, 이는 사용한 효소에 혼재되어 있을 가능성이 있는 환원효소에 의한 것으로 추정된다.

제 5 절 Protease NP에 의한 굴 분해를 반응시간 조건

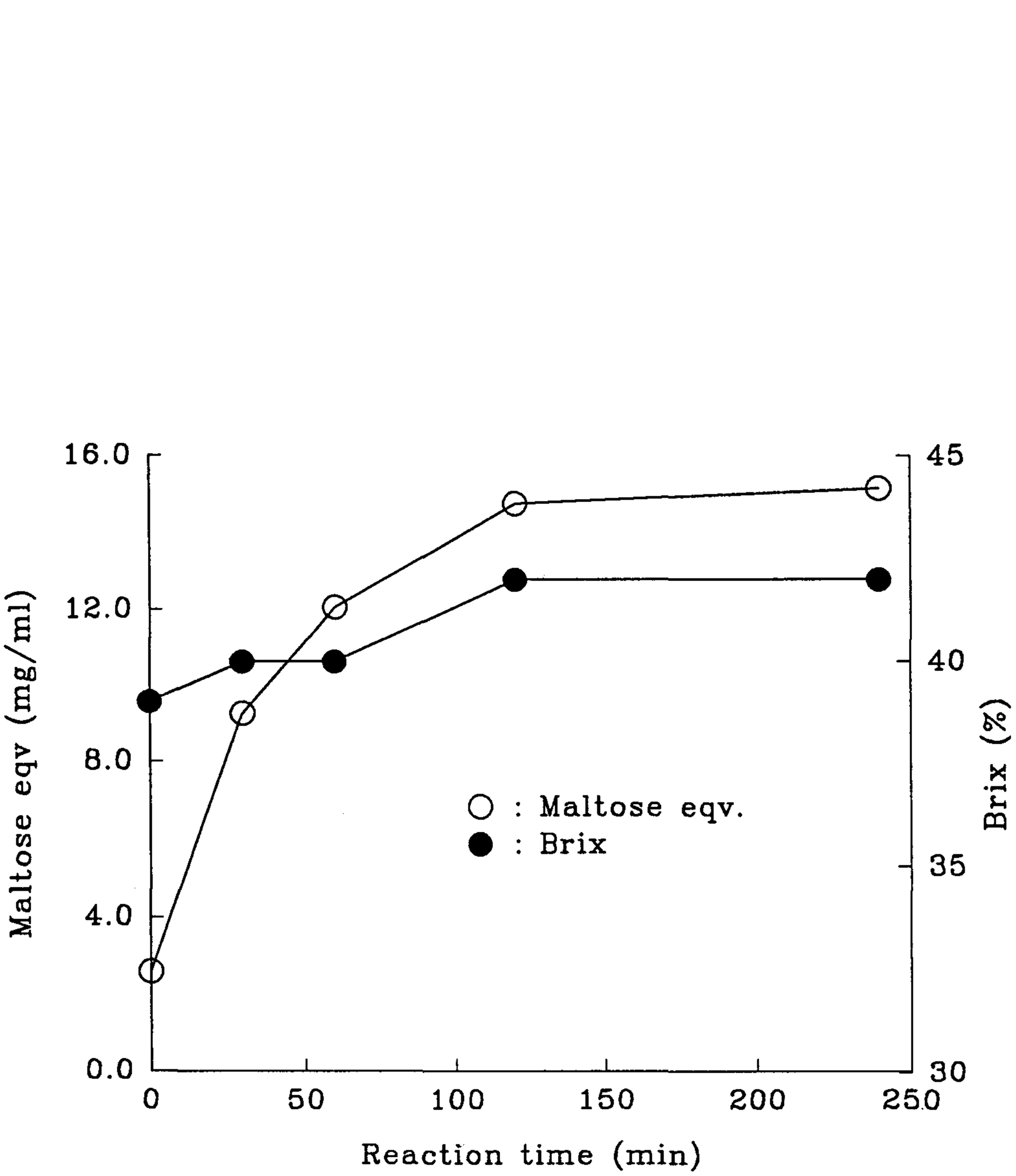


그림 9. 반응시간에 따른 굴자숙 농축액중의 글리코겐의 가수분해와 염도의 변화 정도. 효소반응에 사용된 당분해효소는 0.1%의 α-amylase와 β-amylase의 혼합효소용액 (1:10)이며 효소반응조건은 pH 7.0과 45°C이다.

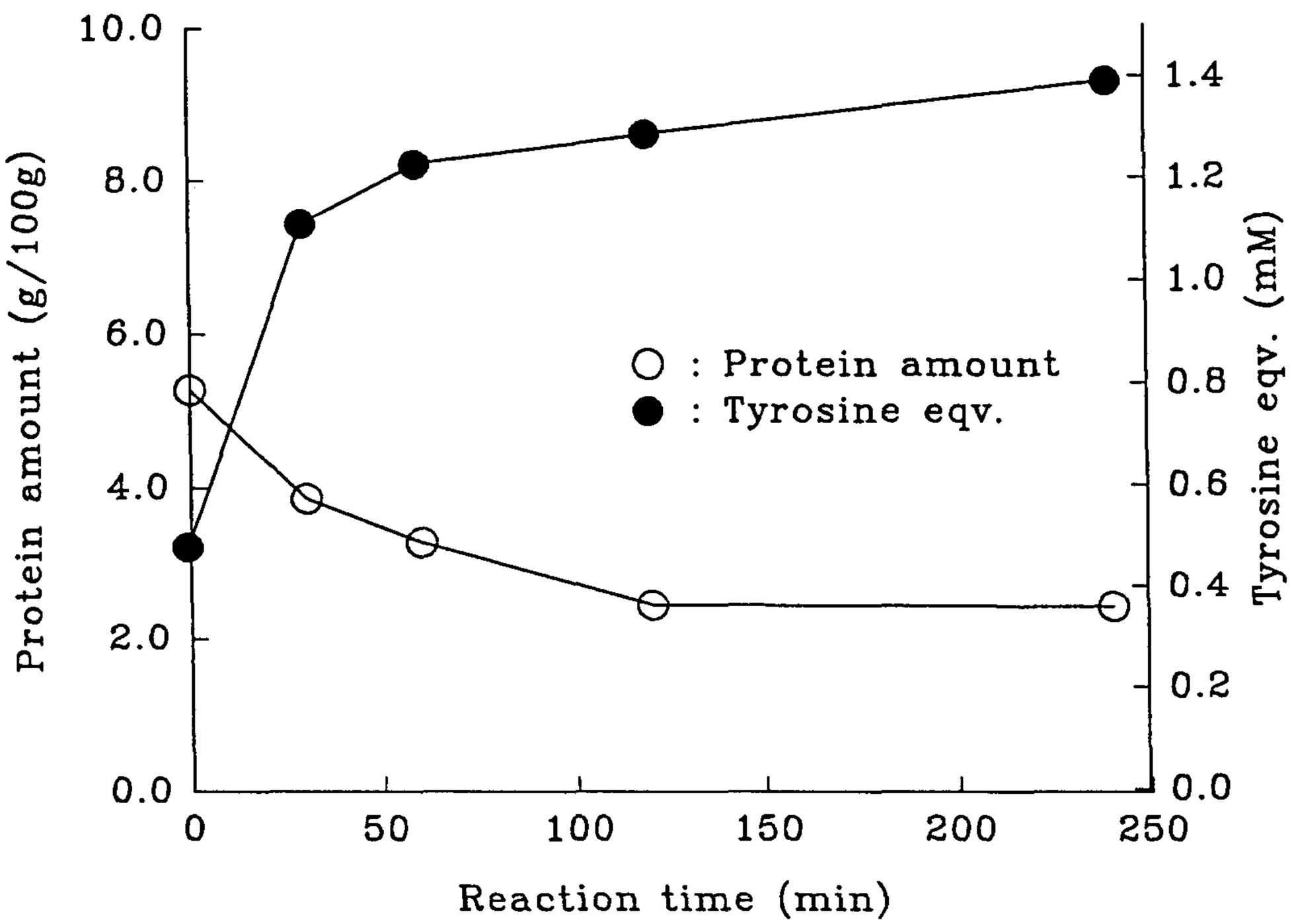


그림 10. 반응시간에 따른 굴자숙 농축액중의 단백질의 가수분해와 염도의 변화 정도. 효소반응에 사용된 단백질분해효소는 Neutrase (0.2%)이며 당분해효소는 0.1%의 α-amylase와 β-amylase의 혼합효소용액 (1:10)이며 효소반응조건은 pH 7.0과 45°C이다.

