



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0033809
(43) 공개일자 2013년04월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 1/226 (2006.01) A23L 1/33 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0097728

(22) 출원일자 2011년09월27일

심사청구일자 2011년09월27일

(71) 출원인

창원대학교 산학협력단

경상남도 창원시 의창구 사림동 9 창원대학교

(72) 발명자

차용준

경상남도 창원시 성산구 동산로 115, 105동 908호
(상남동, 대동아파트)

정은정

경상남도 창원시 마산합포구 산호북6길 24 (산호동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김순웅

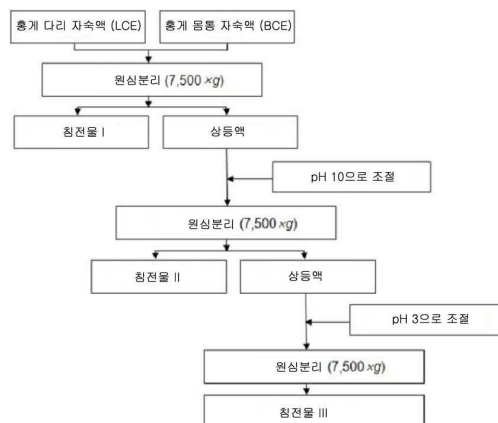
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **홍게 자숙수를 이용한 게 향미제 및 이의 제조방법**

(57) 요약

본 발명은 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 게 향미제는 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액을 혼합하여 원심분리하고, 분리된 상등액을 등점전 처리하여 pH 10에서 pH 3으로 조절한 후 원심분리하여 홍게 자숙액 침전물을 얻은 다음, 이를 플라보르자임(flavorzyme)과 프로타맥스(protamex)의 혼합 효소로 가수분해하여 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 얻은 후, 여기에 아미노산, 당, 핵산물질 첨가하고 가열반응시켜 가열 반응물을 얻은 다음, 여기에 저감미당을 첨가하여 브릭스를 조절하고 향료를 첨가하여 제조된 것을 특징으로 한다. 본 발명에 따른 게 향미제는 버려지는 홍게 자숙수를 이용함으로써, 제조단가가 저렴하여 경제적이고 환경오염을 피할 수 있어 친환경적이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

전선영

경상남도 창원시 마산합포구 오동동1길 31 (오동동)

백정화

경상남도 창원시 마산합포구 월영동 대동아파트 103동 2006호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2010-0010900

부처명 교육과학기술부

연구사업명 기초연구사업 (일반연구자지원사업)

연구과제명 홍계 자숙부산물로부터 천연 향미제 생산의 최적모델 개발

주관기관 창원대학교 산학협력단

연구기간 2010.05.01 ~ 2012.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

- 1) 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액을 혼합하여 원심분리하고, 분리된 상등액을 등점전 처리하여 pH 10에서 pH 3으로 조절한 후 원심분리하여 홍게 자숙액 침전물을 얻는 단계,
- 2) 상기 1)단계에서 얻은 홍게 자숙액 침전물을 플라보르자임(flavorzyme)과 프로타멕스(protamex)의 혼합 효소로 가수분해하여 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 얻는 단계,
- 3) 상기 2)단계에서 얻은 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물에 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물 총 중량에 대해 프롤린 3~7 중량%, 아르기닌 3~7 중량%, 타우린 및 글리신 1.0~2.0 중량%, 과당 0.5~1.5 중량%, 5'-이노신 모노포스페이트(5'-IMP) 0.01~0.10 중량%를 가하고 80~100℃에서 30~100분 동안 반응시켜 가열 반응물을 얻는 단계, 및
- 4) 상기 3)단계에서 얻은 가열 반응물에 저감미당을 첨가하여 60~80 브릭스로 조절한 후 여과하고 향료를 첨가하여 게향을 얻는 단계를 포함하는, 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 1)단계에서 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액은 1:1의 중량비로 혼합한 것을 특징으로 하는, 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제의 제조방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 2)단계에서 플라보르자임(flavorzyme)과 프로타멕스(protamex)의 혼합 효소는 1:1의 중량비로 혼합한 것을 특징으로 하는, 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제의 제조방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 2)단계에서 가수분해 조건은 pH 7~8, 반응온도 50~60℃, 가수분해시간 3~5시간, 기질의 농도(S) 10~25%, 기질에 대한 효소 농도(E/S)의 비 0.4~0.6%인 것을 특징으로 하는, 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제의 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 4)단계에서 향료는 6-메틸-5-헵텐-2-온, 벤질 아세테이트, 에틸 아세테이트, 에틸 발레레이트, 푸르푸릴 펜타노에이트(furfuryl pentanoate), 이소아밀 이소발레레이트, 알파-메틸벤질 아세테이트, 알파-메틸벤질 알콜, 3-메틸티오-1-프로판올, 벤질 알콜, 푸르푸릴 알콜, 이소아밀 알콜, 디메틸설파이드 및 에틸 말톨로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제의 제조방법.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조된 게 향미제.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 여성들의 사회진출 확대, 핵가족화 및 젊은 층의 서구식 스타일의 기호변화에 의하여 외식산업분야가 호황을 누리고 있으며, 이와 함께 웰빙 식품으로 수산식품이 부각되고 있다. 이에 따라 수산식품을 이용한 가공 제품의 소비가 증가하고 있으며, 특히 갑각류의 일종인 게는 우리나라 사람들뿐만 아니라 전 세계인들이 선호하는 수산물이다. 일반적으로 어류는 비린내가 강하여 그 기호도가 국가별, 지역별, 연령층에 따라 차이가 많이 나지

만 갑각류의 일종인 새우, 가재 및 게는 불에 굽거나 삶을 때 그 특유의 향과 맛으로 인하여 전 세계의 남녀노소 모두가 선호한다. 이에 부응하여 1970년대에 게맛살류가 개발되어 기존의 수산연제품(fish jelly product)을 대체하여 내수 및 수출용으로 그 인기를 누려왔다.

