

Acyl화에 의한 어류 단백질의 이화학적 성질의 변화

방찬식·김재욱

서울대학교 식품공학과

초록 : 단백질의 기능성을 높이고자 acetic anhydride(AA), succinic anhydride (SA) 및 maleic anhydride(MA)로 단백질을 acyl화 시켜 소수성과 기능성 변화를 측정하여 기능 특성과 소수성의 관계를 고찰한 결과, 단백질의 아미노산 잔기인 amino기와 sulfhydryl기의 acyl화에는 AA에 의한 수식율이 가장 높아 amino기의 89.5% sulfhydryl기의 72.2%가 수식되었으며 amino기가 sulfhydryl기 보다 쉽게 acyl화 되었다. Succinyl화 및 maleyl화에 의해 어류 단백질의 소수성은 감소 하였으나 acetyl화는 단백질의 소수성이 근육 단백질보다 높다. AA, SA 및 MA로 acyl화 되면 단백질의 용해도, 유화특성, 포말특성, 수분 흡수력 및 지방 흡수력이 크게 향상되었으며 근육 단백질이 농축 단백질보다 기능적 특성이 좋았다. 단백질의 소수성 감소와 용해도 증가는 높은 상관성을 보였고 유화특성 및 포말특성은 단백질의 용해도와 깊은 관련이 있었으며 단백질의 소수성도 중요하였다. 단백질의 수분 흡수력은 용해도와 상관성이 크나 소수성과는 큰 관계가 없었으며 지방 흡수력은 단백질의 용해도 보다는 소수성에 더 큰 영향을 받는다(1989년 11월 14일 접수, 1990년 2월 22일 수리).

인구증가에서 오는 단백질의 부족을 '완화시키는' 방도의 하나로서 단세포 단백질을 비롯하여 어류, 식물의 잎 및 곡류, 특히 콩 단백질, 명씨, 유채씨 등의 새로운 단백질원을 개발하게 되었다.

이들 단백질의 이용성은 영양면 이외에 기능적 및 기호적 특성이 중요하다. 단백질의 기능성은 Kinsella¹⁾에 의하면 아미노산 조성 및 배열순서, 단백질의 구조, 표면전하, 소수성, disulfide 또는 sulfhydryl 함량 등이 또 Stuper²⁾은 단백질의 표면소수성 및 전하밀도 등이, 관여한다고 하였고 그 기능성을 향상시키기 위하여는 산염기 또는 효소를 사용하여 단백질을 분해하기도 하였다³⁻⁵⁾.

Groninger⁶⁾ 등은 식품단백질의 기능을 높이는데 화학적 수식 방법을 이용하였는데 Grant⁷⁾는 succinyl화로 gliadin의 용해도와 점도를 높였고 Creamer⁸⁾은 acetyl화한 casein은 pH 4.4에서도 가용성이 되어 유용하며 Melnychyn과 Steply⁹⁾는 mono와 dicarboxylic anhydride로 식품 단백질을 수식하여 점도와 등전점을 낮추었고 나쁜냄새를 제거하였다. 또 Gandhi¹⁰⁾은 3, 3-dimethylglutaric anhydride로 수식시켜 계란 흰자 단백질의 열안전성을 높였고 Evans와 Iron¹¹⁾은 succinyl화 시킨 계란 노른자 단백질이 에멀전 제품에 유용케 하였으며 Chen¹²⁾은 pH 9.5에서 추출한 어류 단백질을 succinyl화 시켜 유화 능력이 크게 높아지고 등전점이 낮아졌다고 하

였으며 Groninger와 Miller¹³⁻¹⁴⁾는 succinyl화 시켜 효소로 가수분해한 어류 근육 단백질은 분산력, 유화력, 포말안전성 등이 크게 높아졌다고 하였으나, 이들 연구는 식품 단백질의 화학적 수식에 의한 단백질의 기능특성 변화를 규명하였을 뿐 단백질의 구조적 특성과 이에 기인하는 단백질 기능성 변화에 관계되는 기작에 대한 연구는 별로 없다.

본 연구에서는 어류의 근육 단백질을 몇가지 acid anhydride 로 수식하고 반응정도와 단백질의 표면소수성 변화를 측정하여 단백질의 기능성과 비교하여 수식 단백질의 표면 소수성과 단백질 기능성과의 관계를 고찰하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

물고기는 광명시 사리 해변에서 잡은 신선한 송어를, 기타 시약은 특급을 사용하였다.

2. Acyl화한 어류 근육 단백질의 제조

1) 근육 단백질의 분리

어류 근육 단백질을 Groninger방법⁶⁾을 일부 변형하여 분리하였다. 즉 4°C의 저온에서 송어의 절편을 Waring blender로 같은 육즙액에 3배량의 0.1M NaCl 용액을 넣고 다시 갈아서 13,000 x g에서 원심분리하여 얻은 침전

에 0.6M NaCl 용액을 넣고 갈아서 원심분리하여 근육단백질 용액을 얻었다.

2) Acyl화

Acyl화는 Eisela와 Brekke¹⁵⁾의 방법에 따랐다. 즉 단백질을 0.1 M NaCl, pH 7.4, 0.05 M 인산 완충액 1ml당 25~26 mg 되게 용해시킨 후 단백질 1g당 0.1, 0.3, 0.7, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0m mole의 acid anhydride를 사용하여 2~5°C에서 반응시켜 acyl화 하고 이때 1.0N NaOH 용액으로 pH 7.0~8.5가 되게 하되 더 이상 pH가 변화되지 않는 점을 종점으로 반응을 끝내고 1.0 N HCl 용액으로 pH 7.4가 되게 하였다.

3) 염류 및 지질제거

Acyl화된 단백질 용액에 0.1N HCl를 가하여 pH 4.4~4.5로 맞추어 단백질을 침전시키고 원심분리하여 상정액을 제거하였다. 단백질의 침전물에 부피로 5~10배되는 isopropyl alcohol을 넣고 갈아서 얻은 액을 70~80°C에서 약 15분간 유지하여 지질을 추출한 후 여지로 걸러서 isopropyl alcohol과 염류를 제거하고 증류수로 2~3회 씻었다.

4) 건조 근육 단백질 제조

이 침전물에 2배량의 증류수를 넣고 2N NaOH로 pH가 7.2~7.3이 되게하여 냉동건조하여 약 60 mesh로 부셨다.

3. Acyl화한 어류 농축 단백질의 제조

세편뜨기한 어육에 3-5배 부피의 증류수를 넣고 갈아서 얻은 단백질 액에 acyl화와 염류 및 지질제거를 근육 단백질제조에서와 같이 한 후 80°C의 오븐에서 2시간 건조하여 분쇄하였다.

