

어피젤라틴의 최적 추출조건 및 그 물성

김 세 권 · 변 희 국 · 이 응 호*

부산수산대학교 화학과, *부산수산대학교 식품공학과
(1994년 3월 23일 접수, 1994년 4월 27일 채택)

Optimum Extraction Conditions of Gelatin from Fish Skins and Its Physical Properties

Se-Kwon Kim, Hee-Guk Byun, and Eung-Ho Lee*

Dept. of Chem., Nat'l Fisheries Univ. of Pusan, Pusan 608-737, Korea

*Dept. of Food Sci. and Tech., Nat'l Fisheries Univ. of Pusan, Pusan 608-737, Korea

(Received March 23, 1994, Accepted April 27, 1994)

요 약 : 수산물 가공공장에서 대량으로 폐기되고 있는 어피를 유용하게 산업적으로 이용하기 위하여 어피로부터 젤라틴 제조를 위한 추출조건에 대하여 검토하였다. 아울러 최적 조건하에서 제조한 어피젤라틴의 물리적 특성, 분자량 및 아미노산 조성 등을 시판 젤라틴의 그것들과 비교 검토하였다. 어피젤라틴의 추출조건은 침지용액인 수산화칼슘농도 1.0~1.5% (w/v), 첨가수량 6~7배, 온도 40~50°C 및 추출시간 5시간이었으며, 이 조건하에서 명태피로부터 추출된 젤라틴의 수율이 대구피 및 각시가자미피로부터 추출한 젤라틴의 수율보다 높았다. 어피젤라틴의 중금속 함량은 시판 젤라틴의 중금속 함량보다 적었으며, 어피젤라틴의 물성면에서 젤리강도, 전기전도도는 시판 젤라틴보다 낮았지만, 점도 및 등전점은 시판 젤라틴보다 높았다. 어피젤라틴의 아미노산 조성 중 glutamic acid, serine, threonine, methionine 및 cysteine의 함량은 돈피 및 우피의 아미노산 함량에 비해 높았지만, proline 및 hydroxyproline의 함량은 낮았고, 그외의 아미노산 함량은 거의 비슷하였다.

Abstract: To effectively utilize fish skin wastes from marine manufactory, the optimal extraction conditions to prepare gelatin from fish skins of Alaska pollack, cod and yellowfin sole were investigated. In addition, the physical properties of the fish skin gelatins prepared under the optimal extraction conditions were compared with the commercial animal skin gelatin. The conditions for extraction of gelatins from fish skins were as follows ; The skins were limed with 1.0~1.5% (w/v) calcium hydroxide solution. The fish skin gelatins were extracted with 6~7 volumes of water (pH 6.0~7.0) for 5hrs at 40~50°C, and the yield of Alaska pollack skin gelatin extracted under the above conditions was higher than those of cod and yellowfin sole skins. The heavy metal contents, jelly strength and electric conductivities of fish skin gelatins were lower than those of a commercial gelatin (bovine skin), but the viscosity and isoelectric point were higher. The amount of amino acid in fish skin, such as gelatin, glutamic acid, serine, threonine, methionine and cysteine, were higher than those in pig and ox skin. However, the contents of hydroxyproline and proline were lower.

1. 서 론

세계의 젤라틴 생산량은 소련, 동구권을 제외하고

연간 13~15만톤 정도이고, 소비량은 미국이 전체 생산량의 35%를 차지하고 있으며, 다음으로 서독, 영국 및 일본 순이었다[1]. 이와 같이 서구 위주의

주의 젤라틴 소비는 예로부터 서구의 경우, 동물성 식품 문화권이기 때문이라 생각된다. 그러나 계과 제빵의 다양화 및 최근 경제성장과 더불어 식생활의 서구화와 젤라틴의 영양적 특성으로 인해 소비자의 구매 패턴이 변화하여 우리 나라를 비롯한 동양권에서도 젤라틴의 사용량이 계속 증가 추세에 있다. 근년 들어 우리 나라의 경우, 젤라틴의 생산량이 소비량을 충족시키지 못하여 1991년 875톤, 1992년에는 1318톤을 수입하고 있어 연간 수입량이 급격히 증가되고 있는 실정이다[2]. 국내의 소비량은 연간 4800톤(1992) 정도이며, 그 중 의약품 60%, 식품용 16%, 공업용 24%로 이용되고 있다[1].

젤라틴은 동물의 뼈나 피부 등을 이루고 있는 섬유상 단백질인 콜라겐을 가열추출하면 아교 또는 젤라틴이 얻어지며 이들은 주로 type I 콜라겐으로부터 제조된다[3]. 현재 각 산업분야에서 많이 이용되고 있는 젤라틴은 주로 육상동물 콜라겐으로 제조된 것이고, 어류의 뼈나 껍질로 제조된 젤라틴, 특히 어교는 잘 사용되고 있지 않다. 그 이유를 예를 들어 보면, 상어피는 우피에 비하여 콜라겐의 함량이 낮고, 불순 단백질도 많으며, proline과 hydroxyproline의 함량이 적어서 내열성이 낮고 겔화력도 약하기 때문이다[4]. 이러한 이유로 인하여 국내에서도 어피를 이용하여 어교의 제조에 관한 연구가 있을 뿐이다[5~7].

우리 나라에서는 수산물의 가공시 부산물로 얻어지는 약 30만톤의 어피가 일부 사료 또는 비료로 이용되거나 대부분 폐기되어 환경오염을 야기시키고 있으므로 보다 효율적인 어피의 이용에 관한 연구가 절실히 요망되고 있는 실정이다. 어피단백질 중 80% 정도 차지하고 있는 콜라겐은 열추출법을 통하여 젤라틴으로 쉽게 추출이 가능하지만, 젤라틴을 추출하기 전에 어피에 함유되어 있는 비콜라겐 단백질과 불순물을 제거하기 위하여 전처리 단계가 필요하다. 이 전처리는 일반적으로 산 처리법과 알칼리 처리법으로 구별되어 있다. 전자는 가교결합이 적은 돼지피에, 후자는 가교결합이 많은 우피에 이용되고 있으며, 전처리과정이 진행되는 동안 가교결합이 파괴되고 펩티드 사슬의 일부가 분해된다[8].

육상동물의 껍질을 전처리하는 방법은 처리기간이 6~20주 정도 소요되지만, 어피의 경우에는 전처리기간이 매우 짧아 젤라틴의 제조기간을 단축시킬 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 우리 나라 수산가공 공장에서 대량 폐기되고 있는 명태피, 대구피 및 각시가자미피로부터 젤라틴을 제조하기 위한 최적 추출조건을 확립하였으며, 아울러 최적조건에서 제조한 젤라틴의 물성도 시판 젤라틴과 비교 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재 료

젤라틴의 품질 개선을 위하여 본 실험에 사용한 명태피(*Theragra chalcogramma*) 및 대구피(*Gadus macrocephalus*)는 마산시 회원구에 소재한 대왕종합식품 주식회사에서, 각시가자미피(*Limanda aspera*)는 부산시 서구에 위치한 대립수산주식회사에서 구입하여, 폴리에틸렌펠름주머니에 넣어 $-35 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 동결고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

2.2. 방 법

2.2.1. 젤라틴의 제조

젤라틴의 제조는 동결된 어피를 해동한 후 헹잡물을 제거할 목적으로 수세하였으며, 피하지방 및 콜라겐 이외의 단백질과 같은 이물질 제거하기 위하여 수산화칼슘 용액에 3일간 침지하였다. 침지한 후 어피를 다시 12시간 수세, 중화 및 재수세하여 최적 침기수량, pH, 추출시간 및 추출온도 조건을 검토하여 그 조건하에서 젤라틴을 추출하였다. 추출된 젤라틴을 원심분리(12,000×g, 20min)한 후 활성탄으로 탈취시켰으며, 이 용액을 양이온 교환수지(Amberlite IRA 200)와 음이온 교환수지(Amberlite IRA 900)로 정제한 다음 열풍건조(40°C에서 2일간)하였다. 실험에 사용한 젤라틴의 제조공정은 Fig. 1과 같다.

