

효소에 의한 가자미피 젤라틴 가수분해물의 제조 조건

강태중 · 양현필* · 김세권*[†] · 송대진**

여수수산대학 식품공학과
*부산수산대학교 화학과
**제주대학교 식품공학과

Proteolytic Conditions for the Hydrolysate of Flounder Skin Gelatin

Tae-Jung Kang, Hyun-Pil Yang*, Se-Kwon Kim*[†] and Dae-Jin Song**

Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Yeosu, Yeosu 550-749, Korea

*Dept. of Chemistry, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

**Dept. of Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju 690-120, Korea

Abstract

In order to develop a new flavourant using the fish skin gelatin, the proteolytic conditions for the gelatin hydrolysate of the alkali (B-type) and Alcalase (E-type) pretreated flounder (*Limanda aspera*) skin gelatin were investigated, and some physical properties, molecular weight and amino acid compositions of the hydrolysates were, also, compared with each other. The proteolytic conditions of the gelatins (B-type and E-type) by trypsin were as follows : reaction temperature, 55°C : pH, 9.0 : enzyme concentration, 0.1% : reaction time, 4hrs for B-type and 1hr for E-type. The degrees of hydrolysis of the B-type and E-type gelatin under the conditions stated above were 63% and 82%, respectively. The major molecular weights of the hydrolysates were 15,000 dalton for B-type and 12,400 dalton for E-type. Among the amino acids in the hydrolysates, glycine, alanine, proline, hydroxyproline and serine having a sweet taste were responsible for 57% of the total amino acid. But valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, methionine, arginine and histidine having a bitter taste were only 18%.

Key words : flounder skin gelatin, proteolysis, proteolytic conditions

서 론

단백질 가수분해물은 각종 가공식품이나 조미료, 세제, 화장품, 의약품 등 여러 산업분야에 이용되며, 국내의 이분야 산업체에서는 단백질의 산가수분해물을 이용하고 있는 실정이다. 단백질을 산으로 가수분해할 경우 tryptophan과 같은 필수아미노산과 cysteine이 분해 소실되며¹⁾ 알칼리로 분해할 경우는 lysinoalanine

[N ε-DL-(2-amino-2-carboxyethyl)-L-lysine]과 같은 독성 물질이 생성되어 안전성 문제가 대두되고 있다²⁾. 따라서 단백질의 효소적 가수분해에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다³⁻⁶⁾. 일반적으로 단백질을 효소로 가수분해시킨 가수분해물은 분해과정에서 생긴 저분자 펩티드와 쓴맛을 내는 아미노산 때문에 쓴맛이 강하여 이용상 제약을 받고 있다⁷⁾. 젤라틴은 그 구성아미노산 조성중 감칠맛과 단맛을 내는 glutamic acid, glycine, proline 및 hydroxyproline 함량이 매우 높아 가수분해물 자체는 쓴맛이 없다⁸⁾.

[†]To whom all correspondence should be addressed

우리나라 수산가공공장에서 연간 약 30만톤의 어피(魚皮)가 폐기되고 있는 실정이나 이에 관한 효율적인 이용에 대한 연구는 충분히 이루어 지지 않고 있다⁹⁾. 어피는 콜라겐 단백질이 80%이상 함유되어 있으며, 이를 열수추출법으로 쉽게 젤라틴으로 추출할 수 있다.

본 연구는 어피의 효율적인 이용에 관한 일련의 연구로서 전보¹⁰⁾에서 확립된 방법에 의하여 얻어진 젤라틴으로 산업적으로 유용한 어피 젤라틴 가수분해물을 얻고자 착수하였으며, 그리고 알칼리 및 Alcalase로서 전처리하여 추출한 각 젤라틴에 대하여 가수분해물의 제조를 위한 조건을 비교 구명하였으며, 그 물리적 성질과 분자량 및 아미노산 조성에 대하여도 분석 검토하였다.

재료 및 방법

재료

부산시 서구 남부민동 소재 대림수산(주)에서 가자미(*Limanda aspera*) 피(皮)를 구입하여 전보¹⁰⁾의 방법에 따라 알칼리 전처리법(B-type)과 효소 전처리법(E-type)으로 각각 젤라틴을 제조하여 -10°C의 냉장고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

최적 가수분해효소의 선정

가자미피 젤라틴의 가수분해를 위한 효소선정은 다음과 같이 각 효소에 대한 가수분해도를 측정 비교하여 결정하였다. 각 효소의 가수분해 최적조건 하에서 1%(w/w) 기질 용액을 가수분해시 일정시간 마다 2ml씩 취하여 20% 삼염화아세트산(TCA) 2ml가 들어 있는 시험관에 넣어 효소를 불활성화시킨 후 원심분리(1,500×g, 10min)하여 상층액의 가용성 질소를 micro-Kjeldahl법으로 정량하여 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{가수분해도}(\%) = (\text{가용성질소} / \text{총질소}) \times 100$$

이때 가용성 질소는 10% TCA용액에 침전되지 않은 질소로 하였다.

실험에 사용된 효소는 Alcalase 0.6L(s.g.=1.25, NOVO Ind., Copenhagen/Denmark Batch No. PMN 0106 88-9), pepsin(800~2,500 units/mg solid, Sigma Co., No. P-7125), molsin(0.3 units/mg solid, Sigma Co., No. P-2143) 및 trypsin(10,000 BAEE units/mg solid, Sigma Co., No. T-8003) 이었다.

