

대구뼈로부터 젤라틴의 추출정제와 특성

김세권[†] · 전유진 · 이병조 · 이창국*

부산수산대학교 화학과, *국립수산진흥원 이용가공연구실

Purification and Characterization of the Gelatin from the Bone of Cod, *Gadus macrocephalus*

Se-Kwon Kim[†], You-Jin Jeon, Byoung-jo Lee and Chang-Kook Lee*

Department of Chemistry, Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

*National Fisheries Research and Development Agency, Pusan 626-900, Korea

Abstract

In order to effectively utilize fish(Cod, *Gadus macrocephalus*) bone obtained as fish waste in fish manufactory, the preparation of the fish bone gelatin were attempted by heat extracting method from collagen protein contained in the fish bone. The methods of two kinds pretreatments(the B-type by alkali pretreatment and the E-type by enzyme pretreatment) for fish bone and the optimal extraction conditions to prepare gelatin from pretreated fish bone were investigated. Physical properties and functionalities of the two type fish bone gelatins obtained were compared with the commercial gelatin and the fish skin gelatin. The optimal extraction conditions of the B-type and the E-type gelatins were 5 folds of added water with material(w/w), pH 5.0, 3 hrs of extraction time and 60°C of extraction temperature. The yield of the B-type and the E-type gelatins were 32.6% and 28.1%, respectively. The B-type gelatin was superior to the E-type in all of physical properties. Molecular weight of the B-type was larger than that of the E-type due to its pretreatment method. Among the composition of amino acids, the amino acids such as glycine, alanine, glutamic acid and imino acids(proline and hydroxyproline) were responsible for 68~70% of the total amino acids. Functionalities of the fish bone gelatin were almost similar to commercial gelatin.

Key works : gelatin purification, characterization, cod bone

서 론

젤라틴은 동물을 자숙하여 스며 나오는 용액을 냉각하여 응고시킨 물질이라는 뜻의 *gelate*라는 라틴어에서 유래되었

는데, 이 어원이 나타내는 의미로 알 수 있듯이 척추동물에 서부터 무척추동물에 이르기까지 뼈 또는 껍질에 널리 분포하여 있는 생체단백질인 콜라겐^{1, 2)}으로부터 열수로 부분적인 가수분해를 시켜 얻어지는 유도단백질이다^{3, 4)}. 분자

[†] Corresponding author

구조상의 특징은 proline, hydroxyproline 또는 glycine, 기타 아미노산의 중복된 결합으로 되어 있으며, 가축껍질을 원료로 한 경우 일반적으로 이들의 존재비는 2 : 3 : 4로 알려져 있다^{5, 6)}.

우리나라 수산물의 총 생산량(1992년)은 383만톤이고 여기에 수입량을 합친 총 공급량은 393만톤이다. 이 중 가공원료로 사용되는 것은 총 공급량의 86.6%이며, 선어(鮮魚)로 이용된 것은 13.4%로 가공율이 매년 현저하게 높아가고 있다⁷⁾. 가공율의 현저한 증가에 따라 우리나라 수산가공공장에서 원료어 처리 후 남는 생선뼈는 연간 약 30만톤 이상이나 되며, 이들의 대부분은 사료 내지는 폐기되고 있다. 이러한 생선뼈에는 약 30%의 단백질과 70%의 무기질(칼슘과 인이 주성분) 및 미량원소(마그네슘, 칼륨, 철, 아연) 등이 다량으로 함유되어 있다. 생선뼈에 들어 있는 콜라겐은 열수추출법에 의하여 아교나 젤라틴으로 추출이 가능하다. 이들은 α -, β -, γ -chain으로 구성된 type I 콜라겐으로부터 제조된다⁸⁾.

세계의 젤라틴 생산량은 소련, 동구권을 제외하고 연간 13~15만톤 정도이고, 소비량은 미국이 전체 생산량의 35%를 차지하고 있으며 다음으로 서독, 영국 및 일본순이다⁹⁾. 이와 같이 서구 위주의 젤라틴 소비는 예로부터 이 지역이 동물성 식품 문화권이기 때문이라 생각된다.

현재 젤라틴이 소비되는 추세는 식품용 70%, 사진용 15%, 의약품 10%, 공업용 5% 정도로 생산초기의 식품 위주의 소비 경향과는 차이가 난다. 우리 나라의 경우, 젤라틴의 소비량을 충족시키지 못하여 1991년 875톤, 1992년에는 1,318톤을 수입하고 있어 연간 수입량이 급격히 증가되고 있는 실정이다. 국내의 소비량은 연간 4800톤(1992년)정도이며, 그 중 의약품 60%, 식품용 16%, 공업용 24%로 이용되고 있다⁹⁾. 국내 산업계에서 이용하고 있는 젤라틴의 원료로서는 육상 동물의 껍질 및 뼈에서 추출한 젤라틴이지만¹⁰⁾ 그 겔화 온도가 너무 높아 식감이 좋지 못하여 겔화 온도를 낮추기 위해 화학적 방법을 사용하고 있지만 이 방법은 사용한 물질의 인체에 대한 안전성 등이 문제가 되고 있다.

우리 나라 수산가공공장에서 나오는 연간 약 20만톤 이상의 어피를 원료로 한 젤라틴의 제조에 대해서는 본 연구자를 비롯하여 어느 정도의 보고^{11~15)}가 있지만 어뼈를 이용한 젤라틴의 제조에 관한 연구는 거의 찾아 볼 수 없다.

어뼈 단백질 중 30%정도 함유되어 있는 콜라겐은 열수추출법을 통하여 젤라틴으로 추출이 가능하지만 젤라틴을 추출하기 전에 어뼈에 함유되어 있는 비콜라겐 단백질과 불순물을 제거하기 위한 전처리 단계가 필요하다. 이 전처리 방법은 산 처리법(A-type)과 알칼리 처리법(B-type)으로 구별되어 있다¹⁶⁾. 이러한 두 전처리 방법은 처리기간이 6~20주 정도 소요되는 결점이 있으나 효소를 이용하여 전처리하면 이를 개선할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 종래의 방법 중 B-type과 효소를 이용하는 방법(이하 E-type이라 명명함)으로 어뼈를 전처리하여 대구뽕로부터 젤라틴을 제조하기 위한 최적 추출조건을 확립하고, 추출된 젤라틴의 물성 및 기능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료 본 실험에 사용된 대구(*Gadus macrocephalus*) 뼈는 부산시 서구 충무동 소재 삼호물산(주)에서 구입하여 지느러미와 육은 제거한 후 1일간 흐르는 물로 수세하여 폴리에틸렌필름주머니에 넣어 $-80 \pm 5^\circ\text{C}$ 의 초저온 냉동고에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

어뼈 전처리

동결한 어뼈를 해동한 후 협잡물을 제거할 목적으로 수세하였으며 콜라겐 이외의 단백질과 이물질을 제거하기 위하여 알칼리 처리법(B-type)과 효소 처리법(E-type)의 두 가지 방법으로 구별하여 실시하였으며 그 조건은 다음과 같다. 즉, B-type은 1% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 용액 10ℓ에 어뼈 1kg(dry basis)을 2°C 에서 8주 동안 침지한 후 흐르는 물에 세척하여 그 세척액의 pH가 약 7이 될 때까지 수세하였다. E-type은 증류수 10ℓ에 어뼈 1kg을 넣고 효소(α -chymotrypsin)를 가하고(기질 : 효소 = 1,000 : 1, w/w) pH를 7.8로 조절한 후 35°C 에서 3시간 동안 침지한 후 효소의 불활성을 위하여 pH를 3.5로 조절한 물로 세척하고 pH가 약 7이 될 때 까지 수세하여 건조시켰다. B-type과 E-type으로 각각 전처리하여 건조한 어뼈시료의 일반 성분은 AOAC¹⁷⁾에 따라 분석하였다.