[0003] 향미(flavor)는 소비자가 식품을 선택하는데 있어서 아주 중요한 요소이다. 지금까지 대부분의 향미제는 식품, 향신료(spice), 허브(herb)로부터 추출하거나 화학적 합성을 통해 만들어져 왔다. 그러나 최근에 기존의 향미제와는 달리 가열, 산 가수분해, 산화반응, 자기소화반응(autolysis), 효소반응, 발효 등의 방법을 이용한 가공향미제(process flavor)라는 새로운 분야의 향미제에 대한 연구가 많이 행해지고 있다. 특히, 메일러드 반응(maillard reaction)을 기초로 한 가열처리를 통해서 식품성분 또는 식품으로부터 제조된 반응향미제(reaction flavor)에 대한 수요가 증가하고 있다.

[0004] 메일러드 반응을 기초로 한 반응향미제는 향미제 전구물질로 아미노산과 환원당(reducing sugar)을 기본적으로 필요로 한다. 따라서, 가공부산물 중에서 단백질 함량이 높은 것은 충분히 반응향미제의 소재가 될 수 있다. 이러한 단백질을 가수분해하기 위하여 주로 산 가수분해방법을 사용하였으나 환경친화적인 요건과 부가산물의 생성에 대한 우려로 효소를 이용한 단백질 가수분해방법에 대한 연구가 이루어지고 있다. 특히, 산 가수분해방법으로 생산되던 식물성 단백질 가수분해물(hydrolyzed vegetable protein, HVP) 대신 식물성 단백질을 효소로 가수분해하려는 연구가 많이 이루어지고 있다. 효소에 의한 단백질 가수분해는 산 가수분해로 생산되는 식물성 단백질 가수분해물에서 잠재적인 발암물질인 3-클로로프로판-1,2-디올과 같은 부가산물이 생성될 수 있는 가능성을 없앨 수 있을 뿐만 아니라, 효소가 단백질이므로 반응 후에 따로 제거하기 위하여 산 가수분해의 경우처럼 중화할 필요가 없어 비용을 절감할 수 있으므로, 아미노산을 필요로 하는 반응향미제의 개발에 매우 용이하다.

[0005] 한편, 홍게(*Chionoecetes japonicus*)는 붉은 대게로도 불리우며, 우리나라 동해안 연안의 수심 200~2,000m에 분포하고, 털게, 꽃게, 왕게 등에 비하여 조직감이 부드러우면서 맛이 진하고 담백하다. 대게는 조직의 특성상 주로 자숙 후에 식용으로 그대로 소비되고 있는데 반해, 홍게는 자숙 후에 껍질과 근육의 분리가 용이하여 대부분이 자숙공정을 거쳐 얻어진 홍게살을 냉동하여 수출되고 있다. 또한, 홍게는 맛살, 그라당 등의 가공식품 제조와 특유의 감칠맛과 향 때문에 많은 사람들이 별미로 즐겨먹는 식품이다. 그러나, 홍게는 가공식품에 사용되는 부위가 15% 정도이고 나머지는 버려지고 있어, 재이용에 대한 연구가 매우 필요하다. 또한, 홍게 자숙수에는 유리 아미노산, 유기산 및 APT 관련 화합물의 함량이 풍부한 것으로 알려져 있으나 특별한 가공방법이 정립되지 않아 단순히 농축하여 국내용으로 소비되거나 폐기되어 하천 및 연안 해양환경의 오염원이 되고 있다. 또한, 단순 농축한 응용상품의 경우 경제성이 낮고 농축에 따른 에너지 비용부담도 크다.

[0006] 따라서, 많은 연구자들이 홍게 부산물을 이용한 향미제에 관하여 관심이 증대되고 있으며, 이의 일 예로, 대한민국 공개특허공보 제 10-2003-28089호에는 홍게 가공부산물인 게살 부스러기를 이용한 반응향미제 및 이의 제조방법에 관하여 기재되어 있으며, 대한민국 등록특허공보 제 10-725752호에는 홍게 자숙액을 이용한 게 맛살용 천연 게향 엑기스 제조방법에 관하여 기재되어 있다.

[0007] 그러나, 종래의 천연 게향의 가공공정은 일반적으로 홍게 가공부산물을 30 브릭스까지 농축하여야 하므로, 유류비 상승에 대한 원가부담으로 인하여 여전히 경제성이 낮고 농축에 따른 에너지 비용부담도 늘어나 산업적으로 적용하기에는 다소 어려움이 있다.

