

말쥐치피 콜라겐의 효소적 수식 및 기능성

김세권 · 곽동채*

부산대학교 자연과학대학 화학과, *보건사회부 국립부산검역소 식품검사과

초록 : 어류 가공시 부산물로 얻어지는 어피를 보다 효율적으로 이용할 목적으로 말쥐치피로부터 콜라겐을 추출한 후, 이에 소수성 잔기를 증가시키기 위하여 leucine alkyl ester를 도입하여 기능성 개량을 시도하였다. 말쥐치피 콜라겐 및 FSC-Leu-OCn의 콜라겐 함량, 아미노산 조성에 의한 소수성, 분자량, 용해도, 보수력, 분산성, 지방흡수력, 포말성, 유화성 등을 계면활성제인 Tween-60과 비교 검토한 결과, 어피 콜라겐에 leucine alkyl ester를 도입시킨 FSC-Leu-OC_n은 기능성 중 유화성 및 유화안정성이 매우 향상되어 유화제로 이용할 수 있을 것으로 본다(1991년 8월 28일 접수, 1991년 9월 20일 수리).

콜라겐은 포유동물의 단백질중 가장 많이 존재하는 피(皮), 힘줄 및 연골단백질에 전체 건조중량의 70% 이상을 차지하고 있으며, 체단백질에는 약 30%정도 함유되어 있는 고분자인 섬유상 단백질로서 기본단위 분자는 3중 나선구조로 되어 있고, 그 직경이 약 14~15Å, 길이가 2,800Å, 평균분자량은 약 300,000 dalton이다.¹⁾

어류의 경우 콜라겐은 어피의 주성분이고 뼈, 지느러미 등에도 많이 분포되어 있으며, 근육에서는 결합조직의 교원섬유를 이루고 있다.²⁾

콜라겐은 섬유상 단백질의 기본단위 분자인 tropocollagen 분자내 또는 tropocollagen 분자간의 공유결합성 다리결합(cross-linking)에 의하여 물리적, 생물학적으로 안정한 구조를 이루고 있다.³⁾

최근 단백질을 이용한 유화제에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다.⁴⁻⁸⁾ 특히 단백질에 소수성기를 도입시켜 단백질의 계면활성 기능을 증가시키기 위한 연구도 이루어지고 있다. Arai 등⁹⁾은 친수성 단백질인 젤라틴에 소수성인 L-leucine n-alkyl ester를 도입한 결과, 포말성 및 유화성이 증진되었다고 보고하였으며, Watanabe 등¹⁰⁾도 대두단백질, 카제인 및 난알부민에 L-leucine n-alkyl ester를 도입시킨 결과 유화력이 증진되었다고 보고한 바 있다.

우리나라 수산물의 총생산량(1989년도)은 332만톤이고 여기에 수입량을 합치면 총공급량은 393만톤 이었다. 이중 가공원료로 이용된 것은 총공급량의 85.1%, 선어

(鮮魚)로 이용된 것은 14.9%로 가공율이 매년 현저하게 높아가고 있어¹¹⁾ 가공시 수십만톤의 어피가 폐기되고 있는 실정이다.

본 연구에서는 말쥐치육 가공 후 부산물로 얻어지는 어피를 보다 효율적으로 이용할 목적으로 어피로 콜라겐을 추출한 후 L-leucine alkyl ester를 도입하여 유화제의 성질, 분산성, 용해도, 포말성, 지방흡수력 등을 Tween-60과 비교하여 연구 검토하였다.

재료 및 방법

재료

1) 원료어피

본 실험에 사용된 말쥐치, *Novodon modestus*, 피는 부산시 사하구 장림동 소재 대경수산(주)에서 구입한 말쥐치의 육과 뼈, 그리고 피하지방층 등의 이물질을 완전히 제거한 다음 차가운 물로 5회 세정한 후 -80℃에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

2) 어피로부터 추출한 콜라겐 시료

어피로부터 콜라겐 추출은 김중 등¹²⁾의 방법을 다소 수정하여 실행하였다. 즉, 어피를 가로 세로 1cm정도 크기로 자른 다음 교반기를 사용하여 물로 10회 수세한 후 어피 10g에 냉수 1,000 ml를 가하여 blender에서 3분간씩 5회 반복하여 수세시키고 원심분리(1,600×g, 5 min)하였다. 잔사에 10배량의 0.1N NaOH를 가하여 4