젤라틴 추출

전처리과정을 거친 어뼈를 최적 첨가수량, 추출용액의 pH, 추출시간 및 추출온도 등을 변화시켜 젤라틴을 추출하

였다. 추출된 젤라틴 용액은 여과(Whatman No. 1)한 후 탈취시켰으며, 이 용액을 양이온 교환수지(Duolite C 26)와 음이온 교환수지(Duolite A 162)로 정제한 다음 열풍 건조(40°C, 3일간)하여 B-type 및 E-type의 젤라틴 제품을 제조하였다(Fig. 1). 젤라틴 수율의 계산은 B-type의 경우

총단백질량 26.8%에 대하여, 그리고 E-type의 경우 총단백질량 26.5%에 대하여 나타내었다. 추출한 B-type 및 E-type 젤라틴과 시판젤라틴의 일반성분은 어뼈의 일반성분 분석과 같은 방법으로 측정하여 시료간의 차이를 비교하였다.

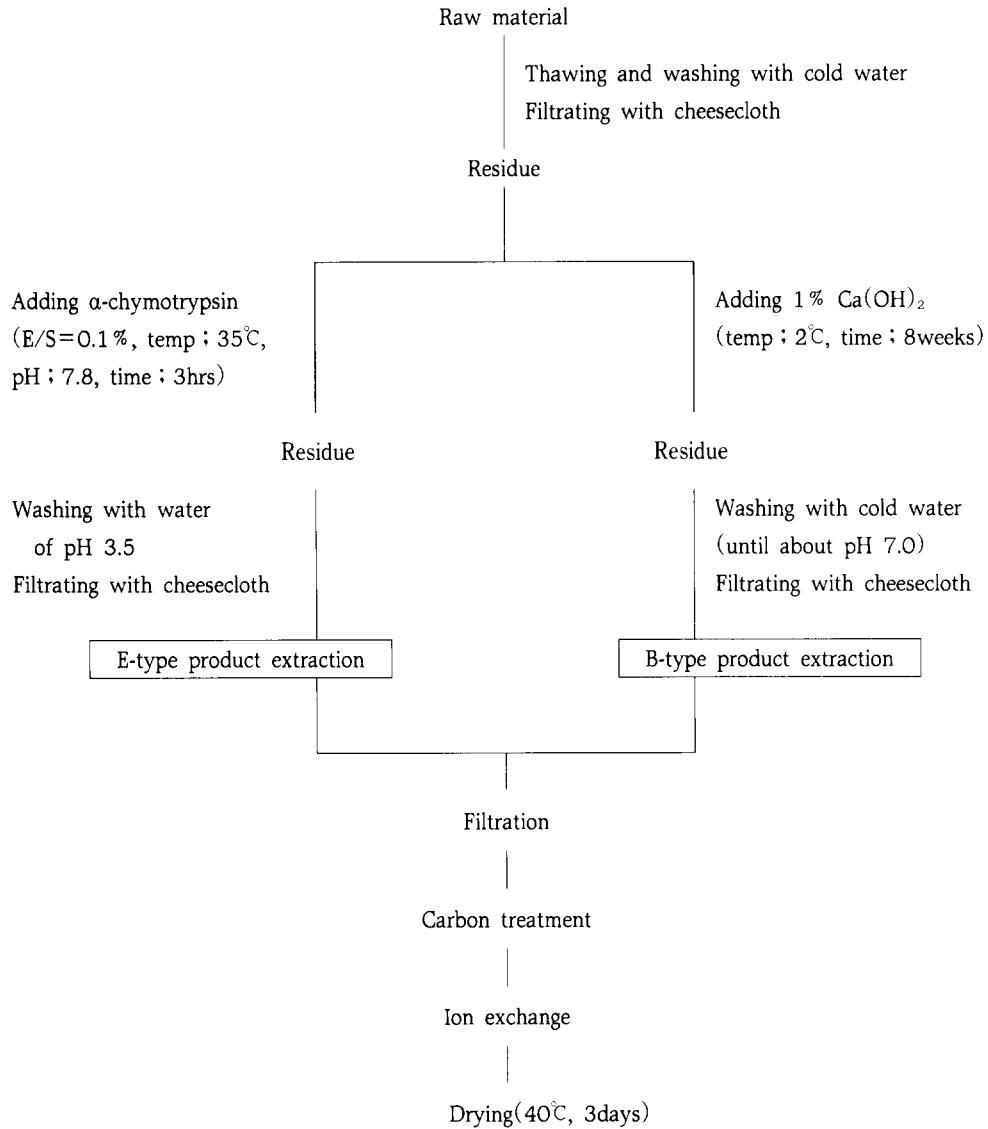


Fig. 1. Procedure for extraction of the B-type and the E-type product from the cod bone.

무기질 함량 측정

무기질 함량은 시료 2g에 황산 10ml 넣고 가열하여 분해시킨 후 질산용액을 백색연기가 날 때까지 첨가한 다음 그 용액을 50ml로 정용하여 ICP 분광광도계(SPS 1200A plasmaspectrometer SII)로 측정하였다.

분자량 측정

제조된 B-type과 E-type 젤라틴의 분자량 측정은 HPLC (Spectra Physics Co.)를 이용하여 측정하였다. 즉, 분자량 측정한계 250~443,000Da범위인 GPC column(Altech Co., pore size 60/150Å, 250mm×4.6mm)에 0.05M KH₂PO₄ & 0.15M Na₂SO₄ buffer(pH 7.0)로 평형화시킨 후, 각 1mg/ml의 시료용액 1ml를 유출속도 0.5ml/min로 용리시켜 220nm에서 흡광도로 확인하였다. 표준단백질은 Apoferritin(MW 443,000Da), β-Amylase(MW 200,000 Da), Bovine Serum Albumin(MW 66,000Da) 및 Trypsinogen(MW 24,000Da)을 사용하였다.

아미노산 조성 분석

아미노산 조성 분석은 시료 50mg을 정평하여 6N HCl로 산가수분해하여 아미노산 자동분석기(Hitachi Co, Japan)로 분석하였다. 그리고 hydroxyproline함량은 Edwards와 O'brien¹⁸⁾의 방법을 다소 수정하여 정량하였다. 즉, 각 시료 50mg을 정평하여 ampoule에 넣고 6N HCl 5ml를 가하여 진공 밀봉한 다음 120°C에서 24시간 동안 가수분해시켰다. 이 가수분해물을 여과한 후, 그 여액을 50°C에서 감압, 건조한 다음 citrate buffer(pH 2.2)로 50ml정용하였다. 이 용액을 200배 희석하여 2ml 취하고 여기에 Chloroamine-T(0.05M) 1ml와 aldehydeperchloric acid 1ml를 가하고 60°C에서 15분간 반응시킨 후, 차가운 물에 냉각한 다음 550nm에서 분광 광도계로 흡광도를 측정하여 hydroxyproline standard용액으로 작성된 검량곡선에 의하여 시료 중의 hydroxyproline함량을 구하였다.