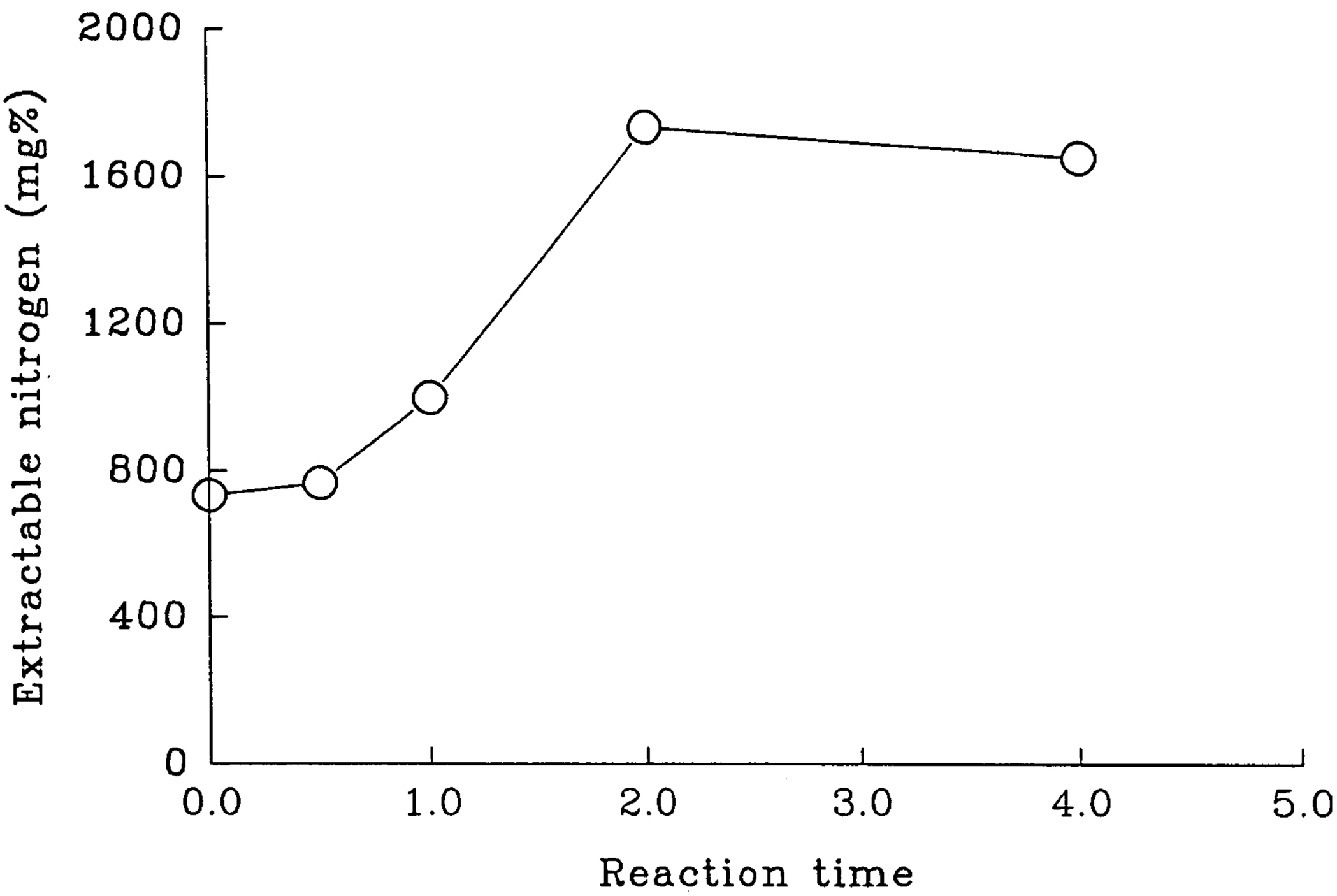


그림 11. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합용액에 의한 글자숙 농축액의 총 extractable nitrogen의 반응시간에 따른 변화. 효소반응 온도는 45°C이며 교반기의 회전속도는 150 rpm이다.

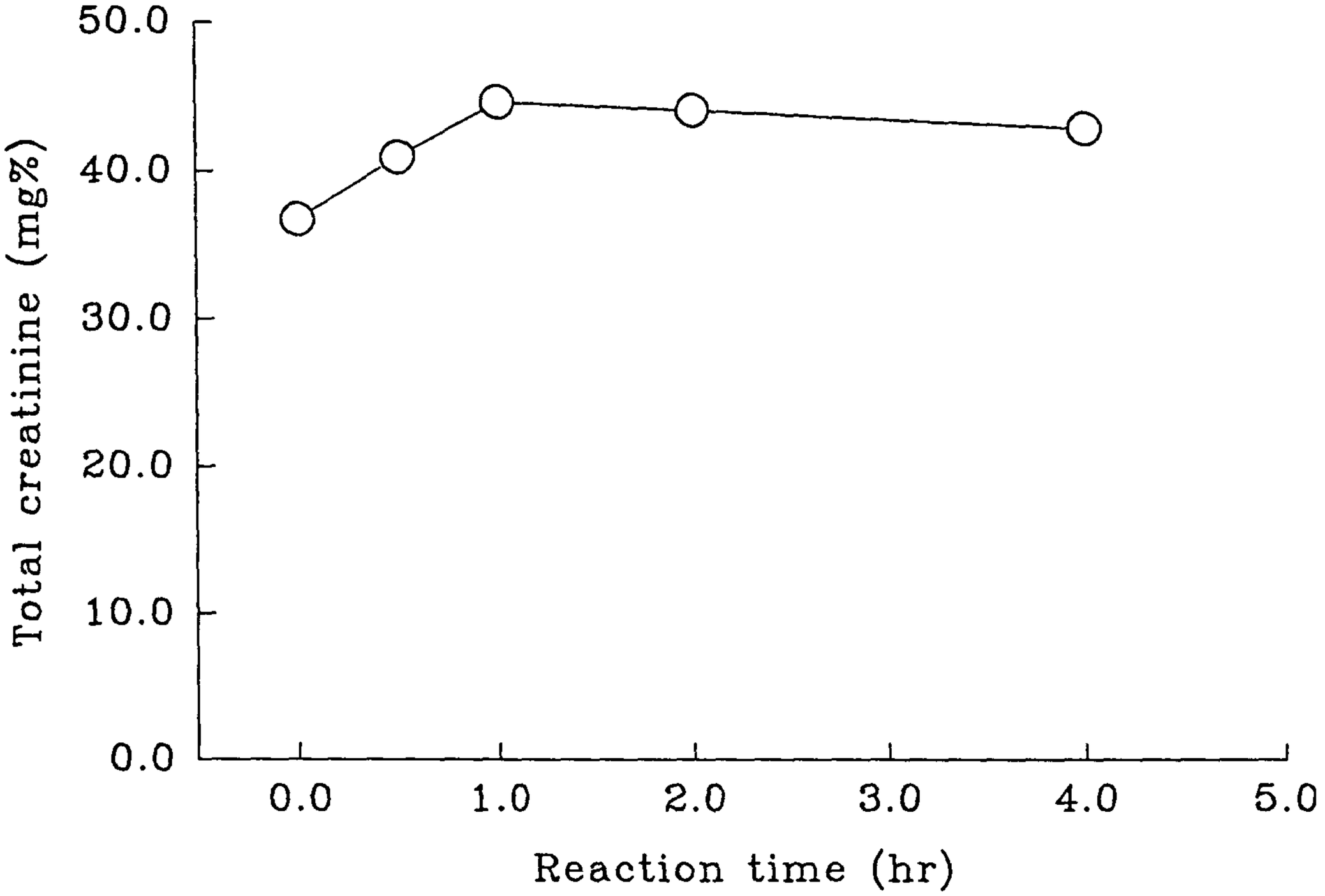


그림 12. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합액에 의한 굴자숙 농축액의 총 creatinine의 반응시간에 따른 변화. 효소반응 조건은 그림 11과 같다.