℃에서 24시간 동안 교반하여 비콜라겐 물질을 추출한 후 원심분리(10,000×g, 5 min)하였다. 잔사를 냉수로 3회 수세한 다음 동결건조(DURA-DRY, corrosion resistant Freezer-Dryer, F.T.S. System Inc.)하였다. 동결건조된 시료에 20배량의 0.5N acetic acid용액을 가하여 48시간 동안 교반하면서 산가용화 콜라겐을 추출한 다음 cheesecloth로 여과한 후 원심분리(1,000×g, 30 min)하였다. 상층액에 NaCl을 5%되도록 첨가하여 콜라겐을 염석시킨 후 원심분리(1,500×g, 30 min)하였다. 이 염석과정을 2회 반복하여 얻은 산가용화 콜라겐은 0.02N phosphate buffer(pH 7.4)로 3일간 투석한 다음 동결건조하여 밀봉한 후 5℃에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

방법

1) L-Leucine alkyl ester의 합성

L-Leucine alkyl ester 및 butyl ester는 Bailey¹³⁾의 방법에 따라 합성하였으며, L-leucine hexyl ester 및 octyl ester는 Kato 등¹⁴⁾의 방법에 따라 합성하였다.

2) Plastein반응에 의한 말취치피 콜라겐의 L-leucine alkyl ester(FSC-Leu-OCn)의 합성

Plastein 반응에 의한 FSC-Leu-OCn의 합성은 Watanabe와 Arai¹⁵⁾의 방법에 따라 합성하였다. 즉 동결건조된 말취치피 콜라겐 20g을 250 ml 비이커에 취하고 1M carbonate buffer(pH 9.0)를 가하여 교반한 다음 leucine alkyl ester 0.02 mole을 가하여 기질농도가 33%(w/w) 되도록 하였다. Papain(Sigma Co., 2.8 Unit mg⁻¹ min⁻¹) 1% 및 mercaptoethanol 2 mM을 각각 가하여 37℃에서 15분간 반응시킨 후 10배량의 1N HCl 용액으로 효소를 불활성화시킨 다음 5℃에서 증류수로 3일간 투석한 후 동결건조하였다.

3) 콜라겐의 정량

콜라겐 정량은 Cunningham¹⁶⁾ 및 Stegemann과 Stalder¹⁷⁾의 방법을 다소 수정하여 hydroxyproline을 정량하여 Fenster과 Buck¹⁸⁾의 방법에 따라 계산하였다. 즉, 동결건조된 콜라겐 시료를 각각 0.5g씩 정평한 후 6N HCl 50 ml를 가하고 밀봉하여 autoclave 상에서 12시간 동안 121℃에서 가수분해한 다음 0℃로 냉각시킨 후 황성탄과 Dowex 1×8 이온교환수지를 1 : 2의 비로 섞은 혼합물 3g을 충전시킨 칼럼(1.0×15 cm)을 통과시켜 탈색을 한 후 여과(glass filter, 3G4)하고, 6N NaOH로 중화한 다음 증류수로 100 ml로 하였다. 이 시료액 1 ml를 분취하여 0.25% CuSO₄, 10% NaOH 및 6% H₂O₂를 각각 1 ml 가하여 5분간 정치한 후 가열(80℃, 5 min)

하였다. 다시 0℃로 냉각시킨 반응액에 1.5N H₂SO₄ 4 ml를 가하여 n-propyl alcohol에 녹인 p-dimethylaminobenzenealdehyde(DMAB) 5% 용액 2 ml를 가하고 70℃에서 10분간 가열한 다음 575 nm에서 hydroxyproline의 흡광도(U.K. Pyeunion Co.)를 측정하였다.

4) 아미노산의 정량

각 시료 50 mg을 정평하여 ampoul에 넣고 6N HCl 2 ml를 가하여 진공 밀봉한 다음 sand bath(105℃)에서 24시간 가수분해시켰다. 가수분해된 시료는 rotary evaporator로써 염산을 제거한 후 정용하여 막 여과기(Whatmann, 0.2 μ)로 여과한 여액을 아미노산 자동분석기(L. K. B. 4150 type-England)로 분석하였다.

5) 기능성

(1) 용해도

Yamashita 등¹⁹⁾의 방법에 따라 각 시료 0.5g에 0.1N HCl과 0.1N NaOH로 pH를 조절하면서 최종용량이 40 ml되게 하였다. 이를 25℃에서 30분간 교반하고, 다시 pH를 조절한 다음 원심분리(1,000×g, 15 min)하여, 그 상층액 10 ml를 취하여 Kjeldahl법으로 질소를 정량하여 용해도를 계산하였다.