젤라틴의 물리적 성질

(1) 응고점과 용점

응고점과 용점의 측정은 日本工業規格(JIS) K 8004¹⁹⁾에 따라 측정하였다. 응고점은 각 시료의 10% 수용액 50ml를 만들어 온도계와 함께 비이커(직경: 4.5cm, 높이: 6cm)에 넣은 것을 예상한 응고점보다 5°C 낮은 온도의 물을 채운 수조에 넣고 온도가 1분 동안 일정하게 유지하여 용액의

유동성이 사라지는 온도를 응고점으로 하였다. 용점은 응고점 측정이 끝난 후 결화된 시료의 표면에 모세관을 부착시켜 2분간 1°C씩 수조의 온도를 상승시켰을 때 젤이 녹아서 그 용액이 모세관을 타고 올라갈 때의 온도를 측정하여 용점으로 하였다.

(2) 점도와 jelly 강도

점도와 jelly강도는 日本工業規格(JIS) K 6503²⁰⁾에 따라 실시하였다. 점도는 각 시료를 7.5% (w/v) 젤라틴 졸 50ml의 온도를 40±0.5°C로 조절하여 Ostwald 점도계로 물의 점도와 비교하여 상대점도를 측정하였다. Jelly 강도는 7.5% 젤라틴 졸 50ml를 조제한 다음, 10°C에서 17시간 동안 냉각시켜 결화시킨 후 직경 4.5cm, 높이 3cm되는 원주형으로 하여 SUN rheometer(CR-17) 기기장치의 시료대에 얹고 측정하였다. 측정은 직경 5mm인 plunger로 눌러서 최초로 파단이 일어날 때의 하중을 측정하여 jelly강도(g)로 나타내었다.

(3) 등전점

Hayashi 등²¹⁾의 방법에 따라 Amberlite IRA-400 음이온 수지 20ml와 IR-120 Plus 양이온 수지 10ml를 1% 시료용액 100ml에 첨가하여 20분간 교반하였다. 이 혼합용액을 원심분리 (3,000×g, 5min)하여 수지를 제거한 다음 상층액의 pH를 측정하여 등전점으로 하였다.

(4) 탁도

日本衛生試驗法 註解²²⁾에 따라서 kaolin으로 표준용액을 제조하여 검량선을 작성하고 시료용액 0.1%를 660nm에서 분광광도계(Shimadzu U-3210, Tokyo, Japan)로 흡광도를 측정후 검량선으로부터 탁도를 계산하였다. 탁도는 1ℓ의 물속에 1mg kaolin을 함유한 것을 말하며 ppm 단위로서 나타내었다.

(5) 전기전도도

日本衛生試驗法 註解²²⁾에 따라서 각각의 시료를 탈이온수에 녹여서 1% 수용액 50ml를 만들어 20°C에서 30분간 방치한 후 conductivity meter(Metrohm 644 conductometer)로 측정하였다. 전기전도도, λ(mho)를 구하는 식은 λ(mho/cm) = (1/R) × (L/S)이다. 여기서 R은 저항(Ω), S는 도체의 단면적(cm²) 그리고 L은 도체간의 길이(cm)이다.

젤라틴의 기능성

(1) 유화성 및 유화안정성

유화성은 Watanabe 등²³⁾의 방법에 따라 실시하였다. 즉,

1% (w/v) 분산액을 20분간 충분히 교반한 다음, 분산액 10ml와 대두유(동방유량 Co.) 10ml를 혼합하여 균질기(Ace Homogenizer, AM-7)로 12,000rpm에서 5분간 균질화시켰다. 이와 같이 하여 생성된 유화액을 즉시 원심관(12mm×100mm)에 넣고 원심분리(3,000×g 15min)하여 전체 높이에 대한 유화된 층의 높이를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

유화성(%) = (유화된 층의 높이(cm) / 시험관내의 총내용물의 높이(cm)) × 100

유화안정성은 Shimada 등²⁴⁾의 방법에 따라 실시하였다. 유화성과 같은 방법으로 균질화시킨 유화액을 즉시 100ml 메스실린더에 넣고 20°C에서 30분 동안 방치한 후, 유화되어 있는 층의 부피를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

유화안정성(%) = (유화된 부피(cm) / 전체부피(cm)) × 100

(2) 포말성 및 포말안정성

포말성과 포말안정성은 Johnson 등²⁵⁾과 Watanabe 등²⁶⁾의 방법에 따라 실시하였다. 먼저 포말성은 각 시료 1% (w/v) 분산액을 20ml로 만들어 20°C에서 20분간 교반하여 완전히 녹인다. 그 용액을 균질기(Ace Homogenizer AM-7)로 3분간 10,000rpm에서 포립시킨 후 즉시 250ml 메스실린더에 옮긴 다음 30초 후에 전체량, 거품량 및 물층의 부피를 각각 측정하여 다음 식에 따라 계산하였다.

포말성 = (전체부피(ml) - 물층부피(ml)) / 전체부피(ml)

포말안정성은 포립된 각 시료를 250ml 메스실린더에 옮긴 후 20°C에서 30분간 정치시킨 후 남아 있는 물층을 측정하여 포말안정성을 다음과 같은 식으로 계산하였다.

포말안정성 = (전체부피(ml) - 물층부피(ml)) / 최초부피(ml)

결과 및 고찰

젤라틴의 추출조건

(1) 첨가수량

효소와 알칼리 용액으로 전처리한 어뼈시료 10g에 물을 3~9배까지 첨가한 후 1N HCl과 NaOH을 사용하여 pH를 5.0으로 조절한 다음 온도 70°C에서 3시간 동안 어뼈젤라틴을 추출하였을 때의 수율은 Fig. 2와 같이 B-type과 E-type 모두 첨가수량이 기질의 5배가 될 때까지 수율이 증가하였으나 그 이상에서는 수율의 변화가 거의 없었고, 이

때의 수율은 B-type이 30.3%로 E-type보다 약 3% 정도 높았다. 강 등¹³⁾은 가자미피 젤라틴의 추출 조건 중 첨가수량에서 B-type이 E-type보다 수율이 높았다고 보고하였다. 따라서 어피와 어뼈 모두 B-type이 E-type보다 수율이 높았다는 것을 알 수 있었다. 김 등¹⁴⁾은 대구피에서의 젤라틴의 추출에서 첨가수량이 7배에서 가장 높은 경향을 나타낸다고 하였으며 이 등¹⁵⁾은 멧태피 및 말쥐치피의 피교제조시 첨가수량 3배 및 5배가 가장 좋다고 보고한 바 있다.

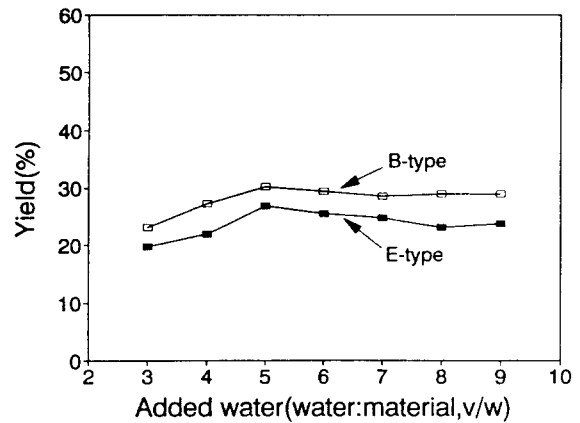


Fig. 2. Influence of added water volume on the yield (%) of the B- and the E-type gelatin from the cod bone (the B-type was prepared by alkali pretreatment and the E-type by α-chymotrypsin pretreatment).