2.2.2. 일반성분, 중금속, 휘발성 염기질소의 정량 및 pH 측정

일반성분은 상법에 따라 측정하였다. 즉, 수분은 상압 가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조회분은 건식회화법으로 측정하였다. 중금속 함량은 시료 2g에 황산 10ml를 넣고 가열하여 분해시킨 뒤 질산용액을 백색연기가 날 때까지 첨가한 다음, 그 용액을 50ml로 정용하여 ICP 분광광도계(СПS 1200A Plasmaspectrophotometer S II)로 측정하였다. 휘발성 염기질소는 Conway unit를 사용하는 미량확산법[9]으로 측정하였고, pH

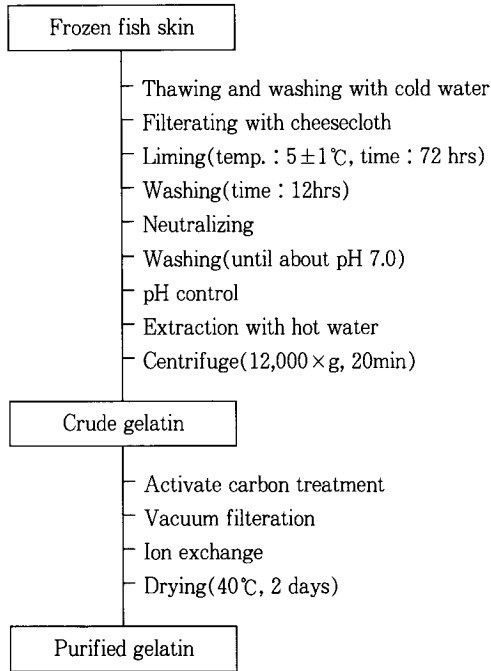


Fig. 1. Procedure for preparation of gelatin from fish skins.

는 시료 5g에 10배의 순수를 가하여 마쇄한 후, pH meter(Fisher model 630)로 측정하였다.

2.2.3. 젤라틴의 물리적 성질 측정

가. 점도 및 젤리강도

점도와 젤리강도는 일본공업규격(JIS) K6503[10]에 따라서 실시하였다. 점도는 10%(w/v) 젤라틴 졸 50ml의 온도를 $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 조절하여 원통형 회전점도계(Brookfield PV-11, Spindle Number 61, rpm 60)로 측정하였다. 젤리강도는 10% 젤라틴 졸 50ml를 조제한 다음, 하루 동안 냉장고($5 \pm 1^\circ\text{C}$)에서 냉각시켜 겔화한 후 직경 4.5cm, 높이 3cm되는 원주형으로 하여 SUN rheometer(CR-17)로 측정하였다. 측정은 직경 5mm인 plunger로써 눌러서 최초로 파단이 일어날 때의 하중(g)과 깊이(cm)를 측정하여 이 둘을 곱한 값을 젤리강도($\text{g} \cdot \text{cm}$)로 나타내었다.

나. 녹는점 및 응고점

녹는점과 응고점의 측정은 일본공업규격(JIS) K8004[11]에 따라 측정하였다. 각 시료 10% 젤라틴 졸 10ml를 시험관(직경; 15mm, 높이; 178mm)에 넣

고, 실온에서 일정시간 정치하여 녹는점 및 응고점을 측정하였다. 녹는점은 10% 젤라틴 용액 10ml를 시험관(직경; 15mm, 높이; 178mm)에 넣고, 5°C 냉장고에서 12시간 동안 방치시켜 겔화시킨 후, 겔에 약 1g 정도의 magnetic stirrer bar를 얹은 후 $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$ 씩 승온시키면서 겔이 녹아서 magnetic stirrer bar가 침전하였을 때의 온도로 하였다. 응고점은 10%(w/v) 젤라틴 용액 10ml를 시험관(직경; 15mm, 높이; 178mm)에 넣고, 예상한 응고점보다 7°C 낮은 온도의 물을 채운 항온수조에 넣어 온도를 조절하면서 졸 전체의 유동성이 없어질 때를 응고점으로 하였다.

다. 등전점

Hayashi 등[12]의 방법에 따라 Amberlite IRA-400 음이온 수지 20ml와 IR-120 Plus 양이온 수지 10ml를 1%(w/v) 시료용액 100ml에 첨가하여 20분간 교반하였다. 이 혼합용액을 원심분리($3,000 \times g$, 5min)하여 수지를 제거한 다음 상층액의 pH를 측정하여 등전점으로 하였다.

라. 탁도 및 전기전도도

일본위생시험법 주해[13]에 따라 kaolin으로 표준 용액을 제조하여 검량선을 작성하고, 시료용액 0.1%를 660nm에서 분광광도계(PYE unicam UV/Vis spectrophotometer, PHILIPS Co.)로 흡광도를 측정 한 후 검량선으로부터 탁도를 계산하였다. 탁도는 1ℓ의 물속에 1mg kaolin을 함유한 것을 말하며, ppm 단위로 나타내었다. 전기전도도는 각각의 시료를 탈이온수에 녹여서 1% 수용액 50ml를 만들어 20°C 에서 30분간 방치한 후 conductivity meter(Metrohm Ltd.)로 측정하였다. 전기전도도, k(mho)를 구하는 식은 $k(\text{mho}/\text{cm}) = (1/R) \times (L/S)$ 이다. 여기서 R은 저항(Ω), S는 도체의 단면적(cm^2) 그리고 L은 도체간의 길이(cm)이다.

2.2.4. 분자량 측정

제조된 어피젤라틴의 분자량 측정은 Weber와 Osborn[14]의 측정방법에 따라 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)를 이용하여 분자량을 측정하였다. 5%의 polyacrylamide gel 농도로 pH 7.0에서 각 시료당 8mA의 전류를 8시간 동안 통전시켰고, 고정액(메탄올:빙초산:물=400ml:70ml:530ml)과 염색액(고정액 500ml 속에 coomassie brilliantblue 1.25g) 및 탈색액(메탄올 50ml와 빙초산

75ml를 1ℓ로 정용)에 차례로 넣어서 marker protein과 비교하여 분자량을 측정하였다. Marker protein은 triosephosphate isomerase(38.8KDa), lactic dehydrogenase(43.7KDa), ovalbumin(55.7KDa), pyruvate kinase(80.4KDa), fructose-6-phosphate kinase(96.4KDa) 및 β -galactosidase(116KDa) 등을 사용하였다.