[0008] 따라서, 버려지는 홍게 자숙수를 재활용하여 경제적이면서 친환경적인 게향미제에 관한 연구 및 개발의 필요성이 절실히 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명자들은 버려지는 홍게 자숙수를 이용한 게향미제에 관하여 연구하던 중, 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액을 혼합하여 원심분리하고 분리된 상등액을 등점전 처리하여 pH 10에서 pH 3으로 조절한 후 원심분리하여 홍게 자숙액 침전물을 얻은 다음, 이를 플라보르자임(flavorzyme)과 프로타멕스(protamex)의 혼합 효소로 가수분해하여 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 얻은 후, 여기에 아미노산, 당, 핵산물질 등을 첨가하고 가열반응시켜 가열 반응물을 얻은 다음, 여기에 저감미당을 첨가하여 브릭스를 조절하고 향료를 첨가하여 게향미제를 제조함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0010] 따라서, 본 발명은 홍게 자숙수를 이용한 게향미제 및 이의 제조방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명은
- [0012] 1) 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액을 혼합하여 원심분리하고, 분리된 상등액을 등점전 처리하여 pH 10에서 pH 3으로 조절한 후 원심분리하여 홍게 자숙액 침전물을 얻는 단계,
- [0013] 2) 상기 1)단계에서 얻은 홍게 자숙액 침전물을 플라보르자임(flavorzyme)과 프로타멕스(protamex)의 혼합 효소로 가수분해하여 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 얻는 단계,
- [0014] 3) 상기 2)단계에서 얻은 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물에 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물 총 중량에 대해 프롤린 3~7 중량%, 아르기닌 3~7 중량%, 타우린 및 글리신 1.0~2.0 중량%, 과당 0.5~1.5 중량%, 5'-이노신 모노포스페이트(5'-IMP) 0.01~0.10 중량%를 가하고 80~100℃에서 30~100분 동안 반응시켜 가열 반응물을 얻는 단계, 및
- [0015] 4) 상기 3)단계에서 얻은 가열 반응물에 저감미당을 첨가하여 60~80 브릭스로 조절한 후 여과하고 향료를 첨가하여 게향을 얻는 단계를 포함하는, 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제의 제조방법에 관한 것이다.
- [0016] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 게 향미제를 제공한다.
- [0017] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.
- [0018] 본 발명에 따른 게 향미제는 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액을 혼합하여 원심분리하고, 분리된 상등액을 등점전 처리하여 pH 10에서 pH 3으로 조절한 후 원심분리하여 홍게 자숙액 침전물을 얻은 다음, 이를 플라보르자임(flavorzyme)과 프로타멕스(protamex)의 혼합 효소로 가수분해하여 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 얻은 후, 여기에 아미노산, 당, 핵산물질을 첨가하고 가열반응시켜 가열 반응물을 얻은 다음, 여기에 저감미당을 첨가하여 브릭스를 조절하고 향료를 첨가하여 제조된 것을 특징으로 한다.
- [0019] 본 발명에 따른 게 향미제의 제조방법을 단계별로 상세히 설명하면 다음과 같다.
- [0020] 상기 **1)단계**는 홍게 자숙액 침전물을 얻는 단계로, 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액을 동량으로 혼합하여 원심분리하고, 분리된 상등액을 6N NaOH와 6N HCl을 이용하여 등점전 처리하여 pH 10에서 pH 3으로 조절한 후 원심분리하여 홍게 자숙액 침전물을 얻는다.
- [0021] 상기 **2)단계**는 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 얻는 단계로, 홍게 자숙액 침전물을 플라보르자임(flavorzyme)과 프로타멕스(protamex)를 1:1의 중량비로 혼합한 혼합 효소로 가수분해하여 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 얻는다. 일반적으로 가수분해에 영향을 주는 요인으로 pH, 반응온도, 가수분해시간, 기질의 농도(S), 기질에 대한 효소 농도(E/S)의 비 등을 생각할 수 있다. 상기 단계에서 가수분해 조건으로는 pH 7~8, 반응온도 50~60℃, 가수분해시간 3~5시간, 기질의 농도(S) 10~25%, 기질에 대한 효소 농도(E/S)의 비 0.4~0.6% 일 때 가수분해도가 최대로 나타난다.
- [0022] 상기 **3)단계**는 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물의 가열 반응물을 얻는 단계로, 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물에 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물 총 중량에 대해 프롤린 3~7 중량%, 아르기닌 3~7 중량%, 타우린 및 글리신 1.0~2.0 중량%, 과당 0.5~1.5 중량%, 5'-이노신 모노포스페이트(5'-IMP) 0.01~0.10 중량%를 가하고 80~100℃에서 30~100분 동안 반응시켜 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물의 가열 반응물을 얻는다.
- [0023] 상기 **4)단계**는 게향을 얻는 단계로, 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물의 가열 반응물에 저감미당을 첨가하여 60~80 브릭스로 조절한 후 여과하고 향료를 첨가하여 게향을 얻는다.
- [0024] 상기 향료로는 6-메틸-5-헵텐-2-온, 벤질 아세테이트, 에틸 아세테이트, 에틸 발레레이트, 푸르푸릴 펜타노에이트(furfuryl pentanoate), 이소아밀 이소발레레이트, 알파-메틸벤질 아세테이트, 알파-메틸벤질 알콜, 3-메틸티오-1-프로판올, 벤질 알콜, 푸르푸릴 알콜, 이소아밀 알콜, 디메틸설파이드, 에틸 말톨로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0025] 상기 방법으로 제조된 게 향미제는 게향이 약 8 정도로 천연 게향에 가까우며, 버려지는 홍게 자숙수를 이용함으로써 제조단가가 저렴하여 경제적이고 환경오염을 피할 수 있어 친환경적이다.

발명의 효과

- [0026] 본 발명에 따른 게 향미제는 버려지는 홍게 자숙수를 이용함으로써, 제조단가가 저렴하여 경제적이고 환경오염

을 피할 수 있어 친환경적이다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 등전점 침전을 이용하여 홍게 자숙수로부터 침전물을 얻는 과정을 나타낸 도이다.

도 2는 단백질 분해효소를 이용한 홍게 자숙액 침전물의 가수분해도를 나타낸 도이다.

도 3은 반응표면분석에서 얻어진 반응계수를 통하여 독립변수 두 개간의 상관관계(기질에 대한 효소 농도(E/S)의 비와 가수분해시간(T))를 3차원 반응표면도로 나타낸 도이다.

도 4는 반응표면분석에서 얻어진 반응계수를 통하여 독립변수 두 개간의 상관관계(기질의 농도(S)와 기질에 대한 효소 농도(E/S)의 비)를 3차원 반응표면도로 나타낸 도이다.