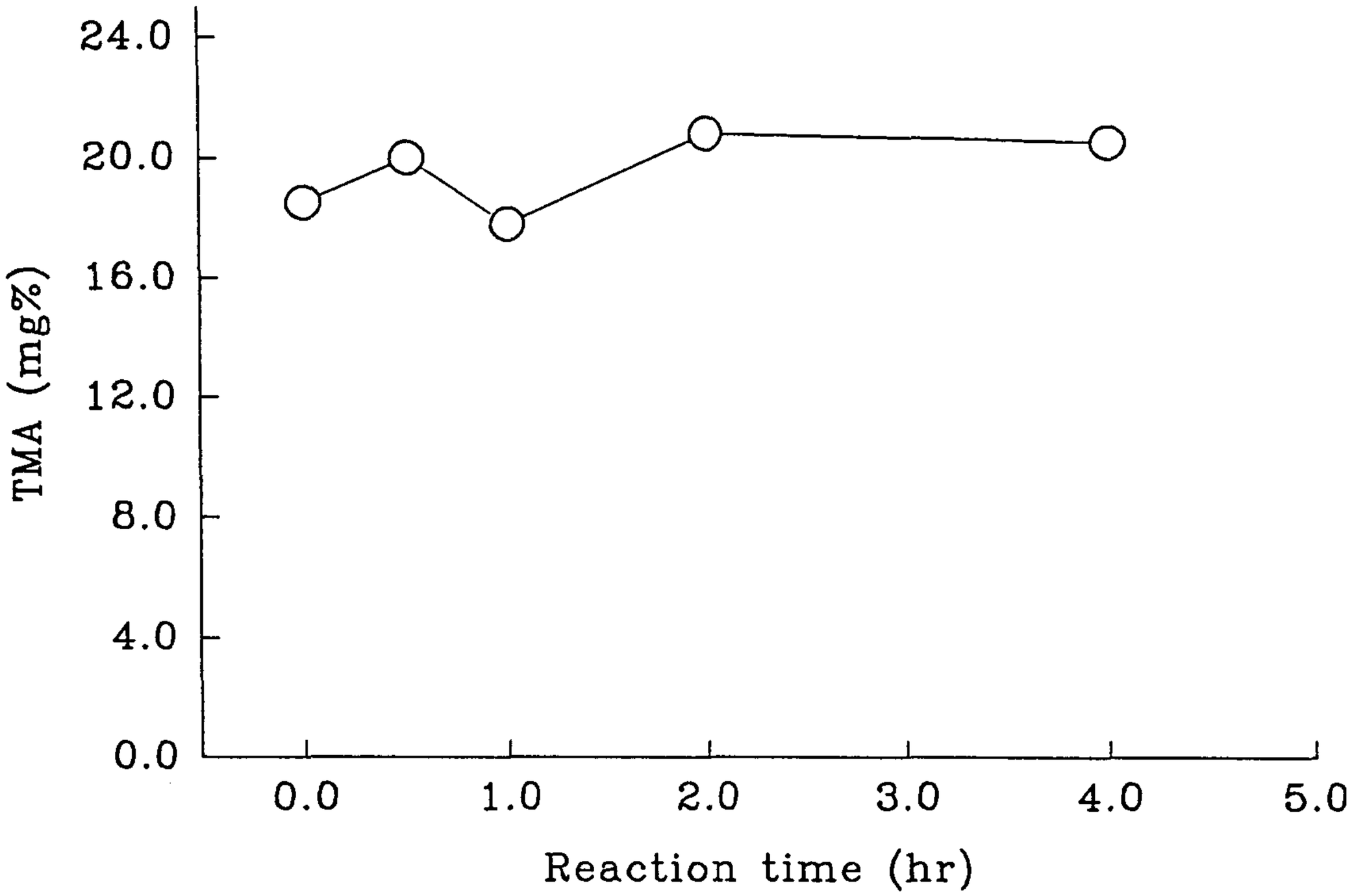


그림 13. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합액에 의한 굴자숙 농축액의 TMA의 반응시간에 따른 변화. 효소반응 조건은 그림 11과 같다.

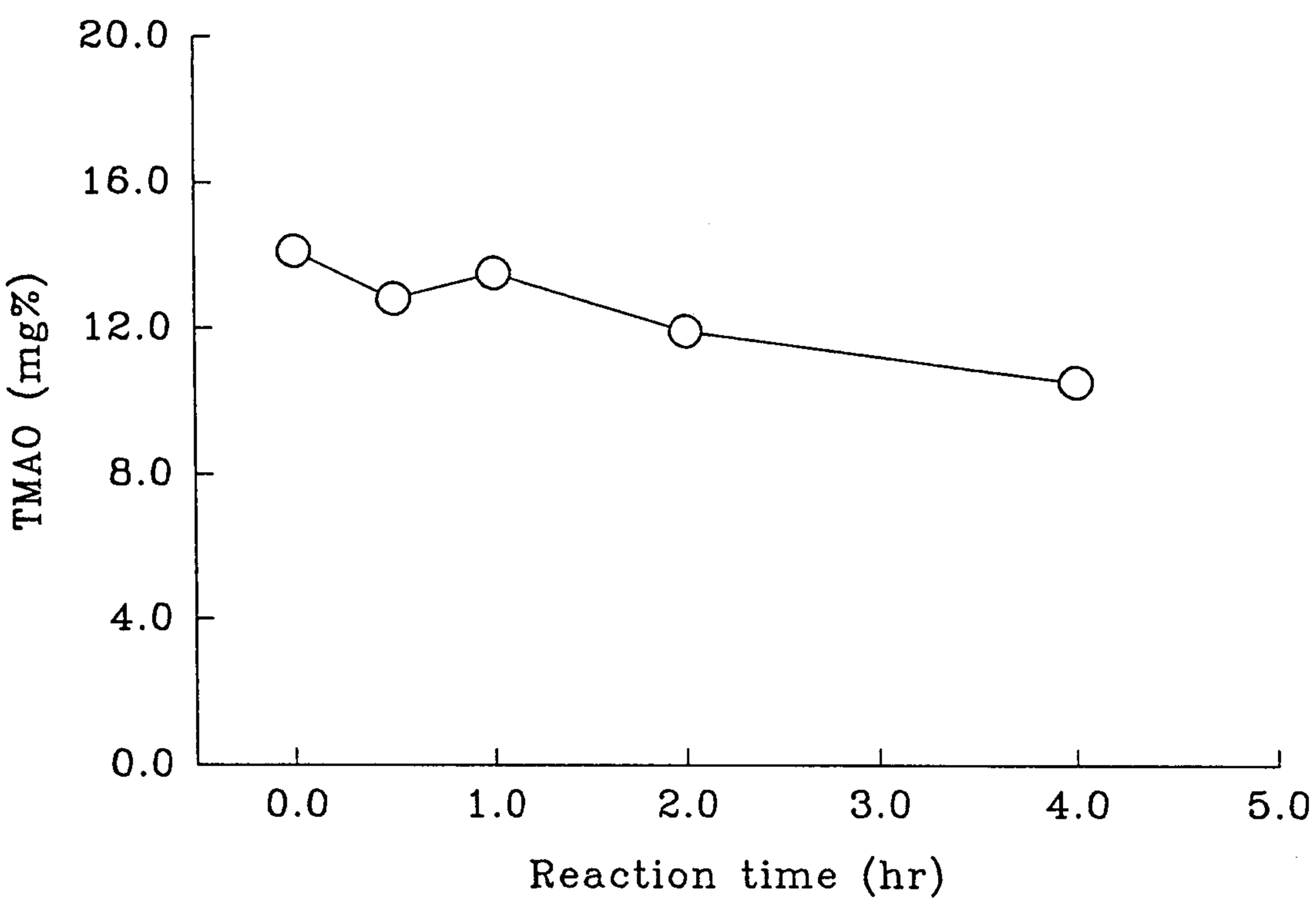


그림 14. 0.2% Protease NP와 0.1% 당분해효소 혼합액에 의한 굴자숙 농축액의 TMAO의 반응시간에 따른 변화. 효소반응 조건은 그림 11과 같다.

전술한 바와 같이 시판되는 alcalase와 neutrase의 경우 효소 안정제로 첨가된 물질로부터 기인되는 이취의 생성이 미미하게나마 관능적으로 검지되었기 때문에 다소 효소활성은 낮으나 이취의 생성이 낮은 protease NP를 동일한 역가로 사용하여 굴 조직단백질의 분해를 35, 45 및 55°C에서 시도하였다. 35°C (그림 15)와 45°C (그림 16)의 경우 반응 4시간 까지 protease NP에 의한 단백질의 분해가 증가하였으나, 55°C (그림 17)의 경우 반응 2시간 까지는 단백질의 분해가 일어 났으나, 그 이후로는 아주 미미하게 단백질의 분해가 일어났다.

반응온도에 따른 자숙굴 조직중의 글리코겐의 분해정도는 그림 18에 나타난 바와 같이 반응온도에 반응 6시간 까지 점차적으로 증가하였으며 관능적으로는 반응 4시간대에서의 가수분해물이 가장 높은 수치를 나타내었다. 따라서 향미제 개발을 위한 자숙농축액의 가수분해조건은 0.2%의 protease NP와 0.1%의 α-amylase와 β-amylase의 혼합효소액을 사용하여 45°C에서 2시간 동안 반응시킴으로써 관능적으로 우수한 굴향미제제의 제조가 가능하다.

상기의 조건에서 얻은 가수분해물의 유리아미노산의 조성을 분석한 결과는 표 4에 나타난 바와 같다. 표 4에 나타난 바와 같이 생굴의 경우 7,096 mg%의 함량이던 것이 가수분해물에서는 29,537 mg%로 약 4배 가량의 유리아미노산의 증가를 보였다. 원료중의 가장 높은 함량을 나타내는 taurine은 가수분해의 결과 함량변화가 없었으며, 필수아미노산인 threonine, leucine, isoleucine, phenylalanine, lysine 및 histidine등의 함량은 원료인 생굴에 비해 20배 - 1,200 배 가량으로 증가하였으며 맛성분에 영향을 미치는 glutamic acid, glycine 및 proline의 함량도 가수분해 결과 많은 증가를 나타내었다.