2. 2. 5. 아미노산 조성 분석

아미노산 조성 분석은 시료 50mg을 정평하여 6N HCl로 산가수분해하여 아미노산 자동분석기(일본 Hitachi Co.)로 분석하였다. 그리고 hydroxyproline 함량은 Edwards와 Obrien[15]의 방법을 다소 수정하여 정량하였다. 즉, 각 시료 50mg을 정평하여 ampoule에 넣고, 6N HCl 5ml를 가하여 진공 밀봉한 다음, 120℃에서 24시간 동안 가수분해시켰다. 이 가수분해물을 여과한 후, 그 여액을 50℃에서 감압, 진공한 다음 citrate buffer(pH 6.0~6.5)로 50ml 정용하였다. 이 용액을 200배 희석하여 2ml 취하고 여기에 chloramine-T(0.05M) 1ml와 aldehydeperchloric acid 1ml를 가하고 60℃에서 15분간 반응시킨 후, 차가운 물에 냉각한 다음 550nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하여 hydroxyproline standard 용액으로 작성된 검량곡선에 의하여 시료 중의 hydroxyproline 함량을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3. 1. 원료어피의 일반 성분, 휘발성 염기질소 및 pH

명태피(Alaska pollack skin, APS), 대구피(cod skin, CS) 및 각시가자미피(yellowfin sloe skin, YSS)의 일반 성분, 휘발성 염기질소 및 pH를 Table 1에 나타내었다. 일반 성분의 경우, 젤라틴의 원조가 되는 콜라겐을 함유한 조단백질 함량은 건물량 기준으로 명태피 87.1%, 대구피 82.0% 및 각시가자미피 84.2%로 명태피가 가장 높았다. 한편 이물질인 조지방 및 조회분의 함량은 각각 건물량 기준으로 8.6~10.2% 및 2.3~8.1%로 가축의 껍질이나 뼈에 비해 그 함량이 낮아서 탈지공정이 필요하지 않으리라 생각된다[16, 17].

어피젤라틴의 품질에 영향을 미치는 선도는 휘발성 염기질소 5.6~9.1mg/100g, pH 6.6~6.9로 미루어 보아 신선했다.

Table 1. Proximate Compositions, Volatile Basic Nitrogen(VBN) and pH of Fish Skins

	Alaska Pollack Skin	Cod Skin	Yellowfin Sole Skin
Moisture(%)	73.6	72.8	72.2
Crude Protein(%)	23.0(87.1)*	22.3(82.0)	23.4(84.2)
Crude Lipid(%)	2.7(10.2)	2.6 (9.6)	2.4 (8.6)
Crude Ash(%)	0.6 (2.3)	2.2 (8.1)	1.8 (6.5)
VBN(mg/100g)	5.6(21.2)	8.2(30.2)	9.1(32.7)
pH	6.6	6.9	6.8

* Numbers in the parentheses show percentage on dry basis.

3. 2. 어피젤라틴의 전처리 및 추출조건

3. 2. 1. 침지용액의 농도

수세한 3종의 어피(명태피, 대구피 및 각시가자미피)를 수산화칼슘 용액의 농도를 달리하면서 3일간 침지한 다음, 12시간 수세 및 탈수과정을 거쳐 pH 7.0인 물을 6배 첨가하여 50℃에서 5시간 동안 추출한 젤라틴의 수율 및 물리적인 성질을 측정된 결과는 Fig. 2 및 Table 2와 같다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이 명태피, 대구피 및 가자미피는 모두 수산화칼슘

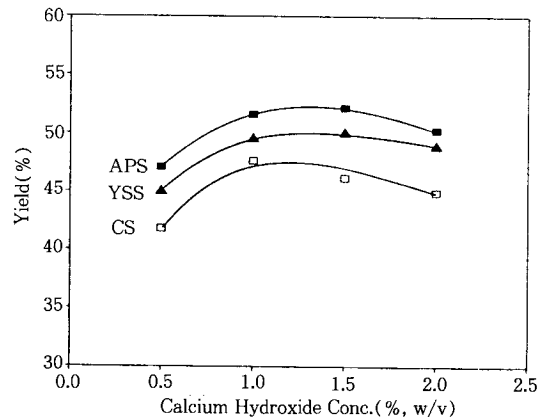


Fig. 2. Influence of liming concentration on the yield of gelatins prepared from fish skins. Fish skins were limed with calcium hydroxide at 5℃ for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated at 50℃ for 5 hours with 6 volumes of water(pH 7.0), and then, the extracted gelatin solution were dried by hot-air(40℃) blast.

Table 2. Influence of Liming Concentration on the Physical Properties of Gelatins* Prepared from Fish Skins

	Calcium Hydroxide Concentration(%m w/v)											
	Alaska Pollack Skin				Cod Skin				Yellowfin Sole Skin			
	0.5	1.0	1.5	2.0	0.5	1.0	1.5	2.0	0.5	1.0	1.5	2.0
Jelly Strength(g · cm)	294.3	298.7	272.2	240.0	239.6	306.4	289.1	253.6	256.3	276.4	301.2	282.9
Melting Point(°C)	15.3	17.1	12.8	11.2	14.0	20.5	16.8	16.4	10.7	13.1	17.4	15.9
Gelling Point(°C)	9.5	11.8	7.9	7.2	8.1	13.3	12.0	10.5	5.7	7.5	12.6	9.7
Viscosity(cps)	21.3	21.9	19.2	13.4	14.7	24.6	22.9	18.2	15.6	20.3	23.5	22.9

* Fish skins were limed with calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated at 50°C for 5 hours with 6 volumes of water(pH 7.0), and then, the extracted gelatin solution were dried by hot-air (40°C) blast and determined in triplicate.

농도 1%(w/v)까지는 수율의 증가를 보였지만, 그 이상에서는 거의 일정하였으며, 대구피의 경우 약간의 감소경향을 보였다. 수산화칼슘 농도 1%(w/v)에서 명태피 대구피 및 가자미피 젤라틴의 수율은 각각 51.6, 47.6 및 49.6%이었다.

물리적인 성질은 Table 2에서와 같이 명태피 및 대구피의 젤리강도는 수산화칼슘 농도 1%(w/v)에서 각각 298.7g · cm 및 306.4g · cm, 각시가자미피의 경우 1.5%(w/v)에서 301.2g · cm로 가장 높았다. 또한 명태피 및 대구피의 녹는점, 응고점 및 점도는 침지용액인 수산화칼슘 용액의 농도가 1%(w/v)에서 가장 높았으나, 각시가자미피는 수산화칼슘 용액의 농도 1.5%(w/v)에서 가장 높았다. 그러나 명태피 및 대구피는 1.0% 이상, 각시가자미피는 1.5% 이상의 수산화칼슘 용액에 침지하면 오히려 물리적 특성이 다소 감소하는 경향이 있었다. 이는 일정농도(명태피 및 대구피 1.0%, 각시가자미피 1.5%)의 알칼리 용액에서는 콜라겐의 순도가 향상되어 저분자화가 거의 일어나지 않으나, 그 이상의 농도에서는 순도가 낮아지면서 저분자화가 일어났기 때문이라 생각된다. 따라서 어피젤라틴의 제조를 위한 수산화칼슘 용액의 침지농도는 명태피 및 대구피는 1.0%, 각시가자미피는 1.5%가 가장 적당하다고 판단된다.