(2) 보수력

보수력은 Lin 등²⁰⁾의 방법에 따라 측정하였다.

(3) 지방흡수력

지방흡수력은 Lin 등²⁰⁾의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 각 시료 1g을 시험관(15 mm×110 mm)에 넣어 무게를 측정하고 대두유(동방유량(주)) 10 ml을 각 시험관에 가하여 vortex상에서 1분간 교반하였다. 각 시료를 25℃에서 15분마다 1분간 4회 반복하여 교반하고, 원심분리(1,600×g, 20 min)하였다. 각 시험관을 45° 거꾸로 기울여 30분간 여지상에서 방치하였다. 지방흡수력은 시료 1g당 결합된 대두유로서 나타내었다.

(4) 분산성

분산성은 Dubrow 등²¹⁾의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 각 시료 0.5g에 물 20 ml를 가한 후 20분간 교반한 다음 0.1N NaOH 및 0.1N HCl로 pH를 7.0으로 조절하고 다시 물 20 ml를 가하여 2시간 동안 교반한 후 50 ml 메스실린더에 넣어 90분 동안 정치시켜 입자를 침전시켰다. 무게를 측정한 항량병에 상층액 5 ml를 취하여 103℃에서 20시간 동안 건조한 후 분산성을 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{분산성(\%)} = \frac{\text{현탁액 고형물의 무게(g)}}{\text{시료 건조물의 무게(g)}} \times 100$$

(5) 포말성 및 포말안정성 측정

포말성과 포말안정성은 Johnson과 Brekke²²⁾ 및 Watanabe 등²³⁾의 방법에 따라 측정하였다.

(6) 유화성 및 유화안정성의 측정

유화성과 유화안정성은 Wang과 Kinsella²⁴⁾의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉, 1% 분산액 10 ml를 균질기 (Ace Homogenizer AM-8)로 5,000 rpm에서 2분간 포팅시킨 후 대두유(동방유량(주)) 10 ml을 가하여 15,000 rpm에서 3분간 균질화시켰다. 이와 같이하여 생성된 유화액을 원심관(12 mm×110 mm)에 나누어 넣고 원심분리(1,600×g, 5 min)하였다.

$$\text{유화성(\%)} = \frac{\text{유화된 층의 높이(cm)}}{\text{시험관내 총내용물의 높이(cm)}} \times 100$$

유화안정성은 유화액을 80℃의 물중탕에서 30분간 가열한 후 15℃로 냉각하여 원심분리(1,600×g, 15 min)한 다음 유화성 측정과 동일한 방법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

Plastein 반응에 의한 FSC-Leu-OCn(n=2~8)의 합성

Plastein 반응에 의한 FSC-Leu-OCn의 합성 수율은 Table 1과 같다. FSC-Leu-OCn의 수율은 FSC-Leu-OC₄가 94.5%로 가장 높았으나 FSC-Leu-OC₈이 91.8%로 가장 낮았다.

Watanabe와 Arai¹⁵⁾는 젤라틴에 leucine ethyl ester를 도입한 결과 반응시간 15분에 95%의 수율을 얻은 반면, 30분간 반응시켰을 때는 90%의 수율을 얻었다고 보고하였다. 한편 Shimada 등²⁵⁾은 젤라틴에 leucine dodecyl ester를 papain으로 합성한 결과 90%의 수율을 얻었고 leucine alkyl ester를 가하지 않았을 때는 가수분해 반응이 일어나 96%의 젤라틴 가수분해를 얻었다고 보고한 바 있다.

Table 1. Yields of filefish skin collagen(FSC)-Leu-OCn (n=2~8) synthesized with papain

Products	Amount (g)	Yield (%)*
FSC-Leu-OC ₂	22.25	92.9
FSC-Leu-OC ₄	25.13	94.5
FSC-Leu-OC ₆	23.59	94.3
FSC-Leu-OC ₈	23.46	91.8

* Yields were calculated from a starting quantity of 20g FSC and 0.02 mole of leucine alkyl ester.

콜라겐의 함량

Hydroxyproline을 정량하여 Feinstein와 Buck¹⁸⁾의 방법으로 계산한 콜라겐의 함량을 Table 2에 나타내었다. 말쥐치피로부터 추출한 콜라겐의 함량은 hydroxyproline량으로 산출한 경우 거의 100%였으나, FSC-Leu-OCn의 경우는 소수성기의 도입으로 인하여 콜라겐 함량이 2~3% 정도 더 적었다.

