

PSE 돈육으로 부터 추출한 근원섬유단백질의 석시닐화와 그 기능적 특성

성삼경

영남대학교

Succinylation of Myofibrillar Protein of PSE(pale, soft, exudative) Porcine Muscle and it's Functional Characteristics

Sam Kyung Sung

Yeongnam University

Abstract

The myofibril prepared from PSE (pale, soft, exudative) porcine meat was modified by reacting with succinic anhydride and the chemical and functional properties of modified myofibrils were investigated. No Ca^{2+} - and Mg^{2+} - ATPase activity were observed irrespective of the degree of succinylation. Isoelectric point of the succinylated myofibril changed to around pH 3 from the pH 5 of unmodified myofibril. Salt soluble property was not affected by changing the salt concentration. The modified myofibril in aqueous solution did not coagulate during heating at 98°C for 10 min. Water absorption ability was not improved but emulsion capacity was improved a little by succinylation.

서론

동식물의 원료에서 추출한 단백질의 관능기를 화학적으로 수식, 단백질의 기능적 특성을 개량하여 바람직한 식품재료로 이용하고자 하는 연구가 많이 시도되고 있다. 난황 및 난백,^{1)~3)} 대두단백질,⁴⁾ 면실단백질,^{5)~7)} 식물성단백질,^{8)~10)} 어육단백질,^{11)~13)} 그리고 축산부산물^{14)~16)}을 화학적 수식을 하므로써 가공적성을 개선한 연구가 보고되었다.

동물성단백질의 공급원으로서 돈육의 위치는 대단히 중요하다. 그러나 돈육 생산에서 해결되지 않는 문제 중의 하나가 異常肉인 PSE (pale, soft and exudative) 돈육의 발생이며, 이것은 육질이 대단히 열등하여 生肉 用으로 또는 加工肉用으로 이용하는데 어려움이 많다.¹⁷⁾ 이러한 異常肉의 발생원인에 관하여 확실한 규명이 되어 있지는 않으나, 우리나라에서도 년평균 약 20

이 논문은 아산사회복지 사업재단의 1982년도 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

% 정도나 발생하여 그 손실이 크다.^{18,20)} PSE 돈육의 발생방지 또는 그 이용에 관한 연구가 다각적으로 시도되었으나, 뚜렷한 해결방법이 없다.^{19)~21)}

본 연구는 이러한 PSE 돈육의 이용방법을 모색하기 위하여 PSE 돈육에서 근원섬유 단백질을 추출하고 화학적 수식을 하여 화학적, 기능적 특성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

원료선정 및 근원섬유의 분리

원료선정은 Sung등²²⁾의 방법에 의하였는데, 도살후 4°C의 저온실에서 24시간 경과한 돈육에서 근원섬유의 收縮能이 0%인 것(심한 PSE)을 선택하였다. 근원섬유의 조제는 Groninger²³⁾의 방법을 약간 수정하여 시행하였다. 즉, 원료고기를 그라인더에 갈고, 0°C로 냉각한 0.1M NaCl을 3배량 넣고 현탁시켜, 여과한 다음, 殘査에 같은 용액을 넣어 균질기(Nihon Seiki No.

8249)로 고속 원탁시켜 500×g로 원심분리하였다. 결합 조직을 제거하고, 같은 용액으로 5 회 반복하여 세척, 근원섬유를 분리하였다.

석시닐화

Groninger⁽¹¹⁾의 방법에 준하였다. 근원섬유를 0.6M NaCl 용액으로 5% 정도의 농도로 하여 0℃의 저온에서 천천히 저으면서 단백질량의 0.05, 0.1, 0.3배량의 무수석시닐산 분말을 30분에서 60분에 걸쳐서 첨가하였다. 반응중 pH가 떨어지므로 1N NaOH 용액을 첨가하여 pH 7.5~9.0 정도로 조절하며, 더 이상 pH가 떨어지지 않을때 반응을 끝내고, 1N HCl 용액으로 pH 4.0으로 조절하여 석시닐화 근원섬유를 침전, 회수하였다. 1N NaOH 용액으로 pH 7.0으로 중화하여 그대로 시료로 하거나, 동결건조하여 시료로 하였다. 석시닐화율은 석시닐화 근원섬유와 무처리근원섬유 단백질의 유리아미노기의 차이를 무처리근원섬유의 유리아미노기로 나누어 백분율로 나타내었다. 유리아미노기는 2, 4, 4-Trinitrobenzenesulfonic acid 를 이용한 Habeed⁽¹²⁾의 방법에 의하였다.