도 5는 반응표면분석에서 얻어진 반응계수를 통하여 독립변수 두 개간의 상관관계(기질의 농도(S)와 가수분해시간(T))를 3차원 반응표면도로 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

실시예 1 : 홍게 자숙수를 이용한 게 향미제의 제조

1. 원료 전처리 : 등전점 침전을 이용하여 홍게 자숙액 침전물의 회수

[0031] 홍게 다리 자숙액(cooker effluent of leg part; LCE)과 홍게 몸통 자숙액 (cooker effluent of body part; BCE)은 경상북도 영덕 소재 홍게 가공업체인 세웅수산(주)에서 제공받아 3시간 이내에 이동하여 동결고(-20℃)에 저장하여 두고 실험에 사용하였다. 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액의 이화학적 성분분석은 표 1에 나타내었다.

[0032] 또한, 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 제조하기 위해 사용한 상업용 단백질 가수분해효소인 Flavourzyme[™] 500 MG, Protamex[®] 및 Alcalase[™] 2.4 L은 Novozymes(Novozymes, Denmark)의 제품으로, 바이오시스(Biosis Co.,Ltd., Korea)에서 제공받았다.

표 1

	성분(%)					pH	아미노 질소(mg%)
	수분	조단백질	조회분	조지방	염도		
홍게 다리 자 숙액(LCE)	95.96±0.02	2.91±0.06	2.64±0.02	0.29±0.06	2.83	8.74	69.94±1.37
홍게 몸통 자 숙액(BCE)	95.98±0.03	2.52±0.06	1.38±0.02	<0.00	1.44	8.90	125.92 ±0.83

[0034] 먼저, 홍게 다리 자숙액과 홍게 몸통 자숙액을 동량으로 혼합하고 원심분리기(A-F700BN, Tomoe Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 7,500xg로 원심분리하여 침전물 I(수율: 0.21~0.36%)과 상등액을 얻었다. 그 다음, 상등액을 6N NaOH와 6N HCl을 이용하여 pH를 10으로 조절하고 7,500xg로 원심분리하여 침전물 II(수율: 0.16%)와 상등액을 얻었다. 그 다음, 상등액을 6N NaOH와 6N HCl을 이용하여 pH를 3으로 조절하고 7,500xg로 원심분리하여 침전물 III(수율: 0.21~0.48%)을 얻었다. 침전물 I, II, III의 총 수율은 0.86% 이었다. 얻어진 침전물은 냉동(-20℃) 상태로 보관하였다. 등전점 침전을 이용하여 홍게 자숙수로부터 침전물을 얻는 과정은 도 1에 나타내었다.

2. 최적의 가수분해 효소 선정

[0036] 홍게 자숙액 침전물의 가수분해도가 높은 효소를 선정하기 위해 3종의 상업용 단백질 분해효소(Flavourzyme[™] 500 MG, Protamex[®] 및 Alcalase[™] 2.4 L)를 이용하여 홍게 자숙액 침전물의 가수분해도를 측정하였다. 대조군으로는 홍게 자숙액 침전물 자체를 사용하였으며, 실험군으로는 상기 3종의 상업용 단백질 분해효소 각각 단독

과 Flavourzyme™ 500 MG와 Protamex®의 1:1 중량비로 혼합한 혼합 효소를 사용하였다.

[0037] 구체적으로는, 상기 1에서 얻은 냉동(-20℃) 보관하고 있던 홍게 자숙액 침전물을 해동처리하여 수분 함량이 80%가 되도록 조절하고 분쇄기를 사용하여 분쇄하였다. 분쇄된 홍게 자숙액 침전물을 이중 자켓으로 된 반응조(200ml, Wheaton Co., USA)에 넣고 물을 동량으로 가하고 혼합(1:1, w/w)하여 총 용량이 80g이 되도록 하여 가수분해물 제조를 위한 기질로 사용하였다. 기질에 대한 효소 농도(E/S) 비는 0.2%로 각각 1시간 간격으로 가수분해도를 측정하였다. 가수분해도 실험은 Boudrant 및 Cheftel(1976)의 방법을 변형한 Cha 및 Kim(1995)의 방법에 따라 가수분해된 각 시료의 TCA 가용성 펩티드를 1N Folin & Ciocalteu's phenol 용액 (Sigma Co., St Louis MO, USA)으로 발색시킨 후 578nm에서 UV/Visible spectrophotometer(Shimadzu, Tokyo, Japan)로 흡광도를 측정하였으며, 대조군과의 차이를 표준곡선에서 티로신($\mu\text{g}/\text{ml}$, 30℃) 함량으로 환산하였다.

[0038] 또한, 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물을 창원대학교 식품영양학과에 재학중인 학부생 및 대학원생으로 구성된 12명의 패널에게 제공하여 맛과 냄새에 대한 순위를 1위부터 4위까지 매기는 선호도 검사를 실시하였다. 유의성 검증은 Basker (1988a, 1988b)에 의한 순위법 유의성 검정표를 이용하여 95% 수준에서 실시하였다.

[0039] 단백질 분해효소를 이용한 홍게 자숙액 침전물의 가수분해도는 도 2에 나타내었고, 단백질 분해효소의 경제성 평가 결과와 홍게 자숙액 침전물의 가수분해물의 관능평가 결과는 표 2에 나타내었다.

표 2

효소	효소 활성값 (A)	효소의 판매가격 (C)	A/C	관능평가	
				냄새	맛
F	264.25	1.57	168.31	37	39 ^b
P	275.90	1.60	172.43	26	24 ^{ab}
F+P	285.45	1.56	182.98	32	21 ^a
A	300.45	1.00	300.45	25	36 ^{ab}

[0041] ※ - F: Flavourzyme™ 500 MG, P: Protamex®, F+P: Flavourzyme™ 500 MG + Protamex®(1:1, w/w), A: Alcalase™ 2.4 L,

[0042] - 효소 활성값(A) = 3시간째의 가수분해도/효소 첨가량

[0043] - 효소의 판매가격(C) : 최소 비용 효소를 1.00으로 한다.