Kubota²⁶⁾는 잉어와 곤돌메기의 각 조직중 콜라겐의 분포를 조사한 결과, 잉어피와 곤돌메기피의 콜라겐 함량은 각각 74.3, 69.8%였고, 전단백질중 콜라겐이 차지하는 비율이 높은 부위는 근경만, 복막, 피, 뼈 및 부레였다고 보고하였다.

김 등²⁾은 어피 콜라겐의 hydroxyproline 함량은 아미노산 1,000잔기당 상어피, 대구피 및 메기피에서 각각 68, 40~53 및 42잔기였고 문어, 오징어 및 전복의 근육 콜라겐의 hydroxyproline 함량은 각각 80.0, 88.5 및 87.2 잔기였다고 보고하였고, Kimura 등²⁷⁾은 알라스카산 대구피 콜라겐(Type I)의 hydroxyproline 잔기수는 55잔기였다고 보고한 바 있다.

본 실험에서 사용한 말쥐치피 콜라겐이 hydroxyproline 잔기수 69.2는 대구피 및 메기피의 그것에 비해 다소 높은 함량이었으나 문어, 오징어 및 전복의 그것보다는 다소 낮은 함량이었다.

Plastein 반응에 의한 leucine 도입량

Table 3은 plastein 반응에 의한 leucine의 도입량을 나타낸 것이다. Leucine의 도입량은 leucine hexyl ester가 0.079 mole로 가장 높았으며, leucine ethyl ester 및 leucine butyl ester는 각각 0.034, 0.037 mole였으며 leucine octyl ester는 0.021 mole로서 가장 낮았다. Chow와 Lin²⁸⁾은 돼지피 콜라겐에 leucine을 도입한 결과, leucine의 도입량은 leucine alkyl ester의 탄소수의

Table 2. The contents of total collagen and protein in FSC and FSC-Leu-OCn

Products	Total collagen* (g/100g protein)	Protein (N×6.25, %)
FSC	100	86
FSC-Leu-OC ₂	98	87
FSC-Leu-OC ₄	97	87
FSC-Leu-OC ₆	98	88
FSC-Leu-OC ₈	97	87

* The contents of total collagen contained in 100g protein.

증가에 따라 leucine의 도입량이 증가하다가 leucine octyl ester에서 0.033 mole로 가장 높았으며, leucine decyl ester의 도입율은 0.031 mole로서 도입율이 가장 낮았다 고 보고한 바 있다.

아미노산 조성에 의한 소수성

말취치피 콜라겐 및 FSC-Leu-OCn의 아미노산 조성 비로 Tanford²⁹⁾가 측정한 각 아미노산 잔기에 대하여 자유에너지 값으로 소수성을 계산한 결과, Table 4에 나타난 바와 같이 말취치 콜라겐, FSC-Leu-OC₂, FSC-Leu-OC₄, FSC-Leu-OC₆ 및 FSC-Leu-OC₈의 소수성은 각각 837.41, 914.30, 968.38, 957.27 및 936.53 cal 였다. Goldsack³⁰⁾는 각종 단백질의 아미노산 조성만으로 소수성을 계산한 결과, myosin의 경우 토끼는 1011 cal, 송어는 1004 cal, 대구는 979 cal로서 소수성은 서식 환경 온도와 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. 또한 Sung 등³¹⁾은 대두 단백질에 papain으로 아실화한 후 반응시간에 따라 소수성 아미노산의 잔기는 감소하였으나 친수성 아미노산의 잔기수는 오히려 증가하였다고 보고한 바 있다.

본 실험에서는 말취치피 콜라겐을 에스테르화시킴에 따라 소수성 잔기의 노출 정도는 대체로 증가하였고, 특히 leucine ester의 도입으로 인하여 leucine의 잔기수가 2배 이상 증가하였으며, 소수성도 leucine alkyl ester의 탄소수 6개까지는 증가하였다.