4. 단백질의 표면 amino기 정량

Moore와 Steine¹⁶⁾의 방법을 수정하여 1% 단백질 수용액에 1 ml의 ninhydrin-용액을 넣고 섞어 가열 발색시킨 후 냉각하고 증류수 5 ml를 넣어 580 nm에서 흡광도를 측정하였다. L-Lysine-free base를 이용하여 표준 곡선을 얻고 이것에서 단백질 1g의 표면에 존재하는 amino기의 양을 μ mole로 표시하였다.

5. 단백질 표면 sulfhydryl기 정량

Habeeb¹⁷⁾의 방법에 따라 단백질을 20mg EDTA를 함유하는 pH 8.0, 0.08 M-인산완충액 40 ml에 녹인 것에서 3 ml를 취하고 여기에 0.1 ml의 DTNB-용액(40 mg(5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)))/pH 8, 0.1M 인산 완충액 10 ml)을 넣고 상온에서 15분간 발색시킨 후 410nm에서 흡

광도를 측정하였다. 단백질 1g의 표면에 존재하는 sulfhydryl기의 양을 Beer의 식으로 계산하여 mole로 표시하였다.

6. 단백질의 표면 소수성 측정

Kato등¹⁸⁾의 방법을 변형하여 0.1% 단백질 용액 10 ml에 0.07 mM이 되게 SDS를 첨가하고 30분간 방치한 25배 부피의 pH 6.0, 0.02 M 인산 완충액에서 24시간 투석하였다. 내부 투석액의 SDS함량은 Epton의 방법에 따라 내부 투석액 0.5 ml를 20 ml 시험관에 취한 후 CHCl₃층에 0.00024% methylene blue 용액을 첨가한 것을 원심분리하여 아래층의 SDS-methylene blue 혼합층의 흡광도를 655 nm에서 측정하였다. 500 μ g의 단백질에 결합한 SDS 양을 μ g으로 표시하였다.

7. 단백질의 기능성 측정

1) 용해도

Rahma¹⁹⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉 100 mg의 시료에 탈염증류수를 첨가하여 1% 단백질 용액을 만들어 1N의 HCl 또는 NaOH로 pH가 7이 되게한 다음 13,000 x g에서 15분간 원심분리한 후 상정액 1ml을 취해서 Lowry등의 방법으로 단백질 함량을 정하여 용액 1ml당 용해된 단백질양을 mg로 표시하였다.

2) 포말 특성

Huffnan등²⁰⁾의 방법으로 측정하였다. 즉 시료 1 g에 증류수 50 ml를 가한 혼합물을 실온에서 Waring blender로 5분간 포럼시켜 100 ml 실린더에 옮겨 전체량을 측정하여 포말력으로 하고 30분이 경과한 후의 부피를 포말 안정성으로 하여 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{포말성} = \frac{\text{포럼후 부피(ml)} - \text{포럼전 부피(ml)}}{\text{포럼전의 부피(ml)}} \times 100$$

3) 유화특성

유화성과 유화안정성은 Chen등²¹⁾의 방법에 따라 측정하고 다음 식으로 유화성을 계산하였다.

$$\text{유화성} = \frac{\text{유화된 층의 높이(cm)}}{\text{시험관내 내용물 높이(cm)}} \times 100$$

유화안정성은 유화성을 측정하고 실온에서 측정된 유화성과의 백분율로 나타내었다.

$$\text{유화안정성} = \frac{\text{가열한 시료의 유화성}}{\text{가열하지 않는 시료의 유화성}} \times 100$$

유화력은 Webb등²¹⁾의 방법에 따라 50mg의 단백질을 10 ml의 pH 6.0, 0.05M 인산완충액에 녹인 다음 유화특성 측정 장치를 사용하여 측정하였다.

4) 수분 흡수력

수분 흡수력은 Wang과 Kinsella등²⁰⁾의 방법으로 측정하여 100 g의 단백질과 결합한 수분의 양으로 표시하였다.

5) 지방 흡수력

Wang등²⁰⁾의 방법에 따라 측정하여 100 g의 단백질에 결합한 대두유의 양을 g으로 표시하였다.

결과 및 고찰

1. 단백질과 acid anhydride와의 반응성

1) 단백질 표면 amino기의 acyl화

어류 단백질에 농도를 달리한 acetic anhydride(AA), succinic anhydride(SA) 및 maleic anhydride(MA)로 acyl화 하였을 때 ninhydrin반응으로 잔존하는 amino기를 정량한 수식 정도는 Fig. 1과 같다. 즉, 근육 단백질에 AA로 수식하였을 때 낮은 농도에서는 반응이 급격히 일어나 0.3, 0.6, 1.0 m mole anhydride/g protein의 농도에서 단백질의 표면 amino기가 각각 63.6%, 81.6%, 89.5%로 수식되어 anhydride농도 1.0 m mole에서 최대 반응을 나타냈다. SA는 낮은 농도에서는 수식율이 낮아 4 m mole의 anhydride를 반응시켰을 때 최고로 acyl화 되어 아미노기의 68.4%가 수식되었다. 농축 단백질의 경우도 근육 단백질과 비슷하며 AA를 첨가했을 경우 2 m mole에

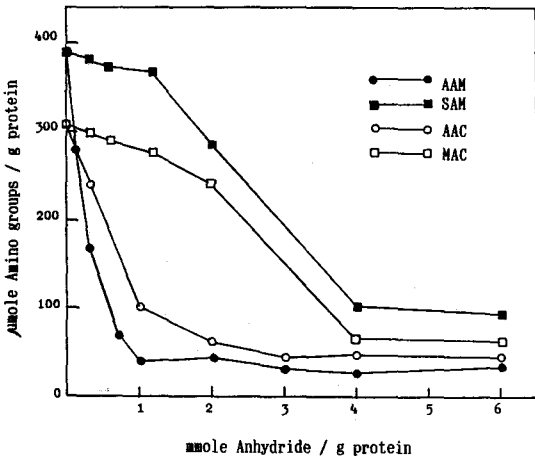


Fig. 1. Effect of anhydride on modification of fish myofibrilla protein(FMP) and fish protein concentrate(FPC) (AAM : acylated FMP with acetic anhydride ; SAM : acylated FMP with succinic anhydride ; AAC : acylated FPC with acetic anhydride ; MAC : acylated FPC with maleic anhydride)

서 acyl화가 최고점에 이르러 80%의 amino기가 수식되었고 MA는 4 m mole에서 78.3%로 최대 수식율을 보였다. AA가 SA나 MA보다도 낮은 농도에서 높은 수식율을 보였고 최고 수식율도 큰데 이것은 AA가 SA나 MA보다 카르보닐기의 친전자성이 크고 또 분자 구조가 작아서 카르보닐기와 단백질중의 amino기의 결합이 쉽기 때문이라 생각된다. 근육 단백질이 농축 단백질보다 amino기의 수식율이 높은 것은 농축단백질이 근육 단백질보다 표면 소수성이 크고 용해도가 낮아서 단백질 표면에 있는 amino기가 acyl화 되는데 불리하기 때문이라 생각된다.