젤라틴의 가수분해조건

효소에 의한 가자미피 젤라틴의 가수분해조건 실험은 Fig. 1에 나타난 pH자동조절기(Cole-Parmer Instrumental Co., pH controller Model 5652-50)가 연결된 반응기에 2%의 기질용액을 넣고 효소를 가하여 pH자동조절기로 pH를 일정하게 유지하면서 반응온도, pH, 반응시간 및 효소농도를 각각 변화시키면서 가수분해하였다. 이때의 가수분해도는 위에서 언급한 방법으로 측정하여 최적 가수분해조건을 결정하였다.

가수분해물의 조제

반응기에 B-type과 E-type 젤라틴을 각각 0.1kg씩을 넣고 증류수 4.9L를 가하여 교반하면서 가수분해 최적조건에 따라 가수분해시킨 다음, 100°C에서 10분간 가열하여 효소를 불활성화시켰다. 상층액의 유리지방을 제거하기 위하여 여지(Whatman No.1)로 여과한 후 동결건조(DURA-DRY corrosion resistant freezer-dryer, F. T. S. System Inc.)하여 5°C에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

가수분해물의 일반성분 분석 및 물성 측정

일반성분 : 상법에 따라 수분은 상압건조법, 조지방은 Soxhlet법, 회분은 건식회화법 그리고 조단백질은 semi-microKjeldahl법으로 측정하였다.

등전점 : 등전점 측정은 Hayashi 등¹¹⁾의 이온교환방법에 의해 다음과 같이 측정하였다. Amberlite IRA-400 음이온 수지(Fluka 회사제) 20ml와 IR-120Plus 양이온 수지(Fluka 회사제) 10ml를 1% 가수분해물 용액 100ml에 첨가하여 20분간 교반시켰다. 이 혼합용액을

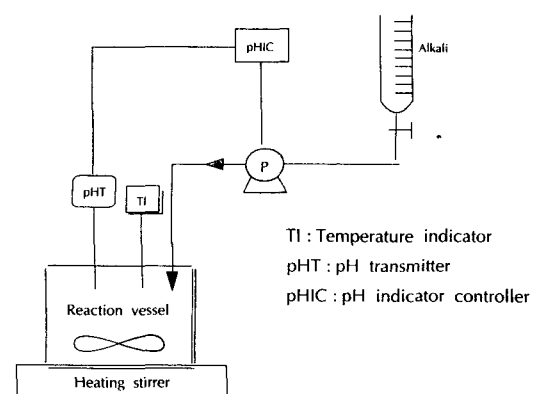


Fig. 1. Schematic diagram of batch reactor system.

원심분리 (3,000×g, 5min) 하여 수지를 제거한 다음 상층액의 pH를 측정하여 등전점으로 하였다.

점도 : 점도는 농도, pH 및 온도를 변화시키면서 측정하였다. 즉, 가수분해물의 농도를 1~10%까지 변화시킨 용액을 2시간 방치한 후, 20°C에서 측정하였으며, 또한 1% 가수분해물을 1N HCl과 1N NaOH로 pH 3.0~11.0까지 조정하여 2시간 방치한 후 pH 변화에 따른 점도를 측정하였다. 그리고 1% 가수분해물을 20°C~80°C까지 변화시키면서 각 온도에서 측정하였다. 이때의 점도는 Ostwald viscometer로 물과 비교하여 아래 식에 따라 상대점도로 나타내었다.

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{d_1 t_1}{d_2 t_2} \quad (\eta : \text{점도}, d : \text{밀도}, t : \text{낙하시간})$$

전기전도도 측정 : 전기전도도 측정은 Shimada 등¹²⁾의 방법에 따라 각각의 시료를 탈이온수에 녹여서 1%수용액 50ml를 만들어 20°C에서 30분간 방치한 후 Conductivity meter (Metrohm Ltd.)로 측정하였다. 전기전도도를 구하는 식은 κ (mho/cm) = (1/R) × (L/S)이다. 여기서 R은 저항(Ω), S는 도체의 단면적(cm²) 그리고 L은 도체간의 길이(cm)이다.

분자량 측정

SDS-PAGE 전기영동법 : Laemmli¹³⁾의 방법에 따라 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 다음과 같이 측정하였다. Separating gel과 stacking gel 농도를 각각 15%와 5%로 조제하여 stacking gel은 15mA, separating gel은 30mA의 전류를 통전시킨 후 염색액 (Coomassie brilliant blue-R : 메탄올 : 빙초산 : 물 = 1.0g : 450ml : 100ml : 450ml)에 담구어 1시간 동안 염색시키고, 탈색액 (메탄올 : 빙초산 : 물 = 100ml : 100ml : 800ml)에 넣어 band가 선명해질 때까지 탈색시켜 marker protein과 비교하여 분자량을 측정하였다. Marker protein은 bovine serum albumin (M.W. = 66kDa), carbonic anhydrase (M.W. = 29kDa), cytochrome C (M.W. = 12.4kDa) 및 insulin (M.W. = 5.7kDa)을 사용하였다.