ATPase 활성

ATPase 활성은 다음의 반응용액에서 측정하였다. ㉠ 0.1M KCl, 0.02M Tris-maleate (pH 7.0), 1mM MgCl₂, 1mM ATP ㉡ 0.1M KCl, 0.02M Tris-maleate (pH 7.0), 4mM CaCl₂, 1mM ATP. 근원섬유의 농도는 0.5~1.0 mg/ml로 하고, 반응은 25℃에서 하였고, trichloroacetic acid (최종농도 5%)를 첨가하여 반응을 정지시켜 유리된 무기인을 Fiske와 Subbarow⁽¹³⁾ 방법에 의하여 정량하였다.

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

전기영동은 Weber와 Osborne⁽¹⁴⁾의 방법에 준하였다. 근원섬유를 0.1% SDS와 0.1M β-Mercaptoethanol을 함유한 0.01M Sodium phosphate buffer (pH 7.0)에 투석하고 1% SDS, 1% β-Mercaptoethanol, 0.1M Sodium phosphate (pH 7.0) 25% glycerol 용액에 3분간 끓인 다음, 0.05% Bromophenol blue 를 소량 첨가하여 전기영동의 시료로 하였다. 칼럼당 8mA의 전류를 3시간동안 흘려, 0.25% coomassie blue로 염색하고, 5% methanol, 7.5% acetic acid를 함유한 용액으로 탈색하였다.

용해도

근원섬유를 0.1M NaCl 용액으로 0.5% 정도의 농도

로 한 다음, 0.1N NaOH 또는 0.1N HCl로 pH를 2~8로 조정하여 4℃에서 2시간 방치하고, 600×g 로 20분간 원심분리하여 상등액중의 가용성 단백질량을 측정하였다. 같은 방법으로 pH 7.0으로 고정하고 NaCl 농도를 0.1~1.5M로 조정하여 염농도에 대한 용해도 변화를 측정하였다.

유화용량

Swift등⁽¹⁵⁾의 방법에 준하였다. 근원섬유를 0.1M NaCl 용액으로 0.1% 농도로 하여 50ml를 균질기에 넣고 고속으로 회전하여 대두유를 유화시킨다. 회전중 대두유의 첨가속도는 30ml/min로 하였고, 유화조각이 깨어질때까지 소요된 대두유의 량을 단백질량으로 나누어 유화용량으로 표시하였다.

유화안정성

0.1%농도의 근원섬유 50ml에 대두유 50ml를 첨가, 고속으로 3분간 유화시켜, 70℃의 열탕에서 30분간 가열하고, 40℃의 온수에 10분간 냉각한 후, 200×g에서 원심분리하여 분리된 수분과 지방량을 단백질량으로 나누어 유화안정도의 척도로 하였다.

흡수성

Rahma와 Rao⁽¹⁶⁾의 방법에 준하였다. 미리 평량한 원심관에 건조한 근원섬유를 0.5g 달고, 15ml의 증류수를 첨가한 후 10분간 진탕한 후, 500×g에서 15분간 원심분리하여 상등액을 버리고 흡수된 물을 단백질 100g에 대하여 표시하였다.

열응고성

Choi등⁽¹⁷⁾의 방법을 약간 수정하여 행하였다. 근원섬유를 1M NaCl 용액에 0.5% 농도로 하여 추출하고 원심분리한 상등액을 98℃의 열탕에 10분간 가열하고 실온에 방냉, 500×g로 10분간 원심분리한다. 상등액의 단백질량을 측정하여 가열전의 단백질총량에 대하여 가열에 의한 응고한 단백질의 백분율을 열응고성으로 나타내었다.

