

수산가공공장폐액의 등전점이동 응집처리에 의한 유용성분재회수이용

2. 회수단백질의 가공식품소재로서의 이용*

서재수 · 조순영* · 손광태** · 김진수*** · 이응호**

고신대학 식품영양학과 · *강릉대학교 식품과학과 · **부산수산대학교 식품공학과 ·

***통영수산전문대학 수산가공과

Recovery and Utilization of Proteins and Lipids from the Washing Wastewater in Marine Manufacture by Isoelectric Point Shifting Precipitation Method

2. Utilization of the Recovered Proteins as the Material of a Processed Food

Jae-Soo SUH, Soon-Yeong CHO*, Kwang-Tae SON**,
Jin-soo KIM*** and Eung-Ho LEE**

Department of Food and Nutrition, Kosin University, Pusan 606-701, Korea

**Department of Food Science, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea*

***Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea*

****Department of Fisheries Processing, Tong-Yeong National Fisheries College,
ChungMu 650-160, Korea*

Mackerel water-soluble protein solution Mackerel meat washing water were concentrated by isoelectric point shifting precipitation process, and the concentrates were utilized as a material for processing of an elastic gel food such as kamaboko. The water-soluble proteins were partly polymerized during the isoelectric point shifting precipitation process. Then, the water soluble protein concentrates were partly substituted for frozen minced Alaska pollack meat in processing of a good quality kamaboko. The maximum substitution percentage for good quality kamaboko manufacturing was concluded to be below 30%, according to the criteria of color difference, jelly strength and folding tests using the substituted recovered protein concentrates.

본 논문은 1991년도 한국과학재단의 특정기초연구과제 연구비지원(연구과제번호 91-0700-14)에 의한 연구결과의 일부임.

서 론

냉동 고기풀이나 fish block 제조과정중의 수세액 중에는 다량의 수용성 단백질(근형질단백질)이 포함되어 있다. 그러나, 수세액은 가공폐수로서 처리되기 때문에 이 단백질은 이용되지 않고 그대로 폐기되고 있는 실정이다. 수산가공공장폐액의 해양의 COD, BOD값에 대한 각 성분의 기여율은 단백질 56%(이중 수용성 단백질 70%), 지질 44%이었다는 仁木 등(1985)의 보고도 있다. 종래에는 근형질단백질이 어묵이나 어육소세지의 탄력저해 요인으로 여겨졌으나, 최근 森岡 와 志水(1990)의 보고에 의하면 어묵 탄력형성의 주성분으로 알려진 근원섬유만으로 만든 기존 어묵보다는 근형질단백질 첨가어묵쪽이 오히려 탄력이 더 증진되어 주목받고 있다. 이러한 차이가 난 이유는 종래의 수용성 단백질내에는 순수한 수용성 단백질이외의 혈액이나 지방, protease 등 보다 더 어묵형성저해요소가 되는 물질들(Lee and Lanier, 1992)이 공존해 있었기 때문이라고 생각된다. 또한 수용성 단백질은 전체 어류 단백질중 약 20~50% 정도를 차지할 정도로 많은 함량이 포함되어 있는 주 구성성분의 하나이기도 하며 고기풀 제조시 4~5회의 수세로 어육전 단백질중 30~45%가 용출되는데 이중 약 55%가 제1회 수세에서 용출되었다(仁木 등, 1985)고 한다. 한편으로, 최근 수산가공업계의 원료수급문제는 매우 심각한 지경에 있다. 그러므로 기존 수산물의 이용 극대화 차원에서 폐기 어육 수용성단백질의 회수 이용은 환경오염방지 및 식량자원극대화란 양 측면에서도 큰 의미가 있다.

본 연구에서는 고등어육 냉동고기풀 제조를 실험실 규모로 했을 때 나오는 다량의 폐액에 대해 전보(서 등, 1994)의 방법으로 처리하여 회수한 수용성 단백질의 식품소재화 가능성 타진을 목적으로 본 회수 수용성단백질을 어묵제조용 주원료 내지는 부원료로서 어느정도 대체 사용 가능한 지를 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재 료

선도 양호한 고등어, *Scomber japonicus*(체장 35~38cm, 체중 448~525g)를 1992년 9월과 10월에 걸쳐 부산 공동어시장에서 구입하여 사용하였다.