3.2.2. 첨가수량

3종의 원료어피(명태피, 대구피 및 각시가자미피)를 앞의 침지농도에서 결정된 수산화칼슘 용액으로 3일간 전처리한 후 시료 100g에 pH 7.0인 물을 4~9배까지 가하여 50°C에서 5시간 동안 추출한 젤라틴의 수율 및 물성을 측정된 결과는 Fig. 3 및 Table 3과

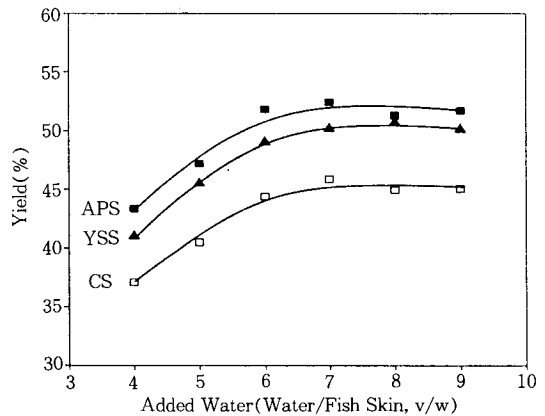


Fig. 3. Influence of water addition on the yield of gelatins prepared from fish skins. Fish skins were limed with 1.0%(w/v) calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated at 50°C for 5 hours with pH 7.0, and then, the extracted gelatin solution were dried by hot-air(40°C) blast.

같다. Fig. 3에서와 같이 첨가수량에 따른 어피젤라틴의 수율은 명태피 및 가자미피는 모두 원료어피에 대하여 6배, 대구피는 7배까지 증가하는 경향을 보였으며, 그 이후에는 거의 일정하였다. 물리적인 성질은 Table 3에 나타낸 바와 같이 명태피 및 가자미피로부터 젤라틴의 추출시, 젤라틴의 수율은 첨가수량 7배보다 6배가 약간 낮았지만, 젤리강도, 녹는점, 응고점 및 점도는 첨가수량 6배에서 가장 높았으며, 첨가수량을 그 이상으로 증가됨에 따라 젤라틴의 물성은 다

Table 3. Influence of Water Addition on the Physical Properties of Gelatins* Prepared from Fish Skins

	Added Water(Water/Fish Skin, v/w)																	
	Alaska Pollack Skin						Cod Skin						Yellowfin Sole Skin					
	4	5	6	7	8	9	4	5	6	7	8	9	4	5	6	7	8	9
Jelly Strength(g · cm)	287.3	300.7	307.5	297.8	291.6	293.5	277.1	288.6	295.4	303.7	299.5	301.3	264.2	289.9	310.5	309.7	301.4	303.4
Melting Point(°C)	15.7	18.7	20.8	16.4	16.0	16.3	13.1	15.9	16.2	17.2	15.2	16.0	11.0	15.9	21.5	21.3	18.3	19.2
Gelling Point(°C)	9.2	12.5	14.9	10.8	10.5	11.0	7.9	10.5	11.5	11.8	10.6	10.8	6.7	11.1	16.7	16.7	14.6	15.1
Viscosity(cps)	22.1	22.9	25.2	23.0	22.7	22.1	20.1	23.6	23.6	24.0	20.3	21.1	19.8	23.6	26.4	25.8	25.2	25.5

* Fish skins were limed with 1.0%(w/v) calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated at 50°C for 5 hours with pH 7.0, and then, the extracted gelatin solution were dried by hot-air(40°C) blast and determined in triplicate.

소 떨어지는 경향이었다. 대구피의 경우는 첨가수량이 원료어피의 7배에서 수율이 가장 높았으며, 이때의 젤리강도 녹는점, 응고점 및 점도도 가장 높았다. 따라서 어피로부터 젤라틴 추출시 최적 첨가수량은 명태피 및 각시가자미피는 6배, 대구피는 7배가 적당하다고 판단되었다.

Brody[18]는 시료량과 같은 양의 물을 가하여 추출하는 것이 좋다고 하였고, 이 등[19]은 명태피 및 말취치피의 피코 제조시 첨가수량 3배 및 5배가 가장 좋다고 보고한 바 있다. 첨가수량의 많은 경우, 건조공정에서 상당한 시간이 소요되어 건조 중 품질이 저하되고, 첨가하는 물의 양이 너무 적을 경우에는 추출한 용액의 농도가 너무 높아 정제과정 중 많은 시간이 소요되어 품질이 떨어질 것으로 생각된다[4].

3.2.3. 추출용액의 pH

3종의 원료어피를 앞의 침지농도에서 결정한 최적 알칼리 농도에서 침지하고 12시간 수세한 후, 앞에서 결정한 첨가수량을 각각 가하여 pH를 4~9까지 변화시켜 온도 50°C에서 5시간 동안 추출한 젤라틴의 수율 및 물리적인 성질을 측정된 결과는 Fig. 4 및 Table 4와 같다. Fig. 4에서와 같이 명태피, 대구피 및 가자미피의 수율은 모두 pH 7.0에서 각각 53.3, 48.3 및 50.3%로 가장 높은 수율을 보였으나, 물리적인 성질은 Table 4에 나타낸 바와 같이 명태피 및 각시가자미피의 경우 pH 6.0에서 가장 좋았다. 대구피의 경우는 pH 7.0에서 수율이 가장 높았으며, 물리적인 성질도 가장 좋았다. 따라서 젤라틴 제조시 명태피 및 각시가자미피의 추출용액의 최적 pH는 6.0, 대구피는 7.0이 적합하다고 생각되었다.

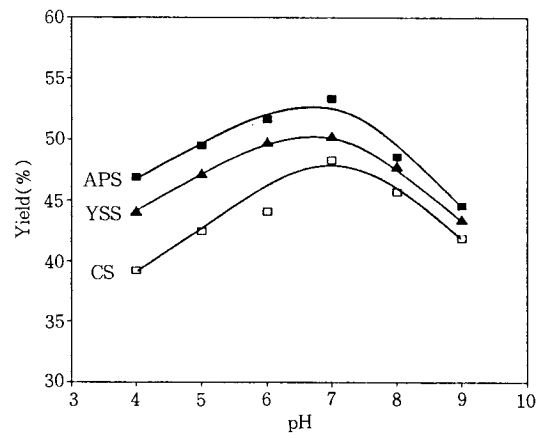


Fig. 4. Influence of pH of solution for the extraction on the yield of gelatins prepared from fish skins. Fish skins were limed with 1.0%(w/v) calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated at 50°C for 5 hours with 6 volumes of water, and finally, the extracted gelatin solution were dried by hot-air(40°C) blast.