2) 단백질 표면 sulfhydryl기의 acyl화

어류 단백질에 acid anhydride를 작용시켜 acyl화한 정도는 Fig. 2와 같다. 즉 AA의 낮은 농도에서도 반응이 급격히 일어나 1 m mole의 AA에서 근육 단백질과 농축 단백질의 sulfhydryl기의 반응 정도는 각각 61%, 48.6%였고 그후 증가하여 4 m mole의 AA에서 각각 72.2%, 65.7%로 최고치에 이르렀다. SA와 MA로 acyl화 시켰을 경우는 anhydride농도에 따른 수식율의 증가가 전체적으로 완만하여 4 m mole의 anhydride농도에서 근육 단백질과 농축 단백질에서 표면 sulfhydryl기의 16.7%와 20%가 수식되어 이들이 비슷한 반응 경향을 보였다. Amino기의 acyl화에서와 같이 단백질의 표면 sulfhydryl기의 acyl화에서도 AA가 가장높은 수식율을 보였다. Amino기와 sulfhydryl기의 반응을 비교하였을 때 amino 그룹은 최대 수식율이 1.0 m mole의 AA에서 89.5%인데 sulfhydryl기는 4.0 m mole의 AA에서 72.2%로 amino 그룹이 더 높은 수식율을 보였다. 실제로 Gounaris와

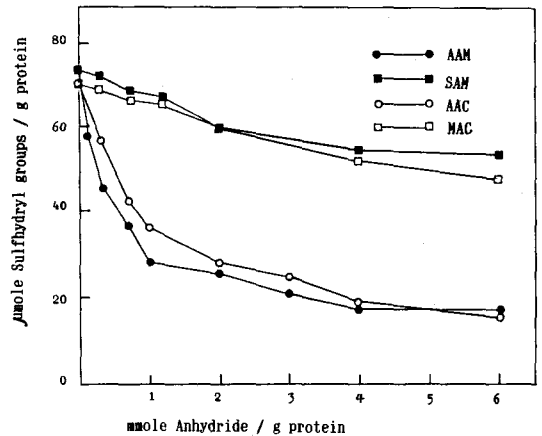


Fig. 2. Effect of anhydride on modification of sulfhydryl fish myofibrilla and fish protein

Perlmann²³⁾은 단백질 아미노산 잔기중 모든 친핵성반응기는 acyl화가 가능하지만 lysine의 ε-amino기는 비교적 작은 pK값과 공간적 유리성 때문에 잘 acyl화 할 수 있는 반응기라고 보고한 바 있다.

2. 단백질의 표면 소수성의 변화

어류 단백질을 acid anhydride로 acyl화 시켰을 때의 단백질의 표면 소수성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 즉 AA로 acyl화 시켰을 때는 근육 단백질과 농축 단백질의 표면 소수성이 처음 약간만 감소하였을 뿐이나 SA나 MA로 수식하였을 때 acyl화가 증가함에 따라 표면 소수성은 감소하여 2m mole의 anhydride농도에서 처음 575,780에서 360,540으로 크게 감소하였다. 이것은 AA의 경우에는 단백질 표면 반응기에 중성인 acetyl기가 결합되어 소수성에는 큰 변화를 주지 못한 데 비하여 SA나 MA는 anhydride중의 친수성 카르보닐기가 첨가되었기 때문이라고 생각된다. 농축 단백질의 표면 소수성이 근육 단백질의 그것에 비하여 높게 나타났는데 이것은 농축 단백질을 제조할 때 오븐에서 건조하였기 때문에 단백질의 일부가 변성되어 내부의 소수성기가 외부로 노출되었기 때문이라고 생각된다.

3. 단백질의 기능성 변화

1) pH와 NaCl 농도에 따른 용해도의 변화

어류 단백질의 acyl화에 따른 용해도 변화를 pH7에서 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 즉 AA로 수식하면 낮은

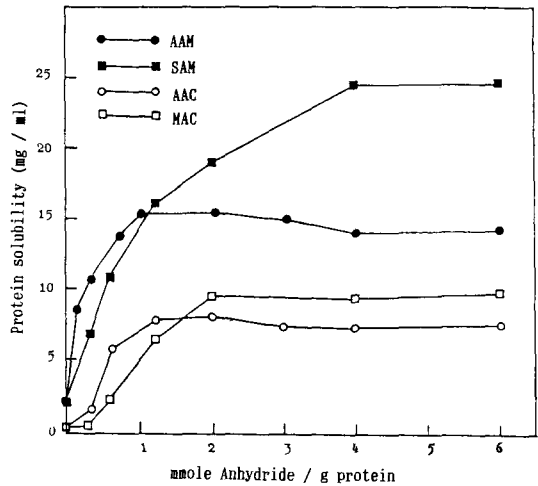


Fig. 4. Effect of anhydride on solubility on fish myofibrilla protein and fish protein concentrate

농도에서도 용해도가 급격히 증가하여 1m mole AA 농도에서 최대 용해도를 보였고 SA는 MA보다는 용해도 증가가 낮은 농도의 anhydride에서는 완만하여 4m mole SA에서야 최고치에 이르렀고 MA는 2m mole/g protein에서 가장 높은 용해도를 보였다. 이것은 AA, SA 및 MA가 단백질의 반응기와 반응하는 정도가 각기 다르기 때문으로 반응성이 큰 AA가 작용한 것이 가장 용해도가 빠르게 증가하였다. 그러나 용해도의 증가폭은 보면 MA와 SA는 최고 용해도를 나타내는 anhydride농도를 기준으로 할 때 용해도의 증가가 16.25배와 12.35배인데 비해 AA는 7.6 배로 낮은 증가폭을 나타냈다. 또한 근육 단백질의 용해도가 농축 단백질보다 전체적으로 높게 나타났다. 이와같이 acyl화로 용해도가 변하는 것은 정전기적 상호작용이 변화하기 때문이라 생각된다. 즉 Dickinson과 Stainsby²⁴⁾는 단백질이 수용액에서 용해되는 현상을 정전기적 반발력에 의한 것으로 pH7 수용액에서 단백질 표면에는 양이온보다 음이온이 많기 때문에 이들 음이온의 반발력으로 단백질은 침전되지 않고 안정한 colloid를 형성한다고 보고 하였다. 이들 이론을 근거로 할 때 AA의 경우는 acetyl기가 아미노기에 첨가되므로 단백질 표면의 양이온이 적어져서 음이온의 농도를 높이므로 용해도를 증가시키고 SA와 MA는 acyl화 결과 양이온의 아미노기가 음이온인 카르복실기로 치환되어 음이온의 양이 AA처리보다 훨씬 많으므로 용해도의 증가폭도 큰 것으로 생각된다. Barman등²⁵⁾은 acetyl화된 대두 단백질이 pH5~7에서 용해도가 증가되는 것