[0044] - a-b 값 : 다른 윗첨자를 갖는 값은 유의적으로 차이가 있다(n=12, P<0.05).

[0045] 도 2에 나타난 바와 같이, 대조군인 홍게 자숙액 침전물 자체의 자가소화효소에 의한 가수분해 효과는 5.29%에서 반응 2시간째에는 14.64%까지 증가하였다. 이에 반해, 반응 3시간째의 홍게 자숙액 침전물의 가수분해도는 Alcalase™ 2.4 L의 경우 60.69%, Flavourzyme™ 500 MG와 Protamex®의 혼합 효소의 경우 57.09%, Protamex®의 경우 55.18%, Flavourzyme™ 500 MG의 경우 52.85% 순으로 나타났다.

[0046] 또한 표 2에 나타난 바와 같이, 가격 대비 가수분해도(A/C)가 가장 높은 Alcalase™ 2.4 L이 경제적인 측면에서 가장 우수한 것으로 나타났고, 다음이 Flavourzyme™ 500 MG와 Protamex®의 혼합 효소(1:1, w/w), Protamex®, Flavourzyme™ 500 MG 순으로 나타났다. 관능 평가에서는 냄새의 경우 효소간의 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 맛의 경우 Alcalase™ 2.4 L의 가수분해물이 가장 쓴맛을 나타내었다. 이는 Alcalase™ 2.4 L이 단백질 소수성 부분의 절단에 관여하여 쓴맛을 나타내는 소수성 아미노산들이 다수 노출되었기 때문이라고 사료된다.

[0047] 따라서, 향미제의 관능적인 우수성을 우선으로 생각하여 A/C 값은 다소 낮으나 맛 부문에서 우수한 결과를 나타낸 Flavourzyme™ 500 MG와 Protamex®의 혼합 효소(1:1, w/w)를 최적의 효소로 선정하였다.

[0048] 3. 반응표면분석(response surface methodology, RSM)에 의한 최적의 가수분해 조건 설정

[0049] 최적의 가수분해 조건을 설정하기 위하여, 기질의 농도(S), 기질에 대한 효소 농도(E/S), 가수분해시간(T)을 독립변수로 설정하였으며, 실험영역으로는 표 3과 같이 코드화(-2 ~ +2) 하여 디자인한 중심합성계획에 따라 작성하였다. 즉, 부분요인배치실험(fractional factorial design) (8개), 별점(star points) (6개) 및 중심점(central points) (5개)으로 총 19개의 실험을 무작위로 수행하였으며, 종속변수는 가수분해도(DH, %)로 하였다. 모든 실험 결과는 SAS(Statistical Analysis System) 프로그램을 이용하여 통계분석하였으며, 3차원 반응표면도를 SAS/GRAPH의 G3GRID와 G3D 절차를 사용하여 zero level에서 두 독립변수간의 상관성을 검토하였다.

[0050] 결과는 표 4 및 도 3 내지 도 5에 나타내었다.

표 3

[0051]

코드화 단위	독립변수		
	기질의 농도(S) (%, w/w)	기질에 대한 효소 농도(E/S) 비 (%, w/w)	가수분해시간(T) (hr)
-2	16	0.2	0.5
-1	23	0.3	1.5
0	30	0.4	2.5
1	37	0.5	3.5
2	44	0.6	4.5

표 4

[0052]

디자인 포인트	독립변수			종속변수
	기질의 농도(S) (%, w/w)	기질에 대한 효소 농도(E/S) 비 (%, w/w)	가수분해시간(T) (hr)	가수분해도 (%)
1	-1	-1	-1	46.82
2	1	-1	-1	41.61
3	-1	1	-1	48.59
4	1	1	-1	45.71
5	-1	-1	1	50.36
6	1	-1	1	45.33
7	-1	1	1	62.04
8	1	1	1	48.15
9	2	0	0	39.69
10	-2	0	0	51.67
11	0	2	0	51.71
12	0	-2	0	40.02
13	0	0	2	54.38
14	0	0	-2	35.56
15	0	0	0	50.61
16	0	0	0	51.07
17	0	0	0	52.94
18	0	0	0	53.64
19	0	0	0	51.59

[0053] 표 4에 나타난 바와 같이, 가수분해도는 35.56~62.04%의 범위로 측정되었으며, 그 결과 전체적인 모형이 유의성(p<0.05)을 보였고 결정계수(R²)는 0.9342로 나타났다. 반응모형 중 일차항(linear)과 이차항(quadratic)이 유의(p<0.01, p<0.05)한 것으로 나타났으나 전체적인 모형에서 유의성을 나타내었기 때문에 교차곱을 포함한 전체 반응 모형식은 DH(가수분해도, %) = 52.285-6.371[기질 농도] + 5.469[E/S] + 7.599[가수분해시간] - 5.818[기질 농도]² - 5.633[E/S]² - 6.528[가수분해시간]² - 3.265[E/S][기질 농도] - 5.415[가수분해시간][기질 농도] + 4.315[가수분해시간][E/S]였다.

[0054] 또한 도 3에 나타난 바와 같이, E/S 비와 가수분해시간과의 관계에서는 E/S 비가 높아지고 가수분해시간이 길어질수록 높은 가수분해도를 나타내었다. 즉, 같은 가수분해도에 도달하는데 있어 E/S 비가 낮으면 더 많은 가수분해시간을 요구하여 E/S 비 0.4~0.6%에서는 가수분해시간이 3.0~4.5시간일 때 최대의 가수분해도를 나타내었다.