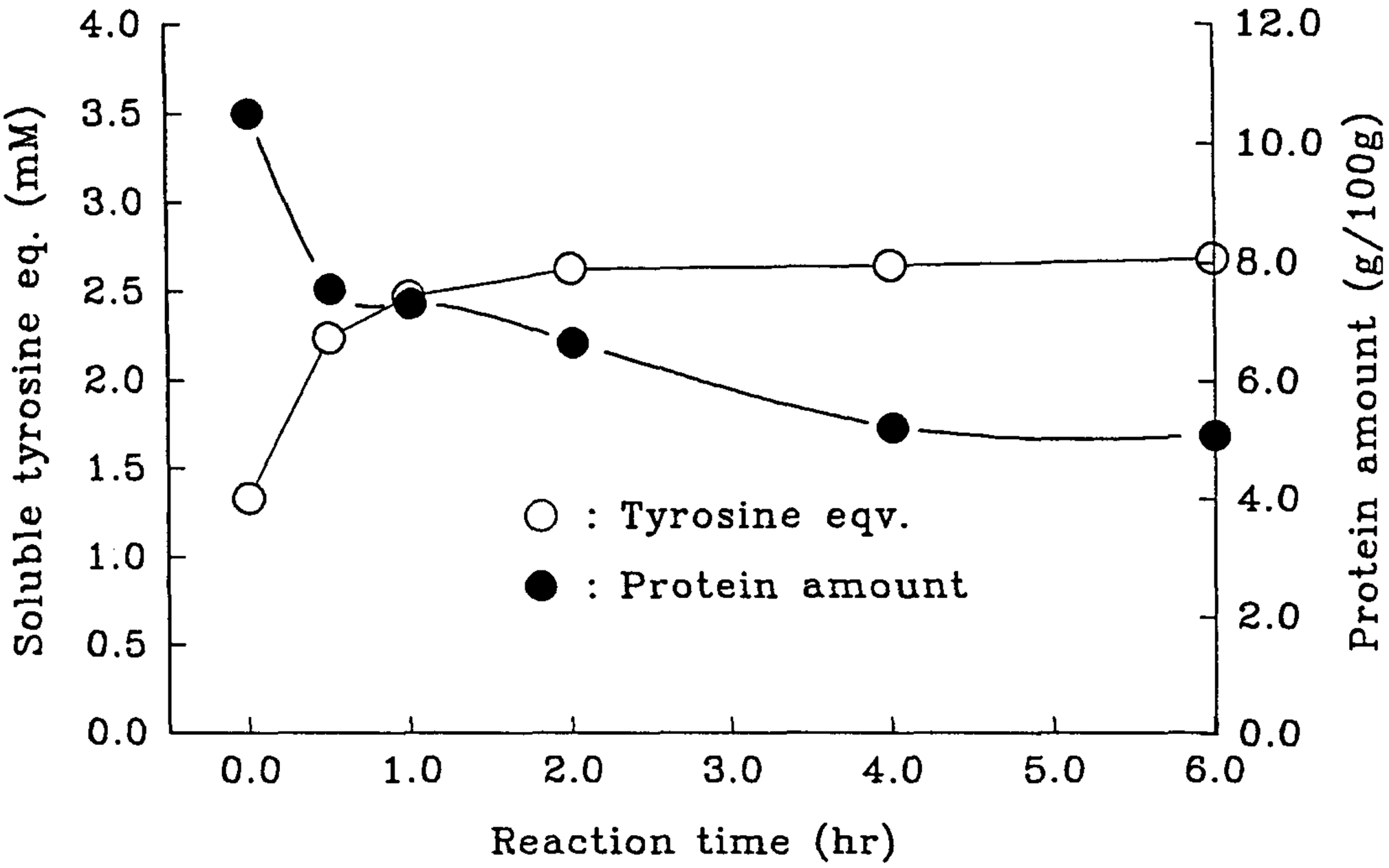


그림 15. Protease NP 효소에 의한 35°C에서의 자숙굴 조직의 분해 정도.

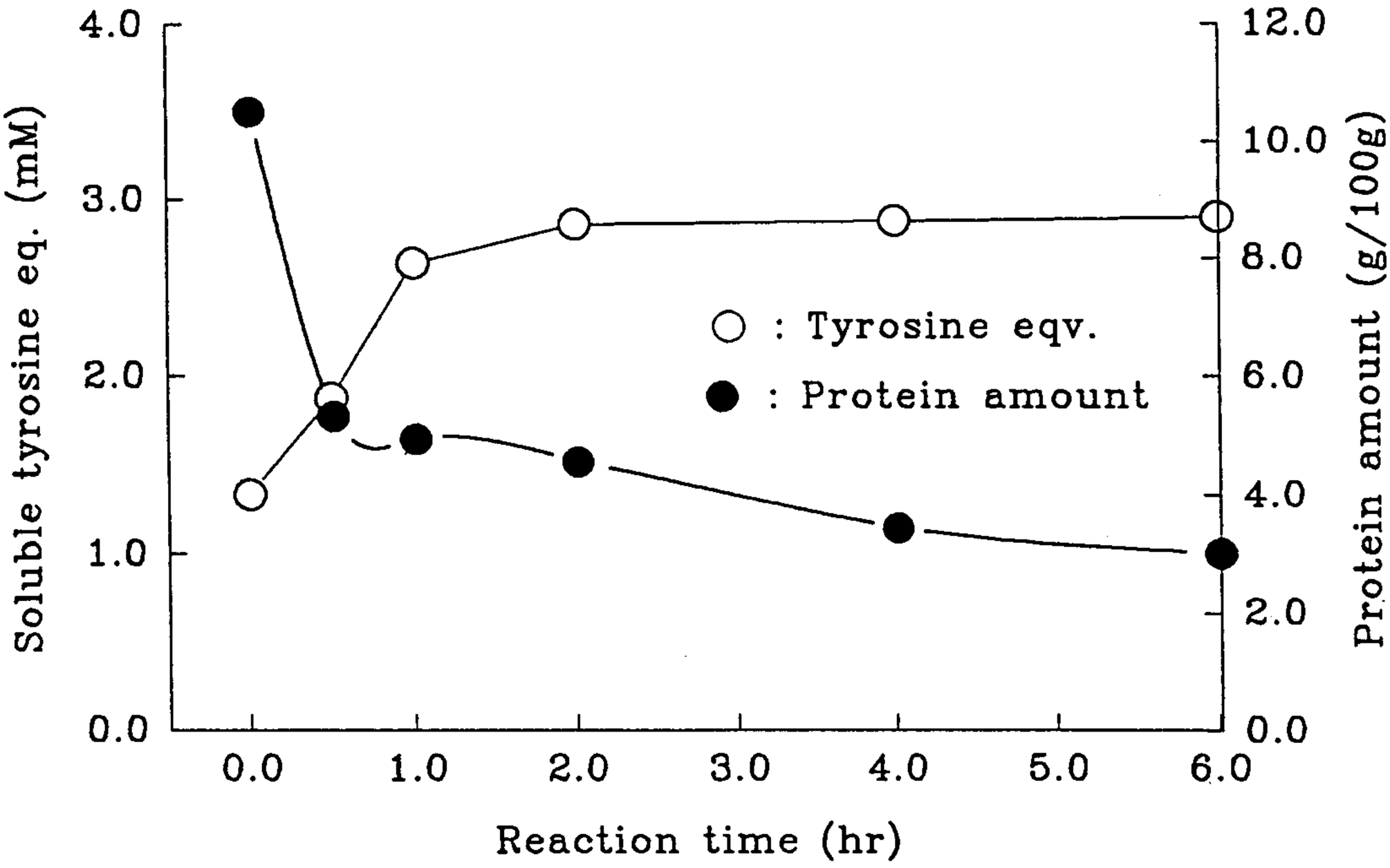


그림 16. Protease NP 효소에 의한 45°C에서의 자숙굴 조직의 분해정도.

