

## 당첨가 및 가열처리에 의한 근원섬유 단백질의 전기영동 Pattern 변화

양종범\* · 윤원호\*\* · 고명수\* · 김창한

건국대학교 축산가공학과

\*동남보건전문대학 식품가공과, \*\*서일전문대학 식품가공과

### Electrophoretic Patterns of Myofibrillar Proteins by Sugar Addition and Heat Treatment

Jong-Beom Yang\*, Won-Ho Yoon\*\*, Myung-Soo Ko\* and Chang-Han Kim

*Department of Animal Products Science, Kon Kuk University*

*\*Department of Food Technology, Dong Nam Health Junior College*

*\*\*Department of Food Technology, Seo Il Junior College*

#### Abstract

Changes of the electrophoretic patterns of myofibrillar proteins by sugar addition and heat treatment was studied. In the electrophoretic patterns of myofibrills prepared from no sugar added meat, as the intensity of higher molecular weight band such as myosin heavy chain showed a remarkable decrease by heating, that of lower molecular weight band such as actin showed no change. That from sugar added meat showed more remarkable decrease in the intensity of higher molecular weight band than that from no sugar added meat and this tendency was most noticeable in case of glucose addition. The effect of digestion with proteases after sugar addition and heat treatment on the electrophoretic patterns exhibited the descending order of trypsin >chymotrypsin >peptidase. By digestion with these three enzymes at one time myosin produced 27,000 dalton and 32,000 dalton components, and actin showed 16,000 dalton component. in the case of no heat treatment, a part of actin was not digested. And in the case of glucose addition the myosin aggregates was not digested with these three enzymes at a time.

Key words : electrophoretic patterns, myofibrillar protein, sugar addition, heat treatment, protease

#### 서 론

근세포를 구성하고 있는 단백질 중 가장 많은 비율을 차지하는 것은 근원섬유단백질인데<sup>1)</sup>, 이들은 육의 가공이나 조리과정 중에 심하게 변성되는 것으로 알려져 있으며 전기영동은 식품가공 중에 발생하는 단백질의 변성을 연구하는데 많이 이용되고 있다. MacBride 등<sup>2)</sup>과 Olson 등<sup>3)</sup>은 전기영동이 가열 중에 발생하는 근원섬유단백질의 변성을 알아보는 데 유용하다고 하였고, Kim 등<sup>4)</sup>은 100°C에서 10분 및 30분간 가열처리한 우육으로부터 추출한 근원섬유단백질을 전기영동하였을 때 myosin heavy chain band의 강도가 약해진 것은 my-

osin heavy chain이 추출되지 않았기 때문이라고 하였으며, Laakkonen 등<sup>5)</sup>도 가열처리 온도에 따라 우육 단백질의 전기영동 pattern에 변화가 발생한다고 하였다. 또한, Cheng 등<sup>6)</sup>은 전기영동을 이용하여 thin filament와 thick filament를 구성하는 단백질은 열에 대하여 서로 다르게 반응한다고 보고하였다. 하지만 식육가공 중에는 가열처리만 행해지는 것이 아니고, 여러 목적을 위하여 부재료가 첨가되기도 한다. 때문에 식육가공 중 발생하는 단백질의 변성은 여러 가지 요인들의 상호작용에 의하여 크게 좌우된다고 생각된다. 그러나 이와같은 상호작용에 의한 단백질의 변성에 관한 연구는 거의 이루어지지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 우육에 fructose, glucose 및 sucrose를 각각 7.5% 첨가하고 121°C에서 15분간 가열처리한 후 근원섬유단백질의 변화를 살펴 보고 단백질 가수분해효소를 작용시켜 당첨가와

Corresponding author : Jong-Beom Yang, Department of Food Technology, Dong Nam Health Junior College, 695-1, Jungjadong, Jangan-ku, Suwon 440-714, Korea