기능성

1) 용해도

pH변화에 따른 용해도를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 말취치피 콜라겐 및 FSC-Leu-OCn의 등전점은 pH 5 부근에서 나타났으며, 말취치피 콜라겐의 경우 pH 5 이하의 산성영역에서 용해도가 급격하게 증가하였으나 pH 5 이상에서는 용해도가 거의 일정하였다. 이와 같은 현상은 산가용화 콜라겐이 산성영역에서는 재용해가 일어나 용해도가 증가하는 반면, 알칼리 영역에서는 염에 의해 단백질이 변성되어 unfolding되면서 소수성 측쇄기가 노출되어 용해도가 감소하는 것으로 생각된다.

FSC-Leu-OCn은 등전점(pH 5) 부근에서 용해도가 가장 낮았으며, 소수성이 증가함에 따라 용해도는 감소하는 경향을 나타내었다.

김과 이³²⁾는 어류 단백질의 가수분해물에 leucine alkyl ester를 도입시킨 결과, 용해도는 leucine의 pK값이 pH 6 부근으로서 pH 변화에 따른 측쇄기의 하전상태가 크게 변하지 않고, leucine 도입 plastein중 소수성 아미노산인 leucine의 함량이 증가되어 plastein 자체가 강한 소수성을 갖기 때문에 pH 변화에 따라 거의 변하지 않는 경향을 보였다고 하였으며, Aoki 등³³⁾은 단백질의 용해도는 감소하였으며, 용해도가 증가함에 따라 유화안정성은 감소하였다고 보고한 바 있다.

2) 분산성, 보수력 및 지방흡수력

말취치피 콜라겐 및 FSC-Leu-OCn의 분산성, 보수력 및 지방흡수력을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 분산성의 경우 알부민이 85.3%로 가장 높았고, 말취치피 콜라겐의 분산성도 80.9%로 높았으나 FSC-Leu-OCn 제품은 모두 낮은 값을 나타내었다.

보수력은 말취치피 콜라겐이 1,450%로 대조구인 달걀 알부민보다 무려 14배의 값을 나타내었고, FSC-Leu-OCn의 경우 FSC-Leu-OC₆이 691%로 가장 높았으나 FSC-Leu-OC₈이 522%로 가장 낮은 값을 나타내었다.

Sadowska와 Rudzki³⁴⁾는 hide collagen dough 및 esterified hide collagen dough의 보수력은 각각 870% 및 690%로 에스테르화한 제품의 보수력이 에스테르화시키지 않은 것보다 낮게 나타났다는 결과와 본 실험의 결과는 일치하였다. Miller 등³⁵⁾은 보수력이 콜라겐 조직의 다리결합과 밀접한 관계가 있으며, 다리결합이 증가할수록 콜라겐이 물에 의해 팽윤하는데는 많은 저항을 받기 때문에 보수력은 감소한다고 하였다.

본 실험에서 FSC-Leu-OCn의 보수력이 본래의 말취치피 콜라겐보다 낮은 것은 leucine 도입시 papain에 의해 말취치피 콜라겐 구조의 일부가 펩티드화되고, 이로 인한 다리결합의 증가 및 소수성 아미노산인 leucine의 함량이 증가되었기 때문이라 판단된다.

Table 3. The leucine-increase of FSC-Leu-OC_n*

Chain length of alkyl moiety	Leucine -increase** (mole/100g-protein)
FSC	0
FSC-Leu-OC ₂	0.000***
FSC-Leu-OC ₄	0.034
FSC-Leu-OC ₆	0.037
FSC-Leu-OC ₈	0.079
FSC-Leu-OC ₈	0.021

*Prepared from filefish skin collagen(FSC) incubated for 15 min with papain in the presence of leucine n-alkyl esters (n=2~8).

**The leucine-increments are calculated using A.A. data.

***The value was substrated from original leucine content (0.027 mole/100g-protein).

Table 4. Average hydrophobicities of FSC and FSC-OCn (A.A. residues/1,000 residues)

