

육제품에 첨가된 대두단백 정량을 위한 면역분석법 개발에 관한 연구 ; ELISA에 의한 고기유화물 및 시판육제품에 첨가된 대두단백 정량

김천제 · 김종배 · 김병철* · 이승배** · 정성원 · 최도영 · 고원식
건국대학교 축산가공학과, *고려대학교 축산학과, **상지대학교 낙농학과

Development of Immunoassay Systems for the Assay of Soy Protein in Meat Products; The Assay of Soy Protein in Meat Blends and Commercial Product by Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA)

Cheon-Jei Kim, Jong-Bae Kim, Byung-Cheol Kim*, Seoung-Bae Lee**,
Sung-Won Jung, Doo-Young Choe and Won-Sick Ko

Department of Animal Products Science, Kon-Kuk University

*Department of Agriculture Science, Korea University

**Department of Dairy Science, Sang Ji University

Abstract

This study was carried out for the development of assay method to quantify the soy protein content in meat homogenate, emulsion-type sausage and commercial meat products by Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA). The standard antigen was extracted before and after heat treatment. It was observed that the degree of reaction was not varied significantly according to the heating temperature. The recovery rate in meat homogenate and emulsion-type sausage was not varied significantly according to the heating temperature. The reaction was not interfered with fat and spices of the samples. Samples with 10% soy protein showed lower correlation than those with 2% and 5% soy protein. The recovery rate in commercial meat products showed difference individually. The correlation of some products with raw vegetable and wheat starch was relatively low.

Key words: ELISA method, homogenate, emulsion-type sausage, recovery rate

서 론

육가공품 생산에 있어서 결합제 및 증량제로서 첨가되는 대두단백질은 가열에 의해서 겔을 형성하는데 이것은 glycinin(11s globulin)의 염기성 잔기(basic subunit)와 β -conglycinin(7s globulin)의 상호결합에 의하여 생성되며⁽¹⁻⁴⁾, glycinin의 어떤 산성잔기(acidic subunits)가 겔강도를 증가시키는데 중요한 역할을 한다⁽⁵⁻⁷⁾. Llewellyn 등⁽⁸⁾은 열변성에 의해서 아미노산 배열의 변화는 거의 없지만 큰 group 내의 각각의 단백질 분자의 응집이 일어나 불용성이 되므로 대두단백을 분석하는데 어렵게 된다고 한다^(9,10). 즉 가열에 의해서 대두단백에서 일어나는 가장 큰 변화는 용액내의 주요단백질이 불용성이 되는 것이다^(11,12). 따라서 가열에 의해서 대두단백은 변성되며 변성된 단백질은 native 항원을 사용하여 만든 항체와의 반응성이 상실되거나 감소된다⁽¹³⁻¹⁶⁾. 그리고

대두단백내의 단백질 함량이 대두의 종류, 재배년도, 기후, 가공처리조건 등에 의해서 다르다^(17,18). 이러한 이유에서 육제품내에 첨가된 대두단백질을 정확히 정량하는데 어려움이 있다. 하지만 최근에는 변성된 단백질과도 잘 결합할 수 있는 항체를 생산하여 효소를 이용한 ELISA법이 개발되어 상기의 문제점을 해결할 수 있는 가능성이 제시되었다^(19,20).

Indirect ELISA법은 변성된 항원을 사용하여 항혈청을 생산하여 분석하므로써 가열처리된 제품에 적용하기 알맞고 가열에 의해서 변성된 단백질을 추출하기 위하여 SDS와 β -mercaptoethanol(2-ME)를 사용하여 추출시킴으로 SDS에 의해서 변성된 시료를 정량하는데 사용할 수 있다⁽¹⁹⁾. 하지만 대두를 정량하는데 있어서는 사용된 대두의 상태(flour, isolate, concentration, texturized, extrudation 등) 뿐만 아니라 대두가 첨가된 제품의 제조방법(raw, dried, heated, canned 등)에 의하여도 분석에 어려운 문제점이 발생한다^(20,21).