이와 같이 3종의 어피 모두 pH 6.0~7.0에서 최대의 수율을 나타내었을 뿐만 아니라 제품의 물리적인 특성도 좋았다. 이상의 결과는 Baier와 Zisman[20]이 젤라틴은 알칼리에 침지할 경우 중성 및 약산성 부근에서 추출된다는 보고와 일치하였다. 한편 白井[21]은 젤라틴은 추출 중 가열로 인해 급속히 저분자화되며, 그 속도는 추출용액의 pH가 중성 부근이 가장 느리고, 산성 및 알칼리에서는 신속히 진행된다

Table 4. Influence of pH of Solution for the Extraction on the Physical Properties of Gelatins* Prepared from Skins

	pH																	
	Alaska Pollack Skin					Cod Skin					Yellowfin Sole Skin							
	4	5	6	7	8	9	4	5	6	7	8	9	4	5	6	7	8	9
Jelly Strength(g · cm)	268.9	283.1	303.4	294.1	292.2	294.5	260.9	268.4	285.3	294.3	287.4	286.5	274.3	290.0	298.7	290.5	287.6	285.6
Melting Point(°C)	11.2	15.4	17.1	16.0	16.0	16.5	10.8	11.0	15.4	16.1	15.6	15.5	13.0	15.9	16.7	15.7	15.6	15.1
Gelling Point(°C)	6.7	10.8	11.8	11.2	10.7	11.6	5.8	6.7	10.8	10.9	10.9	10.5	7.6	11.0	11.3	10.9	10.7	10.5
Viscosity(cps)	20.1	20.9	23.3	22.3	21.8	23.1	17.6	19.5	21.6	22.9	21.9	20.5	20.4	22.2	23.5	22.0	21.7	20.2

* Fish skins were limed with 1.0% (w/v) calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated at 50°C for 5 hours with 6 volumes of water, and then, the extracted gelatin solution were dried by hot-air(40°C) blast and determined in triplicate.

Table 5. Influence of Extraction Temperature on the Physical Properties of Gelatins* Prepared from Fish Skins

	Extraction Temperature(°C)														
	Alaska Pollack Skin					Cod Skin					Yellowfin Sole Skin				
	40	50	60	70	80	40	50	60	70	80	40	50	60	70	80
Jelly Strength(g · cm)	312.1	287.7	260.4	230.8	221.4	293.3	318.9	286.4	279.6	236.5	296.3	283.4	263.5	240.2	231.4
Melting Point(°C)	21.7	15.6	10.9	8.5	7.4	16.2	22.4	15.5	13.4	9.5	15.9	15.5	11.5	9.7	9.0
Gelling Point(°C)	16.8	10.8	6.3	4.5	4.0	11.3	17.4	10.9	8.2	5.1	11.4	10.9	6.7	5.8	5.2
Viscosity(cps)	26.2	21.5	17.5	10.7	9.7	22.6	28.2	23.0	20.9	12.7	24.2	20.7	19.6	13.9	11.7

* Fish skins were limed with 1.0% (w/v) calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated for 5 hours with 6 volumes of water(pH 7.0), and then, the extracted gelatin solution were dried by hot-air(40°C) blast and determined in triplicate.

고 보고하였다.

3.2.4. 추출용액의 온도

원료어피를 수산화칼슘 용액, 첨가수량 및 추출용액의 pH를 앞의 최적 조건으로 하고 추출온도만을 40~80°C로 변화시키면서 5시간 동안 추출한 젤라틴의 수율 및 물리적인 성질을 측정된 결과는 Fig. 5 및 Table 5와 같다. Fig. 5에서와 같이 명태피, 대구피 및 가자미피 젤라틴 모두 수율은 추출온도 60°C까지 증가하다가 그 이후에는 거의 일정한 경향을 보였다. 물리적 성질은 Table 5에 나타난 바와 같이 명태피 및 각시가자미피는 추출온도가 40°C에서 젤리강도, 녹는점, 응고점 및 점도가 가장 좋았으며, 대구피의 경우는 추출온도 50°C에서 이들의 값이 가장 좋았다. 따라서 어피젤라틴 제조시 최적 추출온도는 수율, 물성 및 경제성을 고려해 볼 때 명태피 및 각시가자미피는 40°C, 대구피는 50°C가 적합하다고 생

각된다.

浜田[4]는 상어피의 젤라틴 추출에서 온도가 증가할수록 증가한다고 보고하였으나 Hinterwaldner[8]는 추출온도를 너무 높이면 겔 형성력이 떨어진다고 보고하였고, Johns과 Courts[22]는 50°C 이상에서 어피젤라틴을 추출하면 콜라겐의 조직이 수축되어 helix 구조가 파괴되고 수소결합과 같은 결합력이 붕괴됨으로써 물리적 특성 등이 저하된다고 보고한 바 있다.

3.2.5. 추출시간

3종의 원료어피를 앞에서 결정된 각각의 최적 조건하에서 추출시간만을 3~7시간까지 변화시켜 추출한 젤라틴의 수율 및 물리적인 성질을 측정된 결과는 Fig. 6 및 Table 6과 같다. Fig. 6에서와 같이 명태피의 경우, 젤라틴의 추출시간은 4시간까지, 대구피 및 각시가자미피는 추출시간 5시간까지 수율이 비교적

Table 6. Influence of Extraction Time on the Physical Properties of Gelatins* Prepared from Fish Skins

	Extraction Time(Hours)														
	Alaska Pollack Skin					Cod Skin					Yellowfin Sole Skin				
	3	4	5	6	7	3	4	5	6	7	3	4	5	6	7
Jelly Strength(g · cm)	282.1	297.5	309.8	309.5	276.1	310.2	306.0	290.5	273.2	250.4	309.7	302.5	287.2	267.2	240.8
Melting Point(°C)	15.3	16.4	22.7	21.3	13.2	21.4	17.9	16.1	13.0	9.7	21.4	19.6	15.7	11.1	9.4
Gelling Point(°C)	10.5	10.7	17.6	16.4	7.7	16.5	13.6	11.0	7.7	5.6	16.7	16.9	9.1	6.5	5.7
Viscosity(cps)	21.6	22.5	26.7	25.7	20.8	25.9	24.5	22.4	20.2	15.5	25.6	26.0	22.0	20.2	14.2

* Fish skins were limed with 1.0% (w/v) calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated at 50°C with 6 volumes of water (pH 7.0), and then, the extracted gelatin solution were dried by hot-air (40°C) blast and determined in triplicate.

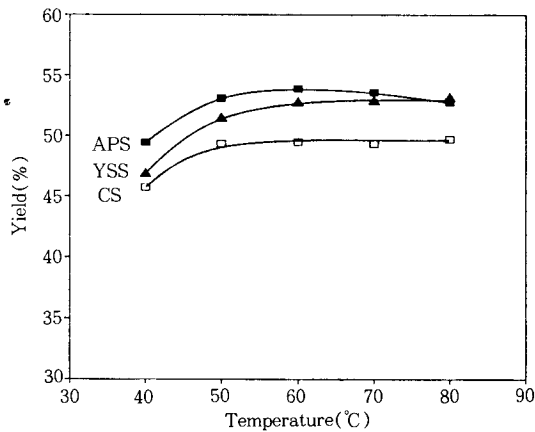


Fig. 5. Influence of extraction temperature on the yield of gelatins prepared from fish skins. Fish skins were limed with 1.0% (w/v) calcium hydroxide at 5°C for 3 days, washed for 12 hours. Limed skins were heated for 5 hours with 6 volumes of water (pH 7.0), and finally, the extracted gelatin solution were dried by hot-air (40°C) blast.