Amino acid	Hydrophobicity		FSC		FSC-Leu-OC ₂		FSC-Leu-OC ₄		FSC-Leu-OC ₆		FSC-Leu-OC ₈	
	Kcal/residue	Hydrophobicity	Residue	Hydrophobicity	Residue	Hydrophobicity	Residue	Hydrophobicity	Residue	Hydrophobicity	Residue	Hydrophobicity
Ile	2.95	37.88	12.84	39.12	13.26	46.67	15.82	46.67	13.61	40.14	16.09	47.48
Tyr	2.85	7.67	2.70	8.65	3.04	6.10	2.14	6.10	2.86	8.16	4.40	12.53
Phe	2.65	61.36	23.15	62.73	23.67	71.45	26.96	71.45	26.69	70.72	29.20	77.39
Pro	2.60	373.54	143.67	367.24	141.25	395.35	152.06	395.35	146.64	381.27	151.48	393.85
Leu	2.40	77.30	32.21	172.63	71.93	183.60	76.50	183.60	78.44	188.26	58.00	139.21
Val	1.70	69.71	41.01	67.93	39.96	76.52	45.01	76.52	43.51	73.96	43.01	73.11
Lys	1.50	67.85	45.23	63.61	42.40	64.98	43.32	64.98	44.17	66.25	44.44	66.66
Met	1.30	21.52	16.55	19.05	14.66	20.90	16.07	20.90	19.91	23.28	18.67	24.26
Ala	0.75	75.32	100.42	70.80	94.39	60.04	80.06	60.04	82.15	61.61	78.08	58.56
Arg	0.73	45.25	61.99	42.53	58.26	42.77	58.58	42.77	59.76	43.63	59.57	43.48
Gly	0.00	254.22	9.17	—	238.76	—	224.79	—	229.22	—	225.51	—
Ser	0.00	9.17	15.86	—	8.60	—	9.86	—	9.47	—	9.53	—
His	0.00	69.36	102.85	—	15.71	—	16.74	—	16.99	—	19.53	—
Asp	0.00	68.77	68.77	—	67.79	—	68.38	—	66.71	—	76.03	—
Glu	0.00	68.77	68.77	—	98.61	—	97.00	—	94.89	—	99.78	—
Hyp	—	—	—	—	67.39	—	66.71	—	67.39	—	66.71	—
Total			100.00	837.41	999.68	914.30	1000.00	968.38	1002.41	957.27	1000.03	936.53

지방흡수력은 대조구인 말취치피 콜라겐이 3.39g-oil/g-protein으로 가장 낮았으며, FSC-Leu-OCn중에서 FSC-Leu-OC₈이 8.97g-oil/g-protein으로 가장 높았다. 이와 같이 leucine을 도입한 시제품의 지방흡수력이 높은 것은 leucine의 소수성 잔기와 지방의 소수성 잔기간의 상호 작용에 기인하는 것으로 판단된다.

3) 포말성 및 포말안정성

Tween-60을 대조구로 하여 말취치피 콜라겐 및 FSC-Leu-OCn의 포말성 및 포말안정성을 측정 한 결과는 Table 6과 같다. 포말성은 FSC-Leu-OC₆이 3.64로 가장

높았으며, FSC-Leu-OC₈ 및 FSC-Leu-OC₄는 각각 3.28 및 3.22였고, FSC-Leu-OC₂는 2.96으로 대조구인 Tween-60의 2.48보다 leucine이 도입된 모든 시제품이 우수하였다. 그러나 말취치피 콜라겐의 경우 1.64로 대조구인 Tween-60보다도 낮았다. Arai와 Watanabe³⁶⁾는 젤라틴에 leucine-n-alkyl ester를 도입시킨 결과, leucine octyl ester를 도입시킨 것이 다른 것에 비해 포말성이 우수하였다고 보고하였으며, Watanabe 등³⁷⁾은 젤라틴에 leucine butyl ester 또는 leucine hexyl ester를 도입시킨 제품의 포말성이 가장 우수하였다고 보고한 바 있는데, 이들의 결과는 본 실험의 결과와 일치하였다.

포말안정성은 FSC-Leu-OC₆이 0.40으로 가장 높았으며, FSC-Leu-OC₈ 및 FSC-Leu-OC₄는 각각 0.33, 0.32였고, FSC-Leu-OC₂는 0.12로서 대조구인 Tween-60의 0.08보다 다소 우수하였다. 말취치피 콜라겐의 포말안정성은 0.16이었다. Watanabe 등³⁷⁾은 젤라틴에 leucine alkyl ester를 도입시켰을 때 에스테르화 반응시간이 길수록 포말성 및 포말안정성은 감소하였고, leucine을 0.1 mole 도입시킨 제품이 포말성 및 포말안정성에 있어서 가장 우수하였다고 보고한 바 있다.