2. 방 법

1) 고등어육 수세폐액의 조제 및 그 폐액중의 잔존 수용성 단백질의 회수방법

실험실 규모로 전보(서 등, 1994)와 같이 고등어 수세폐액을 대량 조제하여 전보(서 등, 1994)와 같은 폐수처리장치로써 그 폐액중의 수용성 단백질을 회수하였다.

2) 회수율의 측정 및 단백질 변성정도의 측정
수세폐액내 수용성 단백질의 회수율은 아래와 같은 식으로 결정하였다.

$$\left(1 - \frac{\text{회수하고 난후 수세 폐액중에 함유되어 있는 단백질의 함량}}{\text{수세 폐액중에 함유되어 있는 단백질의 함량}}\right) \times 100$$

한편, 단백질 변성 정도는 SDS-PAGE 전기영동에 의한 회수전 수용성 단백질에 대한 회수 수용성 단백질의 중합율로써 판정하였다. 즉, Laemmli(1970)의 방법에 따라, acrylamide(44.4%) 3.4ml, pH 8.8의 Tris-HCl(1.5M) 3.75ml, SDS(10.0%) 0.15ml 및 재증류수 7.6ml의 혼합용액에 ammonium persulfate(0.1%)와 TEMED 0.015ml를 가하여 조제한 10.0% 분리용 겔을 slab겔용 유리판에 충전하고 그 상부에 isopropyl alcohol을 조금 가한 후 실온에서 30분간 방치하여 고분자를 중합시켰다. 이어서 pH 8.8의 Tris-HCl(0.5M)을 이용하여 조제한 농축용 겔을 분리용 겔의 상부에 충전하여 1시간동안 방치하여 고분자를 중합시켰다. 그리고, sample buffer(2% SDS, 2% 2-mecaptoethanol, pH 6.8의 20 mM Tris-HCl, 40% glycerol, 4mM EDTA 및 0.001% bromophenol blue)와 동량으로 시료를 혼합하여 100℃의 끓는 물에 1분간 가열하여 단백질양이 50 µg이 되도록 조제한 시료를 농축용 겔 상부에 충전시킨 다음 30mA의 전류를 4시간 동안 공급하였다. 전기영동이 끝난 겔은 coomassie brilliant blue R-250용액으로 염색한 다음, 초산 : 메탄올 : 물 (1:3:6)의 혼합용액으로 탈색하여 단백질의 band를 확인하였다. 한편 전기영동에 의해 회수한 수용성 단백질의 분자량결정은 marker protein(Sigma제)의 이동한 거리에 대한 각 band의 비로써 비교, 추정하였다.

3) 일반성분의 측정

수분은 상압가열건조법, 조단백질은 Biuret법(梅本, 1966)과 semimicro Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분을 건식회화법, 전당은 Bertrand법으로 측정하였다.

2. 회수단백질의 가공식품소재로서의 이용

4) pH 및 휘발성 염기질소의 측정

pH는 시료 5g을 정칭하여 10배량의 재증류수를 가한 후 Waring blender로써 균질화한 다음 pH meter(Fisher model 630)로 측정하였다. 휘발성 염기 질소는 Conway unit를 사용하는 미량확산법(日本厚生省, 1960)으로 측정하였다.