결과 및 고찰

Table 1에서 보면 PSE돈육에서 분리한 근원섬유의 석시닐화율은 15~35%로서 무수석시닐산의 첨가량에 따라 증가한다. 근원섬유단백질의 특징인 ATPase 활성을 비교해 보면, 무처리근원섬유는 Ca²⁺-ATPase 활성과 Mg²⁺-ATPase 활성이 각각 0.022, 0.015μ moles

Table 1. Chemical properties of PSE myofibril and it's succinylated myofibril

Sample	Degree of succinylation (%)	Enzymatic activity (μ moles Pi/min/mg. protein)	
		Ca ⁺⁺ -ATPase	Mg ⁺⁺ -ATPase
Unmodified Mf	0	0.022	0.015
Succinylated Mf-0.05*	15	0	0
Succinylated Mf-0.3	35	0	0

* Myofibril-succinic anhydride ratio (1:0.05, 1:0.3)

Pi/min/mg을 나타내나, 석시닐화근원섬유는 석시닐화의 정도에 상관없이 효소로서의 기능을 완전히 상실하고 있음을 알 수 있다. Hatano⁽¹⁴⁾ 등은 어육의 근원섬유가 석시닐화에 의하여 Ca⁺⁺-ATPase 활성이 소실한다고 하였고, Oppenheimer⁽¹⁵⁾ 등도 myosin의 ATPase 활성이 석시닐에 의하여 완전히 상실한다고 하였다. 이것은 석시닐산에 의하여 myosin의 효소활성부위가 변성되었기 때문으로 생각된다. 이러한 결과는 석시닐화 반응에 의하여 근원섬유단백질의 생화학적 성질이나 구조상의 변화가 일어났음을 뜻한다. 이러한 구조상의 변화는 근원섬유단백질의 아미노산 잔기와 석시닐산이 반응하므로서 아미노산 사슬의 -NH₂가 -NHCOCH₂CH₂COO⁻로 대체되어 음하전의 농도가 높아지기 때문이다.⁽¹⁶⁾

석시닐화에 의한 Carboxyl기의 증가는 용해도에 변화를 줄 것으로 예상되는데, Fig. 1을 보면, 무처리근원섬유가 pH 5.0에서 가장 낮은 용해도를 나타내는데 비하여 석시닐화 근원섬유(근원섬유:무수석시닐산=1:0.3)

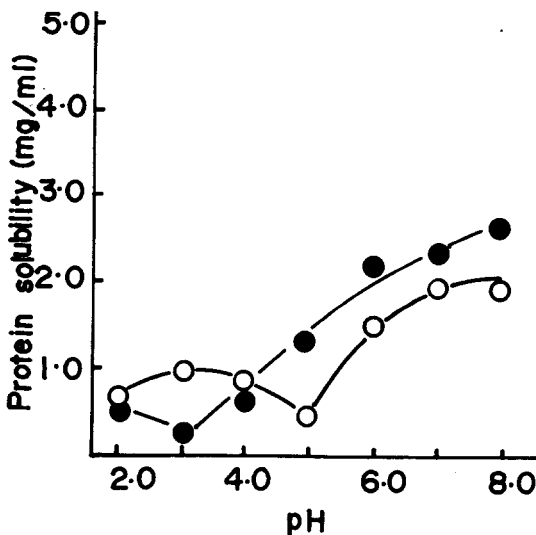


Fig. 1. The solubility of unmodified and succinylated myofibril as a function of pH
 symbol; ○—○ unmodified myofibril
 ●—● succinylated myofibril
 (myofibril-succinic anhydride ratio=1:0.3)