(2) 추출용액의 pH

전처리한 어뼈시료 10g을 앞의 결과에 따라 첨가수량 5배의 물을 첨가하여 pH를 3.0~9.0까지 변화시키고 온도 70°C, 추출시간을 3시간으로 하여 추출하였을 때의 결과는 Fig. 3과 같다. 즉, B-type과 E-type 모두 산성 영역에서 약산성 영역(pH 5.0~6.0)까지는 수율이 계속 증가하였으며, 중성 영역에서 알칼리 영역으로 갈수록 수율은 다시 감소하였다. B-type과 E-type은 모두 pH 5.0에서 각각 30.3%와 26.8%로 수율이 가장 높았다. 이러한 결과는 강 등¹³⁾이 가자미피 젤라틴의 제조에서 B-type은 pH 5.0에서, 그리고 E-type은 pH 6.0에서 높은 수율을 얻었다고 보고한 추출범위와 유사하여 어피와 어뼈의 최적추출 pH범위는

거의 일치한다고 판단된다. Baier와 Zisman²⁶⁾은 젤라틴은 알칼리에 침지할 경우 중성 및 약산성 부근에서 추출된다고 보고하였는데, 이러한 사실은 어뼈에서도 동일하게 적용되었다. 그리고 효소 전처리에 의한 젤라틴의 추출도 알칼리 전처리와 비슷한 경향을 보이는 것으로 보아 두 전처리 차이에 따른 최적 pH조건은 동일하다고 볼 수 있다. 白井²⁷⁾은 젤라틴은 추출 중 가열로 인해 급속히 저분자화되며 그 속도는 추출용액의 pH가 중성 부근이 가장 느리고, 산성 및 알칼리에서는 신속히 진행된다고 보고하였다.

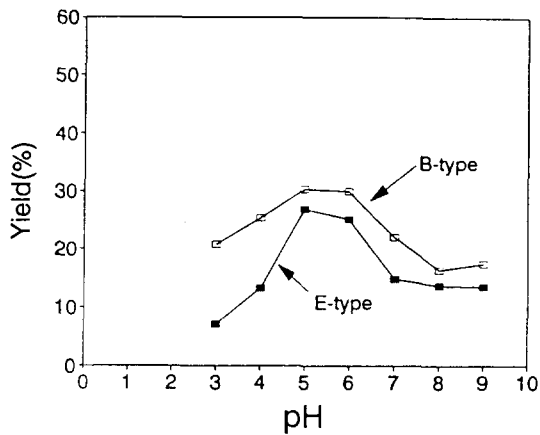


Fig. 3. Influence of extraction solution pH on the yield (%) of the B-type and the E-type gelatin from the cod bone.

(3) 추출온도

전처리한 어뼈시료 10g에 첨가수량을 5배로 가하고 앞의 조건에서 결정된 최적 pH인 5.0으로 용액을 조절한 후, 추출온도를 40~80°C까지 변화시키며 3시간 동안 추출하였을 때의 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 즉, B-type과 E-type 모두 60°C까지 수율이 급격히 증가하여 각각 32.9%와 28.3%를 얻었으나, 그 이상에서는 온도가 상승함에 따른 수율의 차이가 거의 없었다. 어피에서의 젤라틴 최적 추출온도를 살펴보면, 가자미피로부터 젤라틴을 추출하였을 때는 60°C가 가장 적당하였고¹³⁾, 상어피 젤라틴 추출에서는 온도가 증가할수록 증가한다¹⁰⁾는 보고가 있었다. 그러나 Hinterwaldner¹⁶⁾의 보고에 따르면, 젤라틴 추출시 온도를 너무 높게 되면 겔 형성력이 떨어진다고 하였으며, Johns와

Courts²⁸⁾도 60°C이상에서 젤라틴을 추출하면 콜라겐의 조적이 수축되어 helix구조가 파괴되고 수소결합과 같은 결합력이 붕괴된다고 보고하였다. 따라서 젤라틴을 추출할 때 온도를 너무 높이는 것은 수율면에서 다소 유리할 수 있으나 젤라틴의 품질면에서는 다소 불리할 수 있을 것으로 판단된다.

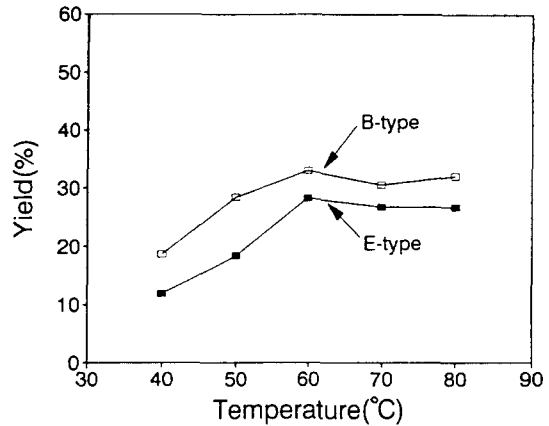


Fig. 4. Influence of extraction temperature on the yield (%) of the B-type and the E-type gelatin from the cod bone.

(4) 추출시간

전처리한 어뼈시료 10g에 앞에서 결정된 최적 조건에 따라 첨가수량 5배, pH 5.0, 추출온도 60°C로 하고 추출시간을 3~15시간까지 변화시켜 추출하였을 때의 결과를 Fig. 5에 나타낸 것과 같이 수율은 B-type과 E-type 모두 추출시간이 3시간까지는 수율의 급격한 증가(B-type의 수율은 32.6%, E-type의 수율은 28.1%)를 보인 반면에 그 이상 추출시간이 경과하여도 수율의 증가에는 단지 약간의 증가만을 보였을 뿐 그다지 큰 영향을 주지 못하였기 때문에 시간의 소모와 열량의 소비라는 측면에서 볼 때 최적 추출시간은 3시간이 적당할 것으로 생각된다. 김 등¹⁴⁾이 보고한 어피젤라틴의 추출시간을 보면, 명태피는 5시간, 대구피와 각시가자미피는 4시간이었으며 원료어피간의 차이는 없었다고 보고하였다. 강 등¹³⁾은 가자미피 젤라틴의 추출에서 E-type과 B-type은 각각 4시간과 3시간이었으며 이때의 수율은 두제품 모두 약 60% 정도였다고 보고하였다.

이것은 어뼈에서의 젤라틴 추출에 대한 최적 추출시간이 어피에서와 비슷한 경향을 보였으나 어뼈가 어피보다 수율 면에서 약 30% 정도 적었다.