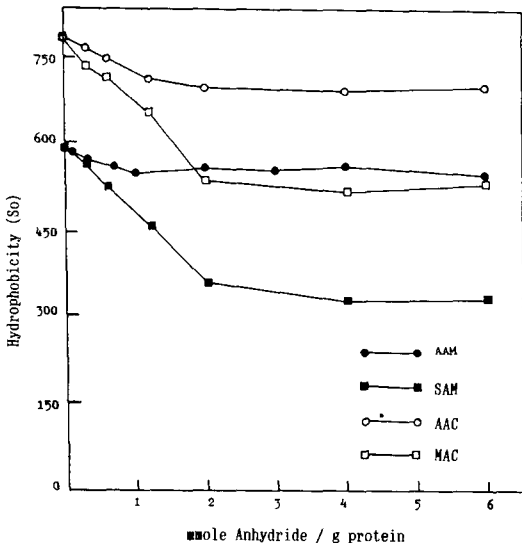


Fig. 3. Effect of anhydride on hydrophobicity of fish myofibrilla protein and fish protein

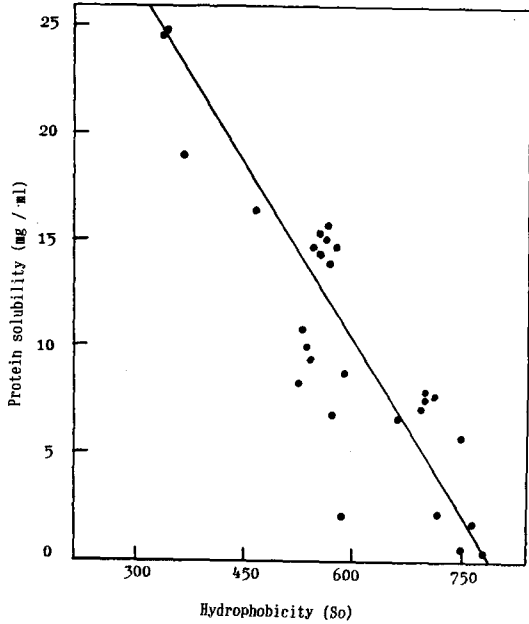


Fig. 5. Effect of hydrophobicity on solubility of fish myofibrilla and fish protein concentrate

은 분자내의 인력이 감소되기 때문이라 하였으나 Rahma와 Rao²⁶⁾는 명씨가가루를 acetyl화 시켰을 때는 73% 이상의 수식이 일어나 오히려 용해도가 감소되는 것은 소수성이 도입되기 때문이라고 하였다. 단백질의 용해도와 소수성의 관계를 알기 위하여 소수성에 대한 단백질 용해도를 보면 Fig. 5와 같다. 단백질의 소수성이 증가하면 용해도는 감소하며 실제로 통계처리에 의해서 얻은 소수성과 용해도의 상관식은 다음과 같다.

$$S = -0.0786S_0 + 0.288 \times 10^{-4} S_0^2 + 46.106 (n=28, P < 0.01, R = 88.35, S: \text{용해도}(\text{mg/ml}), S_0: \text{표면소수성}(\text{fluorescence intensity}/\% \text{ protein}))$$

그리고 직선 회귀식은 다음식과 같이되며 소수성 증가와 용해도 감소에는 좋은 상관성이 있음을 알 수 있다.

$$S = -0.046S_0 + 37.354 (n=28, P < 0.01, R = 87.96)$$

Barman과 Rahma와 상반되는 결과와 이실험에서 나타난 변성에 의한 소수성의 증가가 용해도를 저하시키는 것으로 볼 때 단백질의 크기 및 모양과 함께 소수성도 변하지 않고 전하밀도만이 변할 때는 Barman등이 주장한 단백질의 용해도가 정전기 적함에 따라 달라진다는 이론에 따르지마는 단백질이 변성되어 소수성이 변할 때는 단순한 정전기적 힘뿐만 아니라 단백질의 소수성 및 전하밀도의 복합적인 요인으로 용해도가 달라짐을 알 수 있다.

pH를 달리하였을 때 어류 근육 단백질의 용해도는

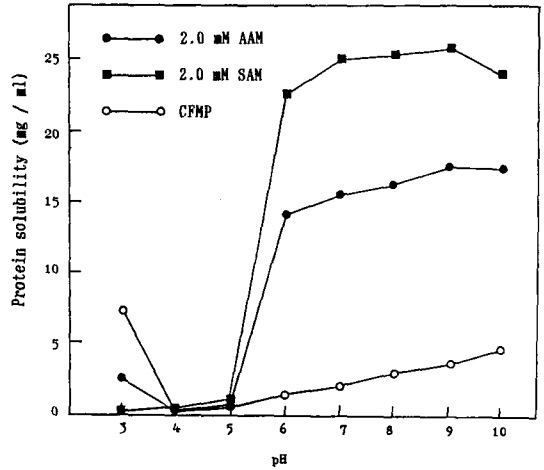


Fig. 6. Effect of pH on solubility(2.0 mM AAM : acylated FMP with 2.0 mM acetic anhydride; 2.0 mM SAM : acylated FMP with 2.0 mM succinic anhydride; CFMP : native FMP)

Fig. 6과 같다. Acyl화 시키지 않은 단백질은 pH가 낮아짐에 따라 용해도도 떨어져서 등전점인 pH4에서 가장 낮았고 SA로 acyl화 시킨 단백질은 pH6~10에서 일정하나 pH가 6에서 5로 낮아짐에 따라 급격히 떨어졌으며 등전점인 pH4에서 가장 낮은 용해도를 보이고 그 이하의 pH가 되면 가용성은 높아지지 않는다. 그리고 acetyl화 시킨 단백질도 비슷한 변화를 보였으나 전반적으로 succinyl화 시킨 것보다 용해도의 변화율이 작으며 등전점 이하에서는 약간의 가용성이 높아진 것이 다르다.

