

## Succinylation에 의한 봉장어껍질 젤라틴의 기능성 개선

김진수

경상대학교 수산가공학과

**초록 :** 어류껍질 젤라틴의 수식에 의한 유화성 및 유화안정성과 같은 기능성을 개선하여 적색육어류 연제품의 품질개선제로 이용할 목적으로 봉장어껍질 젤라틴의 succinylation을 시도하였다. Succinylation의 정도는 젤라틴에 대하여 첨가하는 succinic anhydride의 비율 0.3까지는 첨가량에 따라 증가하였으나, 그 이상의 농도에서는 거의 변화가 없었다. 유지흡수성, 유화성 및 유화안정성은 무수식 젤라틴이 각각 1.8 ml/g, 55% 및 49%이었고, 수식에 의해 개선되어 succinylation 정도가 89.9%일 때 이들의 값이 각각 5.8 ml/g, 84% 및 78%이었고, 그 이상의 농도에서는 거의 변화가 없거나 서서히 감소하였다. 또한 용해도의 경우 40%, 보수력의 경우 50%, 거품성 및 거품안정성의 경우 0.4 및 0.3정도 개선되었다. 수식 젤라틴은 무수식 젤라틴에 비하여 아미노산조성의 경우 거의 차이가 없었고, 중금속함량은 오히려 낮았다.  
(1996년 4월 17일 접수, 1996년 7월 25일 수리)

### 서 론

### 재료 및 방법

국내 수산가공공장에서 수산식품가공 중 생산되는 어류껍질은 연간 약 15만톤에 이르고 있다.<sup>1)</sup> 어류껍질은 수분을 제외하면 대부분이 콜라겐으로 이루어져 있고, 기타 비콜라겐성 단백질, 지질, 색소 및 회분 등이 일부 함유되어 있다.<sup>2)</sup> 가공 부산물인 어류껍질을 폐기자원이 아닌 식품가공용 소재로 이용하기 위하여는 어류껍질로부터 주성분인 콜라겐 및 이의 유도체인 젤라틴을 적절히 추출하여 이용하는 것이 바람직하다. 일반적으로 가축껍질로부터 추출한 젤라틴은 25~40°C 이상의 온도에서는 졸의 상태이고, 그 이하의 온도에서는 겔의 상태이며, 이 온도대 상하로 변화하면 자유로히 상의 변화가 일어나는 등의 열가역적 졸 및 겔화의 특성을 가지고 있어 여러 가지 식품소재로 이용되고 있을 뿐만 아니라 의약품용 및 사진필름용 등으로도 이용되고 있다.<sup>3)</sup> 가축껍질로부터 추출한 젤라틴과는 달리 어류껍질로부터 추출한 젤라틴은 imino acid의 함량이 적음으로 인해 내열성이 낮아 저품질의 어교에 가깝다. 이로 인해 어류껍질은 일부 만이 사료로 이용되고 있을 뿐이고 대부분이 폐기되어 환경오염을 일으킨다.<sup>4)</sup> 어류껍질로부터 식용과 같은 고품질의 젤라틴을 제조하기 위하여는 종래의 가공방법을 탈피한 새로운 가공방법을 개발하거나 젤라틴의 관능기 수식에 의한 목적에 맞는 특성의 개선이 시도되어야 할 것이다. 본 연구에서는 수산연제품의 품질개선제와 같은 고품질의 젤라틴으로 제조할 목적으로 봉장어 껍질로부터 젤라틴을 추출, 제조한 다음 이의 기능성 개선을 위하여 succinylation을 시도하였고, 아울러 몇가지 기능적 특성에 대하여도 검토하였다.