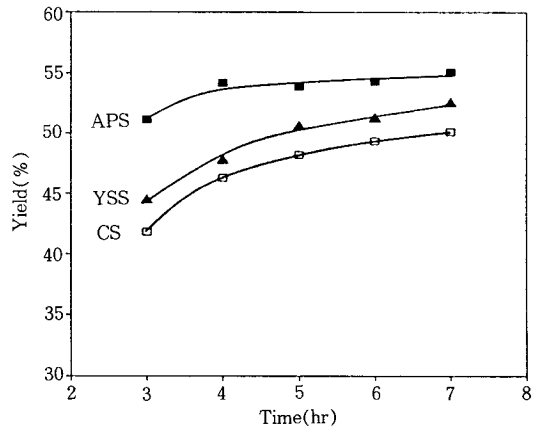


Fig. 6. Influence of extraction time on the yield of gelatins prepared from fish skins.

급격히 증가하였으나 그 이상으로 추출시간이 길어져도 수율의 증가량은 약간 증가하는 경향을 보였다.

물리적인 성질은 Table 6에서와 같이 명태피의 경우, 추출시간 5시간에서 젤리강도(309.8g · cm), 녹는점(22.7°C), 응고점(17.6°C), 점도(26.7°C)가 가장 높았으나, 대구피 및 각시가자미피의 경우는 추출시간 4시간에서 이들 물성이 가장 좋았다. 따라서 명태피, 대구피 및 각시가자미피의 추출시간은 수율 및 물성을 고려하여 명태피는 5시간, 대구피 및 각시가

자미피는 추출시간은 4시간으로 하였다.

이 등[6]은 붕장어피 및 먹장어피로부터 피교 제조시 추출시간은 각각 4시간, 3시간에서 수율이 높았으며, 그 이상의 추출시간에서는 오히려 수율이 감소되는 경향이 있다고 보고한 바 있다.

본 실험에서 추출시간이 길수록 어피젤라틴의 수율은 대체로 증가하는 경향이 있었으나, 물리적 특성은 4시간 내지 5시간 이상일 때는 다소 떨어지는 경향을 보였는데 이것은 젤라틴이 장시간 가열로 인하여 열분해됨으로써 저분자화가 일어났기 때문이라 생각된다.

이상의 결과를 종합하여 어피젤라틴의 최적 추출정제조건은 Table 7에 나타난 바와 같이 명태피는 1.0% (w/v) 수산화칼슘 용액에 3일간 침지한 후 pH 6.0인 물을 6배 가하여 40°C에서 5시간 동안 추출하여 활성탄 및 양이온과 음이온을 거쳐 젤라틴을 제조

Table 7. Optimum Conditions for Pretreatment and Extraction in Gelatin Preparation from Fish Skins

	Alaska Pollack Skin	Cod Skin	Yellowfin Sole Skin
Liming Concentration(%)	1.0	1.0	1.5
Water Ddition(skin/water, w/v)	6	7	6
Extraction Solution pH	6	7	6
Extraction Temperature(°C)	40	50	40
Extraction time(hours)	5	4	4

하는 것이 가장 좋은 조건이었다. 대구피의 경우는 1.0%(w/v) 수산화칼슘 용액에 침지한 후 pH 7.0인 물을 7배 가하여 50°C에서 4시간 동안 추출하는 것이 가장 좋았다. 한편 각시가자미피는 1.5%(w/v) 수산화칼슘 용액에 pH 6.0인 물을 6배 가하여 40°C에서 4시간 동안 추출하는 것이 가장 좋은 최적 조건이라 판단되었다.

3.3. 최적 추출, 정제 조건하에서 제조한 어피젤라틴의 수율 및 물리적 특성

최적 추출정제 조건하에서 제조한 명태피, 대구피 및 각시가자미피 젤라틴의 수율, 젤리강도, 녹는점 응고점 및 점도를 측정된 결과는 Table 8과 같다. 어피젤라틴의 수율은 명태피가 53.9%로, 대구피(46.3%) 및 각시가자미피(47.8%)에 비해 높았다. 한편 어피젤라틴의 물리적 특성 즉 젤리강도, 녹는점, 응고점 및 점도는 명태피가 각각 309.8g·cm, 22.7°C, 17.6°C 및 26.7cps로 대구피(젤리강도 306.0g·cm, 녹는점 17.9°C, 응고점 13.6°C 및 점도 24.5cps) 및 각시가

Table 8. Physical Properties and Yields of Extracted Alaska Pollack, Cod and Yellowfin Sole Skin Gelatin in Optimum Conditions, Respectively

	Alaska Pollack Skin	Cod Skin	Yellowfin Sole Skin
Yield(%)	53.9	46.3	47.8
Jelly Strength(g·cm)	309.8	306.0	302.5
Melting Point(°C)	22.7	17.9	19.6
Gelling Point(°C)	17.6	13.6	16.9
Viscosity(cps)	26.7	24.5	26.0

자미피(젤리강도 302.5g·cm, 녹는점 19.6°C, 응고점 16.9°C 및 점도 26.0°C)보다 다소 높은 값을 나타내었다. 이와 같이 어종간에 젤라틴의 물리적 특성에 약간의 차이가 있는 것은 원료 및 젤라틴의 아미노산 조성 차이와 분자량에 기인한다고 생각된다[16].

이상의 결과에서 나타난 수율 및 물성으로 보아 명태피로부터 젤라틴을 제조하는 것이 가장 좋다고 판단되었다.

3.4. 명태피 젤라틴 및 시판 젤라틴의 일반성분 및 중금속 함량

명태피 젤라틴의 일반 성분 및 중금속 함량은 Table 9와 같다. 단백질 함량은 건조중량 기준으로 99.0%로서 시판 젤라틴(경기 젤라틴 LTD)의 96.5%보다 약간 높았으며, 수분함량은 7.2%로 시판 젤라틴의 11.3%에 비해 낮았다. 지방 및 회분 함량은 시판 젤라틴에 비해 2배 정도 적었다. 중금속 함량 중 망간이 시판 젤라틴에서 87.75ppm으로 가장 많이 검출되었으나 명태피 젤라틴에서는 검출되지 않았다. 그러나 Zn의 경우는 명태피 젤라틴이 2.51ppm으로 시판 젤라틴 1.68ppm에 비해 높았다. Pb의 함량은 명태피의 젤라틴보다 시판 젤라틴에서 그 함량이 훨씬 많았다. 전체적으로 명태피 젤라틴의 중금속 함량에 비해 시판 젤라틴의 중금속 함량이 높았는데 이것은 어피젤라틴의 제조과정 중 양이온 및 음이온 교환수지를 이용한 정제단계에서 제거되었기 때문이라고 생각된다.

3.5. 명태피 젤라틴 및 시판 젤라틴의 물리적 성질

최적 조건하에서 추출한 명태피 젤라틴과 시판 젤라틴의 물리적인 성질을 비교한 결과는 Table 10과 같다. 젤라틴을 찬물에서 30분 정도 팽윤시킨 후, 50~60°C에서 용해시키면 균질한 젤라틴 수용액이 되며[23], 그 수용액은 농도가 충분히 높을 때 또는 낮은 온도에서 gel을 형성하며 유동성을 잃게 되고[24], 이 gel은 다시 온도를 상승시킴으로써 sol로 변화하게 되는데, 이와 같이 온도의 변화에 의해 gel ⇌ sol의 가역적 변화에 대한 측정값을 응고점과 용점으로 표시하였다. 명태피 젤라틴의 응고점과 용점은 각각 17.6°C와 22.7°C로서 시판 젤라틴의 25.2°C 및 29.2°C보다 낮았다.