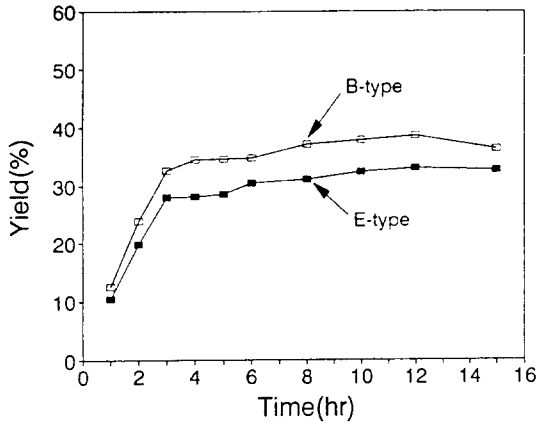


Fig. 5. Influence of extraction time on the yield(%) of the B-type and the E-type gelatin from the cod bone.

이상의 결과를 종합하면, 최적 추출조건은 B-type과 E-type에서 첨가수량은 시료의 5배, pH 5.0, 추출온도 60°C, 추출시간 3시간이었으며, 이때의 수율은 B-type이 32.6% 이었고, E-type은 28.1%로 B-type이 3.5% 정도 더 높았다. 이러한 결과로 볼 때 어뼈의 전처리 조건에 따른 최적 추출조건은 차이가 없었으며 단지 수율에 있어서 B-type이 약간 높게 나타났다. 그러나 어뼈에 함유되어 있는 콜라겐 단백질을 열수추출법을 통하여 추출한 젤라틴의 수율은 어

피젤라틴의 그것에 비하여 약 30% 정도 낮았다. 이러한 사실로 볼 때, 어피는 유기물인 단백질이 주원료로 되어 있는데 반하여 어뼈는 무기물인 히드록시아파타이트가 주원료로 되어 있으므로 열수추출만에 의한 방법으로는 적당하지 않은 것으로 생각된다. 그리고 어뼈의 조직은 그 자체가 상당히 조밀하게 이루어져 있으므로 어피에 비하여 추출이 용이하지 못하였다.

일반성분 및 무기질 함량

추출한 B-type과 E-type 젤라틴의 일반성분은 Table 2에 나타내었다. 단백질 함량은 건조 중량 기준으로 B-type과 E-type 젤라틴이 각각 98.9%와 99.1%로서 시판 젤라틴(경기 젤라틴)의 97.4%보다 약간 높았으며 강 등¹³⁾이 보고한 어피 젤라틴과 비슷한 함량을 보였다. 수분 함량은 B-type과 E-type 젤라틴이 각각 0.73%와 0.56%로서 시판 젤라틴의 11.85%보다 상당히 적게 포함되어 있었으며 어피 젤라틴의 수분함량 약 4.7%에 비해서도 적은 양이었다. 지방 함량은 각각 0.63%와 0.85%로서 어피 젤라틴의 0.5%보다 약간 높지만 시판 젤라틴의 1.74%보다 약 2배 정도 적으므로 탈지공정이 필요치 않으리라 생각된다. 회분

Table 1. Proximate compositions of B-type and E-type cod bone. (%)

Compositions	B-type	E-type
Moisture	8.8	9.7
Protein	26.8	26.5
Fat	2.7	2.9
Ash	62.1	61.5

Table 2. Proximate compositions and mineral contents for B-type and E-type gelatin.

Product	Proximate composition(%)				Mineral(ppm)				
	Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Zn	Cd	Mn	Pb	Mg
Commercial gelatin	12.85	85.8(97.4)	1.74	1.10	0.50	ND	0.50	0.30	ND
Bone B-type gelatin	0.73	98.2(98.9)	0.63	0.90	65.32	ND	6.41	ND	ND
Bone E-type gelatin	0.56	98.4(99.1)	0.85	0.82	57.67	ND	4.05	ND	ND
*Skin B-type gelatin	5.00	94.3(99.3)	0.60	0.40	3.73	ND	ND	0.04	ND
*Skin E-type gelatin	4.50	94.6(99.1)	0.40	0.40	9.19	ND	23.26	0.10	ND

* Refer to the comment in Kang et al.(1992)

함량은 두 젤라틴 0.90%와 0.82%로서 모두 시판 젤라틴의 1.1%보다 약간 낮은 함량을 보였으나 어피 젤라틴보다는 더 높게 나타났다.

무기질 함량은 Table 2에 나타난 바와 같이 아연이 다른 무기질보다 다소 많이 검출되었는데, 그 중 어뼈에서 추출한 B-type과 E-type 젤라틴이 상대적으로 많이 검출되었으며 그외에 철이 약간 함유되어 있었다. 또 다른 무기질로는 어뼈젤라틴에서 게르마늄, 망간 등이 미량 함유되어 있었으며 카드뮴, 비소, 마그네슘 등은 검출되지 않았다.

분자량

HPLC를 사용하여 B-type과 E-type 젤라틴의 분자량은 GPC column상에서 HPLC를 이용하여 측정하였으며 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 알칼리 전처리한 B-type 어뼈젤라틴의 분자량은 460KDa, 80KDa 및 20KDa 부근에 분포하고 있으며 대부분 80~20KDa에 많이 존재하고 있었다. 효소 전처리한 E-type 어뼈젤라틴에서의 분자량분포는 450KDa, 70KDa 및 24KDa에 분포하고 있으며 대부분 70~24KDa에 존재하고 분자량의 차이는 거의 없는 것으로 나타났다. 한편, 시판젤라틴의 분자량은 435KDa과 150KDa에 분포되어 있으며 그 중 150KDa 부근에서 분자량이 주종을 이루고 있었다. 따라서 시판젤라틴에 비해 어뼈젤라틴의 분자량은 상당히 낮은 것으로서, 이러한 분자량의 차이에 의해 물성의 차이가 있는 것으로 추측된다. 강 등¹³⁾이 보고한 어피젤라틴의 분자량에 있어서는 어피 B-type 젤라틴은 대부분이 200KDa~450KDa에 존재하며 어피 E-type 젤라틴은 대부분이 66KDa 이하에서 존재한다고 하였는데, 어뼈 B-type 젤라틴의 경우는 어피 B-type 젤라틴에 비하여 분자량의 분포가 상당히 낮은 것을 알 수 있으며 어뼈 E-type 젤라틴의 경우는 어피 E-type 젤라틴과 유사한 분자량 분포를 나타내었다. 어뼈 B-type 젤라틴의 경우 어피 B-type 젤라틴보다 분자량이 적은 것은 원료에 비콜라겐 단백질을 제거하기 위하여 전처리한 알칼리 침지시간이 어피가 24시간인데 비하여 어뼈는 8주 정도로 상당히 침지시간이 길기 때문에 분자량의 감소가 일어나는 것으로 판단된다. 어뼈와 어피의 E-type 젤라틴의 경우는 효소로 전처리하는 과정에서 효소의 작용으로 인하여 분해를 유발시켜 분자량의 감소가 발생한 것으로 판단된다.