는 pH 3.0 부근에서 불용화하였다. 불용화가 일어난 pH가 등전점을 나타내는데, 석시닐화한 후에 등전점의 변화가 일어났으며, 이러한 등전점의 이동은 Hatano 등⁽¹⁴⁾이 어육근원섬유를, Eisele과 Brekke⁽¹⁴⁾가 소심장근원섬유를 석시닐화한 경우와 같은 경향이었다. 또한 식염 농도에 따른 용해도의 변화(Fig. 2)를 보면, 무처리근원섬유의 경우, 매우 낮은 용해도를 나타내는데, 이것은 많은 보고^(14,16,17)에서 지적한대로 도체가 고온일 때 빠른 해당작용에 의한 pH의 급속한 강하로 PSE 근원섬유단백질이 변성했기 때문이다. 석시닐화 근원섬유(근원섬유:무수석시닐산=1:0.3)는 용해도가 다소 개선되었으나, Hatano 등⁽¹⁴⁾ Chen 등⁽¹³⁾ Eisele과 Brekke⁽¹⁴⁾의 결과와는 약간 상이하다. 즉, 이들의 결과는 낮은 염농도에서도 용해도가 급격히 상승하거나, 염농도에 상관없이 높은 용해도를 나타내었는데, 이것은 PSE근원섬유단백질의 변성에 의한 차이라고 생각된다.

Fig. 3은 근원섬유단백질의 전기영동도인데, minor band에 약간의 변화를 볼 수 있다. 즉, 무처리근원섬유의 band a와 c가 없어지고, 석시닐화근원섬유에 새로운 band b가 나타났다. 이러한 변화는 석시닐화하므로서 Crosslinking이 일어나고, 단백질 조성사이에 rearrangement가 일어난 결과로 사료된다. 또한 석시닐화에 관계없이 같은 변화를 보였는데, 앞서의 구조변화에 의한 용해도 및 효소활성의 변화와 관계가 있는 듯하나, 본 실험에서는 그 관련성을 규명하지 못하였다.

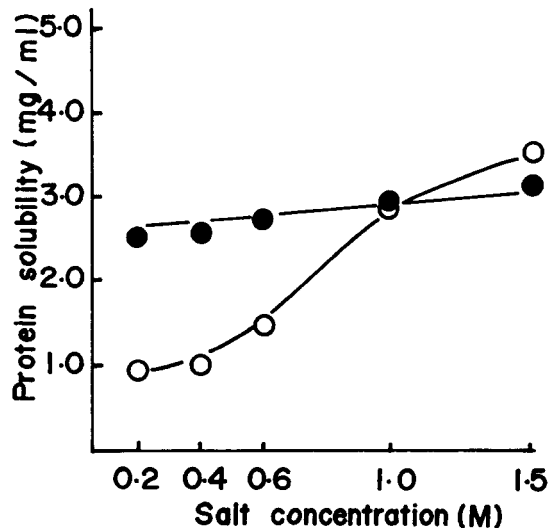


Fig. 2. Effect of salt concentration on solubility of unmodified and succinylated myofibril at pH 7.0
 symbol; ○—○ unmodified myofibril
 ●—● succinylated myofibril
 (myofibril-succinic anhydride ratio=1:0.3)

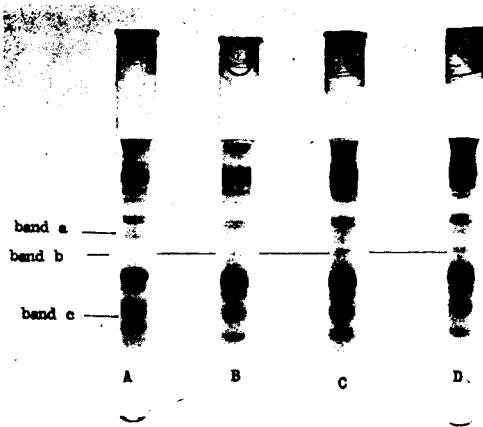


Fig. 3. Electrophoretogram of unmodified and succinylated myofibril
 symbol; A: unmodified myofibril
 B, C and D: succinylated myofibril
 (succinic anhydride-protein ratio, 0.05, 0.1, and 0.3, respectively)