5) 어묵의 제조

명태 냉동 고기풀은 그 중심온도가 -4°C 전후가 될 때까지 반해동시켜 사용하였다. 이 반해동된 명태냉동고기풀 100g에 대해 본 연구에 의한 회수단백질 농축물을 0, 10, 20, 30%의 비율로 첨가하고, 스톤몰타르에서 5분간 고기갈이한 다음 명태냉동고기풀에 대하여 Table 1에 나타난 바와 같이 식염 2%, 소맥전분 10%, 대두단백 3% 등 기타 부원료들을 첨가해가면서 25분간 고기갈이를 하였다. 고기갈이를 마친 육혼합물을 Kurehalon® casing($\phi 3.2\text{cm}$)에 150g정도씩 넣어 밀봉하여, 40°C 에서 30분간 자연응고시키고 90°C 열탕에서 40분간 가열하였으며, 그후 흐르는 수돗물로 냉각한 다음 다시 90°C 열탕에 10분간 담궈 포장지의 주름퍼기를 행하였다. 이렇게 제조된 어묵을 5°C 의 냉장고내에서 24시간 방치한 후 품질평가에 사용하였다.

Table 1. The mixing ratio for preparation of frozen meat paste

Additives	Mixing ratio(%)
Recovered water-soluble protein concentrates	0, 10, 20, 30
NaCl	2
Polyphosphate	0.2
Mono sodium glutamate	0.1
Suger	2
Corn starch	10
Soybean protein	3
Nutmug powder	0.2
Onion power	0.2

6) 색조의 측정

색조는 직시색차계(日本電色, ND-1001DP)를 사용하여 제품표면의 색조에 대한 L값(명도), a값(적색도), b값(황색도) 및 ΔE 값(갈변도)을 측정하였다.

7) 젤리강도(jelly strength)의 측정

젤리의 강도는 SUN rheometer(SV-406)로 측정하였으며, 측정조건은 Table 2와 같다. 즉, 일정한

규격의 시료($\phi 3.2\text{cm} \times 2.5\text{cm}$)를 직경 5mm의 구형 plunger로써 눌렀을 때 최초로 파단이 일어날 때의 하중(g)과 깊이(cm)를 측정하여 이들을 곱한 값을 젤리의 강도($g \cdot \text{cm}$)로 나타내었다.

Table 2. Conditions for rheometer analysis of gel strength

Instrument	SUN rheometer, model SD-406
Sample size	$\phi 3.2 \times 2.5\text{cm}$
Cross head speed	60mm/min
Chart speed	60mm/min
Weight of load cell	2Kg
Plunger type	Spherical($\phi 5\text{mm}$)

8) 절곡 실험(folding test)

방법에 따라 시료를 3mm의 두께로 잘라 이것을 두겹으로 접었을 때의 파열상태의 정도를 표시하였으며, 다음의 기호로써 나타내었다.

AA: 두겹으로 접어서 절곡 중심부를 압박하여도 균열이 생기지 않을 때

A : 두겹으로 접어서 절곡 중심부에 균열이 생기지 않을 때

B : 두겹으로 접어서 절곡 중심부에 균열이 1/2 생길 때

C : 두겹으로 접어서 절곡 중심부에 균열이 완전히 생길 때

9) Texture의 측정

시료를 일정한 크기로 절단하여 Instron texturometer(Model 1140)로 가압하여 얻어진 force-deformation 곡선으로부터 몇가지 parameter를 측정하였다. 경도(hardness)는 Bourne의 방법에 따라 시료를 정해진 가압율까지 가압하여 얻어진 제1가압 곡선의 최고점의 높이(Kg)로 나타내었으며, 질감성(toughness)은 정해진 가압율까지 가압하는 데 대한 단위부피당 일로 계산하는데(Breene, 1975), 본 실험에서는 시료의 크기가 일정하므로 제 1변형곡선의 면적으로 나타내었다. 응집력(cohesiveness)은 Kapsalis *et al.*(1970)의 방법에 따라 제 1변형곡선 면적에 대한 제 2변형 곡선의 면적비로 계산하였다. Instron texturometer의 측정조건은 Table 3과 같다.