NaCl 용액에 대한 근육 단백질의 용해도는 Fig. 7과

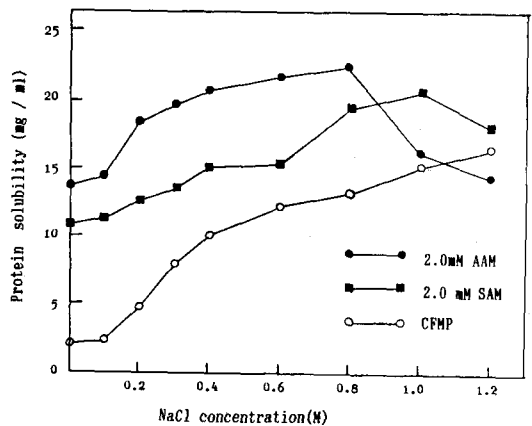


Fig. 7. Effect of NaCl concentration on solubility of fish myofibrilla protein

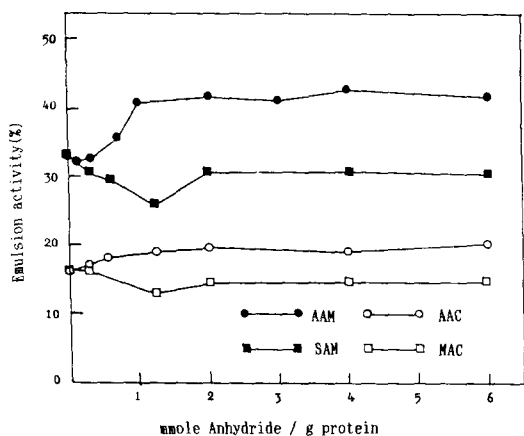


Fig. 8. Effect of anhydride on emulsion activity of fish myofibrilla and fish protein concentrate

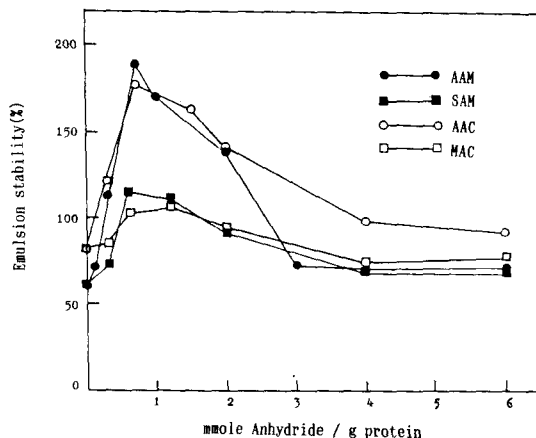


Fig. 9. Effect of anhydride on emulsion stability of fish myofibrilla and fish protein concentrate

같다. Acyl화 시키지 않은 근육 단백질은 NaCl의 농도가 높아짐에 따라 용해도가 높아지고 있다. Acyl화된 어류 근육 단백질도 NaCl의 농도가 증가함에 따라 용해도가 커지며 NaCl의 농도가 0.8~1M일 때 가장 높으나 그 이상의 농도에서는 용해도가 낮아진다.

2) 유화 특성

Acyl화 어류 단백질을 pH6의 0.6 M NaCl, 0.05 M 인산 완충액에서 유화성을 측정된 것은 Fig. 8과 같다. AA로 acyl화 시키면 농축 단백질과 근육 단백질이 다같이 acyl화가 많이 일어나 유화성이 증가하나 SA나 MA로 acyl화시키면 acyl화 정도가 증가할수록 오히려 유화성은 감소하는데 이것은 acyl화에 따른 소수성 변화와 일치하는 경향이다. 따라서 단백질의 유화특성은 용해도보다도 소수성에 따라 달라지며 이것은 단백질의 acyl화로 단백질 분자의 소수성이 변하여 지방과의 친화력이 변하기 때문이라고 생각된다.

어류 단백질의 acyl화에 따른 유화 안정도의 변화는 Fig. 9와 같다. Acid anhydride의 종류에 관계없이 낮은 농도에서는 acyl화 정도가 증가할수록 유화 안정도는 높아지나 1 m mole anhydride/g protein 이상에서는 감소하는 경향을 보인다. Chen등²⁰⁾의 연구에서는 acyl화에 따라 유화성이 변화하는 것은 용해도의 변화와 같은 경향이라 하였고 Canella등²¹⁾도 용해도와 유화 안정도 사이에 관계가 있다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 용해도는 더 낮으나 소수성이 더 높은 acetyl화된 어류 단백질의 유화 안정도가 succinyl화된 단백질보다 더 높게 나타나 이것으로 단백질의 용해도 뿐만 아니라 단백질의 소수성도 유화 안정도에 기여하는 것으로 생각된다.

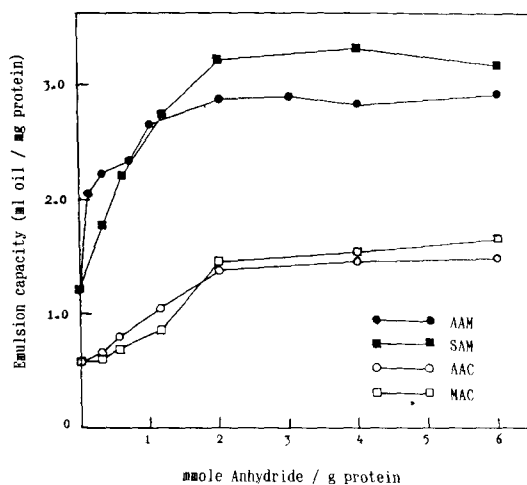


Fig. 10. Effect of anhydride on emulsion capacity of fish myofibrilla and fish protein concentrate

pH 6.0에서의 어류 단백질의 acyl화된 정도에 따른 유화력의 변화는 Fig. 10과 같다. 낮은 농도의 anhydride에서는 AA에 의한 acyl화가 유화력을 크게 높이나 2m mole anhydride/g protein-농도 이상에서는 일정한 값을 보이는 데 높은 농도의 anhydride에서는 전반적으로 SA나 MA로 acyl화된 단백질의 유화력이 AA보다 크게 나타났다. Acyl화에 따라 유화력이 향상되는 것은 acyl화에 따라 용해도가 증가되는 것과 같은 경향을 보였는데 이것에는 Canella등과 같이 단백질의 용해도와 유화력 사이에는 큰 상관관계가 있음을 알 수 있다.

