

## 2단계 막반응기에서 연속적으로 생산된 어피젤라틴 가수분해물의 기능성

김세권\* · 변희국 · 전유진 · 조덕제<sup>1</sup>

부산수산대학교 화학과

<sup>1</sup>동서공과대학 식품공학과

**초록 :** 연속식 2단계 막(MWCO 10,000, MWCO 5,000)반응기를 이용하여 어피젤라틴 가수분해물을 제조하여 그 가수분해물의 분자량, 아미노산조성 및 기능성에 대하여 검토하였다. 1단계 젤라틴 가수분해물의 분자량은 8~10 KDa 및 4.5~6.5 KDa이 주종을 이루었으며, 2단계 가수분해물의 분자량은 2~6 KDa 및 2 KDa 이하의 저분자 펩타이드도 존재하였다. 어피젤라틴의 아미노산조성과 1단계 및 2단계 어피젤라틴 가수분해물의 아미노산조성 사이에는 거의 차이가 없었고, 감칠맛과 단맛에 관련이 있는 아미노산 함량이 전체의 68~72%에 달한 반면, 쓴맛을 내는 아미노산 함량은 23~25%에 불과하였으며, 1단계 가수분해물에 비해 2단계 가수분해물이 단맛과 감칠맛이 더 좋았다. 1단계 및 2단계 가수분해물의 용해도는 모든 pH영역에서 완전히 용해하였으나, 유화성 및 포말성을 거의 나타나지 않았다. 완충능은 2단계 가수분해물이 가장 높았으나, 점도는 모든 pH영역에서 거의 차이가 없었으며, 어피젤라틴 보다는 가수분해물의 점도가 더 낮았다. 그리고 2단계 가수분해물은 등온흡습도가 가장 높아 수분활성 저하제로서 이용할 수 있을 것으로 판단되었다(1994년 2월 21일 접수, 1994년 4월 22일 수리).

### 서 론

식품단백질의 효소분해물이 생리작용을 나타낸다는 연구보고가 발표되면서 식품단백질이 갖는 잠재적인 생체조절기능에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>1)</sup>

1979년 Brantle 등<sup>2)</sup>은 peptone에서 2종류의 opioid 펩타이드(Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly 및 Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile)를 분리하였으며, 이들이 우유  $\beta$ -casein에서 유래된 것이라 하여  $\beta$ -casomorphin 5 및 7이라 명명하였다. 이것이 식품단백질에서 유래된 최초의 생리활성 펩타이드였다. 그 후 글루텐 유래의 opioid 펩타이드,<sup>3)</sup> 카제인 유래의 면역부활 펩타이드<sup>4)</sup> 및 angiotensin 전환효소 저해 펩타이드<sup>5)</sup> 등이 밝혀졌다.

Fischer 등<sup>6)</sup>은 펩타이드에 있어서 분기 아미노산(branched chain amino acid) 함량은 간질환의 개선효과와 깊은 관계가 있다고 하였으며, 또한 펩타이드는 그것을 구성하고 있는 유리아미노산들에 비해 솔변연막(brush border membrane)에서 유압속도(assimilation rate)의 증가와 삼투압 강화 효과가 우수하였다는 보고도 있다.<sup>7)</sup>

불활성인 전구체 단백질이 효소적인 가수분해를 받아 생긴 펩타이드가 생리활성을 나타내는 예는 많은 펩타이드 호르몬의 생합성 과정에서 볼 수 있는 현상이지만, 식품단백질도 역시 생리기능성 펩타이드의 전구체로서 파악할 필요가 있다고 본다.

소수성 아미노산이나 이들로 구성된 peptide는 쓴맛이 있는 것으로 알려져 있고, 단백질을 효소로 분해시킨 가수분해물은 일반적으로 쓴맛이 강하여 식품으로서의 이용에 제약을 받고 있다. 이런 의미에서 어떤 특성을 갖는 펩타이드 제조는 생리적 기능성 식품에 유용할 것이다.

이같은 펩타이드 생산에는 두 가지 방법을 들 수 있다. 한 가지 방법은 펩타이드를 효소적 또는 화학적으로 그들 구성아미노산으로부터 합성하는 것이고, 또 다른 방법은 효소에 의한 단백질 가수분해로 특성이 있는 펩타이드를 분리시키는 것이다. 펩타이드를 식품으로 이용할 경우 후자가 전자에 비해 경제적으로 우수할 것이다.

본 연구에서는 연속식 2단계 막반응기를 이용하여 어피젤라틴 가수분해물로부터 특징적인 펩타이드의 연

Key words : Functional properties, fish skin gelatin hydrolysate, two-stage membrane reactor

\*Corresponding author : S.-K. Kim

속적 생산을 위한 기초연구로서 먼저 그 분해물의 기능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

전보<sup>8)</sup>의 연속식 2단계 막반응기에서 생산된 1단계(MWCO 10,000) 및 2단계(MWCO, 5,000) 어피겔라틴 가수분해물을 -10°C의 냉장고에 저장하여 두고 실험 재료로 사용하였다.

### 방법

#### 1) 분자량 측정

Gel 여과법은 Heck<sup>9)</sup> 및 Vega<sup>10)</sup>의 방법에 따라 동결 건조한 가수분해물 0.1 g을 1 ml의 0.05 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해시킨 후, 동일한 buffer로 평형화된 Sephadex G-50 column(Φ2×90 cm)으로 여과하였으며, 용리액의 단백질 흡광도는 분광광도계(U-3210 Spectrophotometer, Hitachi Co.)를 사용하여 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분자량 측정에 사용된 표준 단백질은 egg albumin(MW 43,000), carbonic anhydrase(MW 29,000), cytochrome C(MW 12,400), aprotinin(MW 6,500) 및 gramicidine D(MW 2,000)를 사용하였으며, 각 표준 단백질 0.01 g씩을 각각 1 ml의 0.05 M potassium phosphate buffer에 용해시킨 후, gel여과하여 용리된 용리액을 상기와 같은 방법으로 측정하였다. 분자량 측정용 표준곡선은 Andrew<sup>11)</sup>의 방법에 따라 작성하였다.

