

## 말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 물리화학적 특성

김세권 · 강옥주\* · 곽동채\*\*

부산수산대학교 화학과, \*동주여자전문대학 식품영양과,  
국립부산검역소 식품검사과

**초록 :** 말쥐치피 및 대구피로부터 콜라겐을 추출하여 그 물리화학적 특성을 비교 검토하였다. 아미노산 조성 중 glutamic acid, hydroxyproline, valine 및 phenylalanine은 말쥐치피 콜라겐이 대구피 콜라겐보다 함량이 높았으나, glycine, proline 및 serine은 오히려 낮았다. 필수아미노산 함량은 말쥐치피 콜라겐이 1,000잔기 중 265잔기로 대구피의 229잔기보다 높았다. 말쥐치 및 대구피 콜라겐의 용해도는 모두 pH 7.0에서 가장 낮았으며, pH 5.0 이하의 산성영역에서 용해도가 급격히 증가하였다. 점도는 말쥐치피 콜라겐이 대구피 콜라겐보다 높았으며, 각각 pH 4.0 및 pH 2.0에서 가장 높았으나, pH 7.0에서는 모두 가장 낮았다. 콜라겐의 변성온도는 말쥐치피 콜라겐이 25°C로 대구피의 17°C 보다 높았다. 콜라겐 구성 아미노산의 측쇄 중 소수성 잔기의 노출 정도는 대구피 콜라겐이 50°C, 말쥐치피 콜라겐은 60°C 까지 증가하였으나 그 이후에는 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 대구피 콜라겐이 말쥐치피 콜라겐에 비해 표면 소수성 노출 정도가 약간 높았다. 보수력은 pH 7.0에서 모두 가장 낮았으며, 대구피 콜라겐이 말쥐치 콜라겐에 비해 높았다. 유화성 및 유화안정성은 대구피 콜라겐이 말쥐치피 콜라겐보다 우수하였다(1993년 3월 3일 접수, 1993년 4월 26일 수리).

콜라겐은 동물의 결합조직의 주요 단백질이며, 조직이나 장기를 지탱하게 하고 체표를 둘러싸 체형을 유지시키는 역할을 한다. 포유동물에서는 콜라겐이 체단백질의 약 30% 이상을 차지하고 있고, 진피조직에는 건조중량의 90% 이상이 콜라겐 단백질이다.<sup>1)</sup>

어류의 경우 콜라겐은 어피의 주성분이며, 근육에서는 결합조직의 교원섬유를 이루고 있다. 콜라겐은 결합조직의 주요 성분이기 때문에 근육 및 필렛(fillet)의 기계적 강도, 헤울더지 특성, 가열조리 식품의 보수력과 겔형성능 및 가공폐기물의 유동 특성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 어체 중 콜라겐이 가장 많이 분포되어 있는 부위는 어피, 지느러미, 뼈 등이다. 이를 부위는 대부분 식용화되지 않고 있지만, 일부는 지갑이나 가방 등 정교한 제품을 만드는데 이용된다.<sup>3)</sup>

육상동물의 콜라겐은 옛부터 피혁이나 젤라틴의 원료로서 응용되어 왔지만, 최근에는 정제한 우피콜라겐을 원료로 한 콜라겐 케이싱이 상품화되어 가식성의 식품 포장재로서 응용되고 있고, 의료용 고분자 재료로서 외과수술용 봉합사, 인공투석막, 인공모세관, 인공장기 등의

용도로 연구되고 있다.<sup>4)</sup>

또 콜라겐을 완전히 정제하지 않고 공존하는 엘라스틴 단백질과 소량의 지방을 혼합하여 식품으로 이용하는 연구도 보고되어 있다.<sup>5)</sup>

어류 콜라겐에 대해서는 최근에 와서 그 구조와 특성이 밝혀지고 있고,<sup>6)</sup> 어패류의 가공이나 조리 중 콜라겐이 품질에 미치는 역할 정도가 연구되고 있을 뿐 어피콜라겐의 산업적 응용연구는 전무한 상태라 해도 과언이 아니다. 우리나라 어패류의 가공율이 86.6%<sup>7)</sup>로 매우 높으며, 가공처리 과정에서 부산물로 얻어지는 어피를 효율적으로 이용하도록 하는 것은 폐기물처리나 미이용 자원의 개발이라는 측면에서 볼 때 매우 중요한 과제라 볼 수 있다.

본 연구에서는 우리나라 수산가공공장에서 연간 약 30만톤 이상이 부산물로 얻어지고 있고, 콜라겐 단백질을 80% 이상 함유하고 있는 어피를 보다 부가가치가 높은 제품으로 개발하기 위한 기초자료를 얻고자 어피에서 콜라겐을 추출하고 그 물리화학적 특성을 비교 검토하였다.

Key word : filefish skin, cod skin, collagen isolation, functional properties

Corresponding author : S. K. Kim

## 재료 및 방법

### 재료

본 연구에 사용한 어피는 부산시 장림동 소재(株) 대경수산에서 채육 후, 폐기시킨 말쥐치(체장 10~15 cm) 피 및 대구(체장 40~50 cm) 피를 polyethylene film으로 썬 다음 -30°C 동결고에 저장하여 두고 시료로 사용하였다.

### 콜라겐 추출 및 정제

산가용화 콜라겐의 추출은 吉中 등<sup>8)</sup>의 방법에 따라 어피를 잘게 자른 다음 교반기를 사용하여 물로 5회 수세한 후, 10배량의 0.1 N NaOH를 가하여 4°C에서 24시간 동안 교반하여 비콜라겐 물질을 추출 제거하였다. 비콜라겐이 제거된 어피에 20배량의 0.5 M sodium acetate 용액을 가하여 48시간 교반하면서 산가용성 콜라겐을 추출하였으며, 이를 여과포로 여과한 후, 원심분리(10,000×g, 30 min)하여 상층액에 NaCl을 5%가 되도록 첨가하여 콜라겐을 염석시킨 후 원심분리(15,000×g, 30 min)하였다. 이 염석과정을 3회 반복하여 콜라겐을 얻은 후 동결건조(DURA-DRY corrosion resistant freezer dryer, FTS system Inc.)한 후 밀봉하여 5°C에 저장하여 두고 실험에 사용하였다.