Gel 여과법 : Gel 여과는 Heck¹⁴⁾와 Vega¹⁵⁾의 방법에 따라 동결건조한 가수분해물 0.05g을 1ml의 0.05M potassium phosphate buffer (pH 8.0)에 용해시킨 후 동일한 buffer로 평형화된 Sephadex G-50 column (0.9 × 60cm)으로 여과하였으며, 용리액의 단백질 흡광도는 분광광도계 (PYE UNICAM PU 8600 UV/VIS Model

8610)를 사용하여 280nm에서 흡광도를 측정하였다. 분자량 측정에 사용된 표준물질은 bovine serum albumin (M.W. = 66kDa), carbonic anhydrase (M.W. = 29kDa), cytochrome C (M.W. = 12.4kDa) 및 insulin (M.W. = 5.7kDa)이었으며, 각 표준물질 1mg씩을 각각 1ml의 0.05M potassium phosphate buffer에 용해시킨 후 gel 여과하여 용리된 용리액은 위와 같은 방법으로 측정하였다. 분자량 측정용 표준곡선은 Andrew¹⁶⁾의 방법에 따라 작성하였다.

아미노산 분석

동결건조한 가자미피 (皮) 가수분해물의 아미노산 조성 분석은 시료 50mg을 정평하여 ampoule에 넣고 6N HCl로 산가수분해하여 아미노산 자동분석기 (日本 Hitachi Co.)로 분석하였으며, hydroxyproline 함량은 Edwards와 O'Brien¹⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

효소 선별

가자미피 (皮) 젤라틴에 대한 각종 단백질 분해효소의 활성을 비교 검토하기 위해 가수분해도를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에 나타난 바와 같이

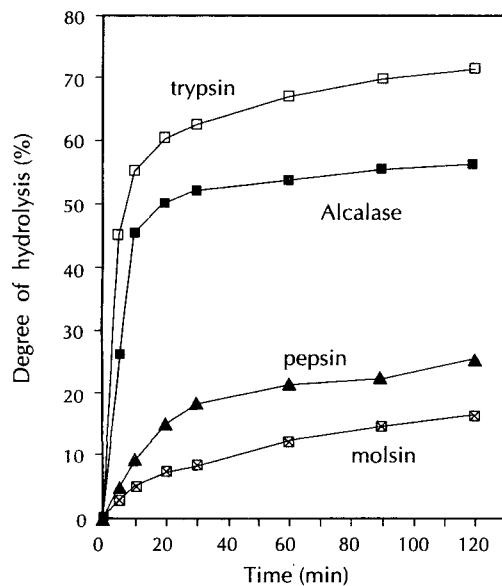


Fig. 2. Comparison of the proteolytic activity of Alcalase, trypsin, pepsin and molsin.

trypsin이 다른 단백질 분해효소보다 분해율이 높은 것으로 나타나 trypsin을 젤라틴 분해효소로 선정하였다. 김 등¹⁸⁾은 pH-drop법을 이용한 1% 대구피 용액에 대한 collagenase, trypsin, pronase, collagenase/trypsin, collagenase/pronase의 활성을 비교한 결과 collagenase를 가하고 5분후에 pronase를 가하였을 때 활성이 가장 좋다고 보고하였고, Bhumiratana 등¹⁹⁾은 trypsin이 어육단백질농축물(FPC)에 대해 chymotrypsin이나 pappain보다 더 높은 반응성을 가진다고 보고한 바 있다.

최적 가수분해 조건

반응온도 : 기질농도를 2%로 하여 pH 8.0으로 조절하고 trypsin을 E/S(w/w)=0.003 되도록 가하여 각 온도별로 1시간 동안 가수분해시킨 결과는 Fig. 3과 같다. 온도가 상승함에 따라 B-type과 E-type 젤라틴 모두 55°C에서 분해율이 최고값을 나타내었으나, 60°C에서는 분해율이 현저하게 떨어졌는데 이같은 결과는 열에 의한 효소의 불활성화에 기인된 것으로 생각된다. Bhumiratana 등¹⁹⁾은 FPC에 대해 trypsin을 E/S(w/w)=0.001되도록 가하고 pH를 8.0으로 조절하여 온도변화에 따라 가수분해시킨 결과 50°C 부근이 최적 온도라고 보고하였고, Edward 등²⁰⁾은 녹엽단백질농축물(LPC)을 trypsin으로 47°C에서 4시간 가수분해시킨 결과 가수분해율이 97%이었다고 보고한 바 있다. E-type

젤라틴의 가수분해도가 B-type의 그것에 비해 온도 변화에 관계없이 약 16%정도 높았다.

반응액의 pH : 농도 2%의 기질 용액에 trypsin을 E/S(w/w)=0.003되도록 가하고 반응온도를 앞의 결과에 따라 55°C로 하여 pH를 달리하면서 1시간 동안 가수분해도를 측정 한 결과는 Fig. 4와 같다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 B-type과 E-type 젤라틴은 pH증가에 따라 가수분해도가 완만히 증가하다가 pH 9.0에서 최대값을 나타내었고, 그 이상의 pH에서는 가수분해율이 오히려 감소하는 경향을 나타내었다. 이같은 결과는 Bhumiratana 등¹⁹⁾이 trypsin으로 5% FPC를 가수분해시킬 때 최적 pH가 9.0이라는 결과와 일치하였다. 김 등¹⁸⁾은 대구피를 pronase로 가수분해시킬 때 pH 6.0에서 가수분해도가 가장 높았으나 pH 9.0 이상에서는 가수분해도가 현저히 감소하였다고 보고하였으며, Fujii와 Kobayashi²¹⁾는 hide collagen을 pronase로 가용화시킬 때 pH 6.0에서 가장 높은 수율을 나타내었고, Gildberg와 Raa²²⁾는 Capelin (*Mallotus villosus*) 피(皮)를 소화효소로 가용화시킬 때 pH4.0에서 가수분해도가 가장 높았다고 보고한 바 있다. 최적 pH에서 E-type 젤라틴의 가수분해도는 81%로서 B-type의 그것에 비해 약 18%정도 높았다.