### 젤라틴의 제조

대조 젤라틴은 전보<sup>5)</sup>와 같이 1% 수산화칼슘 현탁액으로 전처리한 봉장어(*Astroconger myriaster*, 체장: 296~320 cm, 체중: 32~44 g) 껍질에 증류수(5배, w/v)를 가한 후 열처리(50°C, 2시간) 하여 젤라틴을 추출한 다음, 원심분리(16000 x g, 20분) 및 감압여과하고 양이온 및 음이온 수지에 통과시켜 정제하였다. 정제 젤라틴용액을 절반 부피정도로 감압농축한 다음 얇게 퍼서 열풍건조하여 제조하였다. 수식 젤라틴(succinylated gelatin)은 Franzen과 Kinsella의 방법<sup>6)</sup>에 따라 75 mM 인산완충용액(pH 7.5)으로 조제한 5% 대조 봉장어 껍질 젤라틴용액을 교반하면서 젤라틴함량의 30%에 해당하는 succinic anhydride를 분할하여 2시간동안 가하였으며, 반응중 pH는 2M NaOH로 7.0~8.0을 유지하였다. Succinylation 반응의 종료 후 불순물과 과량의 시약을 제거하기 위하여 용액의 pH가 안정된 다음 증류수에서 투석(4°C, 24시간)한 후 동결건조하여 제조하였다. Succinylation 정도는 Kakade와 Liener<sup>7)</sup>의 2,4,6-trinitro-benzene sulfonic acid(TNBS)방법으로 측정하였다. 수식(10 mg) 및 무처리 젤라틴(10 mg)을 각각 cap tube에 넣고 4% 탄산수소나트륨(pH 8.5, 1 ml) 및 1.0% TNBS용액(1 ml)을 각각 가하였다. 이 혼합물을 항온수조(40°C)에서 반응(2시간)시킨 후, 진한염산(3 ml)을 가하여 반응을 정지시켰다. 이어서 cap tube에 마개를 하고 autoclave를 이용하여 가수분해(120°C, 1시간)한 다음 증류수로 정용(10 ml) 및 여과하고 anhydrous diethyl ether(10 ml)로 두번 추출한 후 끓는 물에 방치(5분)하였다. 이렇게 얻어진 용액( $\epsilon$ -DNP-lysine)의 흡광도(346 nm)를 측정후 아실

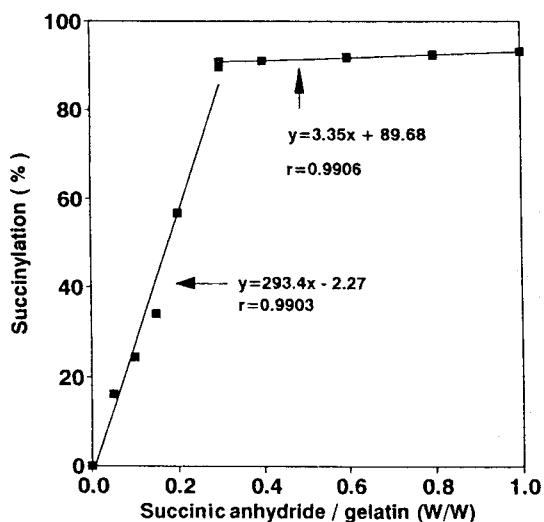


Fig. 1. Extent of succinylation as affected by the amount of succinic anhydride in conger eel skin gelatin

화 정도는 무수식 젤라틴의 흡광도에 대한 무수식 젤라틴의 흡광도와 수식 젤라틴의 흡광도의 차이의 상대 비율(%)로 하였다.

#### 일반성분, 등전점, 아미노산 조성 및 중금속함량의 측정

일반성분은 상법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 조단백질은 semimicro Kjeldahl법, 회분은 건식회화법으로 측정하였다. 등전점은 Hayashi 등<sup>8)</sup>의 방법에 따라 1% 젤라틴용액을 Amberlite IRA-400과 Amberlite IR-120의 혼합물에 가한 다음 교반 및 원심 분리하여 35°C에서 측정된 상층액의 pH로 하였다. 아미노산조성은 hydroxyproline의 경우 Cunningham<sup>9)</sup>의 방법에 따라 비색정량하였으며, 기타 아미노산의 경우 전보<sup>10)</sup>와 같이 전처리하여 Spackman 등<sup>11)</sup>의 방법에 따라 아미노산자동분석기(LKB 4150- $\alpha$ )로 분석하였다. 중금속 함량은 AOAC법<sup>12)</sup>의 습식분해법으로 전처리하여 김<sup>13)</sup>과 같은 조건으로 원자흡광광도계(Varian AA-875)를 이용하여 분석, 정량하였다.

#### 젤라틴의 기능적 특성 측정

젤라틴을 파쇄기 (대우전자 주, KMF-360)로 분쇄한 다음 체(18 mesh)로 걸러 시료 분말로 하였다. 기능적 특성의 측정은 용해도의 경우 Yamashita 등<sup>14)</sup>의 방법에 따라, 보수력 및 지방흡수력은 Lin 등<sup>15)</sup>의 방법에 따라 측정하였고, 유화성 및 유화안정성은 Wang과 Kinsella<sup>16)</sup>의 방법에 따라 측정하였으며, 포말성 및 포말안정성은 Sathe와 Salunkle<sup>17)</sup>의 방법에 따라 측정하였다.