### 아미노산 정량

김 등<sup>9)</sup>과 같은 방법으로 동결건조한 어피콜라겐 50 mg을 ampoule에 넣고 6 N HCl 2 ml를 가하여 봉한 후 110°C의 sand bath에서 24시간 가수분해하였다. 분해액을 glass filter로 여과하고 감압 건조하여 HCl를 제거한 다음, 물 10 ml를 가하여 다시 감압 건조하여 구연산완충액(pH 2.2)으로 써 25 ml로 하였다. 이 중 일정량을 취하여 아미노산 자동분석기(LKB 4150-a)로 분석하였다. Hydroxyproline정량은 Feinstein과 Buck<sup>10)</sup> 방법에 따라 측정하였다.

### 점도 측정

정제된 콜라겐을 농도별로 0.1 M acetic acid에 용해시킨 후, 15°C에서 교반하면서 Viscotron(Model No. 8024, Brabender Co.)으로 점도를 측정하였다. 그리고 0.02%의 콜라겐 용액을 pH를 변화시켜 점도를 측정하였다.<sup>11)</sup>

### 변성온도 측정

0.02%의 콜라겐용액을 water bath상에서 30분간 가열하여 온도변화에 따른 점도를 측정하여 콜라겐의 변

성온도를 구했다.<sup>12)</sup>

### 용해도 측정

Yamashita 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 1%(w/v) 콜라겐용액을 0.1 M HCl 및 0.1 M NaOH로 pH를 조절하여 20°C에서 30분간 교반한 다음, 원심분리(2,000×g, 15 min)하여 Lowry법<sup>14)</sup>으로 상층액의 가용성 질소를 측정하였다. 용해도는 pH 3일 때의 용해도를 100으로 하여 각 pH별 상대 용해도로 나타내었다.

### 소수성 측정

소수성은 최<sup>15)</sup>의 방법에 따라 0.6 M NaCl, 0.05% SDS, 10 mM phosphate buffer(pH 7.0)에 5%(w/v) 콜라겐용액을 하룻밤 투석시킨 다음 75°C에서 10분간 가열하고, 동일 원총액으로 10배 회석하여 4 ml를 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)에 8 mM 1-aniline-8-naphthalene-sulfonate(ANS)를 20 μl 첨가하여 광도 50, 여기파장 390 nm, 방출파장 470 nm에서 형광광도계(Shimadzu spectrophotometer RF-510)로 형광광도를 측정하였다.

콜라겐의 농도에 따른 형광광도의 표준곡선은 Fig. 1에 나타내었다. 그리고 20°C에서 80°C까지 10°C 간격으로 30분간씩 가열 변성시킨 콜라겐 시료와 40, 60, 80°C에서 시간변화에 따라 가열변성시켰을 때의 소수성 측쇄의 변화정도를 측정하였다.

### 보수력 측정

보수력은 Lin 등<sup>16)</sup>의 방법에 따라 동결 건조한 콜라겐

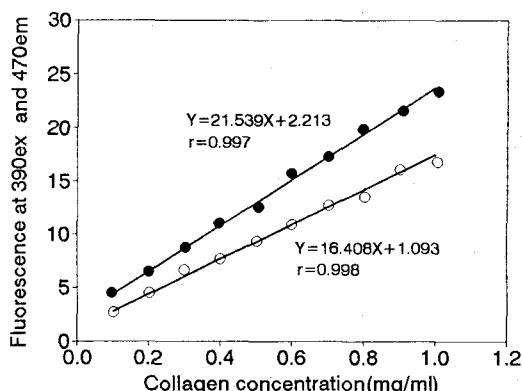


Fig. 1. Standard curves of fluorescence intensity (Fl) in filefish skin collagen(○—○) and cod skin collagen(●—●) as a function of protein concentration. The Fl was measured with Shimadzu Fluorophotometer at 390 exλ and 470 emλ using 1-aniline-8-naphthalene-sulfonate(ANS).

0.5 g을 시험관(15×110 mm)에 넣고 pH를 조절하면서 최종용량이 50 ml가 되게 조절하여 20°C에서 1시간 방치하면서 vortex mixer상에서 15분마다 5초간 교반하였다. 각 시험관을 원심분리(2,000×g, 15 min)하여 상층액을 제거한 후, 각 시험관을 거꾸로 45°로 기울여 30분간 여지상에 방치한 후 무게를 측정하여 전조시료와 흡수시료의 무게 차이를 계산하였다. 보수력은 전조시료의 무게 증가비로서 나타내었다.

### 유화성 및 유화안정성 측정

유화성과 유화안정성은 Wang가 Kinsella의 방법<sup>17)</sup>에 의해 각 시료 2.0 g에 중류수 10 ml씩을 가하여 균질기(Ace homogenizer AM-8)로 5,000 rpm에서 1분간 분산시킨 후, 대두유 10 ml를 가하여 15,000 rpm에서 5분간 균질화하였다. 이와 같이 생성된 유화액을 절반씩 원심관(12×100 mm)에 나누어 넣고 원심분리(2,500×g, 5 min)하였다.

$$\text{유화성} = \frac{\text{유화된 층의 높이}}{\text{시험관내 총 내용물의 부피}} \times 100$$

유화안정성은 유화액을 80°C 물중탕에서 30분간 가열한 후, 15°C로 냉각한 다음 원심분리(2,500×g, 5 min)하여 유화성 측정과 같은 방법으로 하였다.