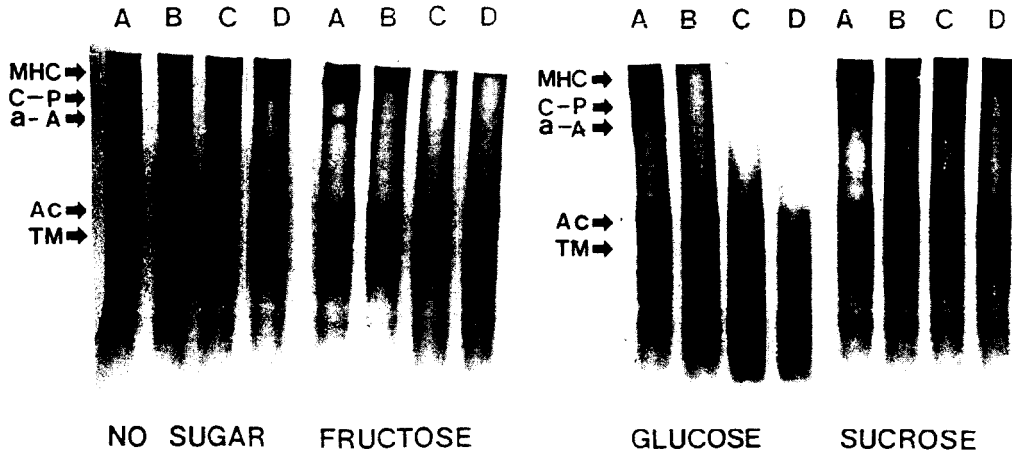


Fig. 1. Electrophoretic patterns of myofibrillar proteins from bovine loin muscle after 7.5% sugar addition and heat treatment at 121°C

A : unheated, B : heating for 5 min, C : heating for 10 min, D : heating for 15 min

(MHC) myosin heavy chain, (C-P) c-protein, (a-A)  $\alpha$ -actinin, (Ac) actin, (TM) tropomyosin

가열처리에 의한 변성 단백질의 영양학적 특성을 전기영동을 이용하여 알아 보았다.

### 재료 및 방법

#### 공시재료

본 실험에 사용한 시료는 전보<sup>(7)</sup>와 같이 조제하였다.

#### 단백질 가수분해효소에 의한 시료의 가수분해

전보<sup>(7)</sup>와 같이 시료에 단백질 가수분해효소를 가한 후 동결건조시켜 근원섬유단백질의 추출에 이용하였다.

#### 근원섬유단백질의 추출 및 농도 측정

전보<sup>(7)</sup>와 같이 실시하였다.

#### SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

Laemmli<sup>(8)</sup>의 방법에 준하여 SDS-polyacrylamide 7.5% gel상에 50  $\mu$ g의 myofibrils를 가하여 4 V/cm의 전압으로 4시간 동안 전기영동을 실시한 다음 fixing시키고 6시간에 걸쳐 염색 후 탈색조작이 완결된 gel을 preserving solution(30% ethanol-10% acetic acid-10% glycerol)에 보존하면서 gel상의 전기영동 pattern 변화를 비교하였으며 아울러 단백질 분획간의 분자량 변화를 검토하였다.

### 결과 및 고찰

#### 근원섬유단백질의 전기영동 pattern 변화

전보<sup>(7)</sup>에서 시료의 근원섬유단백질의 추출성이 당첨가

및 가열처리에 의하여 감소하였기 때문에 어떠한 근원섬유단백질들이 변성되었는지 알아보기 위하여 7.5% gel 상에 50  $\mu$ g의 myofibrils를 가하고 전기영동을 실시한 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 당을 첨가하지 않고 가열처리를 하지 않은 처리구의 경우, 근원섬유를 구성하는 모든 단백질들이 나타나 있고, 5분간 가열처리한 처리구에서는 myosin heavy chain 등의 분자량이 큰 단백질들의 band 강도가 크게 약화되었지만, actin 등의 분자량이 작은 단백질들의 band 강도는 거의 변화가 없었으며 새로운 단백질들은 생성되지 않았다. 또한 가열처리시간이 길어짐에 따라 분자량이 큰 단백질들의 band 강도는 더욱 약해졌다. 이와 같은 결과는 여러 가지 요인으로 인하여 가열처리 중에 myosin heavy chain 등의 분자량이 큰 단백질들이 서로 결합되어 추출되지 않았기 때문이라고 생각되며, 100°C에서 10분 및 30분간 가열처리한 우육으로부터 추출한 근원섬유단백질을 전기영동하였을 때 myosin heavy chain band의 강도가 약해진다는 Kim 등<sup>(4)</sup>의 보고, 우육을 여러 온도에서 가열처리하였을 때 온도 변화에 따라 단백질의 전기영동 pattern에 변화가 발생한다는 Laakkonen 등<sup>(5)</sup>의 보고 및 actin이 myosin보다 더욱 열에 안정하다는 Cheng 등<sup>(6)</sup>의 보고를 뒷받침하는 것이라고 생각된다. 한편, 당의 첨가 유무에 관계 없이 가열처리를 하지 않았을 때에는 유사한 전기영동 pattern을 보여주고 있다. 그러나 가열처리를 하였을 때 fructose와 glucose 첨가구에서는 당을 첨가하지 않았을 때보다 분자량이 큰 단백질(MHC 등)들의 band 강도가 크게 약화된 것을 보여주고 있는데, 특히 glucose를 첨가하고 15분간 가열처리한 처리구에서는 actin band의 강도도 크게 약해진 것을 보여 주고