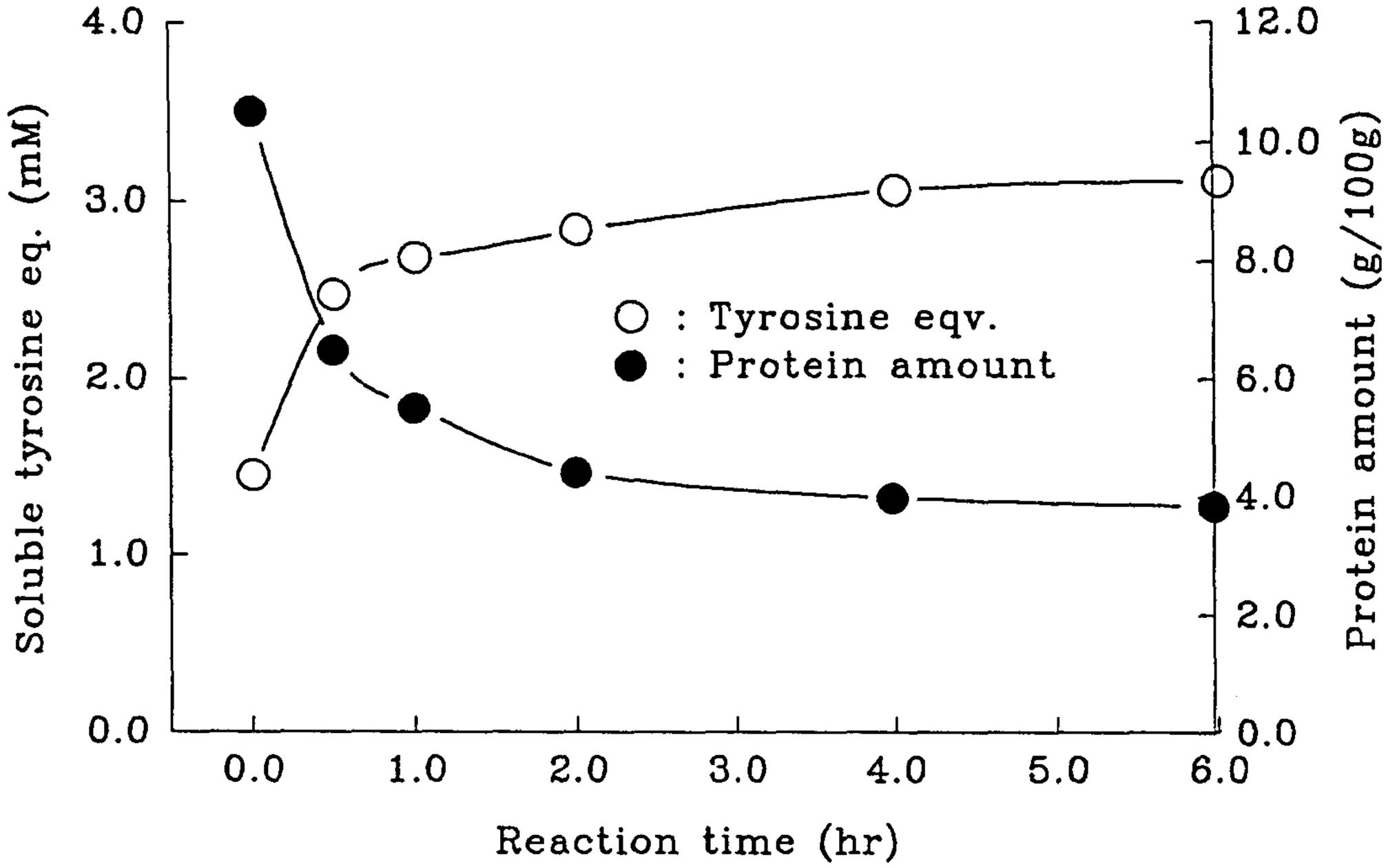


그림 17. Protease NP 효소에 의한 55°C에서의 자숙굴 조직의 분해정도.

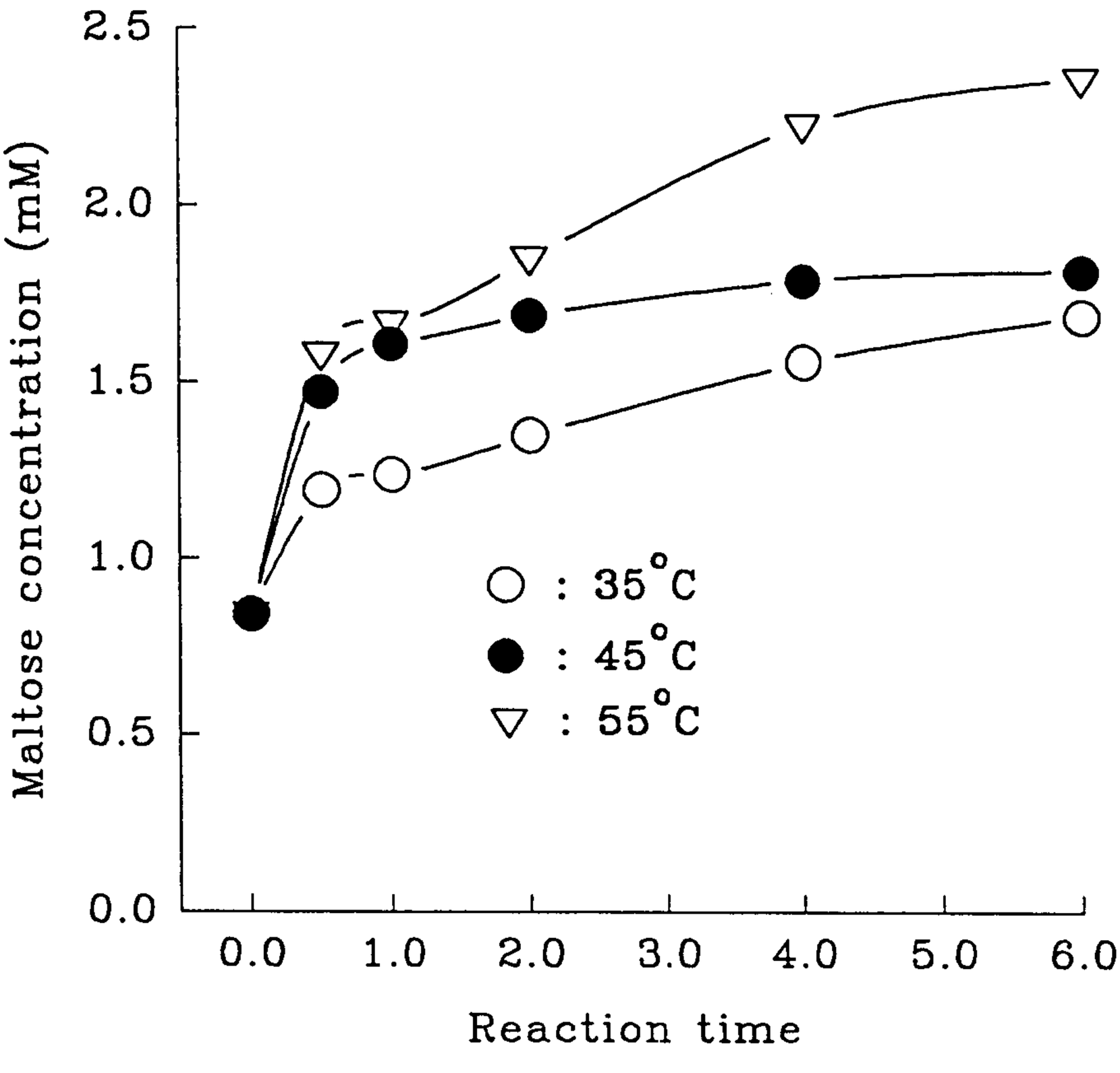


그림 18. 당분해효소 혼합액에 의한 자숙굴 조직중의 글리코겐의 반응시간에 따른 분해정도.

표 4. 굴과 가수분해물의 유리아미노산의 조성

(Dry basis, mg/100g)

유리 아미노산	생 굴	가수분해물
Phosphoserine	75.3	258.4
Taurine	4,370.2	4,421.7
Urea	262.5	325.5
Aspartic acid	86.7	15.9
Threonine	24.8	1,276.8
Serine	33.8	1,578.6
Asparagine	2.5	1,902.4
Glutamic acid	480.2	2,544.6
Proline	223.8	228.4
Glycine	552.1	1,428.4
Alanine	415.3	2,203.5
Citrulline	2.5	3.9
α-aminoisobutylic acid	1.9	2.8
Valine	-	1,824.8
Cysteine	-	240.8
Methionine	1.0	789.3
Cystathionine	-	-
Isoleucine	1.8	1,410.8
Leucine	1.8	2,123.6
Tyrosine	2.5	1,153.0
β-Alanine	132.8	105.2
Phenylalanine	8.1	1,226.7
β-Aminoisobutylic acid	-	0.3
Ammonia	9.8	34.4
DL-Allohydroxylysine	-	12.8
Ornithine	23.9	46.2
Lysine	26.4	2,213.2
Histidine	24.4	518.4
Arginine	232.8	1,647.5
Total	6,996.0	29,537.0

체내에서 항산화 효과를 나타냄으로서 성인병관련 질병을 예방하는 것으로 알려진 taurine은 원료 생굴에서 높은 함량을 나타내고 있으며, 본 연구에 적용된 효소처리에 의하여 taurine의 감소는 나타나지 않고 있으며, 단백질분해효소의 작용으로 인한 유리아미노산의 증가는 가수분해물의 향미와 정미를 향상시키는 것으로 나타났다.

생굴과 가수분해물의 지질을 추출하여 이들의 지방산조성을 표 5에 나타내었다. 표에 나타난 바와 같이 고도불포화지질은 전체지질의 43-44%를 점하고 있으며, 효소처리에 의한 지질의 변화는 나타나지 않았다. 특이할 점은 효소처리에 의하여 고도불포화지질의 함량이 변화되지 않았다. 성인병관련 질병의 예방과 치료효과가 있는 n-3계 고도불포화지질의 높은 함량은 굴 또는 가수분해물이 풍미와 향미를 지니고 있음은 물론 생리활성적인 측면에서 우수하다는 것을 입증하고 있다.

제 6 절 굴 자숙액중의 염도 저하 방법

자숙농축액을 판매하기 위하여는 당도가 40 Brix 이상되어야 하기 때문에 당도를 높이기 위하여 굴 자숙액을 가열농축하여 판매한다. 이러한 열교환기에 의한 굴 자숙액의 농축은 당도를 높이는 목적은 달성할 수 있으나, 아울러 염도가 높아지기 때문에 최종제품의 염도는 20%이상이다. 따라서 본 연구에서는 약 2.76%의 염을 함유하는 굴 자숙수를 미세여과, 한외여과 및 나노여과기를 이용하여 자숙수의 염도상승을 억제하는 동시에 자숙수 중의 유용성분을 회수하고자 일련의 여과방법을 적용하였다. 각 여과막을 이용하여 얻은 획분의 일정량을 취하여 유리아미노산을 정량하여 각 획분중의 유용성분의 함량을 측정하였다.