### 결과 및 고찰

#### 아미노산의 조성

말쥐치피, 대구피 및 우피<sup>18)</sup> 콜라겐의 아미노산 조성은 Table 1과 같다. 말쥐치피 콜라겐의 아미노산 조성은 glycine이 1000잔기 중 219잔기로 가장 높았으며 glutamic acid 97, alanine 95이었으나, methionine, isoleucine, tyrosine, histidine 및 hydroxylysine은 함량이 매우 낮았다. 대구피 콜라겐의 경우도 1000잔기 중 glycine이 245잔기로 가장 높았으며, glycine, proline, serine의 함량은 말쥐치피 콜라겐에 비해 그 함량이 높았으나, glutamic acid, hydroxyproline, valine, phenylalanine의 함량은 오히려 낮았다. 말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 필수아미노산 함량은 각각 265, 229 잔기로 우피 콜라겐의 200잔기보다 높았다(Table 1). 그리고 어피와 우피 콜라겐의 아미노산 조성을 보면 hydroxyproline, glycine, arginine, alanine은 우피 콜라겐이 어피 콜라겐에 비해 그 함량이 높았으나, aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, cysteine, methionine 및 tyrosine은 오히려 어피에서 그 함량이 높았다. 이와 같이 어피와 우피간의 아미노산 조성 차이에 의해 그 물리화학적 특성이 현저한 차이가

있는 것으로 생각된다.

Yamaguchi 등<sup>19)</sup>은 청어, 대구 및 메기의 근경막 및 어피 콜라겐 사이에 아미노산 조성 차이가 거의 없었고, 어종간에는 다소 차이가 있었다고 보고하였는데, 본 실험에서도 말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 아미노산 조성은 다소 차이가 있었다.

Kimura<sup>12)</sup>는 갯지렁이(*Neanthes diversicolor*) 표피 콜라겐의 아미노산 조성은 육상 지렁이의 그것과 현저한 차이가 있었으며, 특히 갯지렁이 표피 콜라겐의 proline 함량은 적었지만, hydroxyproline 함량은 매우 높았고, 4-hydroxyproline와 3-hydroxyproline의 양이 많았지만, 육상 지렁이 표피 콜라겐에서는 3-hydroxyproline은 존재하지 않았다고 하였다. 갯지렁이 표피 콜라겐(pepsin-treated cuticle collagen, PTCC)의 아미노산 조성 중 glycine은 전체 아미노산 함량의 1/3을 차지하였지만, 내장 콜라겐(pepsin-treated intestine collagen, PTIC)의 glycine 함량은 일반 콜라겐에 비해 그 함량이 낮았다. PTCC에서의 hydroxyproline 함량은 1000잔기 중 171.2로 PTIC의 108.1에 비해 높았으나, proline 함량은 66.6잔

Table 1. Amino acid compositions of fish and bovine skin collagens

Amino acid	Filefish skin collagen	Cod skin collagen	Bovine skin collagen
Hydroxyproline	61	52	86
Aspartic acid	65	70	48
*Threonine	39	34	17
Serine	59	67	34
Glutamic acid	97	82	72
Proline	82	126	116
Glycine	219	245	330
alanine	95	90	102
Half-cysteine	37	20	—
*Valine	41	26	31
*Methionine	17	23	4
*Isoleucine	16	16	16
*Leucine	33	25	32
Tyrosine	14	12	3
*Phenylalanine	32	20	14
*Lysine	31	27	23
*Histidine	14	10	8
*Arginine	42	48	55
Hydroxylysine	6	7	9
Total residues	1000 (265)	1,000 (229)	1,000 (200)

\* Essential amino acids in children

( ) Total residue of essential amino acids

기수로 PTCC의 35.7에 비해 높았고, PTCC에서 lysine 및 hydroxylysine 함량은 각각 22.2 및 12.5였으나, PTIC에서는 이들이 각각 1.9 및 0이었다고 보고하였다.<sup>20)</sup>

Thompson<sup>21)</sup>은 새우 콜라겐의 아미노산 조성 중 다른 콜라겐에 비해 tryptophan 함량이 보다 높다고 하였고, Asghar와 Henrickson<sup>22)</sup>은 콜라겐에는 tryptophan은 존재하지 않으며, cysteine은 type III 및 IV에 존재하고, methionine은 type I 및 II에 존재한다고 하였는데, 본 실험의 어피에서는 cysteine과 methionine이 모두 존재하였다.

Kubota와 Kimura<sup>23)</sup>는 수산무척추동물과 척추동물 콜라겐의 아미노산 조성을 비교하면 Gly+Ala, Pro+Hyp, Lys/Hyl은 어느 것이나 전자쪽이 높았지만, tyrosine, cysteine 및 산성 아미노산/염기성 아미노산은 후자쪽이 높다고 하였다.

### 용해도

말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 pH 변화에 따른 용해도를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 용해도는 모두 pH 7.0 부근에서 가장 낮았으나, pH 5.0 이하의 산성영역에서 급격하게 증가하였다. 이와 같은 현상은 산가용화 콜라겐이 산성영역에서 재용해가 일어나 용해도가 증가한 것으로 생각된다.

松田<sup>24)</sup>는 등전점에서는 단백질의 하전이 전기적으로 중성이 되어 점도, 팽윤도, 용해도 및 펩티드화가 가장 낮아진다고 보고하였고, Ranganayaki 등<sup>25)</sup>은 우파 콜라겐의 용해도는 pH 5~8 범위에서 가장 낮았고, 이 pH 범위를 벗어나 산성 및 알칼리성에서 용해도는 증가하였으며, 염동도가 높을수록 콜라겐 용해도는 증가하였다,

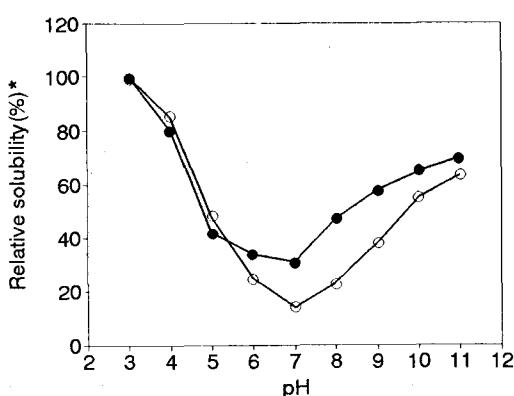


Fig. 2. The effect of pH on solubilities of filefish skin collagen(○—○) and cod skin collagen(●—●). \*Relative solubility(%)=The solubility at given pH/The solubility at pH 3.