점도는 명태피 젤라틴이 26.7cps로서 시판 젤라틴의 17.3 cps보다 높았다. 일반적인 젤라틴의 점도범위로서 2.0~7.5cps 정도이다[25]. 젤리강도는 명태

Table 9. Proximate Compositions and Heavy Metal Contents for Alaska Pollack Skin Gelatin and Commercial Gelatin

Product	Proximate Composition(%)				Heavy Metal(ppm)				
	Moisture	Crude Protein	Crude Fat	Ash	Zn	Cd	Pb	Mn	Mg
Commercial Gelatin (Bovine Skin)	11.3	85.9(96.5)	1.8	1.4	1.68	ND*	0.31	87.75	ND
Alaska Pollack Skin Gelatin	7.2	92.4(99.0)	0.8	0.7	2.51	ND	0.06	ND	ND

* Not detected

Numbers in parentheses are dry basis

Table 10. Physical Properties for Alaska Pollack Skin Gelatin and Commercial Gelatin

Item	Commercial Gelatin (Bovine Skin)	Alaska Pollack Skin Gelatin
Gelling Point(°C)	25.7	17.6
Melting Point(°C)	29.2	22.7
Jelly Strength(g · cm)	358.0	309.8
Viscosity(cps)	17.3	26.7
Isoelectric Point	4.53	6.53
Turbidity(ppm)	1.17	7.94
Electric Conductivity (μ mho/cm)	182.2	3.6

피 젤라틴이 309.8g·cm로 시판 젤라틴의 358.0g·cm보다 낮았으며, 등전점은 명태피 젤라틴이 6.53였으나 시판 젤라틴은 4.53였다. 일반적으로 젤라틴의 등전점은 pH 4.7~5.0 범위[26]라고 보고되어 있는데 시판용 젤라틴의 등전점은 이 범위와 일치하였지만, 명태피 젤라틴의 경우는 이 범위를 벗어났다. 탁도는 명태피 젤라틴이 7.94ppm으로서 시판 젤라틴보다 불투명하였으며, 전기전도도는 명태피 젤라틴이 3.6 μ mho/cm보다 낮았는데 이것은 중금속 함유량이 낮기 때문인 것으로 생각된다.

3. 6. 분자량

최적 추출정제 조건하에서 제조된 명태피 젤라틴 및 시판 젤라틴의 분자량은 Fig. 7에 나타낸 바와 같이 대부분 116KDa 이상의 분자량을 가진 것으로 나타났다. 명태피 젤라틴의 주요 획분의 분자량은 140KDa, 210KDa이었으나 시판 젤라틴은 넓게 분포되어 있었으며, 주요 획분의 분자량은 160KDa이었

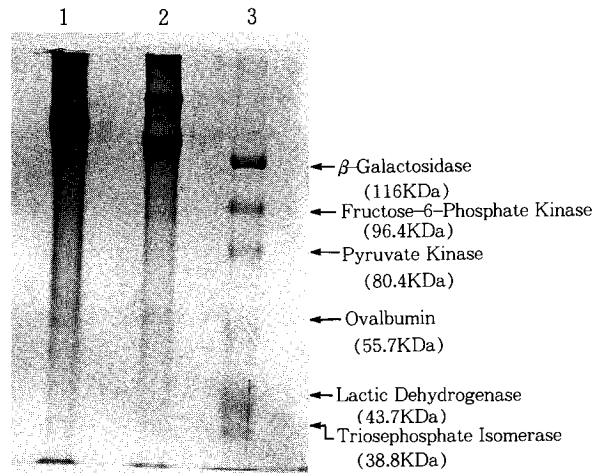


Fig. 7. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis for Alaska pollack skin gelatin and commercial gelatin was carried out at pH 7.0 by 8mA per each sample and in 9.5% concentration of polyacrylamide gel for 6 hours. 1 ; Commercial gelatin, 2 ; Alaska pollack gelatin, 3 ; Marker protein

다. Saha 등[25]은 어류 콜라겐의 분자량은 150KDa으로 대부분 다른 종류의 콜라겐의 분자량 300KDa에 비해 작았다고 보고하였으며, Kinsella[26]는 젤라틴의 분자량은 아주 다양하게 분포되어 있지만, 대개 평균 분자량은 100KDa 부근이라고 보고한 바 있는데 이것에 비하면 명태피 젤라틴은 상당히 큰 것으로 판명되었다.

3. 7. 아미노산 조성

명태피 젤라틴, 돈피 및 우피젤라틴의 아미노산 조

Table 11. Amino Acid Composition of Alaska Pollack, Pig and Ox Skin Gelatins(Residues/1000-Residues)

Amino Acid	Alaska Pollack Skin Gelatin	Pig Skin Gelatin ²⁷⁾	Ox Skin Gelatin ²⁷⁾
Hydroxyproline	34.6	90.7	97.6
Aspartic acid	74.7	45.8	46.0
*Threonine	31.2	17.9	16.9
Serine	46.4	33.1	35.0
Glutamic acid	100.9	72.1	70.7
Glycine	273.2	330.0	333.0
Alanine	114.6	111.7	112.0
Cysteine	20.2	1.6	1.5
*Valine	31.8	25.9	20.1
*Methionine	21.9	3.6	5.5
*Isoleucine	22.5	9.5	12.0
*Leucine	33.6	24.0	23.1
Tyrosine	21.1	2.6	1.5
*Phenylalanine	22.7	13.6	12.3
*Lysine	30.1	26.6	27.8
*Histidine	12.0	4.0	4.5
Arginine	52.1	49.0	46.2
Proline	56.4	131.9	129.0
Essential Amino Acid	205.8(20.6%)	125.1(12.5%)	122.2(12.2%)
Total Amino Acid	1,000.0	1,000.0	1,000.0

* Essential Amino Acid

$$(\%) \frac{\text{Essential Amino Acid}}{\text{Total Amino Acid}} \times 100$$

성은 Table 11에 나타난 바와 같이 glycine, alanine, proline, hydroxyproline, serine 등 단맛을 내는 아미노산 함량이 각각 전체 아미노산의 52.5, 69.7 및 70.7%를 차지하였으며, 쓴맛을 내는 valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, methionine, arginine 및 histidine 등의 함량은 전체 아미노산의 19.5, 12.3 및 11.3%였다. Imino acid(proline와 hydroxyproline) 함량은 명태피 젤라틴이 9.1%로 표피 및 우피 젤라틴의 22.3% 및 22.7%에 비해 훨씬 낮았다. Imino acid는 콜라겐 단백질에만 특이하게 많이 분포되어 있는 것으로서 이것의 함량은 콜라겐의 열안정성과 분자구조, 그리고 콜라겐의 변성온도에 비례하는 것으로 알려져 있다[28]. 또한 浜田 등[4] imino acid의 함량이 낮으면 젤라틴의 겔능이 떨어진다고 보고하였다. Eastoe와 Leach[29]는 척추동물에서 추출한 젤라틴의 hydroxyproline과 proline의 함량비는 대개 1 : 1.25로 일정하다고 보고하였는데 이것은 본 연구결과와 일치하였다. 명태피 젤라틴의 아미노산 조성 중 glutamic acid, serine, threonine, methionine 및 cysteine의 함량은 전체 아미노산의 22.1%로 돈

피 및 우피의 12.8% 및 12.7%에 비해 높은 반면, glycine, proline 및 hydroxyproline의 함량은 36.4%로 돈피 및 우피의 55.2% 및 56.0%에 비해 매우 낮았으며, 그 이외의 아미노산 함량은 거의 비슷하였다. 명태피 젤라틴의 경우 전체 아미노산에 있어서 필수아미노산의 양은 20.6%로 돈피 및 우피 젤라틴의 12.5 및 12.2%보다 1.7배 높아 축육 동물의 젤라틴보다는 어피젤라틴이 영양학적으로 우수하다고 생각된다. 그러나 어피젤라틴은 육상동물의 껍질에서 추출된 젤라틴에 비해 응고점, 융점, 젤리강도 및 탁도 등이 다소 떨어지나 겔화 온도는 낮아 식감이 좋은 장점도 있다. 그러나 겔화력이 약하기 때문에 식품용 젤라틴으로 이용하기에는 부적합하며[4], 이용폭이 좁은 점도 있어 젤라틴의 기능성 개선이 필요하다고 생각된다.