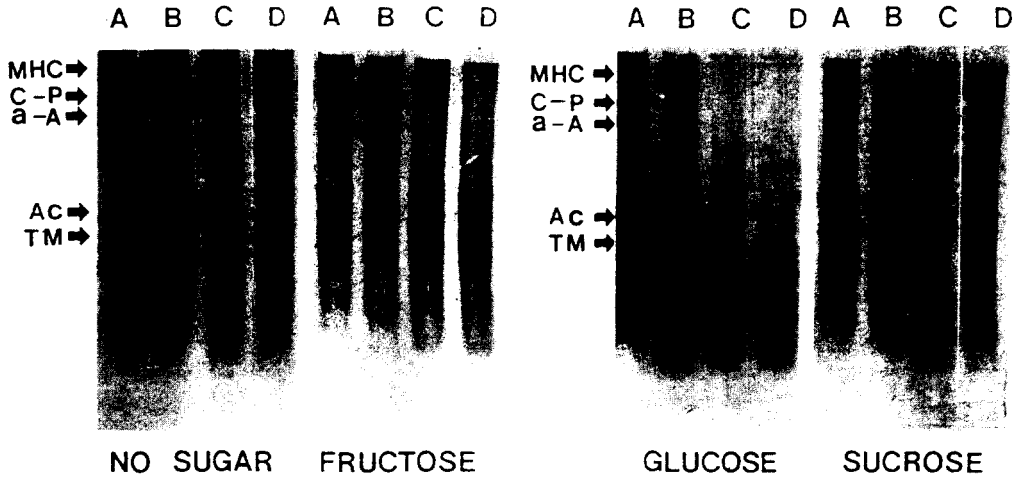


Fig. 2. Electrophoretic patterns of proteins from bovine loin muscle digested by peptidase after 7.5% sugar addition and heat treatment at 121°C

A ; unheated, B ; heating for 5 min, C ; heating for 10 min, D ; heating for 15 min

(MHC) myosin heavy chain, (C-P) c-protein, (a-A)  $\alpha$ -actinin. (Ac) actin, (TM) tropomyosin

있다. 이와 같은 결과는 우육에 18%의 glucose를 첨가하고 100°C에서 30분간 가열처리한 후 추출한 근원섬유 단백질을 전기영동하였을 때 gel상에 myosin heavy chain이 나타나지 않는다는 Kim 등<sup>(4)</sup>의 보고와 같이 가열처리에 발생하였던 분자량이 큰 단백질들의 상호결합이 당첨가에 의하여 더욱 증가되는데 그 정도는 Maillard 반응에 관여하는 당들의 반응성과 밀접한 상관관계가 있으며<sup>(7)</sup> Maillard 반응이 심하게 발생하면 분자량이 작은 단백질들도 추출되지 않는다는 것을 보여주는 것이라고 생각된다. 그러나 sucrose 첨가구에서는 전체적으로 당을 첨가하지 않았을 때와 거의 유사한 전기영동 pattern을 보여 주고 있다. 이것은 Maillard 반응이 약하게 발생하였기 때문에 그 차이가 미미하게 나타난 것이라고 생각된다.