### 결과 및 고찰

#### Succinylation의 정도

Succinic anhydride의 농도 변화에 따른 붕장어 껍질

Table 1. Proximate composition<sup>1)</sup> and isoelectric point<sup>2)</sup> of succinylated gelatin from conger eel skin

	Unmodified gelatin	Succinic anhydride/gelatin (w/w)			
		0.1	0.2	0.3	0.4
Moisture	8.5	8.8	9.2	9.8	9.9
Protein	90.4	89.5	88.6	87.4	86.7
Lipid	0.7	0.8	0.9	1.3	1.4
Ash	0.4	0.6	1.0	1.2	1.3
Isoelectric point	6.3	5.0	4.5	4.3	4.3

<sup>1)</sup>As is basis(%), <sup>2)</sup>pH

젤라틴의 succinylation 정도는 Fig. 1과 같다. 젤라틴에 대하여 첨가하는 succinic anhydride량에 따른 succinylation 정도는 첨가량에 따라 증가하여 0.3에서 89.8%를 나타내었고, 그 이상의 농도에서는 거의 변화가 없었다. 일반적으로 단백질의 succinylation을 위하여 첨가하는 succinic anhydride의 경우 단백질 내의 많은 관능기와 반응을 하지만, 그 중에서도 lysine의  $\epsilon$ -amino group, cysteine의 thiol group 및 tyrosine의 hydroxyl group과는 반응이 용이하나, serine 및 threonine과는 반응이 용이하지 않다.<sup>18)</sup> 붕장어껍질 젤라틴의 아미노산조성 결과<sup>5)</sup>를 보면 다른 아미노산에 비해 상대적으로 낮은 pK와 입체구조로 인해 succinic anhydride와 용이하게 반응하는 lysine은 조성비가 높았으나, cysteine 및 tyrosine은 존재하지 않았거나 흔적량에 불과하여 succinic anhydride에 의한 붕장어껍질 젤라틴의 succinylation은 대부분이 lysine의  $\epsilon$ -amino group과의 반응에 의한 것이라 생각되었다.

#### Succinylation 정도에 따른 일반성분 및 등전점의 변화

Succinic anhydride 첨가농도에 따른 일반성분 및 등전점의 변화는 Table 1과 같다. 수식 젤라틴의 일반성분은 조단백질함량을 제외하면 무수식 젤라틴에 비하여 큰 차이가 없었으나 조단백질함량의 경우 젤라틴에 대한 succinic anhydride의 첨가비율이 0.3으로 될 때까지는 약간씩 감소하였고, 그 이상의 농도에서는 변화가 없었다. 이와같은 결과를 succinylation 정도와 관련하여 유추하여 볼 때 젤라틴에 대한 succinic anhydride의 첨가비율이 0.3으로 될 때까지는 젤라틴의 succinylation에 의해 전체 단백질을 구성하고 있는 질소비율이 낮아 조단백질함량이 낮아졌고, succinic anhydride의 첨가비율이 그 이상으로 되는 경우 succinylation이 거의 완료되어 전체 단백질을 구성하고 있는 질소비율이 변화가 없어 조단백질함량이 일정하였다고 생각되었다.<sup>16)</sup> 등전점은 무수식 젤라틴이 6.28이었고 수식 젤라틴은 succinylation을 위하여 젤라틴에 대하여 첨가하는 succinic anhydride의 비율이 0.3으로 될 때까지는 계속적으로 감소하여 4.30으로 되었고, 그 이상의 비율로 첨가하는 경우 거의 변화가 없었다. 이와같이 succinylation 정도가 증가할수록 등전점이 감소하는 것은 젤라틴 아미노기의

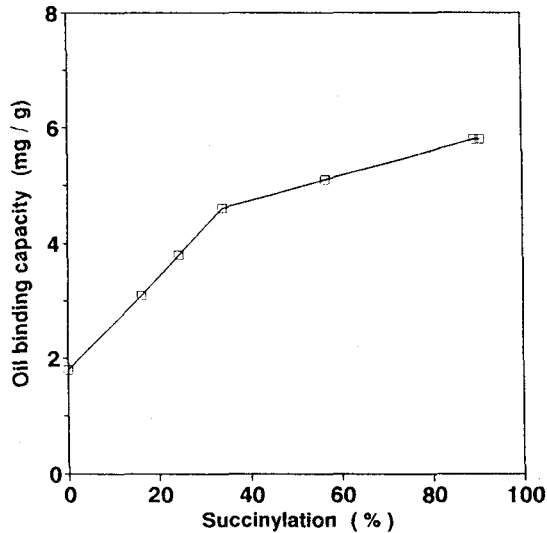


Fig. 2. Effect of succinylation on oil binding capacity of succinylated gelatin from conger eel skin