인산염은 산성측에서보다 알칼리측에서 용해도는 증가되었다고 보고한 바 있다. Ymaguchi<sup>19)</sup> 등은 청어피 및 가자미피 콜라겐의 용해도는 0.5 M NaCl 용액에서 5.18 및 2.29%였으나, citrate 용액(pH 3.5)에서는 60.03 및 62.60%였다고 보고하였고, Love<sup>26)</sup>는 어류 콜라겐의 용해도는 포유동물의 그것에 비해 표본의 연령에 크게 의존하지 않는다고 보고하였다.

### 점도

말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 pH 및 온도변화에 따른 점도를 측정한 결과는 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 15°C에서 측정한 말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 점도는 모두 pH 7.0 부근에서 가장 낮았으나, 말쥐치피 콜라겐은 pH 4.0, 대구피의 경우는 pH 2.0에서 점도가 가장 높았으며, 그 이하에서는 감소하였다. 이는

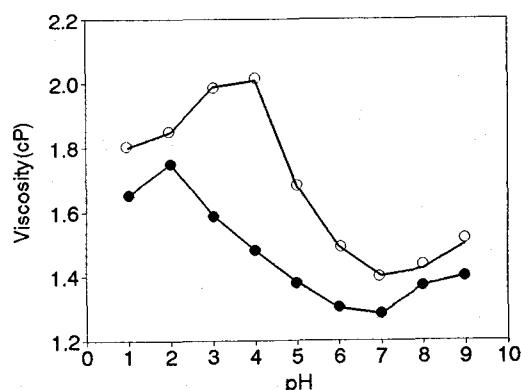


Fig. 3. Changes in viscosities of filefish skin collagen (○—○) and cod skin collagen(●—●) at different pH's.

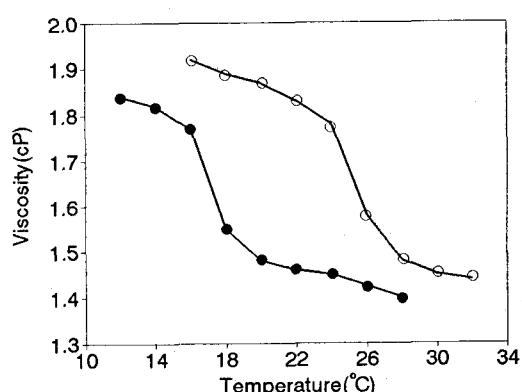


Fig. 4. Changes in viscosities of filefish skin collagen (○—○) and cod skin collagen(●—●) by various temperatures.

산가용화 콜라겐이 산에 의해 van der Waals force 및 London force의 분자간 접촉에 의한 물리적 결합, 수소 결합, S-S결합 및 collagen 분자의 상대적인 크기의 차이 때문인 것으로 생각된다.<sup>27)</sup> 그리고 pH 9.0까지는 약간 증가 현상을 보였으며, 말쥐치피 콜라겐의 점도가 대구피 콜라겐의 그것보다 다소 높은 경향이었다.

Fig. 4에 나타난 바와 같이 말쥐치피 콜라겐은 24°C 까지는 점도가 매우 완만하게 감소하였으나, 26°C에서 급격히 감소되어 28°C 이후에는 거의 일정하였으며, 대구피 콜라겐의 경우는 16°C에서 점도가 급격히 감소하는 경향을 보이다가 20°C 이후는 완만하였다.

Kimura 등<sup>11)</sup>은 0.1 M acetic acid에서의 바다개재, 게 (*callinectes sapidus*), 문어, 오징어 및 전주조개 콜라겐의 고유점도는 각각 11.0, 12.0, 16.0, 12.5 및 14.0 dl/g였으며, 돌고래피의 펩신가용성 콜라겐의 점도는 15.2 dl/g였고,<sup>28)</sup> 해초(*Halocynthia roretzi*) 콜라겐의 고유점도는 9.0 dl/g로 다른 무척추동물의 11~16 dl/g보다 낮았다고 하였고,<sup>29)</sup> Mizuno 등<sup>30)</sup>은 갯지렁이 표피 콜라겐의 고유점도(18°C, 0.15 M citrate buffer 용액)는 60 dl/g로 매우 높았다고 보고하였다. 佐伯<sup>31)</sup>은 20°C에서 0.1 M 초산용액 콜라겐의 고유점도는 15~16 dl/g로 큰 값이었지만, 콜라겐이 젤라틴으로 변하면 점도는 현저히 낮아지며, 이때 젤라틴의 분자량이 클수록 점도는 비례적으로 증가한다고 하였다. Jones 등<sup>32)</sup>은 우피의 콜라겐 점도는 pH 7.3, 25°C에서 27,000 cps였으며, 40°C에서는 35,000 cps로 점도가 낮았으며, pH 12.6에서는 온도 25°C 및 40°C에서 각각 128,000 cps 및 6,400 cps였다고 보고하였다. Shimada 등<sup>33)</sup>은 젤라틴에 효소적으로 수식한 유화제의 점도와 유화점도 등은 pH 변화에 의해 큰 영향을 받지 않는 것으로 보고하였으며, Hagues와 Kinsella<sup>34)</sup>는 점도와 유화성과의 관계는 상반적인 관계라고 보고한 바 있다.

### 변성온도

Fig. 4에 나타난 바와 같이 말쥐치피 콜라겐의 변성온도는 25°C로 대구피 콜라겐의 17°C보다 8°C가 높았다. 이 같은 결과는 말쥐치피 콜라겐의 아미노산 조성 중 hydroxyproline 함량이 대구피 콜라겐에 비해 높았기 때문이라 생각된다(Table 1). Takahashi와 Yokoyama<sup>35)</sup>는 어피 콜라겐의 hydroxyproline 함량과 수축온도 사이의 직접적인 상호관계를 밝혔고, Doty와 Nishihara<sup>36)</sup>는 콜라겐의 변성온도는 hydroxyproline 함량에 비례한다고 하였다. 한편, Piez와 Gross<sup>37)</sup>은 proline과 hydroxyproline이 모두 콜라겐 변성온도와 관계가 있다고 하였고, Kimura 등<sup>12)</sup>은 Gly-Pro-Ala, Gly-Pro-Hydroxypro 등의 아미노산 배열이 적으면 변성온도가 낮아진다고 보고하

였다.