#### 2) 아미노산 조성 분석

시료 50 mg을 각각 ampoule에 넣고 6N-HCl 2 ml를 가하여 감압밀봉한 후, 110°C의 dry oven에서 24시간 가수분해하였다. 이 분해액을 glass filter로 여과하고 감압건조하여 HCl를 완전히 제거한 다음, 물 10 ml를 가하여 다시 감압건조하여 구연산 완충액(pH 2.2)으로써 25 ml로 정용하였다. 이 용액을 일정량 취하여 아미노산 자동분석기(LKB-4150)로 분석하였다. Hydroxyproline 정량은 Feinstein과 Buck<sup>12)</sup>의 방법에 따라 측정하였다.

### 기능성 측정

#### 1) 용해도

겔라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물의 용해도를 pH의 변화에 따라 측정하였다. 즉, 각 1%(w/v) 시료용액 100 ml를 pH 자동조절기(pH/ORP controller, Cole-Parmer Co.)를 사용하여 0.1 M HCl 및 0.1 M NaOH로 pH 2에서

11까지 조절하여 20°C에서 30분간 교반한 후, 원심분리(23,000×g, 20 min)하여 상층액의 가용성 질소량을 측정하였다. 용해도는 시료 중의 질소량에 대한 상층액의 질소량으로써 계산하였다.

#### 2) 유화성 및 유화안정성

유화성은 Watanabe 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 1% 분산액을 20분간 충분히 교반한 다음, 분산액 10 ml와 대두유(동방유량 Co.) 10 ml를 혼합하여 균질기(Ace Homogenizer, AM-7)로 12,000 rpm에서 5분간 균질화시켰다. 이 유화액을 즉시 원심관(Φ12 mm×110 mm)에 넣고 원심분리(3,000×g 15 min)하여 전체 높이에 대한 유화된 층의 높이를 측정하여 계산하였다.

$$\text{유화성}(\%) = \frac{\text{유화된 층의 높이(cm)}}{\text{시험관 내의 총내용물의 높이(cm)}} \times 100$$

유화안정성은 Shimada 등<sup>14)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 유화성과 같은 방법으로 균질화시킨 유화액을 즉시 100 ml 메스실린더에 넣고 20°C에서 30분 동안 방치한 후, 유화되어 있는 층의 부피를 측정하여 계산하였다.

$$\text{유화안정성}(\%) = \frac{\text{유화된 부피(ml)}}{\text{전체부피(ml)}} \times 100$$

#### 3) 포말성 및 포말안정성

포말성과 포말안정성은 Johnson 등<sup>15)</sup>과 Watanabe 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 각각 실시하였다. 각각 1%의 분산액 20 ml를 만들어 0.1 M-HCl 및 0.1 M-NaOH로 pH 2에서 pH 11까지 조절하여 그 용액을 균질기(Ace Homogenizer, AM-7)로 3분간 10,000 rpm에서 포립시킨 후, 즉시 250 ml 메스실린더에 옮긴 다음 30초 후에 전체량, 거품량 및 물총의 부피를 각각 측정하여 계산하였다.

$$\text{포말성} = \frac{\text{전체부피(ml)} - \text{물총부피(ml)}}{\text{전체부피(ml)}}$$

포말안정성은 포립된 각 시료를 250 ml 메스실린더에 옮긴 후, 20°C에서 30분간 정지시킨 후 남아 있는 물총을 측정하여 포말안정성을 계산하였다.

$$\text{포말성안정성} = \frac{\text{전체부피(ml)} - \text{물총부피(ml)}}{\text{최초부피(ml)}}$$

#### 4) 등온 흡습도

겔라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물의 등온 흡습도는 Lang 등<sup>16)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 즉, Conway unit에 수분활성도(water activity, Aw)가 다른 염용액 3 ml를 외실에 넣고, 각 시료 1 g을 정평하여 내실에 넣은 다음

Conway unit에 vaselin을 발라 외부 공기의 접촉을 차단한 후 21°C로 조절된 dry oven에 Conway unit를 넣고 경시적으로 시료의 무게를 측정하였다.

Conway unit내의 습도를 달리하기 위하여 사용된 포화 염용액들의 21°C에서 수분활성도는 다음과 같다.

Salts	Water activity
BaCl <sub>2</sub>	0.9103
BaCl <sub>2</sub>	0.8899
K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	0.8585
Li <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.8422
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.8134
NaCl	0.7545
NaBr	0.5914
MgCl <sub>2</sub>	0.3307

### 5) 전기전도도 측정

전기전도도의 측정은 Shimada 등<sup>14)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물을 탈이온수 50mL에 각각 0.01~0.2%까지 가하여 용액을 만든 다음, 20°C에서 30분간 방치시킨 후 Conductivity Meter(Metrohm Ltd)로 측정하였다.

### 6) 완충능(Buffer capacity)

젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물 용액의 pH 완충능은 Vega<sup>15)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 각각 1% (w/v) 용액 100mL를 만들어 3분간 교반한 후, 1M-HCl 및 1M-NaOH 용액으로 적정하면서 각각 pH를 달리할 때 소요되는 HCl 및 NaOH의 mole로써 나타내었다.

### 7) 점도

젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물을 1% (w/v) 용액으로 만들어 1N-HCl 및 1N-NaOH로 pH 3~11까지 조절하여 2시간 동안 방치한 후, 20°C에서 측정하였다. 각 시료용액의 점도는 Ostwald viscometer를 사용하여 물을 대조구로 하여 측정하였다.