[0055] 또한 도 4에 나타난 바와 같이, 기질 농도와 E/S 비의 관계에서는 기질 농도가 낮고 E/S 비가 높아질수록 가수분해도가 증가하는 것으로 나타났다. 예측된 반응표면에서는 E/S 비가 0.4~0.6%이고 기질 농도가 10~20%일 때 53.9% 이상의 가수분해도를 나타내었다.

[0056] 또한 도 5에 나타난 바와 같이, 기질 농도와 가수분해시간과의 관계에서는 기질 농도가 낮으면서 가수분해시간이 길수록 가수분해도가 높아져 3.0~4.5시간 사이에서 기질 농도가 10~20% 일 때 55.7% 이상의 가수분해도를 나타내었다.

[0057] 한편 위의 반응 모형식을 정준형식으로 변환하면 $= 71.388 - 1.658\omega_1^2 - 7.280\omega_2^2 - 9.042\omega_3^2$ 로 세 고유값(eigenvalues)들의 부호가 모두 음수로 나타났으므로 정상점은 최대점이며, 가수분해도는 가수분해시간, E/S 비, 기질의 농도 순으로 민감하게 영향을 받는 것으로 나타났다. 이러한 결과로부터 최대의 가수분해도를 얻기 위한 조건은 기질 농도 15.96%, E/S 비 0.58%, 가수분해시간은 4.52시간으로 나타났다.

[0058] 그러나, 산업적으로 적용하기에는 기질의 농도를 낮추기 위해 첨가하는 용수가 많고 가수분해시간은 장시간이기 때문에 경제성이 떨어진다고 판단되어 반경 0.0~1.0에서 능선분석(ridge analysis)을 수행하였다. 그 결과, 반경 1.0의 점에서 61.90%의 가수분해도가 예측되었고, 실제 이 조건으로 실험한 실측치는 58.77%로 나타났으며, 이는 표준오차(standard error)를 고려하였을 때 유사한 범위 수준이었다. 본 실험에서는 이점을 최대 가수분해도를 나타내는 점으로 설정하였으며, 이때 조건은 pH 7.45, 반응온도 55℃, 가수분해시간 3.74시간, 기질의 농도(S) 21.82%, 기질에 대한 효소 농도(E/S)의 비 0.50% 이었다.

[0059] 4. 반응표면분석을 통한 천연 계향 전구물질의 최적의 가공조건 결정

[0060] 홍게자숙육 침전물의 가수분해물을 이용하여 반응 향미제를 유도하며 관능적인 특성을 향상시키기 위해 Hayashi et al(1981)이 발표한 합성 계육 엑기스의 레시피를 참고하여 아미노산으로는 프롤린 3~7 중량%, 아르기닌 3~7 중량%, 타우린 및 글리신 1.5 중량%, 당은 과당 0.5~1.5 중량%, 핵산물질은 5'-이노신 모노포스페이트(5'-IMP) 0.05 중량%를 선정하였다. 이러한 아미노산과 당을 독립변수로 두고 중심합성계획법에 따라 -2 ~ +2로 코드화하였으며, 종속변수로는 관능검사에 의한 게 냄새의 강도(savory)로 두었다. 즉, 부분요인배치실험(fractional factorial design) (8개), 별점(star points) (6개) 및 중심점(central points) (3개)으로 총 17개의 실험을 수행하였다. 이 후 첨가물과 가수분해물을 코드값에 따라 이중 자켓으로 된 반응조(200ml, Wheaton Co., USA)에서 90℃에서 1시간 동안 반응시켜 계향을 얻었다.

[0061] 관능검사는 반응표면분석에 의해 제조된 17개의 계향을 창원대학교 식품영양학과에 재학중인 학부생 및 대학원생으로 구성된 20명의 패널에게 제공하여 훈련 후, 최종적으로 선정된 8명의 패널들이 게 냄새, 비린내를 9점 평점법(1점: 대단히 약함, 5점: 약하지도 강하지도 않음, 9점: 대단히 강함)으로 평가하였다. 이때, 패널간의 차이를 줄이기 위하여 홍게 다리육을 98℃에서 물과 함께 약 20분간 가열하여 19 브릭스로 맞춘 홍게육 추출액의 게 냄새와 비린내를 5점으로 기준을 잡고 평가하였고, 기호도는 기준 시료와 관계없이 9점 평점법(1점: 대단히 싫음, 5점: 좋지도 싫지도 않음, 9점: 대단히 좋음)으로 평가하였다.

[0062] 결과는 표 5에 나타내었다.

표 5

	독립변수			종속변수	
	프롤린	아르기닌	과당	게 냄새	비린내

부분요인배치 실험	1	4	4	0.75	6.50	2.63
	2	6	4	0.75	6.38	2.50
	3	4	6	0.75	6.38	2.75
	4	6	6	0.75	7.63	2.13
	5	4	4	1.25	6.25	2.75
	6	6	4	1.25	6.88	2.00
	7	4	6	1.25	7.50	2.75
	8	6	6	1.25	7.06	1.75
별점	9	7	5	1.00	7.50	2.38
	10	3	5	1.00	7.13	2.75
	11	5	7	1.00	7.75	2.06
	12	5	3	1.00	6.25	2.75
	13	5	5	1.50	6.63	1.75
	14	5	5	0.50	6.00	3.25
중심점	15	5	5	1.00	7.88	1.88
	16	5	5	1.00	7.75	1.75
	17	5	5	1.00	8.00	2.00