Yamaguchi 등<sup>19)</sup>은 메기, 대구 및 청어의 근경막의 기계적인 강도를 비교한 결과, 강도의 순서는 청어, 대구, 메기 순이었고, 청어결체조직의 기계적 강도는 가장 약하였으나 청어의 산가용성 콜라겐은 열안정성이 가장 높았으며, 안정한 분자에 가교결합의 비율이 높았다고 보고하였다. Kubota와 Kimura<sup>23)</sup>는 청새리상어피 콜라겐의 온도변화에 따른 점도를 측정한 결과, 변성온도(Td) 및 수축온도(Ts)는 각각 24°C, 53°C였다고 하였고, Hippel과 Wong<sup>38)</sup>은 콜라겐의 Ts는 hydroxyproline 함량에 따라 직선적으로 증가한다고 하였다. 갯지렁이 표피 콜라겐의 수축온도는 순수에서 약 43°C였으며, 0.15 M citrate buffer(pH 3.6)에서 점도측정에 의한 변성온도는 약 33°C로 수축온도와의 차이 10°C는 다른 일반 콜라겐의 25°C에 비해 상당히 낮았다고 보고하였다.<sup>20)</sup> 변성온도는 콜라겐의 total pyrrolidine 함량과 관계가 있다고 보고가 있는 반면, Joss와 Harrington<sup>39)</sup>은 Td는 pyrrolidine 잔기가 없는 total 콜라겐 triplets의 예상된 빈도와 직접적인 관계가 있었다고 하였고, Rigby와 Prosser<sup>40)</sup>는 수심 2,000 m (2~4°C)에서 어획된 어피 콜라겐의 용융온도는 수심 200 m (16~18°C)에서 어획된 어피의 그것보다 훨씬 낮았다고 보고하였는데, 본 실험에서 대구피 콜라겐의 변성온도가 말쥐치피 콜라겐의 변성온도보다 낮은 것은 대구가 말쥐치에 비해 생육온도가 매우 낮기 때문인 것으로 생각된다.

### 소수성잔기의 노출

말쥐치피 및 대구피 콜라겐은 각 온도에서 30분간 가열변성시킨 후 측정한 표면 소수성잔기의 변화를 측정한 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 대구피 콜라겐의 소

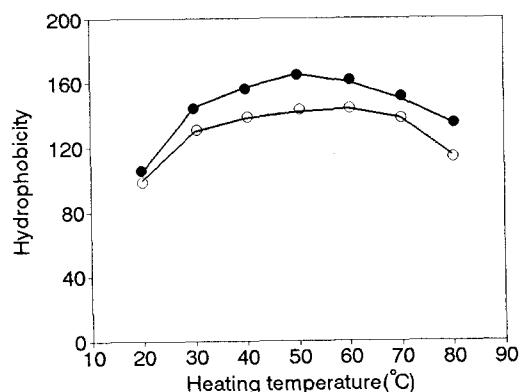


Fig. 5. Changes of hydrophobicities of filefish skin collagen(○-○) and cod skin collagen(●-●) during heating at the given temperature for 30 min.

수성잔기는 50°C 까지 비교적 빠른 속도로 노출하다가 50°C 이상에서는 소수성잔기의 노출이 다소 감소하는 경향을 보였다. 그리고 말쥐치피 콜라겐의 표면 소수성 잔기의 노출 정도는 30°C 까지는 급격히 증가하다가 60°C 까지는 매우 완만하게 증가하는 경향이었고, 60°C 이상에서는 표면 소수성잔기의 노출이 다소 감소하였다. Hayakawa와 Nakai<sup>41)</sup>는 달걀과 콩단백질의 열변성시에 소수성과 유효하전 및 용해도의 상관성을 측정한 결과, AMS소수성은 측정한 단백질의 불용성과 밀접한 상관관계를 가지며, 방향족 아미노산의 소수성은 단백질의 불용화에 커다란 영향을 미친다고 보고하였다.

본 실험결과 대구피 및 말쥐치피 콜라겐은 가열온도가 각각 50°C 및 60°C에 이를 때까지 단백질분자는 다양한 소수성 잔기가 노출되고 하전빈도가 낮아짐으로써 분자간 인력이 감소하여 단백질분자가 응집하게 되고, 결국 불용성 침전을 형성하는 것으로 예상된다.

Fig. 6은 pH 변화에 따른 산가용성 콜라겐의 표면 소수성 변화를 나타낸 것이다. 대구피 및 말쥐치피 콜라겐 모두 pH 7까지는 표면 소수성의 노출 정도가 증가하다가 pH 7.0 이상의 알칼리영역에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과를 pH 변화에 따른 용해도(Fig. 2) 결과와 비교해 볼 때 소수성 잔기의 노출 정도와 용해도의 변화사이에는 역비례 관계를 보였으며, 용해도와 소수성잔기의 노출은 단백질 변성의 좋은 지표가 될 수 있고, 단백질 구조변화에 관한 정보를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

Fig. 7은 40°C, 60°C 및 80°C에서 시간의 경과에 따른 대구피 및 말쥐치피 콜라겐의 표면 소수성잔기의 변화를

나타낸 것으로서 대구피 콜라겐의 경우, 가열시간 20분 까지는 표면 소수성 노출이 급격하게 증가하였으며, 그 이후에는 거의 일정하였으나 60°C에서는 가열시간 30분까지 표면 소수성 노출이 증가하였으며, 가열시간 50분 이상에서는 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 말쥐치피 콜라겐의 경우 40°C에서는 가열시간의 증가에 따른 소수성 변화는 서서히 증가하였고, 60°C 및 80°C에서는 가열시간 20분까지 표면 소수성의 노출이 급격하게 증가하였으나, 그 이후에는 거의 일정하였다.

丹弱<sup>42)</sup>은 가자미 actomyosin의 ANS소수성을 측정한 결과, 동일한 단백질 농도에서는 가열 온도가 증가할수록 소수성잔기의 노출은 더욱 커지고, 60°C에서 가열한 것이 90°C에서 가열한 것에 비해 소수성이 높은 반면, 증가 속도는 빨라진다고 하였다.