유화력과 용해도 및 소수성의 관계를 보기 위하여 용

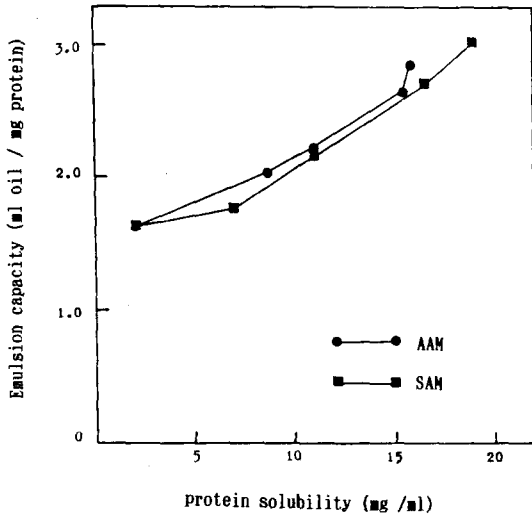


Fig. 11. Effect of protein solubility on emulsion capacity of acylated fish myofibrilla protein

해도에 대한 유화력의 변화를 그리면 Fig. 11과 같다. 즉, 단백질의 유화력과 용해도와는 직선적인 관계가 있다. 그러나 그 기울기는 acetyl화 시킨 것이 succinyl화 시킨 것보다 커서 용해도 증가에 대한 유화력 증가 비율이 AA가 SA보다 더 크다. 또한 용해도가 같은 AA와 SA를 비교할 때 AA의 유화력이 SA보다 큰 것을 알 수 있다. 따라서 단백질의 유화력에 영향을 주는 인자는 용해도 이외에 또 다른 것이 있어야하며 그것이 단백질의 소수성이 아닌가 생각된다. 단백질의 유화력에 영향을 미치는 인자로서의 용해도와 소수성의 기여도를 알고자 제산한 직선 회귀식은 다음과 같다.

단백질의 용해도와 유화력에 관한 직선 회귀식 :

$$EC = 0.127S + 0.978 (n=28, P < 0.01, R = 91.67, EC :$$

Emulsion capacity(ml oil/mg protein))

유화력에 대한 소수성의 관계식 :

$$EC = 0.00623S_0 + 5.5538 (n=28, P < 0.01, R = 86.08)$$

소수성과 용해도를 모두 포함한 관계식 :

$$EC = 0.0976S - 0.001743S_0 + 1.905$$

$$(n=28, P < 0.01, R = 92.38)$$

여기서 용해도와 소수성을 포함한 회귀식의 상관도가 92.38로서 용해도와 소수성 각각의 상관도인 91.67과 86.08보다 높다. 즉, 단백질의 유화력은 용해도나 소수성중 한 가지 보다 두가지 요인을 함께 나타내는 것이 합리적이다. 유화력에 대한 용해도와 소수성의 기여도를 볼 때 유화력에 대한 용해도의 상관 지수는 0.92이고 소수성은 0.86이므로 단백질이 유화력에 미치는 것은 용해도가 소

수성보다 더 크게 기여함을 알 수 있다.

0.6 M NaCl, pH 6.0, 0.05 M-인산 완충용액에서 단백질의 농도를 달리했을 때의 유화력 변화는 Fig. 12와 같다. Acyl화 되지 않는 단백질은 농도에 영향을 받지않고 일정한 값을 유지하고 acyl화 시킨 단백질은 단백질의 농도가 높아지면 유화력은 떨어지는 경향을 보였다.

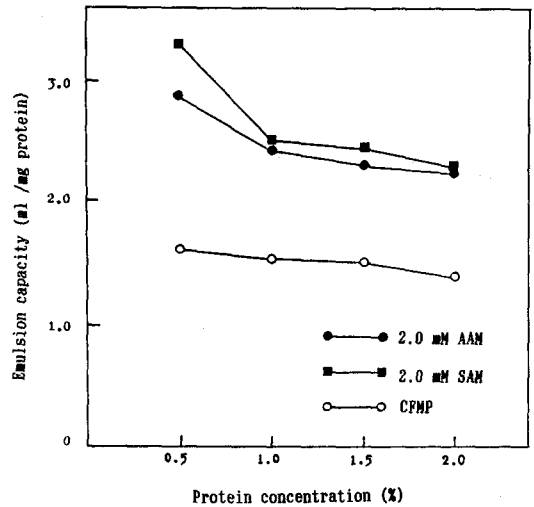


Fig. 12. Effect of protein concentration on emulsion capacity of native and acylated fish myofibrilla protein

2) 포말 특성

어류 단백질의 acyl화 정도에 따른 포말력의 변화는 Fig. 13과 같다.

포말력은 용해도 변화와 비슷한 경향을 보여 이들간에는 깊은 관계가 있는 것으로 생각된다. 수식이 증가될수록 포말력이 커지는 것은 단백질의 acyl화가 물과 기름의 표면 장력을 줄이는 데 크게 기여한 것처럼 공기와 액체의 계면이 acyl화된 단백질의 활성화에 의하여 크게 감소하기 때문인 것으로 생각된다. 포말력에 대한 단백질의 용해도와의 관계는 Fig. 14와 같이 직선적으로 비례함을 알 수 있다. 포말력(foam capacity, FC)에 대한 용해도의 소수성의 기여도를 알기 위하여 통계 처리를 하여 구한 직선 회귀식은 다음과 같다.

포말력과 용해도의 상관식 :

$$FC = 1.6052S - 4.1731 (n=28, P < 0.01, R = 93.02)$$

포말력과 소수성의 관계식 :

$$FC = 0.0724S_0 + 53.649 (n=28, P < 0.01, R = 77)$$

포말력에 대한 소수성 및 용해도를 포함한 관계식 :

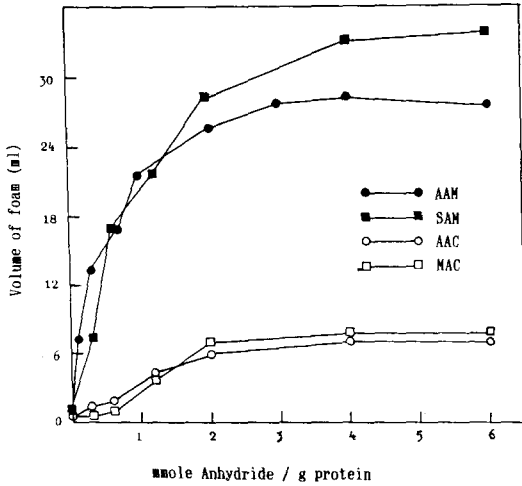


Fig. 13. Effect of anhydride on foam capacity of fish myofibrilla protein and fish protein concentrate