표 5. 굴 및 가수분해물의 지방산 조성

(area %)

지방산조성	생 굴	가수분해물
C14:0	5.2	4.8
C16:0	23.1	22.6
C18:0	6.3	4.9
C20:0	-	1.2
∑Saturated	34.6	33.5
C14:1	1.1	0.4
C16:1	3.7	4.1
C18:1	8.2	9.0
C20:1	4.8	4.9
C22:1	-	1.2
C24:1	3.4	3.2
∑Monoene	21.2	22.8
C18:2	2.1	3.2
C18:3	0.8	1.9
C18:4	4.3	3.9
C20:2	0.4	0.3
C20:4	3.6	0.3
C20:5	18.3	17.5
C22:5	1.3	1.8
C22:6	13.4	14.8
∑Polyene	44.2	43.7

표 5에서 나타난 바와 같이 200 Da의 나노여과에 의한 최종제품의 염도는 4.21%이었으며, 가열농축시의 염도 (20%)보다 훨씬 낮게 나타났다. 나노여과에 의한 농축방법이 비록 시설상의 문제는 있으나 최종제품의 염도를 5%이내로 유지하기 때문에 굴자숙액중의 향미성분을 회수하기 위한 가능성을 제시하고 있다.

그리고 특이할 점은 굴자숙액중의 대표적인 유용성분인 taurine의 함량이 자숙수보다 훨씬 높게 나타났으며 이러한 결과는 굴 자숙수로 부터 taurine을 회수하기 위하여 나노여과법의 가능성을 제시한다.

제 7절 굴 자숙액 및 자숙농축액의 유리아미노산

자숙액의 염도를 저하하기 위한 방편으로써 본 연구에 적용한 미세여과, 한외여과 및 나노여과에 의한 생성물 중의 유리아미노산 함량은 표 6과 같다. 유리아미노산의 정량은 Gerritsen 등의 방법 (1965)에 따라 분석용 시료를 조제하고 Li^{+}형 칼럼을 부착한 아미노산 자동분석기 (LKB 4150 알파플러스)로 정량하였다. 표 6에 나타난 바와 같이 굴 자숙액중 전체 유리아미노산의 58%가 taurine이 점하고 있으며, 굴 자숙농축액에는 27%가 함유되어 있었다. 이러한 결과는 자숙액을 열로써 농축하는 과정중에 taurine이 분해되었을 가능성을 제시하고 있다.

굴자숙액을 30 KDa의 한외여과막에 의해 여과함으로써 자숙액중의 SS (현탁고형분)의 99%가 제거되었으며, 200 Da의 나노여과에 의해 유리아미노산의 농축효과는 8배 이상으로 나타났다. 따라서 폐기되는 자숙액을 한외여과와 나노여과를 병용함으로서 굴 자숙공장의 배출수에 의한 오염도를 저하시킬 수 있다.

표 6. 한외여과와 나노여과에 의한 염도의 변화

구 분	용 량	염 도
자숙액	22.0	2.76%
30 KDa 여과액	21.5	2.74%
30 KDa 비여과액	0.5	3.84%
200 Da 여과액	18.0	2.45%
200 Da 비여과액	3.5	4.21%

한외여과조건: 유속: 50 L/min; 온도, 25°C;
압력, 2.5 Kg/cm^2; MWCO, 30 KDa
나노여과조건: 유속: 14 L/min; 온도, 25°C;
압력, 22.5 Kg/cm^2; MWCO, 200-300 Da

그리고 200Da의 나노여과에 의해 여과액에 비해 rentate는 7배의 taurine의 농도가 높게 나타났으며, 이러한 결과는 나노여과에 의한 taurine의 농축효과를 입증하고 있다. 앞에서 서술한 바와 같이 나노여과에 의해 염분의 제거효과는 성공적이며, 아울러 생리활성물질인 taurine의 농축효과, 정미성분인 glutamic acid 및 감미성분인 glycine의 농축효과 또한 본 연구결과로 나타나고 있다.

갑각류, 연체류와 같은 해산무척추동물의 체조직중에는 일반적으로 taurine, proline, glycine 및 alanine과 같은 유리아미노산이 풍부한 것으로 알려져 있으나 (Konosu & Yamaguchi, 1982), proline의 함량은 대단히 낮게 나타났다. 유리아미노산중 glycine, alanine, glutamic acid, arginine 등이 어패류의 정미성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 (鴻巢 등, 1988), 본 연구에 의하면 자숙농축액중에는 이들 정미성 유리아미노산이 다량 함유되어 있으므로 정미성을 지닌 굴향미제로서의 이용가치가 충분할 것으로 사료되며, 그리고 굴자숙액중에는 arginine을 제외한 이들 정미성 유리아미노산이 많이 함유되어 있었다. 그리고 다량의 천연 taurine을 함유하는 굴자숙액 또는 굴자숙농축액을 이용하여 향미제품을 제조함으로써 기능성이 있는 향미제품의 제조 가능성을 제시하고 있다.

제 8절 굴 자숙액 및 자숙농축액의 정미성분

굴자숙농축수중에는 6.7%의 질소화합물과 2.4%의 글리코겐이 함유되어 있다. 따라서 이들 고분자 물질들을 분해하여 향미성분전구체들을 유도하기 위하여 0.2%의 단백질분해효소와 0.1%의 당분해효소(α-amylase:γ-amylase=10:1)의 혼합효소를 가하여 50°C에서 4시간동안 반응시키면서 반

옹시간동안의 정미성분의 변화를 측정하였다 (표 7). 반응 2시간까지 거의 모든 단백질과 글리코겐의 분해가 일어났으며 그결과 약 2.4배 가량의 extractable 질소화합물이 증가되었으며, TMA와 총 creatinine은 반응시간에 따라 미미하게 증가하였으나 TMAO는 미미하게 감소하였다.

반응시간의 경과에 따라 자숙농축액의 향기, 맛 및 색택을 관능시험한 결과 향기와 색택은 효소반응시간에 따라 변함이 없었으나, 맛성분에 있어서 단맛이 증가하였다. 이러한 결과는 농축액중의 글리코겐이 당분해효소에 의해 분해되어 생성된 포도당의 단맛에 의한 것으로 추정된다. 현재 이들 효소분해물들의 향미성분은 분석의뢰중에 있다.

Ryder(1985)의 방법에 따라 시료를 조제하여 고속액체크로마토그래피(HPLC)로 분석하였다. 생굴과 자숙농축액중의 핵산관련물질 함량은 표7 나타난 바와 같다. 생굴중에서 ATP는 확인되지 않았으며, ADP의 함량은 낮게 나타났다. 이는 시료를 장기간 동안 동결저장함으로서 조직내에서 ATP 분해관련 효소계에 의해 분해된 것으로 추정된다. 그리고 굴자숙농축액중에는 IMP의 함량이 특히 높게 나타났으며, 전체 핵산관련물질의 94%를 점하였다.

핵산관련물질이 정미성분으로서의 역할은 IMP와 GMP가 주가 되고 있으며, 이러한 높은 IMP함량은 자숙농축액의 이용도를 한층 높여 주고 있다. 그리고 단백질분해효소와 당분해효소에 의한 자숙농축액의 분해과정중에 핵산관련물질의 변화는 나타나지 않았다.

표 7. 자숙농축액과 자숙액의 여과방법에 따른 유리아미노산의 조성

(wet basis, mg/100mL)

유리아미노산	자숙액	자숙농축액	30KDa 여과액	200Da 여과액	30KDa Ret	200Da Ret
Phosphoserine	-	57.41	2.53	-	5.87	4.03
Taurine	175.87	964.20	174.22	31.71	167.38	213.98
Urea	20.30	825.15	15.63	2.58	22.27	26.68
Aspartic acid	5.20	25.93	5.11	0.49	6.58	5.05
Threonine	0.24	133.18	1.40	0.14	1.39	1.05
Serine	0.53	-	1.64	0.31	3.54	1.18
Asparagine	0.51	-	7.01	0.07	-	-
Glutamic acid	13.36	144.46	22.75	1.29	14.99	40.32
Proline	0.17	-	10.61	0.98	7.98	16.06
Glycine	25.31	428.42	33.33	7.84	30.46	39.12
Alanine	20.33	403.35	21.89	3.39	20.95	29.81
Citrulline	0.51	-	0.53	-	0.79	0.42
α-aminoisobutylic acid	1.92	6.22	0.93	-	0.82	1.06
Valine	-	22.80	0.09	-	0.69	0.09
Cysteine	-	2.78	-	-	-	-
Methionine	0.97	40.22	1.01	-	1.20	1.19
Cystathionine	-	3.66	-	-	-	0.24
Isoleucine	0.03	10.68	0.40	0.01	0.68	-
Leucine	-	23.66	1.0	-	0.58	-
Tyrosine	0.15	53.07	-	-	-	-
β-Alanine	-	225.47	7.80	-	7.34	11.09
Phenylalanine	8.10	12.26	-	-	-	-
β-Aminoisobutylic acid	-	0.33	-	-	-	-
Ammonia	0.19	14.34	0.91	0.67	1.31	1.37
D,L-Allohydroxylysine	-	10.96	6.97	0.66	7.09	12.45
Ornithine	-	17.43	3.04	0.19	5.66	2.43
Lysine	9.76	20.49	1.26	-	0.85	0.04
Histidine	14.42	43.38	2.03	0.04	2.49	2.52
Arginine	2.82	95.74	3.19	0.01	-	-
Total	300.69	3585.69	325.28	50.38	310.91	410.89