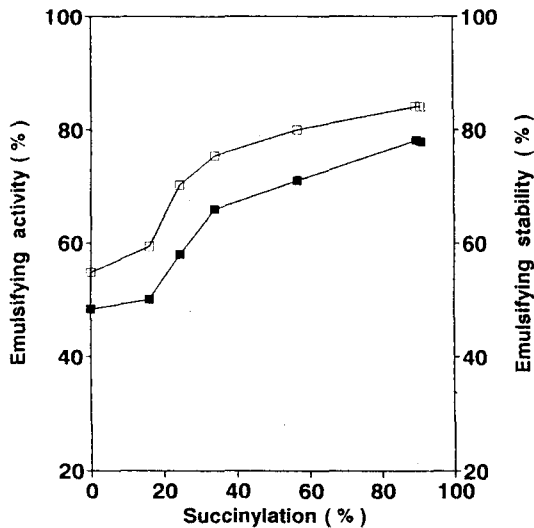


Fig. 3. Effect of succinylation on emulsifying activity (□-□) and emulsifying stability (■-■) of succinylated gelatin from conger eel skin

양전하가 succinylation에 의해 음전하로 되었기 때문이라 생각되었다.<sup>20)</sup>

**Succinylation 정도에 따른 유화특성의 변화**

Succinylation을 위하여 첨가하는 succinic anhydride 농도변화에 따른 붕장어껍질 젤라틴의 유지흡수성은 Fig. 2에, 유화성 및 유화안정성은 Fig. 3에 나타내었다. 유지흡수성은 무수식 어류껍질 젤라틴이 1.8 ml/g 이었고, 젤라틴에 대한 succinic anhydride의 첨가비율이 높아져 succinylation이 진행될수록 증가하여 succinylation 정도가 89.8%로 되었을 때 5.8 ml/g으로 최대로 되었다. 유화성 및 유화안정성도 유지흡수성의 결과와 마찬가지로 무수식 젤라틴이 각각 55.0 및 48.5%이었으나 suc-

Table 2. Functional properties of succinylated gelatin from conger eel skin

	Unmodified gelatin	Succinylated gelatin <sup>1)</sup>
Solubility (%)	56.8	96.7
Water holding capacity (%)	263.0	312.6
Foam expansion	3.25	3.65
Foam stability	2.00	2.28

<sup>1)</sup>Succinylation degree : 89.8%

Table 3. Amino acid composition and heavy metal content of succinylated gelatin from conger eel skin

		Unmodified gelatin	Succinylated gelatin <sup>1)</sup>
Amino acid composition (Residues/1,000 residues)	Hydroxyproline	74	70
	Aspartic acid	47	49
	Threonine	25	28
	Serine	41	38
	Glutamic acid	79	74
	Proline	105	108
	Glycine	339	342
	Alanine	125	127
	Cystein	0	0
	Valine	25	25
	Methionine	11	8
	Isoleucine	16	19
	Leucine	21	22
	Tyrosine	trace	trace
Phenylalanine	15	18	
Lysine	25	15	
Histidine	9	11	
Arginine	43	46	
Heavy metal content(ppm)	Cd	ND <sup>2)</sup>	ND
	Pb	0.15	ND
	Cu	0.89	0.11
	Zn	0.70	ND

<sup>1)</sup>Succinylation degree : 89.8%, <sup>2)</sup>ND : not detected

cinylation 정도가 증가함에 따라 점차 증가하여 succinylation이 89.8%에 이르렀을 때 각각 84.0% 및 78.1%로 거의 정점에 달하였다. 이와같이 succinylation이 일정수준에 도달할 때까지 유지흡수성 및 유화성이 증대하는 것은 젤라틴의 구조를 개질시키고 치환된 succinic anhydride의 친수성 acyl group이 단백질분자와 emulsion의 aqueous phase사이의 상호작용을 증가시켰기 때문이라 생각되었다.<sup>21)</sup> 한편, Eisele와 Brekke<sup>22)</sup>는 소심장으로부터 추출한 근원섬유단백질을 시료로 하여 그리고 Narayana와 Narasinga Rao<sup>23)</sup>는 대두분말을 시료로 하여 아실화 처리한 결과 기능성이 개선되었으나, 그 아실화 정도가 지나치면 유지흡수성, 유화성 및 유화안정성이 결여되었다고 보고한 바 있다. 이상의 결과로 미루어 보아 유화성이 있는 succinylation 처리 젤라틴의 제조를 위한 최적 succinic anhydride의 첨가량은 붕장어껍질에 대한

여 30%이었다.