반응시간 : 기질용액 2%에 trypsin을 E/S(w/w)=0.003되도록 가하고 앞의 결과에 따라 반응온도는 55°C와 pH는 9.0으로 하여 반응시간을 달리하면서 가

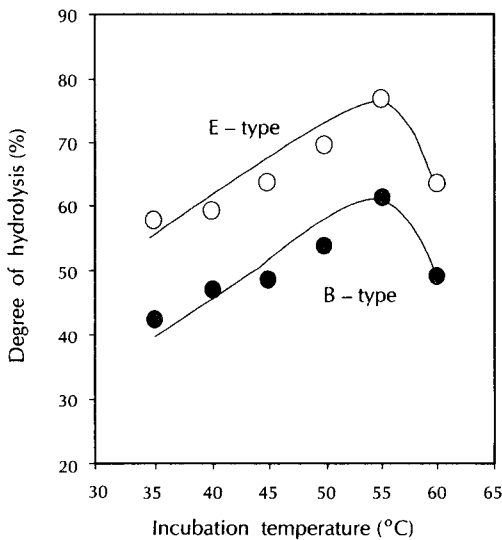


Fig. 3. Effects of incubation temperature on the hydrolysis of E-and B-type gelatin with 0.3% of trypsin for 1hr at pH 8.

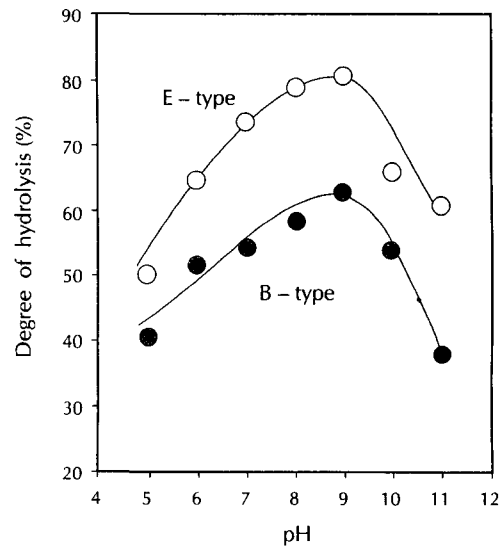


Fig. 4. Effects of pH on the hydrolysis of E-and B-type gelatin with 0.3% of trypsin for 1hr at 55°C.

수분해도를 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. Fig. 5에 나타난 바와 같이 E-type 젤라틴의 경우 가수분해할 때 1시간까지 가수분해도는 급격히 증가하다가 그 이상 반응시간이 증가하여도 분해도는 큰 변화가 없었으나 B-type 젤라틴은 반응시간 1시간까지 급격히 증가하다가 반응시간 4시간까지 가수분해도는 완만히 증가하는 경향을 나타내었다. 최적 반응시간은 B-type과 E-type 젤라틴을 각각 4시간과 1시간으로 하였다. 김 등¹⁸⁾은 4% 대구피 용액에 0.03% pronase를 가하고 50°C에서 반응시간을 변화시켜 가수분해도를 측정된 결과 반응시간 1시간까지는 가수분해도가 비교적 급격히 증가하다가 반응시간 3시간까지 약간 증가를 보였다고 하였고, Bhumiratana 등¹⁹⁾은 5% FPC 기질용액에 E/S (w/w)=0.001되도록 trypsin을 가해 40°C에서 반응시간에 대한 분해율을 보면 1시간까지는 급격히 증가하다가 그 이후에서는 계속적으로 완만히 증가하였다고 하였다.

효소농도 : 기질용액 2%에 반응온도, 반응시간 및 pH는 앞의 결과에 따라 최적 조건으로 하고 효소농도만을 달리하였을 때의 가수분해도를 Fig. 6에 나타내었다. 효소농도가 E/S(w/w)=0.001까지는 급격히 증가하다가 그 이상의 농도에서는 완만히 증가하여 0.1%를 최적 효소농도로 선정하였다. 김 등¹⁸⁾은 pronase로 대구피를 가수분해시킬 때 0.03%에서 가수분해도가 78.8%였으나 대구피를 collagenase로 1시간 가수분해

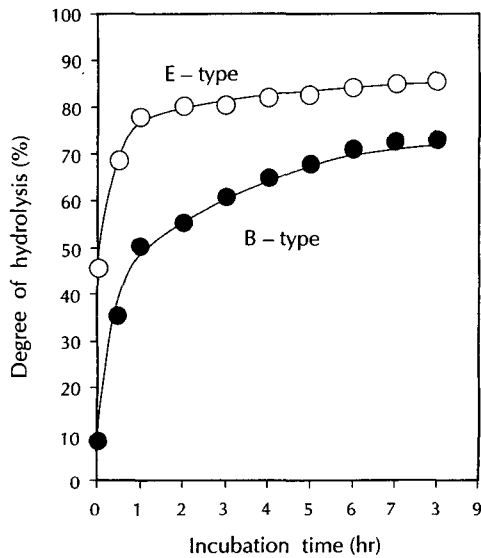


Fig. 5. Effects of incubation time on the hydrolysis of E-and B-type gelatin with 0.3% of trypsin at 55°C and pH 9.