본 실험에서 동일한 온도에서의 가열변성은 대구피 콜라겐분자가 말쥐치피 콜라겐에 비해 빠른 속도로 unfolding되는 것으로 판단된다.

단백질의 소수성은 지방족 소수성(CPA hydrophobicity)과 방향족 소수성(ANS hydrophobicity)으로 분류된다(Hayakawa와 Nakai, 1985).<sup>41)</sup> Mozhaev와 Martinek<sup>43)</sup>는 지방족 아미노산잔기와 달리 방향족 아미노산 잔기들은 그들의 bulky구조에 기인되는 분자내부에 반드시 묶혀 있지 않았다고 추론하였다.

Burley와 Petsko<sup>44)</sup>는 34개의 알려진 단백질 구조로부터 인접한 방향족 측쇄의 580쌍을 시험하여 이를 근거로 하여 단백질 안정화에 방향족-방향족 상호작용의 중요성을 제의한 바 있다.

Kato와 Nakai<sup>45)</sup>는 표면 소수성은 그 단백질의 emulsifying activity index(EAI)와 현저한 상관성이 있다고 보

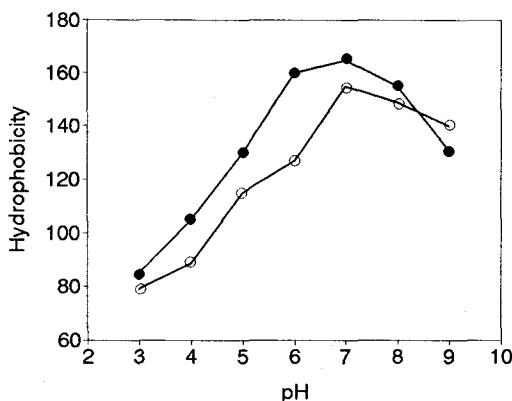


Fig. 6. Changes of hydrophobicities of filefish skin collagen( $\circ-\circ$ ) and cod skin collagen( $\bullet-\bullet$ ) at different pH. The hydrophobicities were measured after dialysis of the collagen against the solutions of various pHs during 24 hrs.

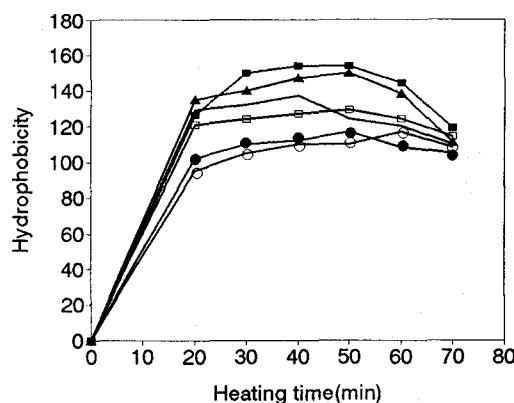


Fig. 7. Changes of hydrophobicities of filefish skin collagen( $\circ-\circ$ ) and cod skin collagen( $\bullet-\bullet$ ) by heating time at 40°C( $\circ-\circ$ ), 60°C( $\square-\square$ ), and 80°C( $\triangle-\triangle$ ).

고 하였고, Li-Chan 등<sup>46)</sup>은 염으로 추출한 균육단백질은 50°C 이상으로 가열하면 소수성은 증가하나 용해도는 감소하여, 이것이 유화성 감소를 유발하며, 이와는 대조적으로 대두단백질 용액을 가열하면 소수성 및 용해도가 증가될 뿐만 아니라 EAI도 현저하게 개선된다고 하였다.

### 보수력

말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 보수력을 측정한 결과는 Fig. 8과 같다. 대구피 콜라겐의 보수력이 말쥐치피 콜라겐보다 다소 높았으나 등전점인 pH 7.0 부근에서 가장 낮았다. 산성영역에서 말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 보수력은 pH 5 및 pH 4까지는 비교적 높았으나, 그 이하의 산성영역에서는 급격히 감소하였다. 이것은 산에 의해 콜라겐이 재용해되었기 때문으로 생각된다. Ranganayaki 등<sup>47)</sup>은 bovine hide collagen의 보수력이 pH 6.0~9.0 사이에서 가장 높았으며, 단백질 분자의 알짜 전하가 내부염결합이 최대로 되는 등전점에서 0이 되기 때문에 등전점 부근에서는 수화가 최소가 된다고 보고한 바 있다.

Asghar와 Henrickson<sup>48)</sup>은 콜라겐의 많은 이온기들은 등전점(pH 7.2)에서 전하를 떠여 최대로 내부 염결합을 형성하며, H<sup>+</sup> 혹은 OH<sup>-</sup> 농도 증가는 이온성 측쇄 및 염결합의 내부 상쇄(internal compensation)를 파괴하여 각각 + 또는 - 알짜 전하를 증가시키지만, 콜라겐 사슬의 하전자리는 가용성 양쪽성 전해질(amphoteric electrolytes)의 경우와 같이 행동의 자유를 갖지 못하므로 콜라겐은 중성염이 없는 가용성 단백질과 비교할 때 매우 적은 양의 산이나 알칼리와 결합한다. 그럼에도 불구하고 H<sup>+</sup>나 OH<sup>-</sup> 농도가 증가하면 정전기적 반발작용이 섬유내부에 Donnan막 potential 발생을 일으켜 섬유내부로

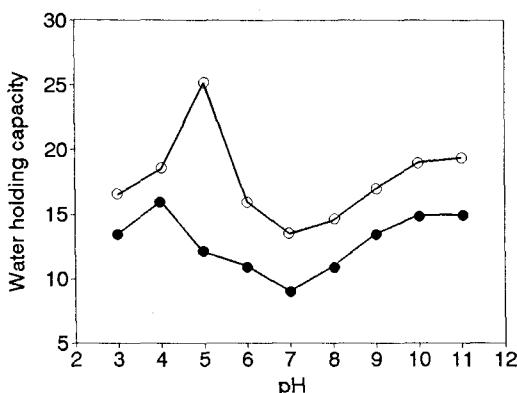


Fig. 8. Hydration capacities of freeze-dried collagen from filefish skin(○—○) and cod skin(●—●) at different pH.