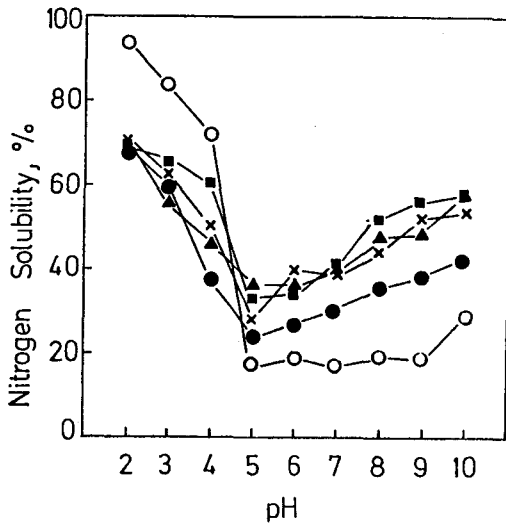


Fig. 1. Nitrogen solubility of filefish skin collagen and filefish skin collagen-leucine alkyl ester products at various pH.
 ■—■ : FSC-Leu-OC₂, ×—× : FSC-Leu-OC₄, ▲—▲ : FSC-Leu-OC₆, ●—● : FSC-Leu-OC₈, ○—○ : Filefish skin collagen

Table 5. Composition of functional properties of FSC, FSC-Leu-OCn and egg albumin

	Functional properties		
	Dispersibility (%)	Water holding capacity (%)	Oil binding capacity (ml-oil/g)
FSC	80.9	1450	3.39
FSC-Leu-OC ₂	36.1	605	5.04
FSC-Leu-OC ₄	37.6	629	6.68
FSC-Leu-OC ₆	38.1	691	7.72
FSC-Leu-OC ₈	28.0	522	8.97
Egg albumin	85.3	110	1.21

Table 6. The foaming properties of FSC, FSC-Leu-OCn and Tween-60

	Whippability*	Foam stability**
FSC	1.64	0.16
FSC-Leu-OC ₂	2.96	0.12
FSC-Leu-OC ₄	3.22	0.32
FSC-Leu-OC ₆	3.64	0.40
FSC-Leu-OC ₈	3.28	0.33
Tween-60	2.48	0.08

*Whippability = (Total volume - drainage volume) / Initial volume

**Foam stability = (Initial volume - drainage volume) / Initial volume

Table 7. Emulsifying properties of FSC, FSC-Leu-OCn and Tween-60

	Emulsifying activity (%)	Emulsifying stability (%)
FSC	50.3	49.8
FSC-Leu-OC ₂	55.7	55.9
FSC-Leu-OC ₄	58.4	57.6
FSC-Leu-OC ₆	59.2	58.4
FSC-Leu-OC ₈	63.8	63.5
Tween-60	54.3	51.2

4) 유화성 및 유화안정성

말쥐치피 콜라겐 및 FSC-Leu-OCn의 유화성 및 유화안정성을 측정된 결과는 Table 7과 같다. 유화성은 FSC-Leu-OC₈이 63.8%로 가장 높았으며, FSC-Leu-OC₆, FSC-Leu-OC₄ 및 FSC-Leu-OC₂는 각각 59.2, 58.4 및 55.7%로서 대조구인 Tween-60의 54.3%보다 우수하였으며, 유화안정성도 이와 비슷한 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 leucine을 도입한 제품이 말쥐치피 콜라겐보다

높은 소수성을 나타낸 Table 4의 결과를 고려해 볼 때 이들 소수성기들의 유화에 의해 유화성이 높게 나타난 것으로 판단된다.

Sathe 등³⁸⁾은 친수기와 소수기의 평형, 단백질의 농도, pH 등이 유화성에 영향을 미친다고 하였으며, Arai와 Watanabe³⁶⁾는 소수기의 탄소수가 증가할수록 유화성이 증가한다고 보고한 바 있다.