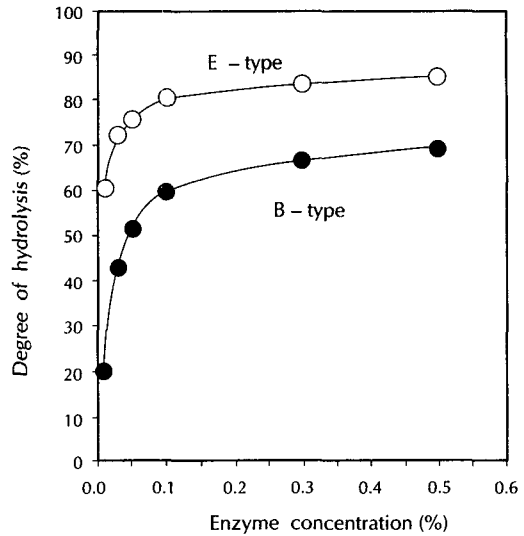


Fig. 6. Effects of enzyme concentration on the hydrolysis of E-and B-type gelatin with trypsin for 1hr and 4hrs at 55°C and pH 9, respectively.

후 pronase로 처리한 경우 가수분해도는 90.83%이었다고 보고하였고, Fujii와 Kobayashi²¹⁾는 2% pronase로 hide collagen을 40시간 가수분해한 결과 88%가 분해되었다고 보고한 바 있다.

이상의 결과로 미루어 보아 trypsin의 가자미피 젤라틴에 대한 최적 가수분해조건은 B-type과 E-type 젤라틴 모두 온도 55°C, pH 9.0 및 효소농도 E/S(w/w)=0.001로 같았으나 반응시간만 E-type 젤라틴이 1시간으로 B-type 젤라틴의 4시간에 비해 훨씬 분해시간이 짧았으며 최적 조건하에서 B-type 및 E-type 젤라틴의 가수분해도는 각각 63%와 82%이었다.

가수분해물의 일반성분 및 물리적 성질

가자미피 (皮) 젤라틴 가수분해물의 일반성분, 등전점 그리고 전기전도도는 Table 1 과 같다. 조단백질 함량은 B-type과 E-type이 각각 93.1%와 94.3%로 원료인 젤라틴의 단백질 함량과 거의 같았으나 회분 함량은 원료인 젤라틴에 비해 가수분해물에서 5배 이상 증가를 보였는데 이같은 결과는 가수분해시킬 때 NaOH로 pH를 조절하였기 때문에 염의 증가에 기인된다고 판단된다.

가수분해물의 등전점은 B-type과 E-type이 각각 pH 5.30와 pH 5.27로 측정되었는데 이는 알칼리로 처리하여 얻은 젤라틴의 등전점이 대개 pH 4.7~5.0인 범위

Table 1. Proximate composition and physical properties of gelatin hydrolysates

Gelatin hydrolysate	Proximate composition (%)				Electronic conductivity ($\mu\text{mho/cm}$)	Isoelectric point (pH)
	Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash		
B-type	2.1 (5.0)*	93.1 (94.3)	0.2 (0.6)	2.3 (0.4)	352.8 (2.1)	5.30 (4.95)
E-type	2.8 (4.5)	94.3 (94.6)	0.5 (1.1)	2.2 (0.4)	268.8 (57.1)	5.27 (5.38)

* : Numbers in the parentheses are the data of flounder skin gelatin

²³⁾와는 다소 차이가 있는 것으로 나타났으며, 전기전도도는 B-type과 E-type이 각각 352.8 $\mu\text{mho/cm}$ 와 268.8 $\mu\text{mho/cm}$ 로 시판 젤라틴의 193.2 $\mu\text{mho/cm}$ 보다 높았는데 이같은 결과는 효소의 작용으로 인하여 이온 함량이 증가되었기 때문이라 생각된다.

가자미피 (皮) 젤라틴 가수분해물의 점도는 Table 2에 나타내었다. Table 2에서와 같이 B-type 및 E-type 젤라틴 가수분해물 모두 농도가 높아짐에 따라 점도가 증가하였으며 B-type의 점도가 E-type에 비해 약간 높았다. 온도의 경우는 B-type 및 E-type 젤라틴 가수분해물 모두 온도가 높아짐에 따라 점도는 감소하였으나 B-type과 E-type 간에는 점도 차이가 있었다. 각 type에서 pH 변화에 따른 점도 변화는 거의 없었다. Kim과

Lee²⁴⁾는 말취치육 단백질의 효소적 가수분해물을 이용한 plastein 합성물의 농도가 증가함에 따라 점도가 증가한다고 보고하였고, Kim과 Jeon²⁵⁾은 효소적 수식에 의한 가자미피 젤라틴의 pH 변화에 따른 점도 차이는 거의 없다고 보고한 바 있다. Hayashi 등¹¹⁾은 아미드화된 젤라틴은 높은 등전점을 가지며 이 젤라틴으로 만들어진 겔은 높은 점도와 낮은 겔 강도를 가진다고 보고한 바 있다.