4. 결 론

수산물 가공공장에서 대량으로 폐기되고 있는 어피를 유용하게 산업적으로 이용하기 위하여 명태피, 대

구피 및 각시가자미피를 원료로 하여 어피젤라틴 제조를 위한 최적 추출, 정제 및 가공조건을 검토하였으며, 아울러 최적 조건으로 제조한 어피젤라틴의 물리적 특성, 분자량 및 아미노산 조성은 시판 젤라틴의 그것들과 비교 검토하였다.

1. 명태피, 대구피 및 각시가자미피의 단백질 함량은 건물량 기준으로 각각 87.1%, 82.0% 및 84.2%였으며, 조지방 및 조회분의 함량은 건물량 기준으로 각각 8.6~10.2%, 2.3~8.1% 범위였다.

2. 어피로부터 젤라틴의 최적 추출정제 조건은 원료피를 1.0~1.5% (w/v) 수산화칼슘 용액(5°C)에 3일간 침지하여 12시간 수세한 다음 탈수한 원료피에 대하여 pH 6.0~7.0으로 조절한 증류수를 6~7배 가한 후 40~50°C에서 5시간 동안 추출하고 추출액을 활성탄, 양이온 및 음이온 교환수지를 통과시켜 건조한 제품이 수율 및 품질면에서 가장 좋았다. 최적 조건하에서 추출된 어피젤라틴의 수율은 명태피가 53.9%로 가장 높았다.

3. 어피젤라틴의 단백질 함량은 건조중량 기준으로 99.0%로 시판 젤라틴의 96.5%보다 약간 높았으며, 수분 함량은 7.2%로 시판 젤라틴의 11.3%에 비해 낮았다. 중금속 함량은 전체적으로 어피젤라틴이 시판 젤라틴에 비해 낮았다.

4. 명태피 젤라틴의 젤리강도는 309.8g·cm로 시판 젤라틴의 358.0g·cm에 비해 낮았으나, 점도는 명태피 젤라틴이 26.7cps로서 시판 젤라틴의 17.3cps보다 높았다. 등전점은 명태피 젤라틴 및 시판 젤라틴이 각각 6.53 및 4.53였으며, 전기전도도는 명태피 젤라틴이 시판 젤라틴에 비해 낮았다. 명태피 젤라틴 및 시판 젤라틴의 분자량은 대부분이 116KDa 이상의 분자량을 가진 것으로 나타났으며, 명태피 젤라틴의 주요 분자량은 140KDa 및 210KDa였으며, 시판 젤라틴의 분자량은 160KDa였다.

5. 어피젤라틴의 아미노산 조성 중 glutamic acid, serine, threonine, methionine 및 cysteine은 돈피 및 우피에 비해 그 함량이 높은 반면 glycine, proline 및 hydroxyproline은 그 반대였으며, 그 이외의 아미노산 함량은 거의 비슷하였다. 이와 같이 어피젤라틴은 육상동물의 껍질의 아미노산 조성 차이로 인하여 젤라틴의 물성 차이가 나타나는 것으로 판단된다.

감 사

본 연구는 과학기술처에서 시행한 특정연구개발사

업과제 수행에 의한 연구결과이며, 연구비를 지원해 준 과학기술처에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 김세권, 수산계, **57**(1991).
2. 관세청통계월보, 12보(1993).
3. T. Nishio and R. Hayashi, *J. Food. Sci.*, **52**, 464 (1987).
4. 浜田盛承, 일본수산학회지, **56**, 671(1990).
5. 김기현, 부산대논문집(자연과학편), **14**, 325(1972).
6. 이용호, 김세권, 조덕제, 김진동, 스티버노, 김수현, 한국수산학회지, **11**, 189(1978).
7. 이용호, 하진환, 허우덕, 한국수산학회지, **10**, 1 (1977).
8. R. Hinterwaldner, "The Science and Technology of Gelatin", Ed. A. G. Ward and A. Courts, 564, Academic Press, London, England(1977).
9. A. Veis and J. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 364 (1955).
10. 試藥一般試驗法, 日本工業規格(JIS), K 6503(1970).
11. 試藥一般試驗法, 日本工業規格(JIS), K 8004(1973).
12. R. Hayashi, Y. Kawamura, T. Ohtsuka, and N. Itoh, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2213(1990).
13. 日本衛生試驗法註解, 日本藥學會編, 728(1980).
14. K. Weber and M. Osborn, *J. Biol. Chem.*, **224**, 4406(1967).
15. C. A. Edwards and W. K. O'brien, *Clinica. Chimica. Acta.*, **104**, 161(1980).
16. 松田皓, *New Food Industry*, **23**, 4(1981).
17. 高橋幸資, 鈴木敦, 和田敬三, *日食工誌*, **36**, 538 (1989).
18. J. Brody, *Fishery by Product Technology AV*, **1**, 1(1965).
19. 이용호, 하진환, 허우덕, 한국수산학회지, **10**, 1 (1977).
20. R. E. Baier and W. A. Zisman, "Applied Chemistry at Protein Interface", Ed., R. E. Baier, 155, American Chemical Society(1975).
21. 白井邦郎, *調理科學*, **11**, 23(1978).
22. P. Johns and A. Courts, "The Science and Technology of Gelatin", Ed., A. G. Ward and A. Court, 137, Academic Press, London, England (1977).

23. 渡瀬峰男, 西成勝好, *Nippon Shokahin Kogyo Gakkaishi*, **31**, 777(1984).
24. A. Hayashi and S. C. Oh, *Agric. Bio. Chem.*, **47**, 1711(1983).
25. N. N. Saha, S. Das, A. K. Saha, and S. D. Battacharya, *Proc. Symp. Nucl. Phys. Solid State Phys. Chandigarh, India PtB*, 601(1964)
26. 식품첨가물공진, 한국식품공업협회, 358(1988).
27. J. E. Kinsella, "Food Science and Technology", Ed., J. V. McLoughlin and B. M. McKenna, **5**, 226, Boole Press(1983).
28. 김세권, 이용호, 강옥주, 권철성, 냉동공조공학, **5**, 5(1986).
29. J. E. Eastoe and A. A. Leach, "The Science and Technology of Gelatin", Ed., A. G. Ward and A. Courts, 73, Academic Press, London, England(1977).