단백질의 기능적 특성은 구조변화와 밀접한 관계가 있으며, 단백질의 구조변화를 유발하는 어떠한 화학적 반응도 기능적 특성에 영향을 미치게 된다. Table 2는 석시닐화근원섬유의 기능적 특성을 무처리근원섬유와 비교한 것이다. 특이한 것은 열응고성인데 무처리근원섬유가 높은 온도에서 쉽게 응고하는데 반하여 석시닐화근원섬유는 열응고율이 현저히 떨어진다는 것이다. 이러한 결과는 면실단백질,¹⁴⁾ 웨이단백질,¹⁵⁾ 어육단백질,¹⁶⁾ 을 석시닐화한 경우와 같은 경향이였다. 단백질의 열응고성은 석시닐화율이 증가할수록 감소한다. Haurowitz²³⁾ 는 단백질의 펩타이드 사슬사이의 bi-functional crosslinkage가 석시닐화에 의하여 일어나고 이러한 crosslinkage가 unfolding하므로써 열변성에 대한 단백질의 열저항성을 증가시킨다고 하였다. 흡수성은 석시닐화근원섬유와 무처리근원섬유간에 큰 변화가 인정되지 않았다. 이 결과는 Rahma와 Rao¹⁰⁾ 와는 같은 경향이였으나, Song¹⁷⁾ 과 Childs와 Park¹⁸⁾ 의 결과와는 상반되는 경향이였다. 유화용량은 석시닐화율이 높아질수록 다소 높아지는 경향이 있으나, 현저한 개선은 되지 않았다. 이 결과는 Chen등¹⁵⁾ 의 어육단백질 농축물, Eisele 과

Brekke¹⁴⁾ 의 소심장근원섬유, Miller와 Groninger¹⁷⁾ 의 어육근원섬유를 재료로한 결과와는 경향은 일치하지만, 상당한 차이가 있다. Choi등¹⁶⁾ 은 석시닐화율60% 이상에서는 유화용량이 급격히 향상된다고 하였다. 석시닐화에 의한 유화용량의 증가는 단백질 분자의 U-nfolding과 팽윤으로 소수성기가 노출되고, 카름과의 내면막을 형성하기 위한 표면적이 많아지기 때문이라고 한다. 따라서 본 실험에서 유화용량의 증가가 현저하지 않은 것은 석시닐화율이 낮기 때문인듯하다. 또한 유화안정성의 차이도 거의 인정되지 않았다.

이상의 결과로 보아 PSE돈육에서 추출한 근원섬유의 석시닐화는 단백질의 구조적 변화를 수반하고, 몇가지 기능적 특성을 개선하지만, 이러한 개선은 상당히 한계성이 있었다. 따라서 PSE정도에 따른 재료의 선정과 석시닐화율의 변이에 따른 연구가 더 진행되어야 할 것이다.

요 약

PSE돈육에서 근원섬유를 추출하고, 무수석시닐산으로 수식하여 석시닐화하고, 그 조제물의 화학적, 기능적 특성을 검토하였다. 석시닐화근원섬유는 석시닐화율에 상관없이 효소적 기능이 완전히 상실하였고, 무처리근원섬유의 등전점이 pH 5.0인데 비하여 석시닐화근원섬유는 pH3.0 정도에서 침전하였다. 염농도에 따른 용해도는 무처리근원섬유가 염농도의존성이 있음에 비하여 석시닐화근원섬유는 염농도에 관계없이 용해도의 변화가 거의 없었다. 석시닐화근원섬유의 기능적 특성 중 열응고성은 현저히 감소하였고, 흡수성은 개선되지 않았으며, 유화용량은 다소 향상되었다.