#### Peptidase 처리 근원섬유단백질의 전기영동 pattern 변화

Fig. 2는 시료에 peptidase를 작용시킨 후 추출한 단백질의 전기영동 pattern을 나타낸 것이다. 시료로부터 추출한 근원섬유단백질의 전기영동 pattern과 유사한 것을 보여주고 있으며, 새로운 band가 전혀 생성되지 않은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 시료에 peptidase를 작용시킨 후 추출된 단백질량이 거의 증가하지 않았던 전보<sup>(7)</sup>의 결과나 근원섬유단백질 중에 중요한 단백질인 myosin과 actin에 peptidase를 작용시켰을 때 이들이 거의 소화되지 않았던 양<sup>(9)</sup>의 결과와도 일치하는 것이라고 생각된다.

#### Chymotrypsin 처리 근원섬유단백질의 전기영동 pattern 변화

Fig. 3은 시료에 chymotrypsin을 작용시킨 후 추출한 단백질의 전기영동 pattern을 나타낸 것이다. 당을 첨가하지 않은 처리구의 경우, chymotrypsin의 작용에 의하여 주로 myosin heavy chain, C-protein 및  $\alpha$ -actinin 등의 분자량이 큰 단백질들과 분자량이 작은 actin 등도 소화되어 분자량 60 K와 52 K 및 32 K의 새로운 band가 생성되었지만, 가열처리를 하지 않은 처리구에서는 소화 후 분자량 94 K와 79 K band도 생성되었다. 이와 같은 결과는 Rhee 등<sup>(10)</sup>의 적당한 가열처리는 단백질 가수분해효소 저해제를 파괴하고 단백질을 변성시켜 소화율을 증가시킬 수 있다는 보고를 뒷받침하는 것이라고 생각되며, 가열처리를 하지 않은 처리구에서 생성된 분자량 94 K band는 myosin heavy chain의 소화에 의하여 생성된 것이며, 전체적으로 생성된 분자량 32 K band는 actin의 소화에 의하여 생성된 것이라고 생각된다<sup>(9)</sup>. 당을 첨가한 처리구에서 가열처리를 하지 않은 처리구의 경우는 당을 첨가하지 않고 가열처리를 하지 않은 처리구와 거의 유사한 경향을 보여 주고 있지만 가열처리한 경우 당을 첨가하지 않은 처리구에 비하여 myosin분자 등의 중합체가 소화되지 못하고 있는 것을 보여주고 있는데, 이와 같은 결과는 가열처리만에 의하여 생성된 myosin분자 등의 중합체가 당첨가 및 가열처리에 의하여 생성된 myosin분자 등의 중합체보다 중합도가 작기 때문에 chymotrypsin에 의하여 소화되기 쉽다는 것을 보여주는 것이라고 생각된다. 한편, glucose 첨가 후 10분 및 15

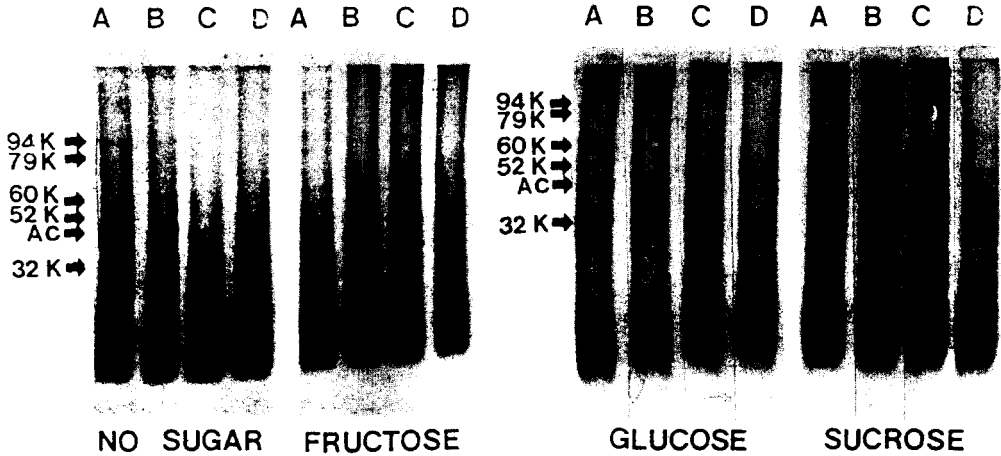


Fig. 3. Electrophoretic patterns of proteins from bovine loin muscle digested by chymotrypsin after 7.5% sugar addition and heat treatment at 121°C