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

## 결과 및 고찰

### 분자량

1단계 및 2단계 가수분해물의 분자량을 측정하기 위해 Sephadex G-50이 충진된 철럼에 표준 단백질(egg albumin, MW 43,000; Carbonic anhydrase, MW 29,000; Cytochrome C, MW 12,400; Aprotinin, MW 6,500; Gramicidin D, MW 2,000)을 용리하여 Andrew<sup>16)</sup>의 방법으로 표준곡선을 작성하였다. 1단계 및 2단계 막반응기에서 각 효소로 분해된 젤라틴 가수분해물을 Sephadex G-50 gel로 분리한 획분의 분자량 분포는 Fig. 1과 같다. 1단계 가수분해물의 분자량은 2~13 KDa으로 폭넓게 분포되어 있으며, 그 중에서 8~10 KDa 및 4.5~6.5 KDa이 주종을 이루고 있었다.

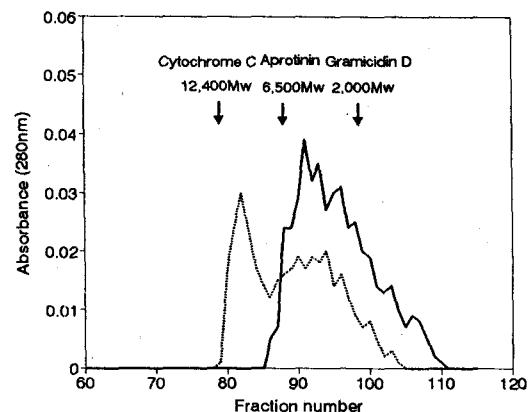


Fig. 1. Molecular weight distribution profiles of 1st-step (---) and 2nd-step (—) hydrolysate on Sephadex G-50 column ( $\phi 2 \times 90$  cm) by gel filtration [eluent: 0.05 M sodium phosphate buffer (pH 7.5), flow rate: 12 mL/hr, fraction volume: 2.5 mL].

cidine D, MW 2,000)을 용리하여 Andrew<sup>16)</sup>의 방법으로 표준곡선을 작성하였다. 1단계 및 2단계 막반응기에서 각 효소로 분해된 젤라틴 가수분해물을 Sephadex G-50 gel로 분리한 획분의 분자량 분포는 Fig. 1과 같다. 1단계 가수분해물의 분자량은 2~13 KDa으로 폭넓게 분포되어 있으며, 그 중에서 8~10 KDa 및 4.5~6.5 KDa이 주종을 이루고 있었다.

2단계 가수분해물의 경우, 분자량 분포는 2~6 KDa 영역의 분자량이 주종을 이루고 있었으며, 2 KDa 이하의 분자량은 1단계 가수분해물에 비해 많이 존재하였다.

Weiss<sup>17)</sup>는 pepsin에 의한 젤라틴 가수분해물의 분자량은 69 KDa 및 21 KDa였다고 보고하였고, Nishio와 Hayashi<sup>18)</sup>는 유리 protease와 고정화 protease로 젤라틴을 가수분해한 결과, 유리 protease가 고정화 protease보다 젤라틴의 분해시간이 짧았을 뿐만 아니라 웨타이드의 분자량도 작았다고 보고하였다. 김 등<sup>19)</sup>은 대구피를 collagenase로 가수분해시킨 가수분해물의 분자량은 10~20 KDa 범위였고, pronase로 처리한 것은 15 KDa이 주종을 이루었으나, collagenase로 1시간 분해 후, pronase로 다시 3시간 분해시킨 것은 7~10 KDa 범위였다고 하였으며, Turgeon과 Gauthier<sup>20)</sup>는 2단계 막 (1단계 30,000 cut off, 2단계 1,000 cut off) 반응기에서 trypsin과 chymotrypsin으로 whey protein concentrate를 가수분해하여 분자량을 측정한 결과, 1단계에서는 5~20 KDa이었으나 2단계에서는 유리아미노산 및 2 KDa 이하였다고 보고한 바 있다. 본 실험에서는 trypsin으로 2시간 동안 가수분해시켜 MW 10,000 cut off 막을 통

과시킨 가수분해물을 pronase E로 다시 2시간 분해시킨 후, MW 5,000 cut off 막을 통과한 2단계 가수분해물은 이들이 보고한 분자량보다 비교적 작았으며, 1단계 및 2단계 가수분해물 중에서 분자량 2 KDa 이하의 저분자 펩타이드의 함량은 적었다. 이와 같이 서로 다른 효소를 사용하여 2단계로 젤라틴을 가수분해하여도 유리아미노산 함량이 적은 것은 젤라틴 중에 Gly-Gly, Gly-Pro 사슬이 많고, 이들 사슬의 절단이 어렵기 때문이다.<sup>21)</sup> Deeslie와 Cheryan<sup>22)</sup>은 대두단백질을 pronase로 가수분해한 가수분해물을 MW 10,000 cut off 막으로 통과시켜 분자량을 측정한 결과, 주요 분자량 분포는 MW 2.4 KDa 이었다고 보고한 바 있다.