분자량 측정

Fig. 7에서와 같이 B-type 젤라틴 가수분해물의 분자량이 6.5~25kDa으로 널리 분포되어 있지만, E-type의 경우는 분자량이 6~20kDa으로 분포되어 있는 것을 알 수 있었다. 보다 정확한 분포를 알기 위해 gel 여과법으로 분자량을 확인한 결과 (Fig. 8), SDS-PAGE 전기영동법과 같이 넓게 분포되어 있었고 B-type의 경우 분자량 15kDa이 주종을 이루고 있었고 E-type의 경우는 분자량이 12.4kDa이 주종을 이루고 있었고 유리아미노산은 존재하지 않는 것으로 확인되었다. 이처럼 E-type 젤라틴 가수분해물이 B-type의 그것보다 분자량이 낮은 것은 전처리 과정에 사용된 Alcalase가 어피를 분해시켜 분자량을 감소시킨 것으로 생각된다. Weiss²⁶⁾는 pepsin에 의한 젤라틴 가수분해물의 분자량은 69, 21kDa 였다고 보고하였고 김 등¹⁸⁾은 대구피를 collagenase로 가수분해시킨 가수분해물의 분자량은 10~20 kDa 범위였고 pronase로 처리한 것은 15kDa 정도가 주종을 이루었으나 collagenase로 1시간 분해후 pronase로 다시 3시간 분해시킨 것은 7~10kDa 범위였다고 보고한 바 있다. 이와 같이 효소에 의한 젤라틴 분해물의 분자량이 비교적 큰 것은 젤라틴 중에는 Gly-Gly, Gly-Pro 사슬이 많고, 이들 사슬의 절단이 곤란하기 때문에 casein이나 gluten처럼 분해율을 높일 수 없었다²⁷⁾. 그러나 젤라틴을 복합효소로 처리한다면 아미노산

Table 2. Comparison of viscosity in the hydrolysates of the alkali (B-type) and Alcalase (E-type) pretreated flounder skin gelatin

Gelatin hydrolysate	Concentration (%)					
	1	2	4	6	8	10
B-type	0.98*	1.05	1.14	1.29	1.54	1.81
E-type	0.97	1.01	1.07	1.17	1.31	1.65

Gelatin hydrolysate	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)						
	20	30	40	50	60	70	80
B-type	0.96	0.75	0.68	0.50	0.42	0.36	0.33
E-type	0.95	0.82	0.60	0.51	0.42	0.35	0.34

Gelatin hydrolysate	pH				
	3	5	7	9	11
B-type	1.03	1.05	1.03	1.03	1.02
E-type	0.99	1.00	1.00	0.99	1.00

* Viscosity cp

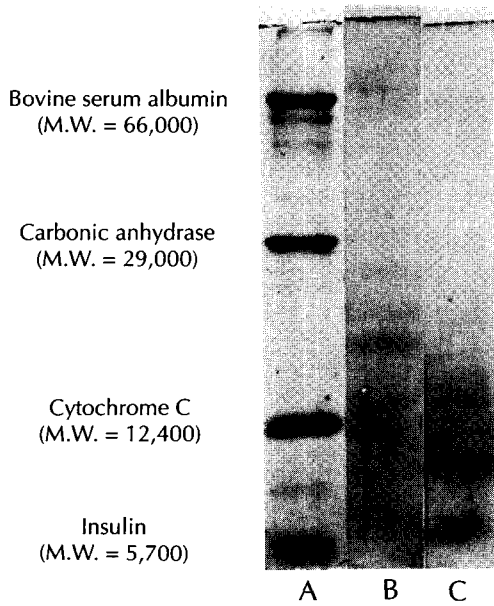


Fig. 7. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) for hydrolysate of flounder skin gelatin (pH 8.3, 15mA for 12hrs, 15% polyacrylamide gel).
 A : Marker protein
 B : B-type gelatin hydrolysate
 C : E-type gelatin hydrolysate

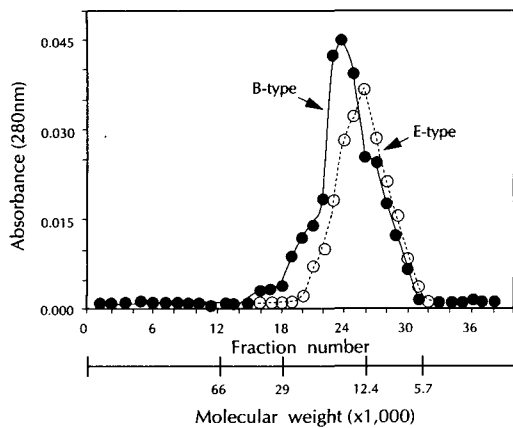


Fig. 8. Gel filtration of hydrolysate flounder skin gelatin on a Sephadex G-50 column (2 × 90cm).
 (eluent : 0.05M potassium phosphate buffer (pH 8.0), flow rate : 30ml/hr, fraction volume : 10ml).

수준으로 분해가 가능할 것으로 보아 이에 관한 연구가 이루어져야 할 것으로 본다.