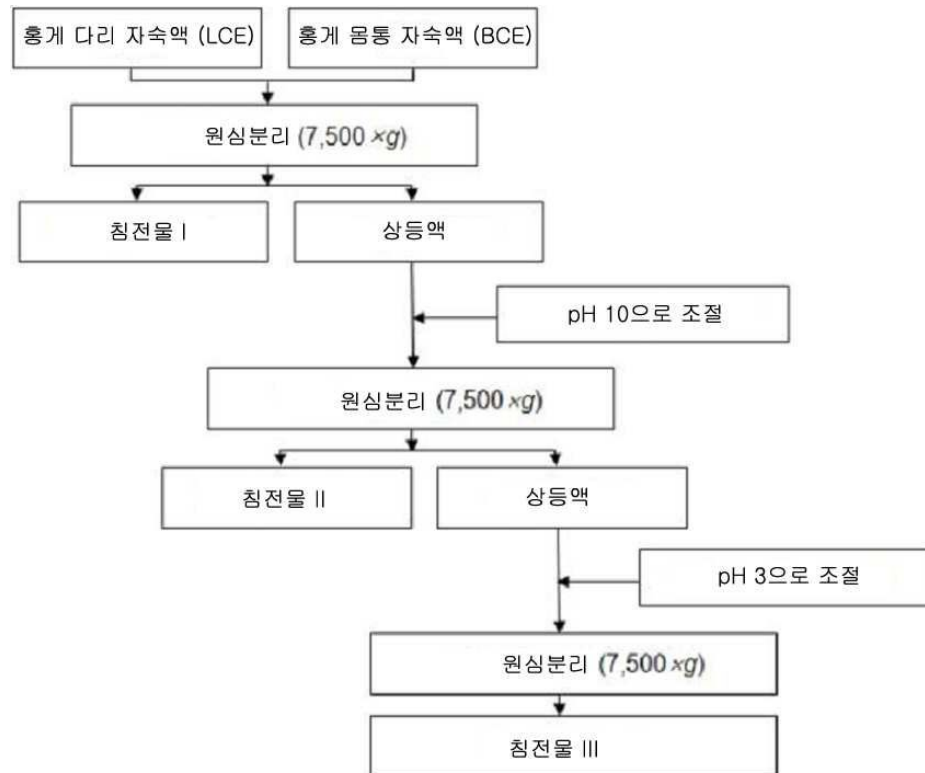
[0064] 표 5에 나타난 바와 같이, 중심합성계획법으로 디자인하여 도출된 17개의 실험값을 통계처리한 결과, 게 냄새의 강도에서는 전체적인 모형이 유의성($p < 0.05$)을 보였고, 결정계수는 0.8298로 나타났다. 반응모형 중 일차항과 이차항이 유의 ($p < 0.01$, $p < 0.05$)한 것으로 나타났으나 전체적인 모형에서 유의성을 나타내었기 때문에 모델을 완벽히 설명하기 위하여 교차곱을 포함한 전체 반응모형식은 게 냄새의 강도(savory) = $-11.90 + 1.95(\text{프롤린}) + 2.33(\text{아르기닌}) + 15.03(\text{과당}) - 0.15(\text{프롤린})^2 + 0.04(\text{아르기닌})(\text{프롤린}) - 0.23(\text{아르기닌})^2 - 0.47(\text{과당})(\text{프롤린}) + 0.15(\text{과당})(\text{아르기닌}) - 6.46(\text{과당})^2$ 이었다. 상기 결과에 의해, 게 냄새는 프롤린 5.47%, 아르기닌 5.80%, 과당 1.03%의 조건에서 7.95(계향)의 예측치를 보였다.

[0065] 5. 최종 게 향미제의 제조

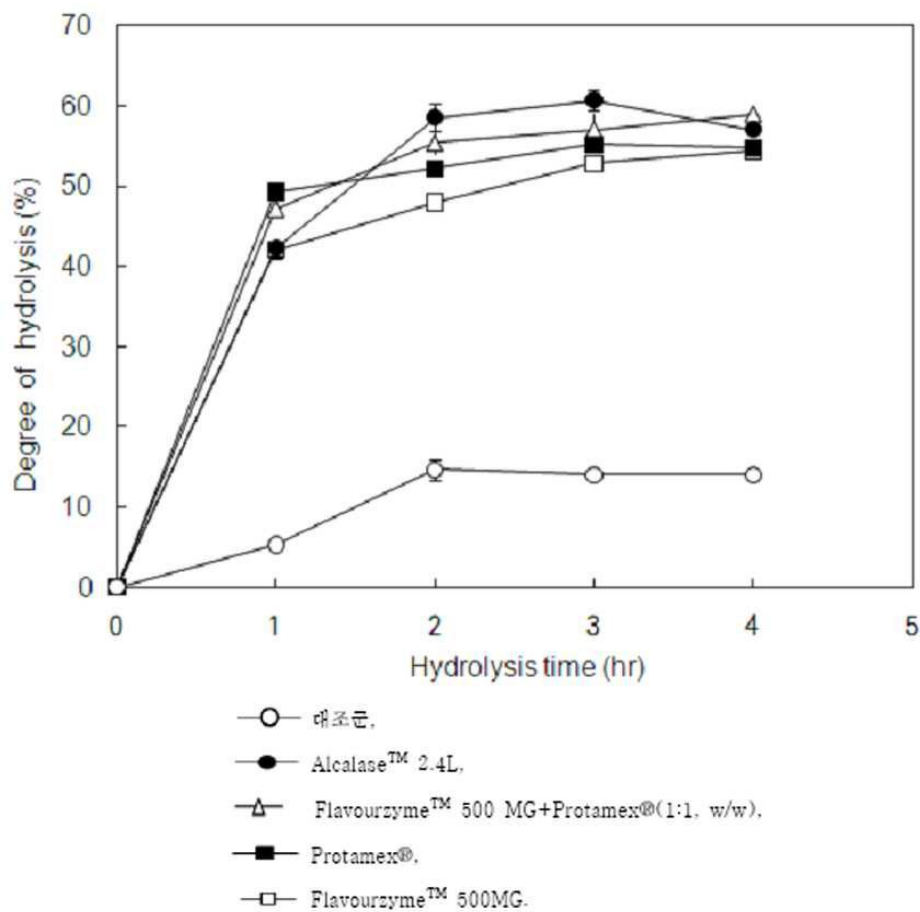
[0066] 상기 4에서 얻은 가열 반응물의 향미 보류 및 제품의 증량을 위하여 저감미당을 첨가하여 최종 제품의 당도를 62 브릭스 이상으로 하였다. 이를 여과하고 여과물에 향미를 보강하기 위하여 삶은 양배추향이 나는 디메틸설파이드 0.45% (부피비) 및 과일향이 나는 에틸발레레이트 0.0008% (부피비)를 첨가하여 최종 게 향미제를 제조하였다.