아미노산 조성

추출한 B-type과 E-type 젤라틴의 아미노산 조성은 Ta-

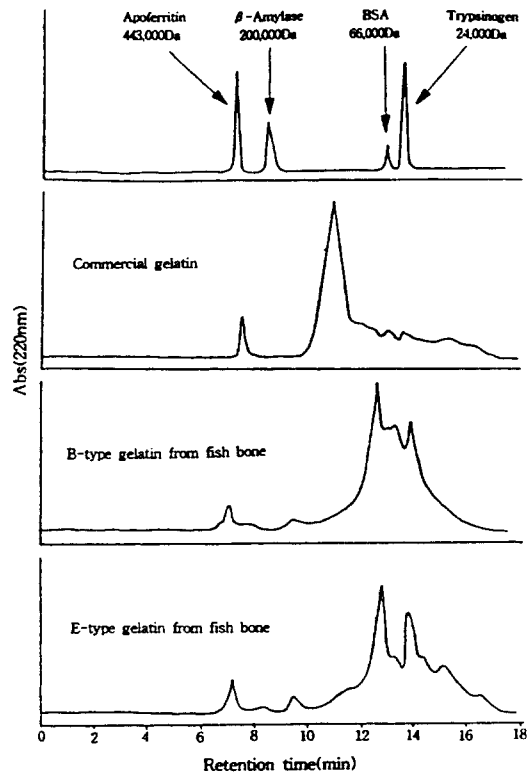


Fig. 6. Molecular weight distribution profiles of molecular proteins, commercial gelatin, the B-type gelatin and the E-type gelatin on GPC column(pore size 60Å/150Å) by HPLC.

[eluent : 0.05M KH₂PO₄ & 0.15M Na₂SO₄ buffer(pH 7.0), flow rate : 0.5ml/min].

ble 3에 나타난 바와 같이 어뼈의 전처리 방법에 따른 차이는 거의 없었고 대부분 glycine, alanine, glutamic acid 및 imino acid(proline과 hydroxyproline)로 이루어져 있으며 시판젤라틴, B-type, E-type 젤라틴에서 이들 아미노산의 잔기수가 전체 아미노산 잔기수의 71.3%, 68.3%, 68.3% 정도 차지하고 있었고 강 등¹³⁾에 의한 어피젤라틴에 있어서 이들 아미노산의 잔기수는 B-type과 E-type 젤라틴이 69.5%와 69.2%로서 어피젤라틴이 어뼈젤라틴보다 약간 더 많이 함유되어 있었다. 이중 imino acid 함량은 어뼈 B-type 젤라틴이 12.3%, E-type 젤라틴이 12.6%로서 어피젤라틴의 함량에 비해 3% 정도 더 낮았고 시판

Table 3. Amino acid compositions of commercial gelatin, fish bone gelatin and fish skin gelatin (residues/1000 residues).

Amino acid	Commercial	Fish bone gelatin		Fish skin gelatin**	
	gelatin	B-type	E-type	B-type	E-type
Hyp	88.27	52.52	52.22	66.54	64.35
Asp	50.28	46.45	47.91	50.84	51.73
*Thr	18.64	26.76	25.49	22.57	23.62
Ser	35.87	51.53	52.08	64.77	64.17
Glu	78.32	84.02	85.91	73.56	74.00
Gly	340.69	356.51	353.54	354.57	351.70
Ala	100.52	119.07	117.59	116.22	115.69
Cys	2.35	2.76	1.88	4.15	1.95
*Val	22.01	22.85	22.05	17.70	18.95
*Met	5.64	13.06	14.62	13.43	13.33
*Ile	15.68	11.45	13.07	8.46	9.23
*Leu	29.02	22.69	23.47	19.45	20.76
Tyr	0.59	3.10	3.30	2.56	2.03
*Phe	16.06	21.62	22.21	14.05	17.08
*Lys	30.74	34.84	31.13	28.86	31.01
*His	8.18	9.42	9.72	5.04	5.05
Arg	51.53	50.68	50.20	52.33	52.02
Pro	105.61	70.69	73.62	84.89	86.32
Essential amino acid	146.0(14.6%)	162.7(16.3%)	161.8(16.2%)	129.6(13.0%)	136.0(13.6%)
Total amino acid	1,000.0	1,000.0	1,000.0	1,000.0	1,000.0

* Essential amino acid

$$\left(\quad \right) = \frac{\text{Essential amino acid}}{\text{Total amino acid}} \times 100$$

** Refer to the comment in Kang *et al.*(1992)

젤라틴보다는 5~8% 정도 낮게 나타났다.

Imino acid는 콜라겐 단백질에만 특이하게 많이 분포되어 있는 것으로서 이것의 함량은 콜라겐의 열안정성과 분자구조, 그리고 콜라겐의 변성온도에 비례하는 것으로 알려져 있다²⁹⁾. 또 浜田¹⁰⁾은 imino acid의 함량이 낮으면 젤라틴의 gelling capacity가 떨어진다고 하였고 Eastoe와 Leach³⁰⁾는 척추동물에서 추출한 젤라틴이 hydroxyproline과 proline의 함량비는 대개 1 : 1.25로 일정하다고 보고하였으며 이것은 본 실험의 결과와 일치하였다. 어피젤라틴과 어뼈젤라틴의 경우 필수아미노산의 함량은 약 16%로서 시판젤라틴의 14.6%보다 다소 많이 함유되어 있었다.

젤라틴의 물리적 성질

추출한 B-type과 E-type 젤라틴 및 시판젤라틴의 물리적 성질에 관하여 Table 4에 나타내었다. 젤라틴은 찬물에서 30분 정도 팽윤시킨 후, 50~60°C에서 용해시키면 균질한 젤라틴 수용액이 되며³¹⁾ 그 수용액은 농도가 충분히 높을 때 또는 낮은 온도에서 gel을 형성하며 유통성을 잃게 되고³²⁾, 이 gel은 다시 온도를 상승시킴으로써 sol로 변화하게 되는데, 이와 같이 온도의 변화에 의해 gel ⇌ sol의 가역적 변화에 대한 측정값을 응고점과 용점으로 표시하였다. 시판젤라틴의 응고점과 용점은 각각 20.5°C와 24.0°C이었으며 어뼈에서 추출한 B-type 젤라틴은 각각 4°C와 12°C로서 시

판젤라틴과 강 등¹³⁾이 알칼리 전처리에 의해 제조한 어피젤라틴에 있어서의 7°C와 17°C 보다 낮은 것으로 측정되었다.

젤라틴의 점도는 B-type과 E-type 젤라틴이 각각 3.87 cps와 2.35cps로서 시판젤라틴의 7.16cps보다 더 낮았는데, 어피젤라틴의 경우 강 등¹³⁾은 효소 전처리한 어피젤라틴의 점도는 시판젤라틴보다 낮았지만 알칼리 전처리한 어피젤라틴은 시판젤라틴보다 높았다고 보고한 바 있다. 따라서 어뼈젤라틴의 점도가 낮아진 것으로 보아 젤라틴의 분자량이 감소한 것으로 판단된다. 그러나 모든 젤라틴은 일반적인 젤라틴의 점도 범위인 2.0~7.5cps³³⁾내에 있다.

Jelly강도는 시판젤라틴이 104g으로서 매우 높는데 반하여 어뼈젤라틴의 경우는 B-type이 21g으로서 시판젤라틴보다 매우 낮았으며 효소로 전처리한 E-type에서는 겔 형성이 일어나지 않아 측정이 불가능하였다. 이러한 결과는 강 등¹³⁾이 보고한 어피젤라틴의 jelly강도와 비슷한 결과였다. 따라서 어뼈나 어피로부터 생성된 젤라틴은 육상동물 유래의 젤라틴에 비하여 jelly강도가 현저히 낮음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 어뼈 및 어피의 전처리 과정에서 콜라겐단백질 구조의 많은 분해와 imino acid의 함량 차이에서 기인한 것으로 판단된다. Peterson³⁴⁾ 등은 소의 뼈와 가죽에서 젤라틴의 추출은 알칼리로 처리하는 것보다 효소로 처리하는 것이 훨씬 시간이 단축되는 반면에 물성의 차이는 없는 것으로 보고하였다.