아미노산 분석

가자미피(皮) 젤라틴 가수분해물의 아미노산 조성은 Table 3과 같다. B-type 젤라틴 가수분해물의 아미노산 조성은 E-type의 그것과는 거의 차이가 없었으며 glycine, alanine, proline, hydroxyproline, serine 등 단맛을 내는 아미노산 함량이 전체 아미노산의 57%를 차지하였다. Glutamic acid(10.10%)와 aspartic acid(6.32%)는 감칠맛과 신맛을 갖는 아미노산이며 쓴맛을 내는 valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, methionine, arginine, histidine 등의 함량은 전체 아미노산에 대해 18%에 불과하였다. 특히 쓴맛을 내는 arginine은 감칠맛 아미노산 : 단맛 아미노산 : 쓴맛 아미노산의 비가 2 : 2 : 1로 될때 오히려 좋은 맛의 느낌을 갖게 해준다고 한다²⁸⁾. 佐伯²⁹⁾은 젤라틴을 아미노산 수준까지 분해시킨 가수분해물은 단맛을 내는 아미노산들이 전체 아미노산의 50% 이상을 차지하고 있어 단맛이 있고, 변질하기 쉬운 아미노산으로서 쓴맛, 악취를 생성하기 쉬운 methionine과 cystine이 매우 적으며 쓴맛과 갈변하기 쉬운 tyrosine이 아주 적다고 보고하였으며 山本 등³⁰⁾은 콜라겐 또는 젤라틴과 탈지 대두를 혼합하여 protease로 분해시키면 맛이 좋은 조미료를 제조할 수 있다고 하였고, 千畑 등³¹⁾은 콜라겐 가수분해물(M. W.=1~2.5kDa)을 사라다유, 리놀렌산 및 리놀산에 첨가하였을 때 강한 항산화력을 나타내었다고 보고한 바 있다.

요 약

어류가공시 부산물로 얻어지는 어피를 효율적으로 천연조미료로 이용하기 위한 기초 자료를 얻기 위해 가자미피로부터 알칼리 전처리법(B-type)과 효소 전처리법(E-type)으로 젤라틴을 추출하여 trypsin으로 가수분해할 때 가수분해조건과 그 가수분해물의 물성, 분자량 및 아미노산 조성을 비교 검토하였다. 젤라틴 가수분해물의 제조를 위한 가수분해 조건은 B-type과 E-type 젤라틴 모두 반응온도 55°C, pH9.0 및 효소농도 E/S(w/w)=0.001이었고, 반응시간은 B-type은 4시간, E-type은 1시간이었다. 최적 가수분해조건하에서 B-type 및 E-type 젤라틴의 가수분해도는 각각 63%와 82%였다. 가수분해물의 등전점은 B-type과 E-type이 각각 pH 5.30와 pH 5.27이었고, 전기전도도는 각각 352.8μmho/cm와 268.8μmho/cm로 시판 젤라틴의

Table 3. Amino acid composition of gelatin hydrolysates

Amino acid	B-type gelatin hydrolysate		E-type gelatin hydrolysate	
	Weight (g-A.A/100g)	(Residues/1000 residues)	Weight (g-A.A/100g)	(Residues/1000 residues)
Hydroxyproline	7.29 (8.10)*	59.93 (66.54)	7.48 (7.81)	61.44 (64.35)
Aspartic acid	6.32 (6.28)	51.26 (50.84)	6.46 (6.37)	52.23 (51.73)
Threonine	2.47 (2.50)	22.37 (22.57)	2.58 (2.60)	23.34 (23.62)
Serine	5.91 (6.38)	60.70 (64.77)	6.32 (6.24)	64.70 (64.17)
Glutamic acid	10.10 (10.05)	74.04 (73.56)	9.64 (10.07)	70.50 (74.00)
Glycine	24.96 (24.71)	385.34 (354.57)	24.54 (24.43)	351.92 (351.70)
Alanine	9.72 (9.61)	117.72 (116.22)	9.88 (9.53)	119.36 (115.69)
Cysteine	0.46 (0.47)	2.07 (4.15)	0.46 (0.43)	4.09 (1.95)
Valine	2.06 (1.93)	18.97 (17.70)	2.01 (2.06)	18.43 (18.95)
Methionine	2.08 (1.83)	15.01 (13.43)	1.97 (1.84)	14.23 (13.33)
Isoleucine	1.13 (1.03)	9.25 (8.46)	1.13 (1.12)	9.32 (9.23)
Leucine	2.41 (2.37)	19.80 (19.45)	2.37 (2.52)	19.46 (20.76)
Tyrosine	0.41 (0.43)	2.46 (2.56)	0.34 (0.34)	2.02 (2.03)
Phenylalanine	2.17 (2.16)	14.16 (14.05)	2.01 (2.15)	13.10 (14.08)
Lysine	4.04 (3.92)	29.80 (28.86)	4.19 (4.20)	30.85 (31.01)
Histidine	0.72 (0.73)	4.97 (5.04)	0.69 (0.73)	4.81 (5.05)
Arginine	8.54 (8.46)	52.86 (52.33)	8.62 (8.39)	53.26 (52.02)
Proline	9.21 (9.08)	86.30 (84.89)	9.30 (9.19)	86.96 (86.32)

* : Numbers in the parentheses are data of gelatins

193.2 μ mho/cm보다 높았다. 점도는 농도와 온도에 따라서는 다소 변화가 있었으나 pH의 변화에는 크게 영향을 받지 않았다. 분자량은 B-type이 6.5~25kDa으로 분포되어 있고 15kDa이 주종을 이루고 있었으나 E-type의 경우는 분자량이 6~20kDa이며 12.4kDa이 주종을 이루고 있었다. 아미노산 조성은 B-type과 E-type 간에 거의 차이가 없었으며 단맛을 내는 glycine, alanine, proline, hydroxyproline, serine 등이 전체아미노산의 57%를 차지하였으며 쓴맛을 내는 valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, methionine, arginine, histidine 등의 함량은 전체아미노산에 대해 18%에 불과하였다.