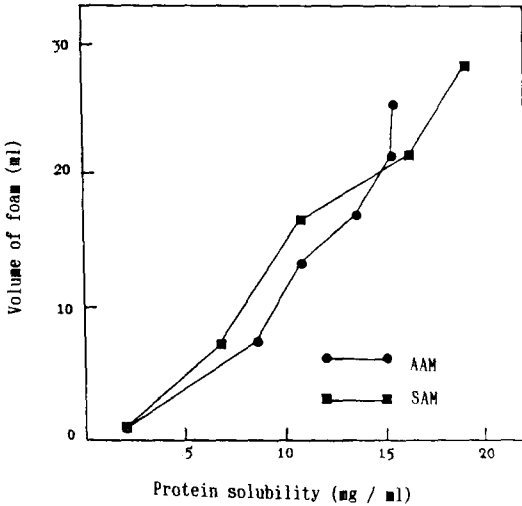


Fig. 14. Effect of protein solubility on foam capacity of acylated fish myofibrilla protein

$$FC = 1.8747S + 0.016S_0 - 16.377 (n=28, P < 0.01, R = 93.40)$$

단백질 포말력에는 소수성 및 용해도를 포함한 식이 높은 상관성을 보여 단백질의 포말력은 용해도와 소수성을 함께 고려하는 것이 합리적이다. 유화력과 포말력에 대한 용해도 및 소수성의 기여도를 비교하면 용해도는 유화력보다 포말력에 더 크게 관여하나 소수성은 포말력에서보다 유화력에 더 크게 관여함을 알 수 있다.

단백질의 acyl화에 따른 포말 안정성의 변화는 Fig. 15와 같다. 수식에 따른 포말력과 포말 안정성의 변화는 비슷하였으며 AA와 MA로 acyl화 시켰을 때는 2m mole

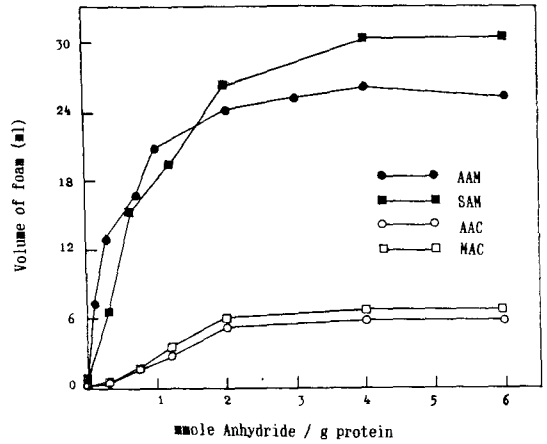


Fig. 15. Effect of anhydride on foam stability of fish myofibrilla protein and fish protein concentrate

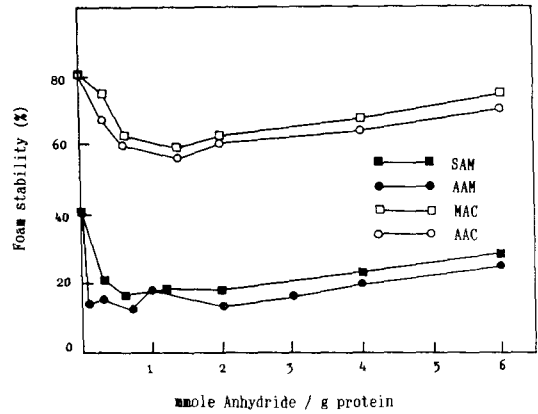


Fig. 16. Effect of anhydride concentration on foam activity of fish myofibrilla protein and fish protein concentrate

에서 최고 포말 안정성을 나타냈고 SA 4 mmole에서 최대 포말 안정성을 나타내고 있다. 따라서 단백질의 acyl화는 포말력을 증가시켰을 뿐 아니라 형성된 거품의 안정성에도 크게 기여함을 알 수 있다.

포말성에 대한 acyl화의 영향은 Fig. 16과 같다. 처음에는 acid anhydride 종류에는 관계없이 다같이 acyl화가 됨에 따라 낮은 농도에서 감소하다가 그 이상에서는 증가하였는데 AA처리에는 포말성이 SA나 MA의 처리보다 낮았다. 일정한 농도에서 포말성이 떨어지는 현상은 acyl화로 용해도가 급격히 증가하므로 포말력이 커지고

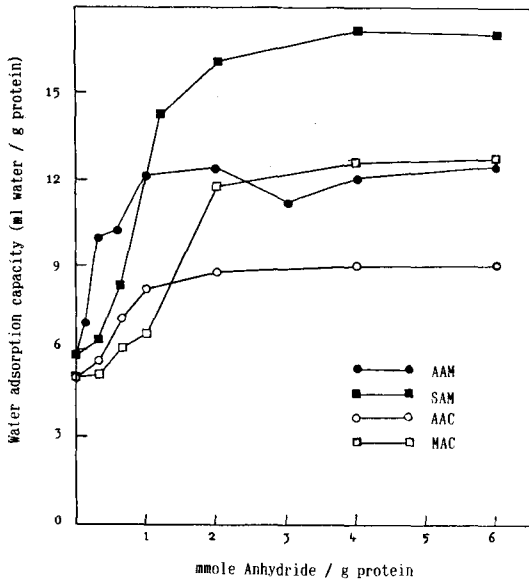


Fig. 17. Effect of anhydride on water adsorption capacity of fish myofibrilla and fish protein

포말력의 증가 이상으로 포말 안정성이 증가하기 때문인 것으로 생각된다.

4) 수분 흡수력

Acyl화 정도에 따른 수분 흡수력 변화는 Fig. 17과 같다. 낮은 농도의 anhydride로 acyl화 시켰을 때는 용해도와 수분 흡수력 증가는 비례하나 2 m mole 이상에서는 용해도가 더 낮은 acetyl화된 농축 단백질이 용해도가 더 높은 succinyl화된 근육 단백질 보다 높은 수분 흡수력을 보였다. 이것은 Kathleen 등²⁶⁾은 단백질의 용해도가 증가함에 따라 수분 흡수력을 증가한다고 하였으나 용해도 증가와 수분 흡수력 증가는 반드시 일치하지 않음을 알 수 있는데 이것은 단백질의 용해도는 소수성이 커지면 작아지지만 수분 흡수력은 소수성의 증가가 큰 효과를 미치지 못하고 단백질의 전하밀도만 이 수분 흡수력에 기여하기 때문에 succinyl화 시킨 경우 음전하

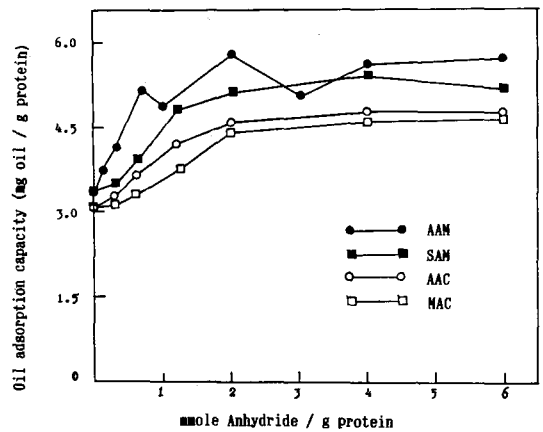


Fig. 18. Effect of anhydride on oil adsorption capacity of fish myofibrilla and fish protein concentrate

와 소수성 증가가 동시에 일어나 용해도는 소수성이 작은 acetyl화된 근육 단백질보다 작게 나타나나 수분 흡수력은 소수성의 증가에 영향을 받지 않고 음전하의 증가로 인해 크게 나타난 것이 아닌가 생각된다.