참 고 문 헌

- Grant, M. E. and Jackson, D. S. : *Essays Biochem.*, 12 : 77(1976)
- 김세권, 이응호, 강옥주, 권칠성 : *냉동공조공학* 5(1) : 5 (1986)
- Nimni, M. E. and Cheung, D. T. : *Tissue Engineering*, p. 137(1988)
- Takehara, M. : *J. Japan Oil Chem. Soc.*, 34(11) : 964 (1985)
- Hidaka, H., Murate, M. and Onai, T. : *J. Japan Oil Chem. Soc.*, 34(1) : 58(1985)
- Mita, T. : *J. Japan Oil Chem. Soc.*, 35(5) : 389(1986)
- Haque, T. and Kinsella, J. E. : *J. Food Sci.*, 54(1) : 39(1989)
- Saito, M. and Taira, H. : *Agric. Biol. Chem.*, 51(10) : 2789(1987)
- Arai, S., Watanabe, M. and Fujimaki, N. : *Agric. Biol. Chem.*, 48(7) : 1861(1984)
- Watanabe, M., Shima, A. and Arai, S. : *Agric. Biol. Chem.*, 45(7) : 1621(1981)
- 농림수산통계연보 : 농림수산부, p. 410(1988)
- 吉中禮二, 左隣健司, 左隣守 : *日本特許廳 公開特許公報*, 昭和62年(1987)
- Bailey, J. L. : *Techniques in papain chemistry* Elsevier publishing company, p. 352(1967)
- 加藤哲夫, 牧角啓, 大野素徳, 泉室信夫 : *日本化學雜誌*, 83(10) : 1511(1962)
- Watanabe, M. and Arai, S. : *Adv. Chem. Series*, 198 : 199(1982)
- Cunningham, L. S. : *Method in Enzymology*, 82 : 375(1982)
- Stegemann and Stalder, K. : *Clinica Chimica Acta*, 267(1967)
- Feinstein, G. R. and Buck, E. M. : *J. Food Sci.*, 49 : 289(1984)
- Yamashita, M., Arai, S., Kokubo, S., Aso, K. and Fujimaki, M. : *Agric. Food Chem.*, 23 : 27(1975)
- Lin, M. J. Y., Humbert, E. S. and Sosulki, F. W. : *J. Food Sci.*, 39 : 368(1974)
- Dubrow, D. L., Kramer, A. and Mophee, A. D. : *J. Food Sci.*, 38 : 1012(1973)
- Johnson, E. A. and Brekke, C. J. : *J. Food Sci.*, 48 : 722(1983)
- Watanabe, M., Toyokawa, H., Shimada, A. and Arai, S. : *J. Food Sci.*, 46 : 1467(1981)
- Wang, J. C. and Kinsella, J. E. : *J. Food Sci.*, 41 : 286(1976)
- Shimada, A., Yazawa, E. and Arai, S. : *Agric. Biol. Chem.*, 46(1) : 173(1982)
- 日本水産學會編 : *魚肉 蛋白質*, 恆星社厚生閣, p. 64 (1977)
- Kimura, S. X. P. Z., Shijoha, R. M. M. and Kakami-zawa, S. : *J. Food Sci.*, 53 : 5(1988)
- Chow, C. F. and Lin, C. W. : *J. Chinese Agric. Chem. Soc.*, 24(3) : 301(1986)
- Tanford, I. : *Adv. Protein Chem.*, 23, Academic Press. N. Y.(1968)
- Goldsack, D. E. : *Biopolymers*, 9 : 247(1969)
- Sung, H. Y., Chem, H. J., Liu, T. Y. and Su, J. C. : *J. Food Sci.*, 48 : 708(1983)
- 김세권, 이응호 : *한국수산학회지*, 20 : 582(1987)
- Aoki, H., Taneyama, O., Orio, N. and Kitagawa, I. : *J. Food Sci.*, 46 : 1192(1981)
- Sadowska, M. and Rudzki, J. : *Libsinsn-wiss-Technol.*, 20 : 171 (1987)
- Miller, A. Y., Karmas, E. and Fulu, M. : *J. Food Sci.*, 48 : 681(1983)
- Arai, S. and Watanabe, M. : *Marcel Dekker, Inc. N. Y. and Basel*, p. 315(1989)
- Watanabe, M., Shimadam, A. and Arai, S. : *Agric. Biol. Chem.*, 45(1) : 1621(1981)
- Sathe, S. K., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K. : *J. Food Sci.*, 47 : 491(1981)

The enzymatic modification and functionalities of filefish skin collagen

Se-Kwon Kim and Dong-Chae Kwak*(Department of Chemistry, College of Natural Science, National Fisheries University of Pusan, Pusan 603-737, Korea, *Food Inspection Division, National Pusan Quarantine Station, Ministry of Health and Social Affairs, Pusan 600-014, Korea)

Abstract : In order to utilize fish skin effectively, the acid-soluble collagen was extracted from the skin of filefish, *Novoden modestrus*, and the filefish skin collagen(FSG) was modified by papain-catalyzed incorporation of L-leucine alkyl ester(Leu-OCn). The functional properties of an enzymatically modified collagen were measured. The FSC-Leu-OC₈ showed very good emulsifiability and foamability and was suitable for use as a low-fat content proteinaceous surfactant.