물이 흘러 들어가게 한다고 하였고, 이들은 또한 일반적으로 음이온이 양이온의 팽윤증가에 대한 것보다 더욱 효과적이라고 하였다. Jeyanthi와 Rao<sup>49)</sup>는 서로 다른 pH를 갖는 완충용액에서 콜라겐에 hydroxyethyl methacrylate monomer를 일정 비율로 혼합한 hydrogel은 모두 pH 2.0~9.0 범위에서 pH가 산성에서 알칼리쪽으로 변화됨에 따라 swelling이 증가하였다고 보고한 바 있다.

### 유화성 및 유화안정성

말쥐치피 및 대구피 콜라겐의 유화성 및 유화안정성을 측정한 결과는 Fig. 9와 같다. Fig. 9에 나타난 바와 같이 산성 pH보다는 알칼리 pH영역에서 유화성 및 유화안정성이 우수한 결과를 나타내었다. 이 같은 결과는 알칼리 영역에서 분자들이 unfolding됨으로써 많은 소수성기가 노출되어 소수성 수화에 의해 유화성이 높게 나타난 것으로 판단된다. 대구피 콜라겐이 말쥐치피 콜라겐보다 유화성 및 유화안정성이 다소 우수하였다.

Sathe 등<sup>50)</sup>은 친수기와 소수기의 평형, 단백질 농도 및 pH가 유화성에 영향을 미친다고 보고하였고, Asghar와 Henrickson<sup>51)</sup>은 소수성결합이 단백질-지질 복합체의 안정성에 크게 기여하며, 이들 결합 강도는 50°C 까지는 온도가 증가함에 따라 증가되는 반면, 다른 결합강도는 오히려 감소된다고 하였다. 한편, Pearce와 Kinsella<sup>52)</sup>는 단백질의 유화력과 용해도 사이에는 밀접한 상관이 있다고 보고한 바 있다.

Aoki 등<sup>53)</sup>은 단백질의 등전점에서 유화력이 불안정하다고 하였고, Crenwelge 등<sup>54)</sup>은 단백질의 등전점영역을 벗어나게 되면 emulsion의 pH에 따라 유화력은 증가한

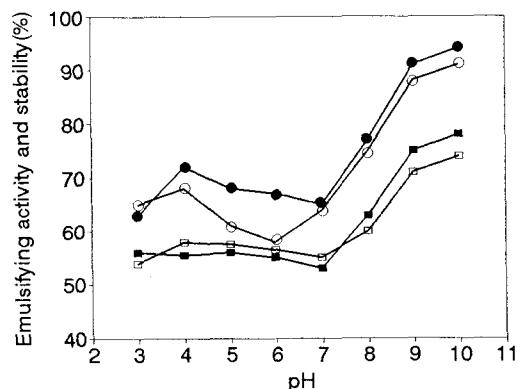


Fig. 9. Emulsifying properties of filefish skin collagen and cod skin collagen.  
 (□—□), Emulsifying activity of filefish skin collagen ;  
 (■—■), Emulsifying stability of filefish skin collagen ;  
 (○—○), Emulsifying activity of cod skin collagen ;  
 (●—●), Emulsifying stability of cod skin collagen.

다고 하였으며, Holm과 Erikwen<sup>55)</sup>은 단백질 용액의 emulsion capacity는 투석에 의해 저분자량 성분을 제거시키면 현저하게 증가된다고 보고하였다.

동물기원 단백질인 myosin, actin, tropomyosin 등 단백질의 유화력에 대하여 많은 연구보고가 있지만,<sup>56)</sup> 콜라겐의 유화력에 대해서는 거의 보고되어 있지 않다. 이것은 콜라겐이 불용성 단백질이기 때문에 유화제로서의 응용이 중요하지 않은 것으로 생각될지 모르지만, 우유에서 유도된 수식 콜라겐은 nonfat soy milk보다 더 좋은 유화제였다는 보고<sup>57)</sup>도 있어, 앞으로 콜라겐의 기능성 개선에 의한 유화제 개발도 이루어져야 할 것이다.