문 헌

- Kinsella, J. E. and Shetty, K. J. : Chemical modification for improving functional properties of plant and yeast proteins. In functionality and protein structure. A Survey CRC Critical Rev. Food Sci. Nutr., 7, 219 (1979)
- Deng, Q. Y., Barefoot, R. R., Divsady, L. L., Rubin, L. J. and Tzeng, Y. M.: Lysinoalanine concentrations in rape seed protein meals and isolates. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 23, 140(1990)
- Mackie, I. M. : General review of fish protein hydrolysates. Animal Feed Sci. Technol., 7, 113(1982)
- Qrskov, E. R., Soliman, H. S. and Clark, C. F. S. : Use of fish protein hydrolysate in milk replaces. Animal Feed Sci. Technol., 7, 135(1982)
- Nielsen, S. S. : Degradation of bean protein by endogenous and exogenous protease. Association of cereal chemists, 65(1988)
- Hardwick, J. E. and Glatz, C. E. : Enzymatic hydrolysis of corn gluten meal. J. Agric. Food Chem., 37, 1188(1989)
- 김세권, 이용호 : 정어리 분말 단백질의 효소적 수식. 한국농화학회지, 30, 234(1987)
- 김세권, 이용호, 강옥주, 권철성 : 魚貝類의 調理, 加工과 collagen. 냉동공조공학, 5, 5(1986)
- 韓國水産會 : 水産年鑑. 進明社, 서울, p.424(1990)
- Kang, T. J., Jeon, Y. J., Kim, S. K. and Song, D. J. : Investigation of pretreatment method for gelatin preparation from flounder skin. Bull. Korean Fish. Soc., 25, 투고중 (1992)
- Hayashi, R., Kawamura, Y., Ohtsuka, T. and Itoh,

- N. : Preparation of amidated gelatin and their physicochemical properties. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2213 (1990)
12. Shimada, A., Yamamoto, I., Sase, H., Yamazaki, Y., Watanabe, M. and Arai, S. : Surface properties of enzymatically modified proteins in aqueous systems. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2681(1984)
 13. Laemmli, U. K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* (London), **227**, 680(1970)
 14. Heck, N. E. : Characterization of fish protein hydrolysate plastein and the identification of glutamyl-lysine in the plastein material. *Ph. D. Thesis*, University of Washington, p.84(1983)
 15. Vega, R. : Fractionation and concentration of fish protein hydrolysates. *Ph. D. Thesis*, University of Reading, p.44 (1987)
 16. Andrew, P. : Estimation of the molecular weight of proteins by Sephadex gel filtration. *Biochem. J.*, **91**, 222(1964)
 17. Edwards, C. A. and O'Brien, W. D. : Modified assay for determination of hydroxyproline in a tissue hydrolysate. *Clinica Chimica Acta.*, **104**, 161(1980)
 18. 김세권, 양현필, 이용호 : 어피의 효소적 가수분해물을 이용한 천연조미료의 개발. *한국생물공학회지*, **6**, 327(1991)
 19. Bhumiratana, S., Hill, C. G. and Amundson, C. H. : Enzymatic solubilization of fish protein concentrate in membrane reactors. *J. Food Sci.*, **42**, 1016 (1977)
 20. Edward, P. R. and Hill, C. G. : Enzymatic solubilization of leaf protein concentrate in membrane reactors. *J. Food Sci.*, **43**, 385(1978)
 21. Fujii, T. and Kobayashi, K. : The effects of pH borohydride reduction on the solubilization of steer hide collagen by pronase. *J. Biochem.*, **74**, 307(1973)
 22. Gildberg, A. and Raa, J. : Solubility and enzymatic solubilization of muscle and skin of capelin at different pH and temperature. *Biochem. Physiol.*, **63**, 309 (1979)
 23. 식품첨가물 공전. 한국식품공업협회, p.358(1988)
 24. Kim, S. K. and Lee, E. H. : Synthesis and functional properties of plasteins from the enzymatic hydrolysates of filefish protein, 3. Functional properties of plasteins. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **20**, 582(1987)
 25. Kim, S. K. and Jeon, Y. J. : A trial for utilizing flounder skin gelatin as an emulsifier through enzymatic modification. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **24**, 345(1991)
 26. Weiss, J. B. : International review of connective tissue research : Enzymatic degradation of collagen. **7**, 102 (1976)
 27. 丹戸, 秀昭, 福田, 降西田, 洋子 : コラーゲン蛋白質 素材とした美味な天然調味料の開発について. *New Food Industry.*, **18**, 12(1984)
 28. 大 一止, 武恒子 : 各種アミノ酸混合類による旨味液作成. *營養と食糧*, **26**, 146(1973)
 29. 佐伯邦臣 : コラーゲンポリペプチドの食品への新規利用. *フードケミカル*, **2**, 44(1985)
 30. 山本淳, 石田賢吾, 大喜弘 : 調味料の製造法. 特許公報, 55-29659, p.93(1980)
 31. 千畑一郎, 伊藤博, 川島啓助, 福本俊一 : 抗酸化制. 特許公報, 54-340639, p.163(1979)

(1992년 3월 27일 접수)