### 아미노산조성

1단계 및 2단계 젤라틴 가수분해물의 아미노산 조성을 젤라틴의 아미노산조성과 비교한 결과는 Table 1과 같다. 젤라틴의 아미노산조성과 1단계 및 2단계 가수분해물의 아미노산 조성간에는 거의 차이가 없었으며, 양적으로 많은 아미노산은 glycine, alanine, glutamic acid 및 arginine이었으며 이들 4종의 아미노산이 전체 아미노산의 절반 이상을 차지하였다. 그리고 단맛을 내는 glycine, proline, alanine, hydroxyproline 및 serine 함량은 전체 아미노산의 50~52%였고, 감칠맛 및 신맛을 내는 glutamic acid 및 aspartic acid가 전체의 18~20%로 결국 바람직한 맛과 관련이 있는 아미노산은 전체의 약 68~72%에 달하였다. 반면 쓴맛과 관련이 있는 아미노산인 valine, leucine, phenylalanine, tyrosine, methionine, arginine 및 histidine 함량은 전체 아미노산의 23~25%에 불과했다. 특히 쓴맛 아미노산 중 양적으로 가장 많은 arginine은 감칠맛 아미노산: 단맛 아미노산: 쓴맛 아미노산 비가 2:2:1로 될 때 오히려 좋은 맛의 느낌을 준다고 한다.<sup>14)</sup> 佐伯<sup>23)</sup>은 젤라틴을 아미노산 수준까지 분해시킨 가수분해물은 단맛을 내는 아미노산들이 전체 아미노산의 50% 이상을 차지하고 있어 단맛이 있고, 변질하기 쉬운 쓴맛을 내는 아미노산, 악취를 생성하기 쉬운 methionine과 cysteine 함량이 매우 적다고 보고 하였으며, 山本 등<sup>24)</sup>은 콜라겐 또는 젤라틴과 탈지대두를 혼합하여 protease로 분해시키면 맛이 좋은 조미료를 제조할 수 있다고 하였다. Adler-Nissen<sup>25)</sup>은 단백질 가수분해물의 쓴맛은 사용한 효소보다는 단백질을 구성하는 소수성 아미노산의 함량과 관계 있다고 보고한 바 있다.

본 실험에서 1단계 및 2단계 젤라틴 가수분해물은 젤라틴과의 아미노산 조성간에는 큰 차이는 없었으나,

Table 1. Amino acid compositions of fish skin gelatin, 1st-step hydrolysate and 2nd-step hydrolysate (g-amino acid/100 g-protein)

Amino acid	Gelatin	1st-step hydrolysate	2nd-step hydrolysate
Hypro	6.13	5.65	6.00
Asp	8.22	7.63	7.15
Thr	2.26	2.65	2.88
Ser	7.65	7.25	7.01
Glu	12.17	11.48	11.14
Gly	20.75	20.40	20.25
Ala	9.61	9.52	9.45
Cys	1.80	1.70	1.75
Val	2.99	3.05	3.15
Met	2.32	3.00	3.00
Ile	1.82	2.11	2.41
Leu	3.20	3.40	3.53
Tyr	2.01	2.33	2.35
Phe	3.00	3.30	3.41
Lys	4.18	4.22	4.24
His	1.03	1.20	1.16
Arg	9.20	9.21	9.37
Pro	7.80	7.57	7.75
Total	100.00	100.00	100.00

가수분해물은 저분자성 펩타이드로 인하여 맛은 젤라틴에 비해 월등히 좋았으며, 특히 2단계 가수분해물이 1단계에 비해 맛이 더 좋았다. 따라서 2단계 가수분해물은 천연조미료의 소재로서 이용이 가능할 것으로 판단된다.

### 기능성

#### 1) 용해도

젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물들의 pH변화에 따른 용해도를 측정한 결과, 모두 pH변화에 관계없이 모든 영역에서 용해도는 100%였다. Chobert 등<sup>26)</sup>은 protease에 의한 casein 가수분해시 가수분해물의 용해도는 casein의 용해도에 비해 현저하게 증가되었다고 하였고, Parrado 등<sup>27)</sup>은 해바라기 단백질의 용해성을 높이기 위하여 Kerase로 가수분해하여 한외여과막을 통과시킨 가수분해물의 용해도는 100%였다고 보고하였고, Deeslie와 Cheryan<sup>22)</sup>은 막반응기를 이용한 pronase로 대두 단백질을 가수분해시 가수분해물의 pH에 따른 용해도를 측정한 결과, pH 7.0에서 가수분해물의 용해도는 99%였지만, 대두단백질은 87%만이 용해되었고, 또 시간별로 분획한 가수분해물의 용해도를 pH에 따라 측정한 결과, 가수분해시간 1~7시간에서 얻어진 가수분해물의 용해

Table 2. Emulsifying capacity and stability of fish skin gelatin, 1st-step hydrolysate and 2nd-step hydrolysate at various pHs

pH	Emulsifying capacity (%)			Emulsifying stability (%)		
	Gelatin	1st-step hydrolysate	2nd-step hydrolysate	Gelatin	1st-step hydrolysate	2nd-step hydrolysate
2	31.43	—	—	24.82	—	—
3	62.37	—	—	55.99	—	—
4	56.20	—	—	55.51	—	—
5	13.96	—	—	6.71	—	—
6	12.95	—	—	11.38	—	—
7	17.48	—	—	12.76	—	—
8	19.09	—	—	12.65	—	—
9	20.77	—	—	12.07	—	—
10	21.79	—	—	14.67	—	—
11	33.14	—	—	14.75	—	—

도는 100%였으나, 42시간 및 86시간에서 얻어진 가수분해물은 용해도가 오히려 감소하였는데, 그 원인은 막반응기의 장시간 작동으로 인하여 효소의 활성이 감소하였기 때문이라고 보고한 바 있다.

### 2) 유화성 및 유화안정성

젤라틴의 유화성 및 유화안정성은 Table 2에서와 같이 pH 3~4 부근에서 가장 높았으며, 등전점 부근인 pH 5에서 급격히 감소하다가 pH가 그 이상으로 증가함에 따라 유화성은 약간 증가하는 경향을 보였다. 그러나 1단계 및 2단계 가수분해물은 모든 pH 영역에서 유화성 및 유화안정성이 나타나지 않았다.