등전점은 B-type과 E-type 젤라틴이 각각 pH 4.50과 4.61로서 어피젤라틴의 등전점과 유사한 것으로 나타났다. 일반적으로 젤라틴의 등전점은 pH 4.7~5.0 범위라고 보

고되어 있다³⁴⁾. B-type 젤라틴의 등전점이 낮은 것은 알칼리로 전처리되는 과정에서 아미노산 중의 glutamine과 asparagine의 아미드기가 카르복실기로 치환되기 때문이다²⁹⁾.

탁도는 어뼈 B-type과 E-type 젤라틴이 각각 2.08ppm과 4.98ppm으로서 시판젤라틴의 1.74ppm보다 불투명하였으나 어피젤라틴의 7.05ppm과 8.49ppm에 비하여 투명하였다. 전기전도도는 어뼈 B-type과 E-type 젤라틴이 각각 9.60과 4.80 $\mu\text{mho/cm}$ 로서 시판 젤라틴의 193.2 $\mu\text{mho/cm}$ 보다 낮았는데 이것은 무기질의 함량이 낮기 때문인 것으로 생각된다.

젤라틴의 기능성

시판젤라틴, 어뼈 B-type과 E-type 젤라틴 및 공업용 유화제인 Tween-60, -80의 유화성과 유화안정성을 측정된 결과는 Fig. 7과 같다. 유화성은 시판 젤라틴과 B-type 젤라틴이 50.0%로 가장 높았으며 다음으로 Tween-60과 E-type 젤라틴이 46.0%와 43.0%이고 Tween-80이 41.5%로 가장 낮았다. 유화안정성은 Tween-80이 45.9%로 가장 높았으며, B-type 젤라틴, E-type 젤라틴, 시판젤라틴 순이었고 Tween-60이 40.0%로 가장 낮았다. 이상과 같이 유화성에 있어서는 대조구로 사용된 공업용 유화제인 Tween-60, -80보다 어뼈젤라틴의 유화성이 더 좋거나 유사한 것으로 나타났으며, 유화안정성에 있어서는 공업용 유화제와 어뼈젤라틴의 경향이 비슷한 것으로 나타났다. 따라서 어뼈의 B-type젤라틴은 유화제로서 식품 및 화장품 공업에 응용이 가능할 것으로 판단된다. 한편, 김 등³⁶⁾은 어피젤라틴에 소수성의 leucine alkylester를 plastein 반응으로 도입함으로써 유화성을 상당히 증가시켰다고 보고한 바

Table 4. Physical properties of commercial gelatin, B-type and E-type gelatin.

Item	Commercial gelatin	Fish bone gelatin		Fish skin gelatin*	
		B-type	E-type	B-type	E-type
Setting point(°C)	20.5	4	—	7	2
Melting point(°C)	24	12	—	17	4
Jelly strength(g)	104	21	—	49	—
Viscosity(cps)	7.16	3.87	2.35	3.48	0.84
Isoelectric point	4.50	4.61	4.50	4.95	5.38
Tubidity(ppm)	1.74	2.08	4.98	7.05	8.49
Electric conductivity($\mu\text{mho/cm}$)	193.2	9.60	4.80	2.10	57.1

*Refer to the comment in Kang *et al.*(1992)

있으며, 이는 어뼈젤라틴에도 유화성의 증가를 목적으로 할 경우 적용 가능성이 있음을 시사해 준다.

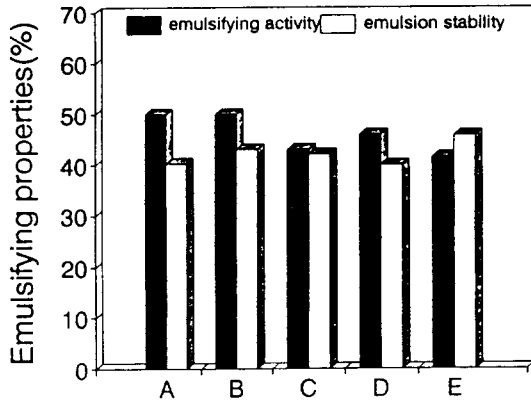


Fig. 7. Emulsifying properties of the B-type, the E-type gelatin, Tween-60 and Tween-80.

A : Commercial gelatin B : B-type gelatin
 C : E-type gelatin D : Tween-60
 E : Tween-80

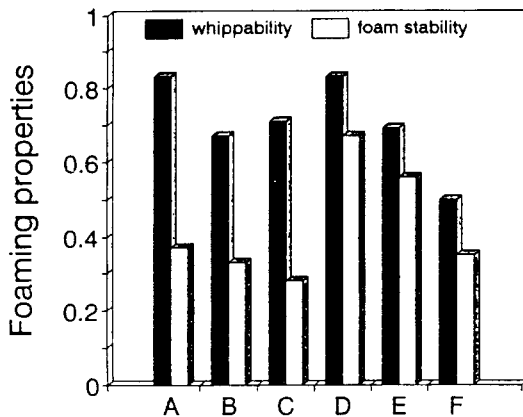


Fig. 8. Foaming properties of the B-type, the E-type gelatin, Tween-60, -80 and bovine serum albumin.

A : Commercial gelatin B : B-type gelatin
 C : E-type gelatin D : Tween-60
 E : Tween-80
 F : Bovine serum albumin

B-type과 E-type의 어뼈젤라틴에 대한 포말성 및 포말안정성을 시판젤라틴, Tween-60, -80 및 bovine serum albumin과 비교하여 측정된 결과(Fig. 8), 포말성은 시판젤라틴과 Tween-60이 0.83으로 가장 높았으며 E-type 젤라틴, Tween-80, B-type 젤라틴의 순이었고 BSA가 가장 낮았다. 포말안정성은 Tween-60이 0.67로 가장 높았으며 E-type 젤라틴이 0.28로 가장 낮게 나타났다. 어뼈젤라틴은 포말성에서 산업용 유화제인 Tween-60, -80과 비슷하였지만, 포말안정성에서는 산업용 유화제보다 조금 낮게 나타났다. 그러나 어뼈젤라틴은 시판젤라틴과는 포말성과 포말안정성에서 비슷한 양상을 보여 시판젤라틴의 대체용으로 이용할 수 있을 것이다.

결론

수산물 가공공장에서 대량으로 폐기되고 있는 어뼈를 산업적으로 유용하게 이용하기 위하여 대구뼈를 원료로 하여 서로 다른 전처리 조건으로 B-type과 E-type의 어뼈 젤라틴 제조를 위한 최적 추출조건을 검토하였으며, 아울러 최적 조건으로 제조한 어뼈젤라틴의 물리적 특성, 분자량, 아미노산 조성 및 단백질로서의 기능성 등을 시판 젤라틴의 그것들과 비교 검토하였다.

어뼈의 전처리 후 제품의 최적 추출조건은 B-type과 E-type 제품에서 첨가 수량은 시료의 5배, pH 5.0, 추출온도 60°C, 추출시간 3시간이었으며, 이때의 수율은 B-type이 32.6%, E-type이 28.1%로 B-type이 3.5%정도 더 높았다.