### 수식 젤라틴의 기타 기능적 특성

유화특성을 고려해 젤라틴에 대하여 30%에 해당하는 succinic anhydride로 succinylation 처리한 봉장어껍질 젤라틴의 유화특성을 제외한 기타 기능적 특성은 Table 2와 같다. 무수식 젤라틴에 비하여 succinylation 처리한 젤라틴은 용해도의 경우 40%정도, 보수력의 경우 50%정도, 거품성의 경우 0.4, 거품안정성의 경우 0.3정도 증가하여 기능성이 개선되었다. 이와같이 succinylation에 의한 기능적 특성의 개선은 무수식 젤라틴의 경우 ammonium기와 carboxyl기 간의 정전기적 인력으로 인해 단백질 간의 상호작용이 강하여 용해도가 낮았으나 succinylation에 의해 lysine의 ammonium 양이온이 succinate 음이온으로 대체되었고, 따라서 치환된 carboxyl기와 이웃하는 원래 존재하는 carboxyl기 간에 정전기적 반발이 일어나 단백질 상호간의 반응은 줄어들었으며, 물과의 반응은 증가되어 용해도가 증가되었기 때문이라 생각되었다.<sup>18)</sup> 이상의 기능적 특성으로 미루어 볼 때 봉장어껍질 젤라틴을 수산연제품의 품질개선제와 같이 기능적 특성을 이용하고자 하는 경우 succinylation에 의해 기능성을 개선하여 이용하는 것이 좋으리라 판단되었다.

### 수식 젤라틴의 아미노산 조성 및 중금속함량

수식 젤라틴의 아미노산조성 및 중금속함량은 Table 3과 같다. 아미노산조성은 수식 젤라틴과 무수식 젤라틴 간에 거의 차이가 없었으며, 단지 lysine의 조성만은 수식 젤라틴이 무수식 젤라틴에 비하여 약간 낮았다. 이와같은 결과는 산가수분해에 의해 lysine의 불완전한 deacylation이 일어났기 때문이라 판단되었다.<sup>28)</sup> 이러한 사실로 미루어 볼 때 약 알칼리의 조건에서 진행되는 숙시닐화 공정 중 아미노산의 파괴는 없었으리라 생각되었다. 한편, Eisele 등<sup>24)</sup>은 소심장으로부터 추출한 근원섬유단백질의 기능성 개선을 위하여 succinylation 처리한 다음 아미노산함량을 검토한 결과 시료의 동결건조로 얻어진 고 흡습성에 의해 실제 분석을 위하여 취해지는 단백질함량이 낮아 총 아미노산함량은 수식 젤라틴이 무수식 젤라틴보다 함량이 낮았으나 그 조성에는 차이가 없었다고 보고한 바 있다. 수식 젤라틴의 중금속함량은 무수식 젤라틴에 비하여 함량이 낮았을 뿐만 아니라 카드뮴, 납 및 아연은 검출되지 않았고, 단지 구리만이 0.11 ppm 정도로 검출되어 식품가공소재로 이용하여도 중금속함량은 문제가 되지 않으리라 판단되었다.

### 감사의 글

이 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 공모과제(신진교수) 연구비에 의하여 연구된 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