Saito 등<sup>28)</sup>은 trypsin으로 bovine serum albumin을 가수분해시킴으로써 유화성 지표(EAI)가 40% 이상 증가하였으며, 특히 분자량이 24 KDa인 펩타이드가 유효면에 잘 흡착하는 것을 볼 수 있었다고 하였고, Turgeon 등<sup>29)</sup>은 한의여과막을 통해 얻은 trypsin 가수분해물의 용해도와 유화성 사이에는 어떠한 상관관계도 나타나지 않았으나 pH와 이온강도가 펩타이드의 유화성에 영향을 주었다고 보고하였다. Lee 등<sup>30)</sup>은  $\beta$ -casein의 chymotrypsin 가수분해물로부터 얻은 17잔기의 소수성 펩타이드는 중성 pH에서 거의 유화성이 나타나지 않았지만,  $\kappa$ -casein으로부터 유도된 친수성 glycomacropeptide와 혼합한 경우는 유화성이 크게 나타났다고 하였고, Saito 등<sup>31)</sup>은 trypsin으로 혈장 단백질을 가수분해하여도 유화활성을 거의 변화되지 않았지만, pepsin으로 분해한 경우는 유화활성이 약 50% 감소하였으며, 이들을 가열처리하면 trypsin으로 분해한 것은 혈장단백질과 마찬가지로 유화활성을 저하하였지만, pepsin으로 분해한 것은

유화활성의 변화가 낮았다. 이들은 가수분해물의 한의여과 조건을 조합시키면 용해도 및 유화활성을 개선시킬 수 있다고 보고한 바 있다. Sylvie 등<sup>32)</sup>은 2단계 한의여과막 공정에서 얻어진 유청펩타이드의 유화성을 측정한 결과, 유청펩타이드는 유청단백질보다 유화성이 낮았으며, trypsin으로 분해시킨 유청가수분해물이 chymotrypsin에 의한 가수분해물보다 더 좋았고, 가수분해물에서 아미노산과 저분자 펩타이드를 제거시킨 것이 유화성이 더 좋았다고 보고하였다. Adler-Nissen과 Olsen<sup>33)</sup>도 단백질의 가수분해도를 조절함으로써 유화성을 향상시킬 수 있다고 보고한 바 있다. 본 실험에서 1단계 및 2단계 가수분해물에서 유화성이 나타나지 않은 것은 저분자 펩타이드 함량이 높기 때문이라 생각되지만, 여기에 소수성 peptide를 혼합하게 되면 유화성을 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다.

### 3) 포말성 및 포말안정성

젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물의 pH 변화에 따른 포말성 및 포말안정성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 포말성은 젤라틴의 경우 pH 2, pH 6 및 pH 11에서 다소 높았으며, 1단계 가수분해물은 pH 2에서 3.10으로 가장 높았을 뿐 다른 pH영역에서는 거의 일정하였다. 그러나 2단계 가수분해물의 포말성은 모든 pH영역에서 나타나지 않았다. 이와 같이 가수분해물의 포말성은 젤라틴의 포말성에 비해 낮았는데 이것은 젤라틴의 효소적 가수분해에 의한 펩타이드의 증가로 인한 소수성의 감소 및 점도의 감소와 연관이 있는 것으로 판단된다. 포말안정성은 젤라틴의 경우 pH 2 및 pH 6에서 높게 나타났지만, 1단계 및 2단계 가수분해물들은 pH변화에 따라 포말안

Table 3. Foaming capacity and stability of fish skin gelatin, 1st-step hydrolysate and 2nd-step hydrolysate at various pHs

pH	Foaming capacity			Foaming stability		
	Gelatin	1st-step hydrolysate	2nd-step hydrolysate	Gelatin	1st-step hydrolysate	2nd-step hydrolysate
2	3.15	3.10	—	2.22	0.80	—
3	2.80	1.55	—	1.95	0	—
4	3.00	1.65	—	1.95	0	—
5	2.70	1.15	—	1.90	0	—
6	3.15	1.25	—	2.36	0	—
7	2.80	1.30	—	2.00	0	—
8	2.50	1.30	—	2.00	0	—
9	2.45	1.35	—	1.40	0	—
10	2.45	1.25	—	1.35	0	—
11	3.85	1.30	—	1.40	0	—

정성은 나타나지 않았다. Watanabe 등<sup>13)</sup>은 젤라틴의 포말성은 succinyl화된 젤라틴보다 다소 감소하였지만, 포밀안정성은 오히려 젤라틴이 약간 높다고 하였으며, Grunden 등<sup>34)</sup>은 trypsin으로 처리된 albumin 가수분해물은 대조구인 albumin에 비해 포말성이 높았으나, 포밀안정성은 대조구에 비해 낮았다고 하였고, Shimada 등<sup>14)</sup>은 papain으로 효소수식 젤라틴을 가수분해하여 그 가수분해물을 pH에 따라 포말성을 측정한 결과, pH 1.0에서 포말성이 가장 높았으나 pH가 높아짐에 따라 포밀성 및 포밀안정성이 감소되었다고 보고하였다. Deeslie과 Cheryan<sup>22)</sup>은 막반응기에서 7시간 동안 대두단백질을 protease로 분해한 분해물의 포밀성을 pH별로 측정한 결과, pH 7에서 가장 높았으며 pH 4.6 및 3.0에서 포밀성은 감소하였고, 포밀안정성은 매우 낮았다고 보고한 바 있다. 그러나 본 실험에서 젤라틴의 2단계 가수분해물은 1단계에 비해 전혀 포밀성이 나타나지 않은 것은 5 KDa 이하의 저분자 펩타이드이기 때문이라 생각된다. Townsend와 Nakai<sup>35)</sup>는 6종의 단백질을 Alcalase로 가수분해시킴으로써 분산성은 증가하였지만, 소수성 포밀성은 감소되었는데 이같은 결과는 가수분해에 따라 펩타이드에 전하밀도가 증가되었기 때문이라고 하였고, 가수분해물의 포밀성이 낮은 것은 점도와 소수성의 감소에 기인된다고 하였으며, 높은 포밀성을 얻기 위한 최적 가수분해조건의 선택은 가수분해도와 밀접한 관계에 있는 용해도, 소수성 및 점도를 고려해야 한다고 보고한 바 있다.