분자량의 분포는 어뼈 B-type 젤라틴이 대부분 80~20 KDa 부근에 그리고 E-type 젤라틴은 70~24KDa 부근에 각각 분포하고 있으며 이것은 시판젤라틴의 분자량에 비하여 상대적으로 낮았다. 아미노산 조성은 대부분 glycine, alanine, glutamic acid 및 imino acid(proline과 hydroxyproline)로 이루어져 있으며 이들이 전체 아미노산 잔기수의 68~70%를 차지하였다.

젤라틴의 물리적 성질 중, 점도는 어뼈 B-type 젤라틴이 E-type 젤라틴보다 높았으며, 어피 젤라틴과는 유사한 양상을 보였으나, 시판젤라틴보다는 낮았다. Jelly강도는 어뼈젤라틴이 시판젤라틴과 어피젤라틴보다 낮았으며, E-type 젤라틴은 겔이 형성되지 않았다.

젤라틴의 기능성 중에서 유화성, 유화안정성 및 포말성은

시판젤라틴 및 공업용 유화제와 비슷하였으며, B-type과 E-type의 차이는 거의 없었다. 그러나 포말안정성은 어뼈젤라틴과 시판젤라틴이 비슷한 양상을 보인 반면, 공업용 유화제보다는 낮았다. 결론적으로 어뼈로부터 추출한 젤라틴은 jelly강도가 낮아 젤라틴 그 자체로서의 이용은 미흡하나 유화성 및 포말성과 같은 기능성면에서 공업용 유화제를 대체할 수 있는 단백질 유화제로서의 응용은 가능하리라 판단된다.

감사의 글

본 연구는 1994년도 태평양장학문화재단의 연구비 지원에 의하여 수행되었음을 밝히며 아울러 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Mark, E. M. and Stewart, G. F. : *Advances in Food research*. vol III. Ed., Academic Press, London, 235 (1957).
2. Ward, A. G. and Counts, A. : *The science and technology of gelatin*. Ed., Academic Press, London, 188 (1977).
3. 渡瀬峰男, 西成勝好 : アガロース의 젤라틴화에對するゼラチン共存의影響. *日本食品工業學會誌*, 30(6), 368(1983).
4. 大塚龍郎 : 젤라틴화劑としてのゼラチン. *New Food Industry*, 32(4), 17(1990).
5. Astbury, W. T. : *J. Intern. Soc. Leather Trades Chemists*, 24, 69(1940).
6. 中西武雄, 藤卷正生, 安藤則秀, 佐藤泰, 中村良 : 畜産物利用學. 朝倉書店, 東京, 201(1972).
7. 관세청통계월보 : 12보(1993).
8. Nishio, T. and Hayashi, R. : Modification of physical properties of gelatin by use of an immobilized protease in combination with molecular sieve. *J. Food Sci.*, 52(2) 464(1987).
9. 김세권 : 생선껍질의 고도이용기술개발(2), 생선껍질 젤라틴의 추출정제 및 이용방안. *수산계*, 57, (1991).
10. 浜田盛承 : サメ皮ゼラチンの 젤라틴物性に ぼす 調製法の影響. *日本水産學會誌*, 56(4), 671(1990).
11. 김기현 : 어피(복쟁어피)로부터 젤라틴의 제법에 관한 연구. *부산대논문집(자연과학편)*, 14, 325(1972).
12. 이응호, 김세권, 조덕제, 김진동, 스티버노, 김수현 : 봉장어피 및 먹장어피를 이용한 피교의 가공조건과 제품의 성상. *한국수산학회지*, 11, 189(1978).
13. 강태중, 전유진, 김세권, 송대진 : 가자미피(皮) 젤라틴 제조를 위한 전처리 방법의 검토. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 25(2), 93(1992).
14. 김세권, 변회국, 이응호 : 어피젤라틴의 최적 추출조건 및 그 물성. *한국공업화학회지*, 5(3), 547(1994).
15. 이응호, 하진환, 허우덕 : 명태피 및 말쥐치피를 이용한 어교의 최적가공조건과 품질에 대하여. *한국수산학회지*, 10, 1(1977).
16. Hinterwaldner, R. : Technology of gelatin manufacture. In *"The Science and Technology of Gelatin"*, Ed., Ward, A. G. and Courts, A., Academic Press, 564 (1977).
17. AOAC : "Official Methods of Analysis." 12th Ed., *Association of Official Analytical Chemists*, Washington, DC (1975).
18. Edwards, C. A. and O'brien, W. K. : Modified assay for determination of hydroxyproline in a tissue hydrolyzate. *Clinica. Chimica. Acta*, 104, 161(1980).
19. 試藥一般試驗法, 日本工業規格(JIS), K8004(1973).
20. 試藥一般試驗法, 日本工業規格(JIS), K6503(1970).
21. Hayashi, R., Kawamura, Y., Ohtsuka, T. and Itoh, N. : Preparation of amidated gelatins and their physicochemical properties. *Agric. Biol. Chem.*, 54(9), 2213(1990).
22. 日本衛生試驗法註解, 日本藥學會編, 728(1980).
23. Watanabe, M., Toyokawa, H., Shimada, A. and Arai, S. : Proteinaceous surfactant produced from gelatin by enzymatic modification. *J. Food Sci.*, 46, 1467 (1981).
24. 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).
25. Johnson, E. A. and Brekke, C. R. : Functional properties of acylated pea protein isolates. *J. Food Sci.*, 48, 722(1983).
26. Baier, R. E. and Zisman, W. A. : Wetting properties of collagen and gelatin surfaces. In *"Applied Chemistry at Protein Interface"*, Ed., Baier, E. A., American Chemical society. 155(1975).
27. 白井拜郎 : 食用ゼラチン. *調理科學*, 11, 23(1978).
28. Johns, P. and Courts, A. : Relationship between collagen and gelatin. In *"The Science and Technology of Gelatin"*, Ed., Ward, A. G. and Court, A. Academic Press, London, England, 137(1977).
29. Watanabe, M. A and Arai, S. : Enzymatic modification of protein functionality : Implantation of potent amphiphilicity to succinylated proteins by covalent attachment of leucine alkyl esters. *Agric. Biol. Chem.*, 45(7), 1621(1981).

30. Eastoe, J. E. and Leach, A. A. : Chemical constitution of gelatin, In "*The science and technology of Gelatin*", Ed., Ward, A. G. and Courts, A. Academic Press, London, England, 73(1977).
31. 渡頼峰男, 西成勝好 : アシル化ゼラチン-アガロ-ス混合ゲルのレオロジー的性質に與える pH の影響. 日本食品工業學會誌, 31, 777(1984).
32. Hayashi, A. and Oh, S. C. : Gelation of gelatin solution. *Agric. Biol. Chem.*, 47, 1711(1983).
33. N. N. Asha, S. Das, A. K. Saha, and S. D. Battacharya, *Proc. Symp. Nucl. Phys. Solid State Phys. Chandigarh, India* PtB, 601(1964).
34. Petersen, B. R. : "*The impact of the enzymatic hydrolysis process on recovery and use of protein*", *Enzymes and Food processing*. Ed. Birch, G. and Blake, G., Applied Science, 149(1981).
35. 식품첨가물공전, 한국식품공업협회, 358(1988).
36. 김세권, 전유진 : 가자미피 젤라틴의 효소적 수식에 의한 유화제의 시제. 한국수산학회지, 24(5), 345(1991).