표 8. 굴자숙액과 생굴중의 핵산관련물질의 함량

(mg/100mL)

핵산관련물질	생굴	자숙농축액
ATP	-	-
ADP	2.3	-
AMP	36.2	8.5
IMP	3.5	456
Ino	45.3	17
Hyp	6.1	2.2

제 4 장 결론 및 요약

Neutrase를 사용하여 굴 조직단백질을 분해시킬 경우 굴조직자체의 pH와 45°C에서 2시간 동안의 가수분해를 유도함으로써 굴 천연향미제 개발을 위한 조직의 가수분해를 최대화 할 수 있으나, neutrase를 조직단백질 분해용 효소로 사용할 경우 효소 안정제로 첨가된 물질로부터 기인되는 이취의 생성이 미미하게나마 관능적으로 검지됨으로서 최종제품의 향미를 저하시켜다.

천연 향미제 개발을 위한 자숙굴의 가수분해조건은 2%의 protease NP와 0.1%의 α-amylase와 β-amylase의 혼합효소를 사용하여 45°C에서 2시간 동안 반응시킴으로써 관능적으로 우수한 굴향미제제의 제조가 가능하며, 굴 자숙농축액의 가수분해조건은 0.2%의 protease NP와 0.1%의 α-amylase와 β-amylase의 혼합효소를 사용하여 45°C에서 2시간 동안 반응시킴으로써 관능적으로 우수한 굴향미제제의 제조가 가능하였다.

효소처리에 의하여 유리아미노산의 함량이 4배 가량 증가하였으며, 원료중의 가장 높은 함량을 나타내는 taurine은 가수분해의 결과 함량변화가 없었다. 수아미노산인 threonine, leucine, isoleucine, phenylalanine, lysine 및 histidine등의 함량은 원료인 생굴에 비해 20배 - 1,200 배 가량으로 증가하였으며, 맛성분에 영향을 미치는 glutamic acid, glycine 및 proline의 함량도 가수분해결과 많은 증가를 나타냄으로서 효소적인 가수분해의 결과 맛과 영양적인 면에서 우수한 제품을 얻을 수 있었다. 체내에서 항산화 효과를 나타냄으로서 성인병관련 질병을 예방하는 것으로 알려진 taurine은 원료 생굴에서 높은 함량을 나타내고 있으며, 본 연구에 적용된 효소처리에 의하여 taurine의 감소는 나타나지 않고 있으며, 단백질분해효소의 작용으로 인한 유

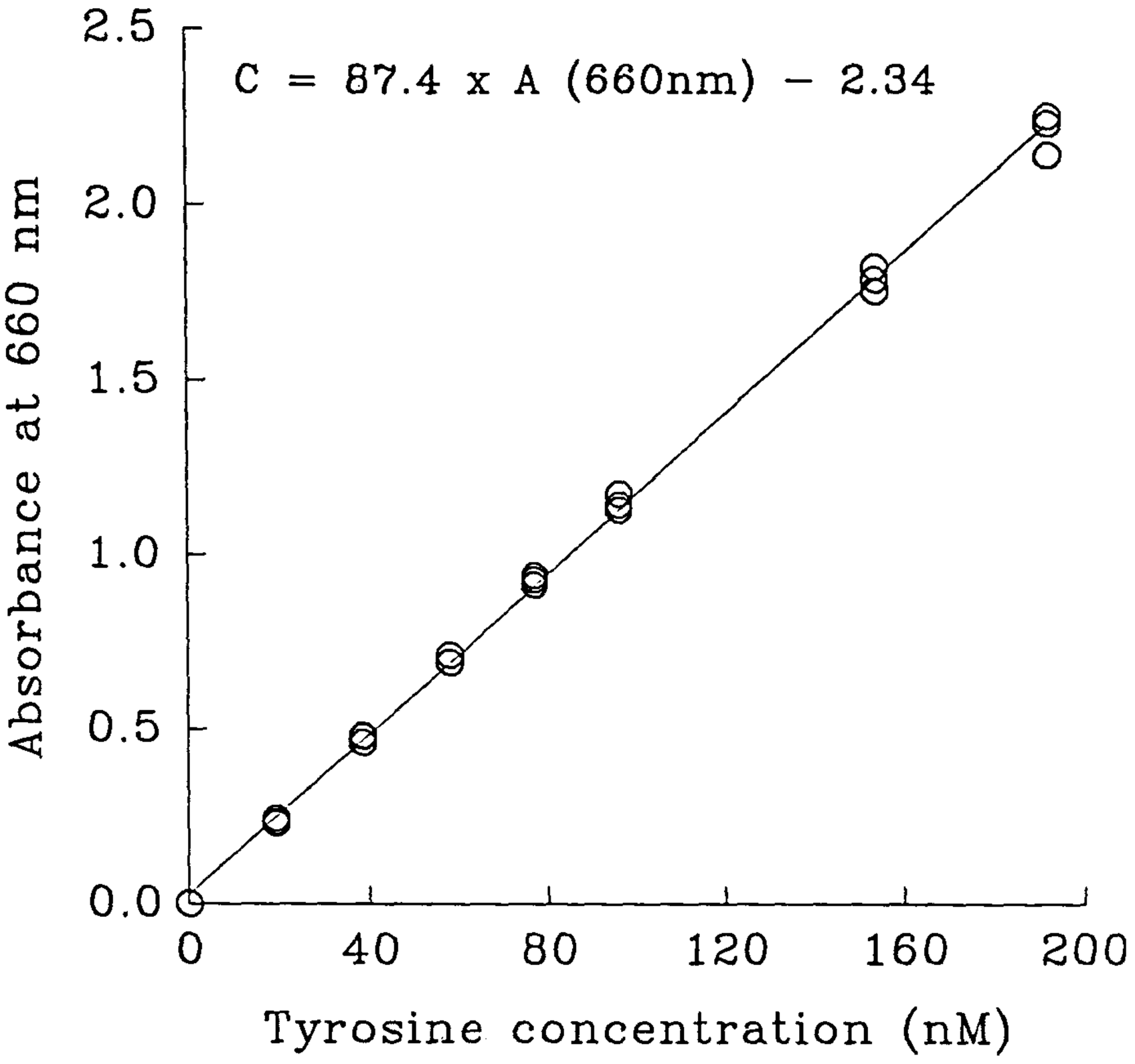
리아미노산의 증가는 가수분해물의 향미와 정미를 향상시키는 것으로 나타났다.

생굴과 가수분해물의 지질중 고도불포화지질은 전체지질의 43-44%를 점하고 있으며, 효소처리에 의한 지질의 변화는 나타나지 않았다. 성인병관련 질병의 예방과 치료효과가 있는 n-3계 고도불포화지질의 높은 함량은 굴 또는 가수분해물이 풍미와 향미를 지니고 있음은 물론 생리활성적인 측면에서 우수하다는 것을 입증하고 있다.