#### 4) 등온 흡습도

등온흡습도는 Lang 등<sup>16)</sup>의 방법에 따라 수분활성도

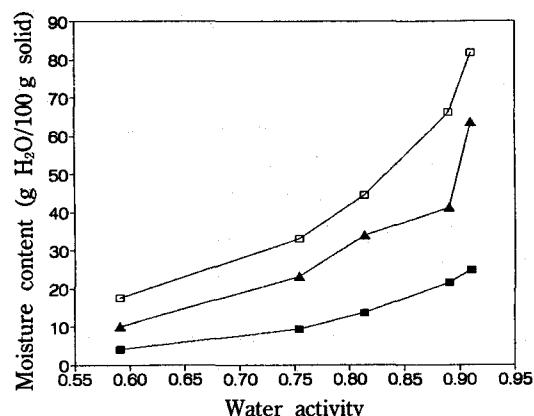


Fig. 2. Moisture adsorption isotherms of fish skin gelatin [■], 1st-step hydrolysate [▲] and 2nd-step hydrolysate [□] at 21°C.

(Aw)가 0.33~0.91을 갖는 포화된 염용액을 사용하여 젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물의 흡습도를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 수분활성도가 증가함에 따라 젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물 모두 평균수분흡수량은 증가하였으며, 그 중 2단계 가수분해물이 가장 높았다.

Beuchat 등<sup>36)</sup>은 peanut 단백질을 효소 처리한 것이 미처리한 것에 비해 물흡착력이 높았는데 이것은 단백질이 가수분해됨에 따라 카르복시기와 아미노기 같은 극성부위의 수가 증가되기 때문이라 하였고, Anderson과 Witter<sup>37)</sup>은 22종류의 L-amino acid의 등온흡습도(수분활성도 0.331~0.946)를 측정한 결과, proline과  $\gamma$ -aminobutyric acid가 다른 아미노산에 비해 등온흡습도가 가장

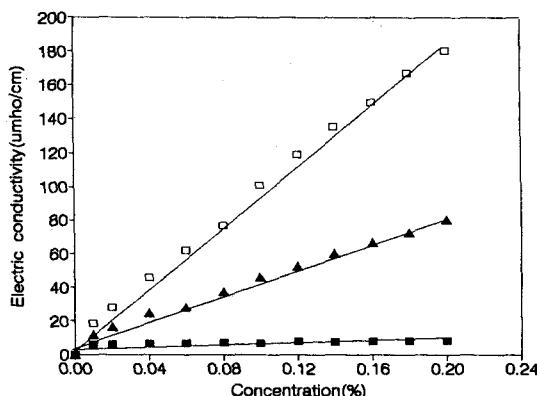


Fig. 3. Electric conductivity according to concentration of fish skin gelatin [■], 1st-step hydrolysate [▲] and 2nd-step hydrolysate [□].

높았다고 하였으며, Vallejo-cordoba 등<sup>38)</sup>은 효소로 대두 단백질을 가수분해시킨 가수분해물이 대두단백질보다 수분활성이 낮았다고 보고하였고, Deeslie와 Cheryan<sup>22)</sup>은 대두단백질을 pronase로 가수분해한 가수분해물의 등온흡습도를 수분활성도 0.3~0.9까지 측정한 결과, 등온흡습도는 대두단백질보다 대두단백질가수분해물이 높게 나타났다고 보고하였다. Guilbert 등<sup>39)</sup>은 효소적 가수분해물이 물의 활성을 저하시키는 효과는 있었지만, 가수분해물의 혼입에 의해 육제품에서 쓴맛이 있다고 하였고, Lang 등<sup>16)</sup>은 수분활성도 0.9103에서 corn starch와 soy flour의 등온흡습도를 측정한 결과, 시료 100 g당 각각 25.60 및 28.85 g이었다고 보고하였는데 본 실험에서는 수분활성도 0.9103에서 젤라틴의 경우만이 24.86 g으로 이들의 값보다 적었지만, 1단계 및 2단계 가수분해물은 각각 63.67 및 81.9 g으로 월등히 높았다. 이와 같이 젤라틴에 비해 1단계 및 2단계 가수분해물의 등온흡습도가 높았는데 이것은 젤라틴의 가수분해도가 높을수록 유리되는 amino기 또는 carboxy기와 같은 극성기의 수가 증가되기 때문으로 생각되며, 이같은 가수분해물의 보수력의 증가는 중간수분식품(intermediate moisture food)의 처방(formulation)에 응용할 수 있을 것이다.<sup>40)</sup>

##### 5) 전기전도도

젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물의 전기전도도를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 탈이온수에 각 기질농도를 0.01~0.2%까지 변화시키면서 전기전도도를 측정한 결과, 2단계 가수분해물, 1단계 가수분해물, 젤라틴 순으로 농도에 따라 비례적으로 전기전도도가 증가하는 경향을 보였다. 이러한 원인은 젤라틴에 비해 1단계 및 2단계

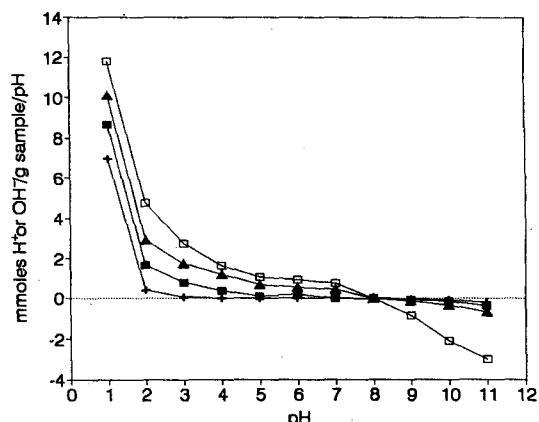


Fig. 4. Buffering capacity of the water [+] , fish skin gelatin [■], 1st-step hydrolysate and 2nd-step hydrolysate [□].