A : unheated, B ; heating for 5 min, C ; heating for 10 min, D ; heating for 15 min  
(Ac) actin

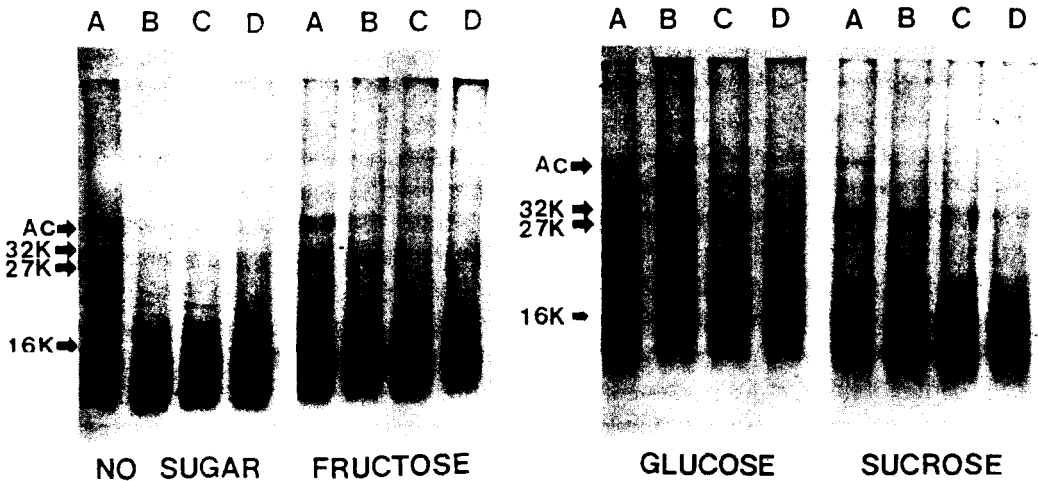


Fig. 4. Electrophoretic patterns of proteins from bovine loin muscle digested by trypsin after 7.5% sugar addition and heat treatment at 121°C

A : unheated, B ; heating for 5 min, C ; heating for 10 min, D ; heating for 15 min  
(Ac) actin

분간 가열처리한 처리구의 경우, 시료로부터 추출된 근원섬유단백질을 전기영동하였을 때는 myosin분자 등의 중합체가 나타나지 않았지만 chymotrypsin 처리시에는 myosin분자 등의 중합체가 나타나고 있는데 이와 같은 결과는 소화작용을 받지 않았을 때에는 이들의 중합도가 너무 커서 추출되지 않았지만 chymotrypsin에 의하여 이들이 분해되어 추출되었기 때문이라고 생각한다.

Trypsin 처리 근원섬유단백질의 전기영동 pattern 변화  
Fig. 4는 시료에 trypsin을 작용시킨 후 추출한 단백

질의 전기영동 pattern을 나타낸 것이다. Chymotrypsin을 작용시켰을 때보다 더욱 많이 소화되었고 소화 후 분자량 32 K, 27 K 및 16 K의 새로운 band를 생성하였는데 가열처리를 하지 않은 경우, 이들 band의 강도가 더욱 강하게 나타났으며 근원섬유단백질 중에서 actin이 trypsin에 의하여 가장 소화되기 어렵다는 것을 보여주고 있다. 이와 같은 결과는 역시 육단백질을 구성하는 아미노산 중에는 방향족 아미노산보다 염기성 아미노산이 많기 때문이라고 생각되며 가열처리에 의하여 단백질의 소화율이 증가할 수 있다는 Rhee 등<sup>(10)</sup>의 보고를 뒷받