도면

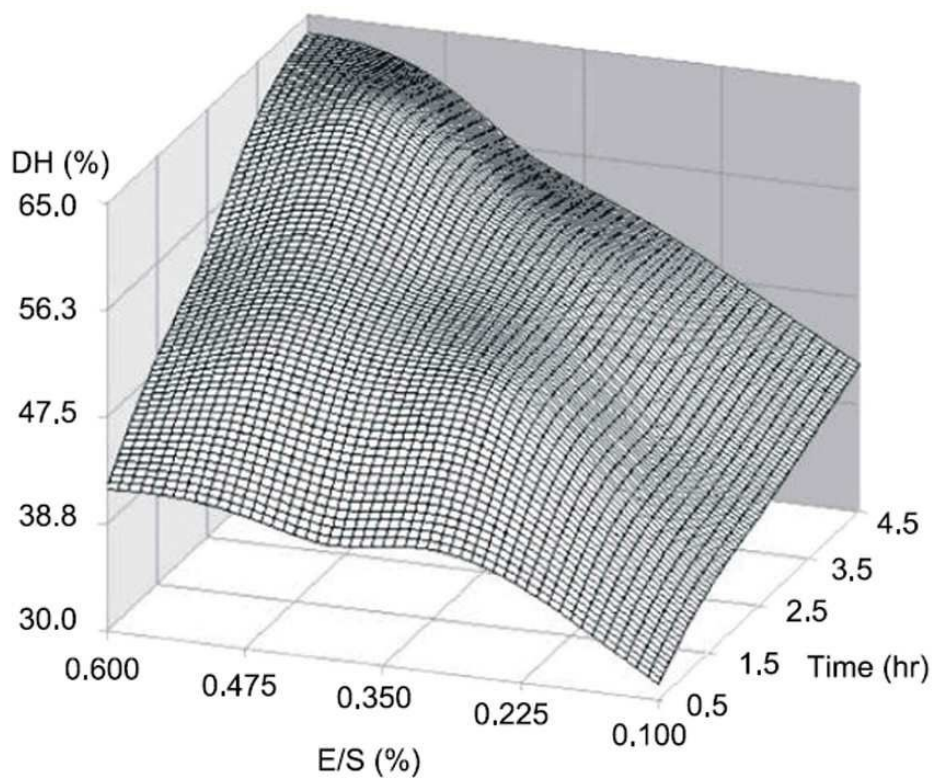
도면1



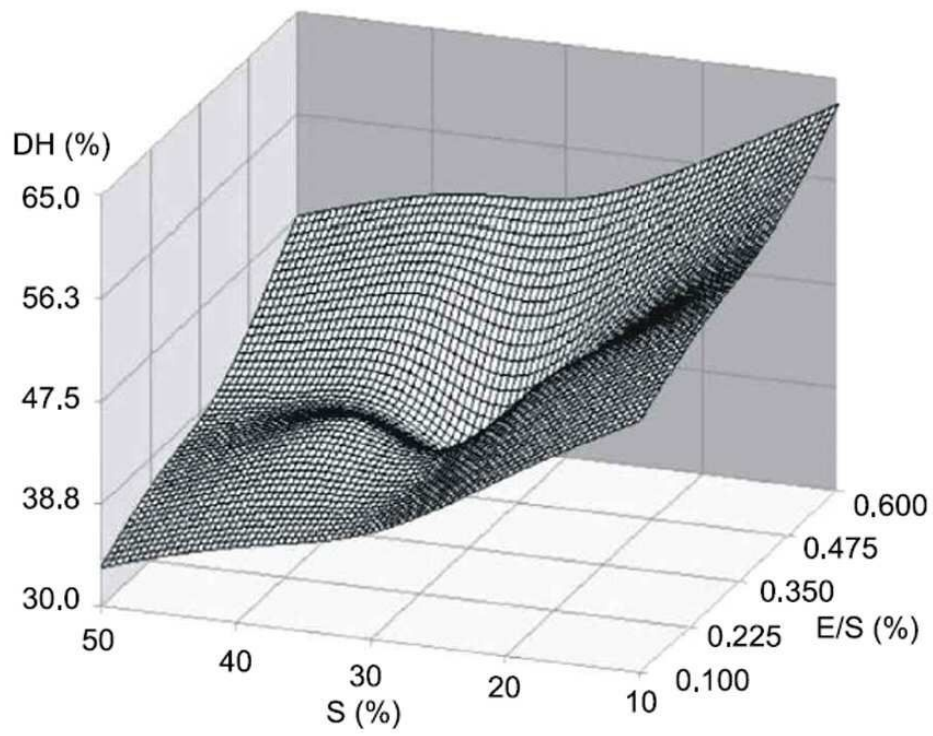
도면2



도면3



도면4



도면5