가수분해물의 펩타이드가 갖는 하전량의 증가에 기인되기 때문이라 생각된다.

Townsend와 Nakai<sup>35)</sup>은 단백질의 효소적 가수분해는 가수분해물 중에 펩타이드 수의 많아짐에 따라 전하밀도가 증가한다고 하였으며, 이 전하밀도의 증가는 단백질의 분산성을 높이고, 소수성을 감소시키기 때문에 결과적으로 포밀성 및 포밀안정성이 저하된다고 보고한 바 있다. 본 실험에서도 젤라틴을 1단계 및 2단계로 효소적 가수분해시 2단계, 1단계 젤라틴 가수분해물의 순으로 전하밀도가 증가하기 때문에 인해 전기전도도가 높게 나타나는 것으로 판단된다.

##### 6) 완충능(Buffer capacity)

젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물 용액의 pH 완충능은 Fig. 4에서와 같이 2단계 가수분해물이 가장 높게 나타났다. 각 시료용액의 완충능은 두 pH 사이에서 물과 시료용액의 곡선으로 둘러싸인 면적으로 나타내었다. 따라서 완충능은 두 pH사이에 수반된 시료성분의 존재로 인한 산 또는 알칼리의 알짜전하의 소요량으로 정의할 수 있다. Vega<sup>10)</sup>는 유청단백질(whey protein) 용액의 pH 완충능은 모든 pH 영역에서 어육단백질보다 높다고 보고하였으며, 어육단백질 생성물들 사이에는 거의 유사한 경향을 보였다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 2단계 가수분해물 용액의 pH 완충능이 높은 것은 효소에 의한 가수분해도가 높을수록 펩타이드의 알짜전하가 증가되기 때문이라 생각되며, 이것은 전기전도도에서와 같은 경향으로 보아 알 수 있었다.

##### 7) 점도

젤라틴, 1단계 및 2단계 가수분해물의 점도는 Fig. 5와

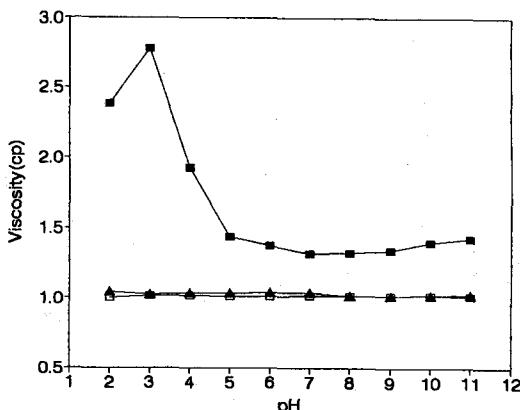


Fig. 5. Viscosity of fish skin gelatin [■], 1st-step hydrolysate [▲] and 2nd-step hydrolysate [□] at various pH values.

같이 1단계 및 2단계 가수분해물의 경우, 모든 pH 영역에서 거의 일정하였으며, 이를 상호간에도 차이가 없었다. 그러나 젤라틴의 경우 pH 5 이하의 산성영역에서는 가수분해물보다 1.5~3배 가량 점도가 높게 나타났으며, pH 5 이상의 영역에서도 가수분해물보다 대체적으로 높게 나타났다. 특히 젤라틴의 점도는 pH 3에서 가장 높았으며, pH 5 이상에서는 거의 일정하다가 알칼리 영역에서 약간 증가하였다. 따라서 젤라틴을 가수분해하였을 때는 점도가 감소하는 것으로 나타났다.

Nishio와 Hayashi<sup>18)</sup>는 고정화 protease를 이용한 젤라틴 가수분해물의 공정 중 가수분해물의 젤강도 변화를 측정한 결과, 가수분해 초기단계에서 점도는 감소되었으며, 젤라틴의 가수분해도가 15%일 때 점도는 절반으로 떨어졌다고 보고하였다. 또한, Fox 등<sup>41)</sup>과 Adler-Nissen<sup>25)</sup>은 단백질의 효소적 가수분해는 단백질보다 2차 구조가 적고 분자량이 작은 펩타이드의 생성으로 인해 모든 pH영역에서 단백질 가수분해물의 점도가 단백질 보다 낮았다고 보고하였는데, 이러한 보고는 본 실험의 결과와 잘 일치하고 있다. 한편, Townsend와 Nakai<sup>35)</sup>는 단백질 용액의 점도는 분자량 크기, 모양, 수화정도, 내부분자간 상호작용에 의해 영향을 받으며, 점도가 증가 할수록 포말성을 증가시킨다고 보고하였다. Shimada 등<sup>14)</sup>은 젤라틴 가수분해물의 점도는 pH의 변화에 의해 큰 영향을 받지 않는다고 보고하였는데 이것은 본 실험결과와 일치하였다.