5) 지방 흡수력

Acyl화 정도에 따른 지방 흡수력의 변화는 Fig. 18과 같다. AA로 acyl화 시키면 SA나 MA로 acyl화 시킨 것보다 더 높은 지방 흡수력을 보였는데 두가지 단백질간의 지방 흡수력의 차이는 크지 않았다. 이것은 지방흡수력은 단백질의 소수성이 크게 관여하기 때문에 단백질 표면에 노출된 소수성 그룹이 많을수록 지방과의 친화력이 높아져 지방을 많이 흡수하는 것으로 생각되나 소수성이 더 높은 농축 단백질이 근육 단백질에 비해 지방 흡수력이 낮은 결과와 succinyl화한 수식정도가 높으면 소수성이 감소함에도 불구하고 지방 흡수력이 높아짐으로 단백질의 지방 흡수력에는 소수성의외에 다른 인자가 관여하는 것이라 생각된다.

참고 문헌

1. Kinsella, J. E. : "Food Proteins : Relationships between Structure and Functional Properties of Food Proteins", P. F. Fox and J. J. Condon Eds., Applied Sci. Pub., London and New York (1982)
2. Stuper, A. J., Brugger, W. E. and Jurs, P. C. : "Computer Assisted Studies of Chemical Structure and Biological Function", Wiley, New York(1979)
3. Arai, S., Yamashita, M., Fujimaki, M. : Cereal Foods World, 20 : 107(1975)
4. De Groot, A. P. and Slump, P. : J. Nutr., 98 : 459(1969)
5. Provensal, M. P., Cug, J. L. and Cheftel, C. : J. Agric. Food Chem., 23 : 938(1975)
6. Groninger, H. : J. Agric. Food Chem., 21 : 978

7. Grant, D. : Cereal Chem., 50 : 417(1973)
8. Creamer, L., Roeper, J. and Lohrey, E., N. Z. : J. Dairy Sci. Technol., 6 : 107(1971)
9. Melnychyn, P. and Stapley, R. : Acylated Protein for Coffee Whitener Formulations, U. S. Patent, 3,764,711(Oct. 9, 1973)
10. Gandhi, S., Schultz, T., Blughey, F. and Forsythe, R. : J. Food Sci., 33 : 163(1968)
11. Evans, M. T. A. and Irons, L. : German Patent 1,951,247(1970)
12. Chen, L., Richardson, T. and Amundson, C. : J. Milk Food Technol., 38 : 89(1975)
13. H. S. Groninger, JR. and R. Miller : J. Food Sci., 40 : 327(1975)
14. H. S. Groninger, JR. : J. Agric. Food Chem., 21 : 978(1973)
15. T. A. Eisele and C. J. Brekke : J. Food Sci., 46 : 1095(1981)
16. Moore, S. and Stein, W. : J. Biol. Chem., 211 : 907(1954)
17. Habeeb, A. F. S. A. 1972. Reaction of Protein Sulfhydryl Groups with Ellman's Reagent, Meth. Enzy., 25 : 457(1962)
18. Akio Kato, Tomohiko Matsuda, Naotoshi Matsumoto, and Kunihiko Kobayashi : J. Agric. Food Chem., 32 : 284(1984)
19. Rahma and Navasingu Ruo : J. Food Sci., 44 : 579(1979)
20. Huffman, V. L., Lee, C. K. and Burns, E. E. : J. Food Sci., 40 : 70(1975)
21. Webb, N. B., Ivey, F. J., Craig, H. B., Jones, V. A. and Monroe, R. J. : J. Food Sci., 35 : 501(1970)
22. Wang, J. C. and J. E. Kinsella : J. Food Sci., 41 : 286(1976)
23. Gounaris, A. D. and Perlmann, G. : J. Biol. Chem., 242 : 2739(1967)
24. E. Dickinson and G. Stainsby : "Colloids in Food : Structure and Stability of Electrocratic Colloid" : Applied Sci. Pub., London and New York(1982)
25. Barman, B. G., Hansen, J. R., and Mossey, A. R. : J. Agric. Food Chem., 25 : 638(1977)
26. Rahma, E. H. and Rao, M. S. N. : J. Agric. Food Chem., 31 : 352(1983)
27. Canella, M., Castritta, G. and Bermardi, A. : Lebensm-wiss. U.-Technol., 12 : 95(1979)
28. Kathleen J. Barber and Joseph J. Warthesen : J. Agric. Food Chem., 30 : 930(1982)

Changes of Functional Properties of Acylated Fish Protein

Chan-Sik Bang and Ze-Uook Kim(Department of Food Science and Technology, Seoul National University)

Abstract : Fish protein was acylated with acetic anhydride(AA), succinic anhydride(SA) and maleic anhydride(MA) in order to improve the functional properties of the protein. The surface hydrophobicity and functional properties of protein were measured to study the relationship between them. It was found that the extended acylation of nucleophilic groups such as amino and sulfhydryl groups of the amino acid residues of fish protein was higher than other groups when acylated with AA, and the degree of acylation was 89.5 % for amino groups and 72.2 % for sulfhydryl groups. The surface hydrophobicity of fish protein was decreased by succinylation and maleylation, whereas acetylation caused little change. The acylated fish protein concentrate(FPC) showed higher surface hydrophobicity than the acylated fish myofibrilla protein(FMP). Acylation with AA, SA and MA of fish protein resulted in a significant increase in protein solubility, emulsifier properties, foaming properties, water adsorption capacity and oil adsorption capacity. These properties of acylated FMP were more improved than those of acylated FPC. Decrease in protein hydrophobicity was highly correlated with increase in protein solubility, and emulsifier properties and foaming properties were largely dependent on the solubility as well as surface hydrophobicity. The water adsorption capacity of the protein was significantly affected by solubility. Surface hydrophobicity had greater influence on oil adsorption capacity, whereas it had little effect on water adsorption capacity.