1. 한국수산회편 (1993) 수산년감, pp 423-431, 진흥사, 서울
2. 김진수, 김정균, 조순영, 하진환, 이용호 (1993) 젤라틴의 원료로서 가자미류껍질의 성상. 한국농화학회지 **36**, 290-295.
3. 白井邦郎 (1978) 食用ゼラチン. 調理科學, **11**, 23-30.
4. 高橋豊雄, 石野あや子, 田中武夫, 竹井誠, 横山和吉 (1957) 製革原料としてのサメ皮の諸性質について. 東海水研報, No 15, 95-238.
5. Franzen, K. L. and J. E. Kinsella (1976) Functional properties of succinylated and acetylated leaf protein. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 914-919.
6. Kakade, M. L. and I. E. Liener (1969) Determination of available lysine in proteins. *Anal. Biochem.* **27**, 273-280.
7. Hayashi, R., Y. Kawamura, T. Ohtsuka, and N. Itoh (1990) Preparation of amidated gelatins and their physicochemical properties. *Agric. Biol. Chem.* **54**, 2213-2218.
8. Cunningham, L. W. (1982) Determination of 3- and 4-hydroxyproline. In methods in enzymology. vol. 82. Academic Press, New York, pp. 375-380.
9. 김진수, 조순영 (1996) 수식 어류껍질 젤라틴의 원료로서 연근해산 수산물껍질의 검색. 한국농화학회지 **39**, 134-139.
10. Spackman, D. H., W. H. Stein, and S. Moore (1958) Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acid. *Anal. Chem.* **30**, 1190-1206.
11. AOAC (1985) Official method of analysis. 14th ed., Assoc. Offic. Anal. Chemists, Washington, D. C., pp. 164-165.
12. 김진수 (1992) 어피젤라틴의 기능성 개선. 부산수산대학교 대학원 박사학위논문.
13. Yamashita, M., S. Arai, S. Kokubo, K. Aso and M. Fugimaki (1975) Synthesis and characterization of a glutamic acid enriched plastein with greater solubility. *Agr. Food Chem.* **23**, 27-30.
14. Lin, M. J., E. S. Humbert, and F. W. Sosulki (1974) Certain functional properties of sunflower meal products. *J. Food Sci.* **39**, 368-370.
15. Wang, J. C. and J. E. Kinsella (1976) Functional properties of novel protein: Alfalfa leaf protein. *J. Food Sci.* **41**(2), 286-292.
16. Sathe, S. K. and D. K. Salunkhe (1981) Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein: Emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *J. Food Sci.* **46**, 71-74.
17. Franzen, K. L. and J. E. Kinsella (1976) Functional properties of succinylated and acetylated soy protein. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 788-795.
18. 김진수, 임치원, 김풍호 (1996) 봉장어 껍질 젤라틴의 제조 및 그 특성. 한국농화학회지 **39**, 투고중.
19. Catsimpoilas, N., J. A. Kenney, E. W. Meyer and B. F. Szuhaj (1971) Molecular weight and amino acid composition of glycinin subunits. *J. Sci. Food Agric.* **22**, 448.
20. 大野素徳, 金岡祐一, 崎山文夫, 前田浩 (1981) 蛋白質の化學修飾(上). 學會出版センター, pp 23-26.
21. Federico, C. Jr. (1983) Studies on the effective utilization of sardine acylated proteins. Thesis submitted for the deg-

- ree of doctor in Faculty of fisheries, Hokkaido university.
22. Eisele, T. A. and C. J. Brekke (1981) Chemical modification and functional properties of acylated beef heart myofibrillar proteins. *J. Food Sci.* **47**, 1095-1102.
23. Narayana, K. and M. S. Narasinga Rao (1984) Effect of acetylation and succinylation on the functional properties of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) flour. *J. Food Sci.* **49**, 547-550.
24. Eisele, T. A., C. J. Brekke and S. M. McCurdy (1981) Nutritional properties and metabolic studies of acylated beef heart myofibrillar proteins. *J. Food Sci.* **47**, 43-48.

---

#### Improvement in functional properties of conger eel skin gelatin by succinylation

Jin-Soo Kim (Department of Marine Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea)

**Abstract:** To effectively utilize fish skin gelatin as a material for quality improvement in surimi gel from fish with a red muscle, conger eel skin gelatin was modified with succinic anhydride, and functional properties such as emulsifying activity and emulsifying stability were determined. The degree of chemical modification increased up to 0.3 g of succinic anhydride/g of gelatin, above this adding ratio a nearly constant value was reached. The maximum amount of modification was about 90%. The emulsifying activity and emulsifying stability of gelatin gradually increased up to 89.8% of succinylation extent, little changed above of succinylation extent. The other functional properties as solubility, water holding capacity, foam expansion and foam stability were improved following succinylation with 0.3 g of succinic anhydride/g of gelatin. Amino acid composition of succinylated gelatin was similar to that of unmodified gelatin. Heavy metal contents such as cadmium, lead, copper and zinc of succinylated gelatin were lower than those of unmodified gelatin.

---