### 감사의 글

이 연구는 1992년도 교육부지원 학술진흥재단의 자

유공모과제 학술연구조성비에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

- Yoshikawa, M., Yoshimura, T. and Chiba, H.: Agric. Biol. Chem., 48 : 3185(1984)
- Brantl, V., Teschemacher, H., Henschen, A. and Lottspeich, F.: Z. Physiol. Chem., 360 : 1211(1979)
- Loukas, S., Varoucha, D., Zioudrou, C., Streaty, R. A. and Klee, W. A.: Biochemistry, 22 : 4567(1983)
- Parker, F., Migliore-Samour, D., Flioc'h, F., Zerial, A., Werner, G. H., Jolles, J., Casaretto, M., Zahn, H. and Jolles, P.: Eur. J. Biochem., 145 : 677(1984)
- Maruyama, S., Nakagomi, Tomizuka, N. and Suzuki, H.: Agric. Biol. Chem., 49 : 1405(1985)
- Fischer, J. E., Rosen, H. M., Ebeid, A. M., James, J. H., Keane, J. M. and Soeters, P. B.: Surgery, 80 : 77(1976)
- Muto, Y.: Shoka Kyushu, Daiichi Shuppan, Tokyo, p. 234(1988)
- 김세권, 변희국, 전유진, 양현필, 조덕제: 한국농화학회지, 투고 중
- Heck, N. E.: Doctor's Thesis, University of Washington, p. 84(1983)
- Vega R.: Doctor's Thesis, University of Reading, p. 84(1987)
- Andrews P.: Biochem. J., 91 : 222(1964)
- Feinstein, G. R. and Buck, E. M.: J. Food Sci., 49 : 289(1984)
- Watanabe, M., Toyokawa, H., Shimada, A. and Arai, S.: J. Food Sci., 46 : 1467(1981)
- Shimada, A., Yamamoto, I., Sase, H., Yamazaki, Y., Watanabe, M. and Arai, S.: Agric. Biol. Chem., 48 : 2681(1984)
- Johnson, E. A. and Brekke, C. R.: J. Food Sci., 48 : 722(1983)
- Lang, K. W., Mccune, T. D. and Steinberg, M. P.: J. Food Sci., 46 : 936(1981)
- Weiss, J. B.: International review of connective tissue research; Enzymatic degradation of collagen, 7 : 102(1976)
- Nishio, T. and Hayashi, R.: J. Food Sci., 52 : 464 (1987)
- 김세권, 양현필, 이옹호: 한국생물공학회지, 6 : 327 (1991)
- Turgeon, S. L. and Gauthier, S. F.: J. Food Sci., 55 : 106(1990)

21. 丹戸, 秀昭, 福田, 西田, 洋子: New Food Industry, 18 : 12(1984)
22. Deeslie, W. D. and Cheryan, M.: J. Agric. Food Chem., 36 : 26(1988)
23. 佐伯邦臣: フ-ドケミカル, 2 : 44(1985)
24. 山本淳, 石田覽吾, 大喜弘: 特許公報, 55-29659993 (1979)
25. Adler-Nissen: J. Agric. Food Chem., 24 : 1090(1976)
26. Chobert, J. M., Sitohy, M. Z. and Whitaker, J. R.: J. Agric. Food Chem., 36 : 220(1988)
27. Parrado, J., Millan, F., Hernandez-Pinzon, I., Bautista, J. and Machado, A.: J. Agric. Food Chem., 41 : 1821(1993)
28. Saito, M., Chikuni, K., Monma, M. and Shimizu, M.: Biosci. Biotech. Biochem., 57 : 952(1993)
29. Turgeon, S. L., Gauthier, S. F. and Paquin, P.: J. Food Sci., 57 : 601(1992)
30. Lee, S. W., Shimizu, M., Kaminogawa, S. and Yamauchi, K.: Agric. Biol. Chem., 51 : 161(1987)
31. Saito, M., Taira, H., Shimizu, M. and Yamauchi, K.: J. Jpn. Soc. Food Sci. Tech., 38 : 920(1991)
32. Sylvie, L., Turgeon, S. L., Sylvie F., Gauthier S. F. and Paquin, P.: J. Agric. Food Chem., 39 : 673 (1991)
33. Adler-Nissen, J. and Olsen: In functionality and protein structure; Pour-EI, A., Ed., ACS Symposium Series 92; American Chemical Society: Washington, DC,(1979)
34. Grunden, L. P., Vadehra, D. V., Baker, R. C.: J. Food Sci., 39 : 841(1974)
35. Townsend, A. A. and Nakai, S.: J. Food Sci., 48 : 588(1983)
36. Beuchat, L. R., Cherry, J. P. and Quinn, M. R.: J. Agric. Food Chem., 23 : 616(1975)
37. Anderson, C. M. and Witter, L. D.: J. Food Sci., 47 : 1952(1982)
38. Vallejo-cordoba, B., Nakai, S., Powrie, W. D. and Beveridge, T.: J. Food Sci., 51 : 1156(1986)
39. Guilbert, S., Clement, O. and Cheftel, J. C.: Lebensm. Wiss. u. Technol., 14 : 245(1981)
40. Puski, G.: Cereal Chem., 52 : 655(1975)
41. Fox, P. F., Morrissey, P. A., Mulvihill, D. M.: In Developments in Food Proteins, Hudson, B. J. F., Ed., Applied Science Publishers, London(1982)

---

### Functional Properties of Fish Skin Gelatin Hydrolysate from a Continuous Two-Stage Membrane Reactor

Se-Kwon Kim\*, Hee-Guk Byun, You-Jin Jeon and Duck-Jae Cho<sup>1</sup> (Department of Chemistry, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea, <sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Dong Sae College, Pusan 616-010, Korea)

**Abstract :** The fish skin gelatin hydrolysates were produced using a continuous two-stage membrane (MWCO 10,000, MWCO 5,000) reactor, and molecular weights, amino acids and functional properties of the hydrolysates were investigated. The major molecular weights distribution of the major fractions were 8~10 KDa and 4.5~6.5 KDa in the 1st-step hydrolysates, 2~6 KDa and 0.5~2 KDa in the 2nd-step hydrolysates. Among the amino acids in the hydrolysates, glycine, proline, serine, alanine, hydroxyproline, glutamic acid and aspartic acid having sweet taste were responsible for 68~72% of the total amino acids. But valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine and histidine having a bitter taste were only 23~25%. Taste evaluations show that the gelatin hydrolysates have a brothy and sweet taste, 2nd-step hydrolysate have more a favorable taste than 1st-step hydrolysate. The hydrolysates were completely soluble and clear over the entire pH range. Moisture sorption at intermediate water activities of the 2nd-step hydrolysate was much higher than the unmodified fish skin gelatin, but foaming and emulsification properties were poor. Buffer capacity of the 2nd-step hydrolysate was higher than the fish skin gelatin and 1st-step hydrolysate, while viscosities of the hydrolysates were lower than the fish skin gelatin.