Table 3. Conditions for texture analysis using the Instron texturometer

Sample size	φ 3.2cm × 2.5cm
Deformation rate	80%
Cross head speed	2cm/min
Number of bite	2
Weight of load cell	20Kg, 50Kg
Chart speed	10cm/min

결과 및 고찰

1. 신등전점응집폐수처리법에 의해 회수된 단백질구분의 회수율

실험실규모로 채육한 고등어육의 수세폐액을 전보(서 등, 1994)에서 보고한 수산가공공장폐액에 적합하다고 생각되는 등전점응집폐수처리장치로써 처리한 후 그 처리전후의 수용성 단백질과 지질의 함량 및 각 성분의 회수율을 Table 4에 나타내었다. 채육한 고등어육의 수세폐액내의 수용성단백질 회수율은 전보(서 등, 1994)에서 살펴본 최적조건결정을 위한 예비실험결과들의 90% 가까이 되는 회수율보다는 다소 낮았는데, 이는 지방층회수를 위해 시도한 표층수 수거시의 제거되는 양이 대량처리시 더 많아져 생긴 결과라 생각되어진다.

Table 4. The protein contents before and after pH shifting treatment of the washing waste water of the chopped mackerel meat washed on a large scale

	Protein
Before treatment	1.74%
After treatment	0.51%
Recovery percentage	70.69%

2. 신등전점응집폐수처리법에 의해 회수된 단백질구분의 일반성분, 휘발성염기질소 및 pH

본 실험에서 사용한 원료 고등어 및 회수한 수용성 단백질의 일반성분, pH 그리고 휘발성염기질소량은 Table 5에 나타내었다. 회수한 수용성 단백질 구분의 수분함량은 80.6% 이었고, 단백질함량은 14.4% 이었다. 또한 일부 제거되지 않은 미량의 지질도 잔존해 있었다. 회수된 수용성단백질구분의 선도 상태는 VBN값이 9.58mg/100g 수준으로 낮아 매우 양호하였는데, 이는 수세과정에서 일부의 휘발성염기질소 성분이 폐액과 함께 제거되어버렸기

때문(조 등, 1984)이라 생각되었다. 산이동법에 의한 단백질 회수후 최종 pH값은 7.35로 나타났다.

Table 5. Proximate composition, pH and volatile basic nitrogen(VBN) contents of raw mackerel and water-soluble protein concentrates recovered from the washing wastewater (%)

Component	Raw mackerel	Recovered soluble protein
Moisture	70.2	80.6
Crude protein	19.5	15.4
Crude lipid	8.1	0.5
Crude ash	1.2	1.5
pH	6.53	7.35
VBN(mg/100g)	17.25	10.71

3. 전기영동에 의한 회수단백질구분의 분자량 및 고분자화 정도 측정

회수된 수용성단백질의 분자량 및 변성정도를 알아보기 위해 SDS-PAGE 전기영동한 결과 Fig. 1과 같이 나타났다. Fig. 1에서 A는 채육한 육을

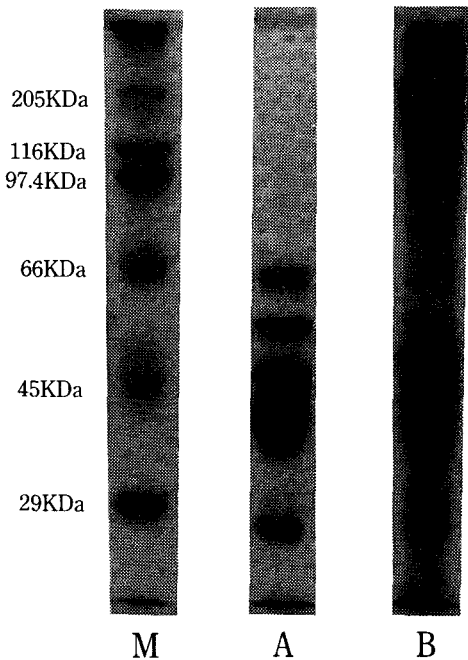


Fig. 1. SDS-polyacrylamide gel electrophoretic patterns of the marker proteins(M), the original water soluble proteins(A), and the recovered water soluble proteins(B).