문 헌

1. Sato, Y. and Nakamura, N. : *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 2163 (1977)
2. Pallandino, D. K., Ball Jr. H. R., and Swaisgood, H. E. : *J. Food Sci.*, **46**, 778 (1981)
3. Gossett, W. P. and Baker, R. C. : *J. Food Sci.*,

Table 2. Functional properties of unmodified and succinylated PSE myofibril

Sample	Water absorption (g/100g)	Emulsion capacity (ml/g)	Emulsion stability (ml/g)	Heat coagulation (%)
Unmodified Mf	107	62	72	90
Succinylated Mf-0.05	111	67	67	55 ^{a*}
Succinylated Mf-0.3	110	71	65	13 ^b

* Values with different letters differ significantly (p<0.05)

- 48, 1391 (1983)
4. Franzen, K. L. and Kinsella, J. E. : *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 914 (1976)
 5. Aoki, H., Taneyama, A. Orimo, N. and Kitagawa, T. : *J. Food Sci.*, **46**, 1192 (1981)
 6. Childs, E. A. and Park, K. K. : *J. Food Sci.*, **41**, 713 (1976)
 7. Choi, Y. R., Lucas, E. W. and Lee, K. S. : *J. Food Sci.*, **46**, 954 (1981)
 8. Choi, Y. R., Lucas, E. W. and Lee, K. S. : *J. Food Sci.*, **48**, 1275 (1983)
 9. Barber, K. J. and Warthesen, J. J. : *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 930 (1982)
 10. Rahma, E. H. and Rao, M. S. N. : *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 352 (1983)
 11. Groninger, H. S. Jr. : *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 978 (1973)
 12. Chen, Li-Fu, Richardson, T. and Amundson, C. H. : *J. Milk Food Technol.*, **38**, 89 (1975)
 13. Groninger, H. S. Jr. and Miller, R. : *J. Food Sci.*, **40**, 327 (1975)
 14. Hatano, M. H., Takno, Takama, K., Cabling, F. and Zama, K. : *Bull. Japanese Soc. Sci. Fisheries*, **45**, 861 (1979)
 15. Thompson, L. U. and Reyes, E. S. : *J. Dairy Sci.*, **63**, 715 (1980)
 16. Eisele, T. A. and Brekke, C. T. : *J. Food Sci.*, **46**, 1095 (1981)
 17. Song, I. S. : *Kor. J. Ani. Sci.*, **26**, 288 (1984)
 18. Briskey, E. J. : *Adv. Food Res.*, **13**, 89 (1964)
 19. Sung, S. K. : *J. Food Resources Development*, **2**, 103 (1978)
 20. Park, H. K. : *Kor. J. Ani. Sci.*, **22**, 439 (1980)
 21. Hessel-de heer, J. C. M., Schmidt, G. R., Sybesma, W. and Van der Wal, P. G. : Wageningen, center for agricultural publishing and documentation. Wageningen, Netherlands. (1971)
 22. Sybesma, W., Van der Wal, P. G. and Walstra, P. : *Res. Inst. Ani. Husb. "Schoonoord"*, Zeist, Netherlands. (1969)
 23. Cassens, R. G., Marple, D. N. and Eikelenboom, G. : *Adv. Food Res.*, **24**, 71 (1975)
 24. Sung, S. K., Ito, T. and Fukazawa, T. : *J. Food Sci.*, **41**, 102 (1976)
 25. Habeeb, A. F. S. A. : *Anal. Biochem.*, **14**, 328 (1966)
 26. Fiske, C. H. and Subbarow, Y. : *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925)
 27. Weber, K. and Osborne, M. : *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406 (1969)
 28. Swift, C. E., Lockett, C. and Fryal, A. H. : *Food Technol.*, **15**, 468 (1961)
 29. Oppenheimer, H., Barany, K., Hamoir, G. and Fenton, J. : *Arch. Biochem. Biophys.*, **120**, 108 (1967)
 30. Habeeb, A. F. S. A., Cassidy, H. G. and Singer, S. H. : *Biochem. Biophys. Acta.*, **29**, 587 (1958)
 31. Haurowitz, F. *The chemistry and function of proteins*, 2nd. ed. Academic Press N. Y. (1963)
 32. Miller, R. and Groninger, H. S. Jr. : *J. Food Sci.*, **41**, 268 (1976)

(1984년 6월 21일 접수)