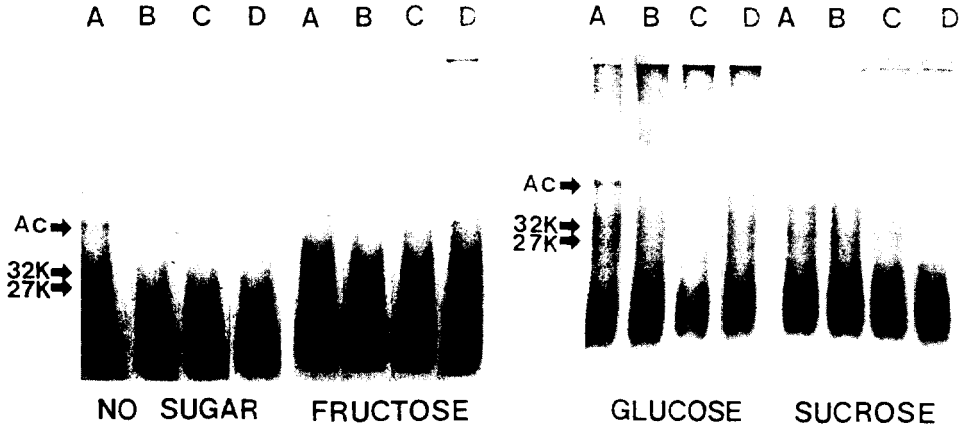


Fig. 5. Electrophoretic patterns of proteins from bovine loin muscle digested by peptidase, chymotrypsin and trypsin after 7.5% sugar addition and heat treatment at 121°C

A ; unheated, B ; heating for 5 min, C ; heating for 10 min, D ; heating for 15 min  
(Ac) actin

침하는 것이라고 생각된다. 소화 후 생성된 분자량 32 K와 27 K band는 myosin의 소화에 의한 것이며 16 K band는 actin의 소화에 의한 것이라고 생각되며 actin이 가장 소화되지 않은 것은 아미노산 조성 등의 단백질 구조나 그 밖에 여러 가지 요인에 기인한 것으로 생각되나 효소처리시 actin의 변화에 대해서는 더욱 많은 연구가 필요하다고 생각된다. 한편, 당을 첨가하지 않은 경우 가열처리한 처리구에 있어서 myosin분자 등의 중합체가 trypsin에 의하여 완전히 소화된 것을 보여 주고 있고 당을 첨가하고 가열한 처리구에 있어서 fructose의 경우, 전체적으로 chymotrypsin의 작용을 받았을 때보다 myosin분자 등의 중합체가 더욱 소화된 것을 보여 주고 있으며, glucose의 경우 5분 및 10분간 가열처리하였을 때는 myosin분자 등의 중합체가 chymotrypsin을 작용시켰을 때와 같이 완전히 소화되지 않고 있으며 15분간 가열 처리하였을 때에는 chymotrypsin을 작용시켰을 때보다 그 강도가 더욱 강하게 나타났다. Sucrose의 경우 chymotrypsin을 작용시켰을 때 소화되지 않았던 myosin분자 등의 중합체가 trypsin에 의하여 거의 소화되어 그 강도가 상당히 약해진 것을 보여주고 있다. 이와 같은 결과는 역시 가열처리만에 의하여 생성된 myosin분자 등의 중합체가 당첨가 및 가열처리에 의하여 생성된 myosin분자 등의 중합체보다 중합도가 작기 때문에 trypsin에 의하여 소화되기 쉽다는 것을 보여주는 것이라고 생각되고 당을 첨가한 처리구에서 이들 myosin분자 등의 중합체가 소화되는 정도는 Maillard 반응의 발생정도와 높은 상관관계가 있는 것으로 생각되며<sup>(7)</sup> glucose 첨가 후 15분간 가열처리한 처리구의 경우는 chymotrypsin에 의하여 아직 추출될 정도로 분해되지 못했던 myosin분자

등의 중합체가 trypsin에 의하여 더욱 분해되어 이들이 추출되었기 때문에 그 강도가 더욱 강하게 나타난 것이라고 생각된다.