2. 회수단백질의 가공식품소재로서의 이용

수세하는 공정에서 침지액을 그대로 아무처리도 하지않고 원심분리(3,000rpm)만 행하여 그 상층액을 시료로 한 것이고, B는 전보(서 등, 1994)에 보고한 산이동법에 준해 대량으로 회수된 수용성단백질을 시료로 한 것이다. Marker protein을 대조구로 시료 단백질의 각 subunit에 대한 전기영동 이동거리(X)와 분자량(KDa, Y)과의 상관식 $Y = -11.4282X + 100.8743$ 및 상관계수 $r = 0.9949$ 에 의해 구한 A의 분자량분포는 모두 66KDa이하의 분자량을 가진 6~7개의 subunit를 나타내었고 주요 subunit의 평균분자량은 48.3 및 41.4KDa이었으며, B의 분자량분포는 66KDa이상에서는 상관식 $Y = -99.4486X + 288.7804$ 및 상관계수 $r = 0.9792$ 에 의해 구해본 결과 196.2KDa부근에, 그리고 66KDa이하에서는 상관식 $Y = -11.4282X + 100.8743$ 및 상관계수 $r = 0.9949$ 에 의해 구해본 결과 주요 subunit의 평균 분자량은 50.4, 44.6, 41.6KDa였다. 이처럼 본 실험을 통하여 회수한 수용성단백질에는 일부 근원섬유 단백질들이 함유되어 있는 것으로 판단되어지며, 그와 동시에 등전점과 pH이동에 의한 응집 회수와 정중에 수용성단백질의 중합반응이 일어나 50% 이상이 고분자화되면서 변성이 진행되는 것을 알 수 있다. 따라서 본 회수단백질의 식품소재화를 시도할 때 그 수용성단백질 본래의 탄력을 고스란히 이용하기는 힘들다고 판단되어, 기존 사용 단백질에 어느정도 대체사용가능항가에 초점을 맞추어 제품화해야 하리라 생각된다.

4. 어묵의 제조시 냉동고기풀 대체원료로서 회수 단백질사용

1) 일반성분의 변화

회수한 수용성단백질을 명태 냉동고기풀에 대해 각각 0%, 10%, 20% 및 30%씩 대체 첨가하여 Table 1과 같은 비율로 부원료를 첨가하여 어묵을 제조하였을 때의 일반성분 변화를 Table 6에 나타내었다. 회수 수용성단백질량의 첨가가 증가할수록 어묵제품내의 수분의 함량이 약간 증가하였고, 상대적으로 단백질 함량은 약간 감소하였으나 큰 변화는 없었다.

2) 텍스투어 및 색조의 변화

Table 7에서 알 수 있듯이 제조어묵의 텍스투어에 있어서 경도 및 질감성은 회수한 수용성단백질의 첨가량이 증가할수록 약간씩 감소하였으나, 응집성에는 큰 영향이 없었다. 색조는 수용성단백질의 첨가량이 증가할수록 명도(L값)는 감소하였으나, 황색도(b값)는 증가하는 경향을 나타내었는데,

Table 6. Proximate composition in boiled fish meat paste products prepared with various substitution of recovered water-soluble protein concentrates(R) for frozen Alaska pollack meat paste(A) (%)

	Substitution ratio(R/A)*			
	0/100	10/90	20/80	30/70
Moisture	67.1	68.4	69.5	70.8
Crude protein	24.2	23.8	21.4	20.2
Crude lipid	0.9	1.2	1.0	1.4
Crude ash	3.8	3.6	3.5	3.3
Carbohydrate	4.5	4.2	4.0	3.8

*R/A: Recovered water-soluble proteins/frozen Alaska pollack meat paste

Table 7. Change of qualities in boiled fish meat paste prepared with various substitution ratio of recovered water-soluble protein concentrates (R) for frozen Alaska pollack meat paste(A) (%)

		Substitution ratio(R/A)*			
		0/100	10/90	20/80	30/70
TPA Parameter	H	23.00	18.68	16.45	15.95
	T	86.34	69.84	64.05	61.58
	C	0.56	0.55	0.56	0.55
Folding test	AA	AA	AA	AA	
Jelly strength (g·cm)		889.68	623.57	552.52	408.84
Color Value	L	57.2	51.5	51.1	50.9
	a	-3.2	-2.8	-2.6	-2.4
Value	b	2.7	4.3	6.5	7.1
	ΔE	39.6	45.5	46.0	46.3

*R/A: Recovered water-soluble proteins/frozen Alaska pollack paste

이는 회수된 수용성단백질이 갖는 색조가 영향을 주었기 때문이라 여겨진다.