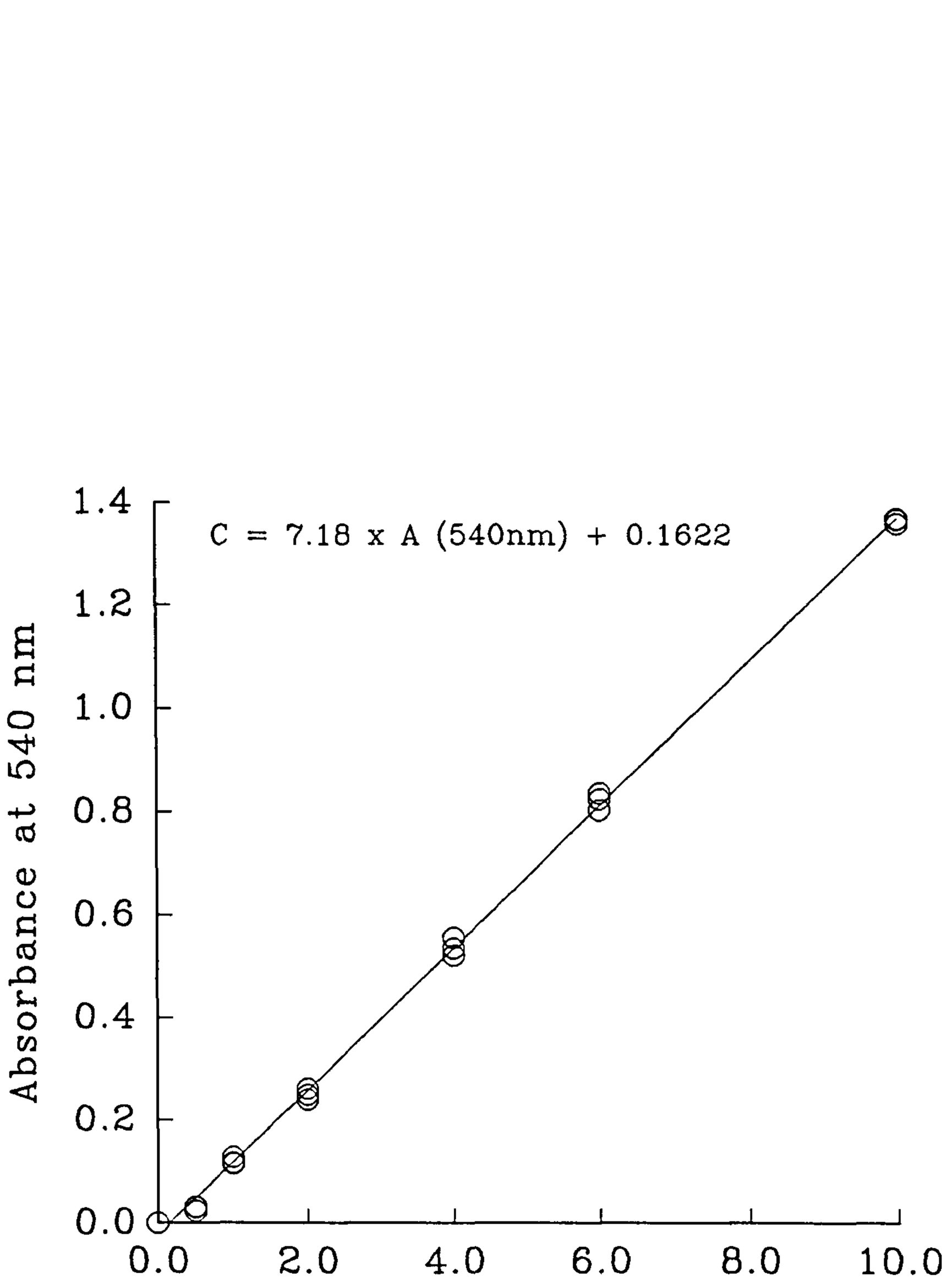
200 Da의 나노여과에 의한 최종제품의 염도는 4.21%이었으며, 가열농축시의 염도 (20%)보다 훨씬 낮게 나타났다. 나노여과에 의한 농축방법이 비록 시설상의 문제는 있으나 최종제품의 염도를 5%이내로 유지하기 때문에 굴자숙액중의 향미성분을 회수하기 위한 가능성을 제시하고 있다.그리고 200Da의 나노여과에 의해 여과액에 비해 rentate는 7배의 taurine의 농도가 높게 나타났으며, 이러한 결과는 굴 자숙수로부터 taurine을 회수하기 위하여 나노여과법의 가능성을 제시한다.

나노여과에 의해 염분의 제거효과는 성공적이며, 아울러 생리활성물질인 taurine의 농축효과, 정미성분인 glutamic acid 및 감미성분인 glycine의 농축효과가 있었으며, 자숙농축액중에는 이들 정미성 유리아미노산이 다량 함유되어 있으므로 정미성을 지닌 굴향미제로서의 이용가치가 충분할 것으로 사료되며, 그리고 굴자숙액중에는 arginine을 제외한 이들 정미성 유리아미노산이 많이 함유되어 있었다. 그리고 다량의 천연 taurine을 함유하는 굴자숙액 또는 굴자숙농축액을 이용하여 향미제품을 제조함으로써 기능성이 있는 향미제품의 제조 가능성을 제시하고 있다. 굴 자숙농축액중에는 IMP의 함량이 특히 높게 나타났으며, 전체 핵산관련물질의 94%를 점하고 있으며, 이러한 높은 IMP함량은 자숙농축액의 이용도를 한층 높여 주고 있다.

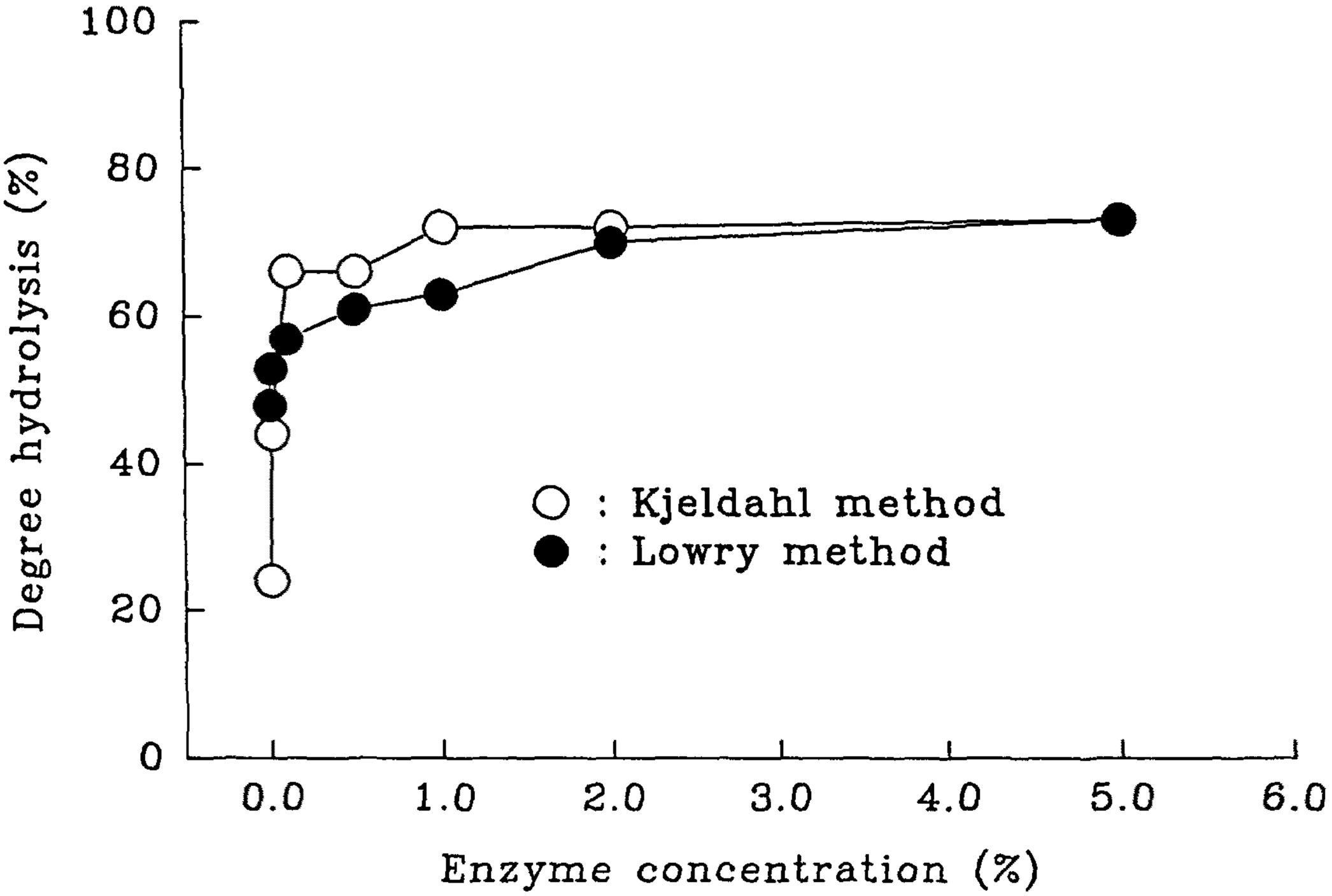
현재 효소를 이용한 굴향미제품의 국내 생산은 전무한 실정이다. 굴을 원료로 한 향미제품을 제조하기 위한 효소반응조건 및 향미제품 제조조건은 다른 수산물을 이용한 가공조건에 대한 기초자료를 제공하며, 굴자숙액으로 부터 유용성분을 회수,이용함으로써 수산가공공장으로 부터 배출되는 가공폐수의 COD를 저하시켜 수질오염을 방지할 뿐만 아니라 유용성분을 상품화함으로써 산업부산물을 자원화할 수 있다. 이같은 굴 자숙액의 회수 이용은 게살제임공장으로 부터 나오는 게자숙액으로 부터 게향미제품의 생산뿐만 아니라 다른 수산물의 자숙액을 이용하여 기타 수산물 향미제품도 개발할 수 있을 것으로 기대된다.



Appendix 1. 단백질분해효소 활성을 결정하기 위한 검량곡선.



Appendix 2. 당분해효소 활성을 결정하기 위한 검량곡선.



Appendlx 3. 단백질분해효소 농도에 따른 Kjeldahl법과 Lowry법에 의한 굴자숙농축액의 가수분해율의 비교