Peptidase, chymotrypsin 및 trypsin처리 근원섬유단백질의 전기영동 pattern 변화

Fig.5는 시료에 peptidase, chymotrypsin 및 trypsin을 동시에 작용시킨 후 추출한 단백질의 전기영동 pattern을 나타낸 것이다. 3가지 효소에 의하여 모든 단백질이 소화되었지만, 가열처리를 하지 않은 경우에는 actin의 일부가 소화되지 않은 상태로 남아 있으며 분자량 32 K와 27 K band가 약한 강도로 존재하고 있다. 이와 같은 결과는 역시 가열처리에 의하여 소화율이 상승 된다는 Rhee 등<sup>(10)</sup>의 보고를 뒷받침하는 것이며 분자량 32 K와 27 K band의 생성은 myosin의 소화에 따른 결과라고 생각된다. 한편, fructose를 첨가하고 5분간 가열처리한 경우 당첨가와 가열처리에 의하여 형성된 myosin분자 등의 중합체가 3가지 효소의 작용을 받아 모든 소화된 것을 보여주고 있지만, 10분 및 15분간 가열처리구에서는 3가지 효소의 작용을 동시에 받아도 이들이 소화되지 못하는 것을 보여주고 있다. Glucose를 첨가하고 5분, 10분 및 15분간 가열처리하였을 때 myosin 분자 등의 중합체가 소화되지 못하고 그 band 강도도 fructose의 경우보다 강한 것을 보여주고 있으며, sucrose 첨가구에서는 당첨가 및 가열처리에 의하여 형성되었던 myosin분자 등의 중합체가 3가지 효소에 의하여 모두 소화된 것을 나타내고 있다. 이와 같은 결과는 당첨가나 가열처리에 의하여 형성된 myosin분자 등의 중합체는 3가지 효소의 작용을 동시에 받아도 소화되지 못한다는 것을

보여주는 것이라고 생각한다.

## 요 약

우육에 7.5%의 당을 첨가하고 121°C에서 가열처리하여 근원섬유단백질의 전기영동 pattern 변화를 알아보았다. 당을 첨가하지 않은 경우 가열처리시간이 길어짐에 따라 myosin heavy chain(MHC) 등의 분자량이 큰 단백질의 band강도는 크게 약화되었지만 actin 등의 분자량이 작은 단백질은 거의 변화가 없었으며 당을 첨가한 처리구에서는 가열처리에 의하여 MHC 등의 band강도가 더욱 약화되었는데 특히 glucose 첨가시 15분간 가열처리구에서는 actin band의 강도도 크게 약해졌다. 시료에 pepsinase를 작용시킨 후 추출한 단백질의 전기영동 pattern은 거의 변화가 없었으며 chymotrypsin을 작용시켰을 때 근원섬유를 구성하는 단백질들이 소화된 것을 보여주었으나 gal변반응이 심하게 발생하였던 glucose 첨가구에서는 myosin분자 등의 중합체가 나타났다. Trypsin을 작용시켰을 때 전체적으로 chymotrypsin의 경우보다 더욱 소화된 것을 보여주면서 glucose 첨가구에서는 myosin분자 등의 중합체가 더욱 강하게 나타났으며 pepsinase chymotrypsin, trypsin을 동시에 작용시켜도 glucose 첨가구에서는 myosin 분자 등의 중합체가 소화되지 못하며 그 강도도 fructose 첨가구의 것보다 강한 것을 보여 주었다.

## 문 헌

1. Lawrie, R.A : *Developments in Meat Science-3*, Elsevier Applied Science Publishers LTD, London. p. 25(1985)

2. MacBride, M.A. and Parrish, Jr.F.C. : The 30,000 dalton component of tender bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.*, **42**, 1627(1977)
3. Olson, D.G., Parrish, Jr.F.C., Dayton, W.R. and Goll, D.E. : Effect of postmortem storage and calcium activated factor on the myofibrillar protein of bovine skeletal muscle. *J. Food Sci.*, **42**, 117(1977)
4. Kim, H.J., Loveridge, V.A. and Taub, I.A. : Myosin cross-linking in freeze dried meat. *J. Food Sci.*, **49**, 699(1984)
5. Laakkonen, E., Sherbon, J.W. and Welling, G.H. : Low-temperature long-time heating of bovine muscle.2. Changes in electrophoretic patterns. *J. Food Sci.*, **35**, 178(1970)
6. Cheng, C.S. and Parrish, F.C.Jr. : Heat-induced changes in myofibrillar proteins of bovine longissimus muscles. *J. Food Sci.*, **44**, 22(1979)
7. 양종범, 김창환 : 당첨가 및 가열처리가 근원섬유단백질의 추출성에 미치는 영향, *한국식품과학회지*, **22**, 466(1990)
8. Laemmli, U.K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>, *Nature*, **227**, 680(1970)
9. 양종범 : 당첨가 및 가열처리가 근원섬유단백질의 특성에 미치는 영향. *건국대학교 박사학위논문*(1989)
10. Rhee, K.S. and Rhee, K.C. : Nutritional evaluation of the protein in oilseed products heated with sugars. *J. Food Sci.*, **46**, 164(1981)

(1990년 5월 31일 접수)