### 참 고 문 헌

1. Fujimoto, D. : KASEAA, 23 : 496(1985)
2. 김세권, 이응호, 강옥주, 권칠성 : 냉동공조공학, 5 : 5 (1986)
3. Sikorski, Z.E., Scott, D.N. and Buisson, D.H. : CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 20 : 301(1985)
4. Kim, S.K. : The Fisheries World, 8 : 79(1992)
5. 松田 瞠 : New Food Industry, 4 : 23(1981)
6. 木村 茂 : 化學の生物, 25 : 311(1987)
7. 韓國水產會 : 水產年鑑, 進明社, 서울 p. 421(1991)
8. 吉中 禮二, 左燐 健司, 左燐 守 : 日本特許廳 公開特許公報, 昭和 62-83849(1987)
9. 김세권, 양현필, 이응호 : 한국생물공학회지, 6 : 327 (1991)
10. Feinstein, G.R. and Muck, E.M. : J. Food Sci., 42 : 289(1984)
11. Kimura, S., Nagaoka, Y. and Kubota, M. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 35 : 743(1969)
12. Kimura, S. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 37 : 419 (1971)
13. Yamashita, M.S., Arai, S., Kokubo, S., Aso, K. and Fujimaki, M. : Agr. Food Chem., 23 : 27(1975)
14. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : J. Biol. Chem., 193 : 265(1951)
15. 최영준 : 부산수산대학교대학원 식품공학과 공학박사학위 청구논문, p. 21(1986)
16. Lin, M.J.Y., Humbert, E.S. and Sosuki, F.W. : J. Food Sci., 39 : 368(1974)
17. Wang, J.C. and Kinsella, J.E. : J. Food Sci., 41 : 286 (1976)
18. 周繼發, 林慶文, : 科學農業, 33 : 347(1985)
19. Yamaguchi, K., Lavety, J. and Love, R.M. : J. Food Technol., 11 : 389(1976)
20. Kimura, S. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 37 : 432 (1971)
21. Thompson, H.C. and Thompson, N.H. : Comp. Biol. Physiol., 27 : 127(1968)
22. Asghar, A. and Henrickson, R.L. : in 'Advance in Food Research', Chichester C.O. (ed.). Vol. 28, p. 231, Academic Press : New York(1982)
23. Kubota, N. and Kimura, S. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 33 : 338(1967)
24. 松田 瞠 : New Food Industry, 23 : 52(1981)
25. Ranganayaki, K., Lavety, J. and Love, R.M. : J. Food Sci., 47 : 705(1982)
26. Love, R.M., Yamaguchi, K., Crea'h, Y. and Lavety, J. : Comp. Biochem. Physiol., 55B : 487(1966)
27. Kruggel, W.G., Field, R.A. and Miller, G.J. : J. Food Sci., 35 : 106(1970)
28. Kubota, M., Kimura, S. and Jajima, H. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 33 : 217(1967)
29. Kimura, S., Kobayashi, N. and Kubota, M. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 38 : 1163(1972)
30. Mizuno, H., Onda, N., Saito, T., Iso, N. and Ogawa, H. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 45 : 193(1979)
31. 左伯 邦巨 : フードケミカルズ 1 : 44(1985)
32. Jones, P. : in 'Science and Technology of Gelatin', Ward A.C. and Courts A. (ed.) p. 32, Academic Press, New York(1977)
33. Shimada, A., Yamamoto, I., Sase, H., Yamazaki, Y., Watanabe and Ariai, S. : Agric. Biol. Chem., 48 : 2681(1984)
34. Hagues, Z. and Kinsella, E. : J. Food Sci., 54 : 39 (1988)
35. Takahashi, T. and Yokoyama, W. : Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 20 : 525(1954)
36. Doty, P. and Nishihara, T. : in 'Recent Advances in Gelatin and Glue Research', Stainsby, G. (ed.), p. 263, Pergamon Press : New York(1958)
37. Piez, K.A. and Gross, J. : J. Biol. Chem., 235 : 995 (1960)
38. Hippel, P.H. and Wong, K.Y. : Biochemistry, 2 : 1387(1963)
39. Josse, J. and Harrington, W.F. : J. Mol. Biol., 9 : 269 (1964)
40. Rigby, B.J. and Prosser, C.L. : Comp. Biochem. Physiol., 52B : 89(1975)
41. Hayakawa, S. and Nakai, S. : J. Food Sci., 50 : 486 (1985)
42. 丹弱 榮二 : 日木誌, 48 : 907(1975)
43. Mozhaev, V.V. and Martinek, K. : Enzyme Microb. Technol., 6 : 50(1984)
44. Burley, S.K. and Persko, G.A. : Science, 229 : 23 (1985)

45. Kato, A. and Nakai, S. : *Biochim. Biophys. Acta.*, 624 : 13(1980)
46. Li-Chan, E., Nakai, S. and Wood, D.F. : *J. Food Sci.*, 49 : 345(1984)
47. Ranganayaki, M.D., Asghar, A. and Henrickson, R.L. : *J. Food Sci.*, 47 : 705(1984)
48. Asghar, A. and Henrickson, R.L. : in 'Advance in Food Research', Chichester C.O. (ed.), Vol. 28, p. 296, Academic Press : New York(1982)
49. Jeyanthi, R. and Rao, K.P. : *J. App. Poly. Sci.*, 43 : 2333(1991)
50. Sathe, S.K., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. : *J. Food Sci.*, 47 : 491(1982)
51. Asghar, A. and Henrickson, R.L. : in 'Advance in Food Research', Chichester C.O. (ed.), Vol. 28, p. 310(1982)
52. Pearce, N. and Kinsella, J.E. : *J. Agric. Food Chem.*, 26 : 716(1978)
53. Aoki, H., Taneyama, O. and Inami, M. : *J. Food Sci.*, 45 : 535(1980)
54. Crenwelge, D.D., Dill, C.W., Tybor, P.T. and Landmann, W.A. : *J. Food Sci.*, 39 : 175(1974)
55. Holm, F. and Eriksen, S. : *J. Food Technol.*, 15 : 71 (1980)
56. Dawood, A. : Ph. D. Thesis, Michigan State University, East Lansing, (1980)
57. Satterlee, L.D., Eachariah, N.Y. and Levin, E. : *J. Food Sci.*, 38 : 268(1973)

### **Physicochemical Characteristics of Filefish and Cod Skin Collagen**

Se-Kwon Kim, Ok-Ju Kang\* and Dong-Chae Kwak(Department of Chemistry, National Fisheries University of Pusan, Pusan 603-737, Korea, \*Department of Food and Nutrition Science, Dong-Ju Woman's Junior College, Pusan 604-080, Korea, \*\*Food Inspection Division, National Pusan Quarantine Station, Pusan 600-014, Korea)

**Abstract :** The collagens from filefish (*Novodon modestus*) and cod (*Gadus macrocephalus Tilestius*) skin were isolated and their physicochemical properties were investigated. Glutamic acid, hydroxyproline, valine and phenylalanine in the filefish skin collagen (FSC) were presented at higher levels than those of cod skin collagen (CSC), but the contents of glycine, proline and serine were contrary. The content of essential amino acids of FSC (265 residues/1000 residues) was higher than CSC (229 residues). The solubilities of both collagens were the lowest at pH 7.0, but precipitously increased at acid zone(below pH 5.0). FSC has lower viscosity than CSC. Furthermore, while the viscosities of both collagens were the lowest at pH 7.0, the viscosities of FSC and CSC were the highest at pH 4.0 and pH 2.0, respectively. The denaturation temperature of FSC(25°C) was higher than CSC (17°C). The free hydrophobic residue contents of FSC and CSC tended to increase till 60°C, and 50°C, respectively, and to decrease thereafter. Hydration capacities of both collagens were the lowest at pH 7.0, and CSC had the superior hydration capacity to FSC. In addition, emulsifying and emulsifying stability of CSC was also superior to FSC.