3) 절곡시험결과 및 젤리강도의 변화

제조어묵의 절곡시험 및 젤리강도를 실험한 결과는 Table 7에 나타내었다. 절곡시험은 회수한 수용성단백질을 30%까지 첨가하였음에도 불구하고 두겹으로 접었을 때 두 겹이 전혀 생기지 않을 정도의 아주 양호한 상태를 나타내었는데, 이로 미루어보아 30%까지 수용성단백질을 어묵등 탄력을 중시하는 제품에 첨가해도 관능적 식감에는 전혀

손상이 없을 것으로 판단된다.

요 약

수산 가공품 제조 공정중 수세 과정에서 필연적으로 나오는 수용성 단백질이 다량 함유된 폐액에 대해 등전점이동응집처리를 행하여 대부분의 수용성 단백질을 회수하였다. 그래서, 본 회수단백질 구분에 대한 등전점응집처리과정중의 단백질 성상 변화 관찰과 동시에 식품가공품의 부 또는 주 원료로서의 이용가능성 타진을 목적으로 냉동 명태 고기풀 대용으로 사용하여 어묵제조를 시도해 보았다. 그결과, 등전점 응집처리과정중에 약 50% 정도 수용성 단백질의 고분자화가 일어나 어묵과 같은 탄력중시 제품에 주원료로서의 사용은 불가능하였다. 그러나, 30%까지 냉동 명태 고기풀에 대해 대체 첨가하여 어묵을 제조했을 때는 색차, 젤리강도 및 조직감 관찰을 통해 관찰된 결과로는 냉동 명태고기풀로만 만든 어묵에 비해서도 전혀 손색이 없는 제품을 만들 수 있음을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

Bourn, M. C. 1978. Texture profile analysis. *Food Tech.*, 32(7), 62~66.

Breene, W. M. 1975. Application of texture profile analysis to instruments food texture evaluation. *J. Text. Studies*, 6, 53~82.

Kapsailis, J. G., J. E. Walker and M. Wolf. 1970. A physicochemical study of the mechanical pro-

perties of low and intermediate moisture food. *J. Text. Studies*, 1, 464~470.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, London. 227, 680.

Lee, C. M. and T. C. Lanier. 1992. *Surimi Technology*. Marcel Dekker Inc., New York. p. 91.

梅本滋. 1966. ビュレット反應による魚肉たん白定量法の改良. *日水誌*, 32(5), 427~435.

鴻巢章二·橋本周久. 1992. *水産利用化學*. 恒星社厚生閣, pp. 48~49.

森岡克司·志水實. 1990. 魚肉のゲル形成に對する筋形質タンパク質の寄與. *日水誌*, 56, 929~933.

日本厚生省編. 1960. *食品衛生指針-I*. 揮發性鹽基窒素. pp. 30~32.

仁木弘·加藤恒夫·出家榮記·五十嵐清一郎. 1985. すり身製造における魚肉水さらし液からのタンパク質の回収とその利用. *日水誌*, 51, 959~964.

서재수·조순영·손광태·조호성·이응호. 1994. 수산가공공장폐액의 등전점침전 및 pH이동처리에 의한 유용성분재회수이용. 1. 고등어육 고기풀 제조시 발생하는 폐액처리 장치개발. *한국생물공학회지*, 10(인쇄중).

조순영·이응호·하재호. 1984. 정어리소시지의 품질개선에 관한 연구. (2) 소시지원료로서의 정어리 냉동고기풀의 가공 및 품질안정성. *한국영양식량학회지*, 13, 143~148.

1994년 3월 8일 접수

1994년 9월 3일 수리