따라서 본 연구는 항원의 열변성조건에 따른 반응성의 차이, 가열온도와 조건, 지방함량 및 향신료 등의 첨가물을 달리하여 고기혼합물과 유화형 sausage를 제조하여

Corresponding author: Cheon-Jei Kim, Department of Animal Products Science, Kon-Kuk University, Mojin-dong, Seongdong-Gu, Seoul 133-701, Korea

대두단백을 정량하였으며, 시판육제품에 대하여 정량을 실시하여 면역분석법에 의한 이종단백질 정량을 위한 기초자료를 마련하고자 실시하였다.

재료 및 방법

재료

Isolated soy protein(ISP, PP-590, 단백질 함량 92%)은 천양교역에서 구입하였고, 육제품의 제조에는 silent cutter(Seydelman, Germany)를 사용하였고 시료로 사용된 돈육은 등심부위인 *M. longissimus dorsi*를 구입하여 지방과 건을 제거하고, grinding하여 시료의 제조에 사용하였다. 시료의 추출에는 Homogenizer(Nissei, Japan), Ultra-turrax(T250, W-Germany), shaker(Taiyo, Japan)를 사용하였으며 추출용 시약으로 sodium dodecyl sulphate(SDS, Sigma, USA)와 2-mercaptoethanol(2-ME)를 사용하였으며, Goat anti-Rabbit IgG-HRP(Biomakor, Israel), immunotiter plate(Nunc, Denmark), OPD(O-phenylenediamine, sigma, USA), Mini-reader II(Dynatech Laboratories, Inc., USA)를 정량을 위해 사용하였다.

시료의 준비

고기혼합물(homogenate)의 제조는 돈육의 등심부위인 *M. longissimus dorsi*의 지방과 건을 제거하여 grinder에서 분쇄한 후 silent cutter내에서 식염(15%), 얼음, 대두단백(0~5%)을 첨가하여 3분간 세절, 혼합하였다. 세절, 혼합이 끝난 고기 혼합물은 시험관(직경 2.2 cm, 높이 15 cm)에 충전한 후 이것을 raw, 70~100°C에서 30분, 시료의 일부는 120°C에서 15분간 가열 처리하여 시료를 준비하였다.

유화형 sausage의 제조는 분쇄된 정육에 얼음, 식염(15%(w/w)), 지방함량(0, 10, 15%(w/w))과 대두단백(0, 2, 5, 10%(w/w)) 함량을 다르게 첨가하여 silent cutter내에서 유화가 완전히 형성될 수 있게 상법에 의하여 6분간 세절, 혼합하였다. 세절, 혼합이 끝난 시료는 시험관에 충전하여 70~120°C에서 가열 처리하여 시료로 준비하였다. 유화형 sausage에 첨가된 향신료는 상법에 의하여 첨가하였다.

시판 육제품은 프레스햄, 런천미트(훈제품, 비훈제품), 족살라미, 비엔나 sausage, 로인햄, 바이스브루스터 등의 시판제품을 구입하여 시료로 준비하였다.

시료의 대두단백 추출

위에서 준비한 고기혼합물과 유화형 소세지 및 시판 육제품을 grinder에서 균질화한 후 1g을 채취하여 extraction buffer(0.25% Na₂HPO₄, 0.25% NaH₂PO₄, 0.75 M NaCl, 5%(w/v) SDS, 5%(v/v) 2-ME) 9.2 ml에 넣어 Ultra-turrax로 완전히 균질시킨 후 총량이 10 ml이 되도록 조정하여 실온에서 24시간 정도 shaker에서 추출

시켰다. 이것을 100°C에서 5분간 가열하고, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 -70°C에 보관하면서 필요에 따라 ELISA 분석용 시료로 사용하였다. 시료의 분석시에는 PBS(0.25% Na₂HPO₄, 0.25% NaH₂PO₄, 0.75 M NaCl, pH 7.2)로 250 : 1, 500 : 1, 1,000 : 1로 희석하여 사용하였으며 최종용액의 SDS 농도는 0.02%(w/v)가 되도록 조정하였다.

표준 대두단백의 제조

표준 대두단백의 제조는 대두단백(ISP)을 10 mg/ml의 농도가 되도록 extraction buffer에 녹여 상온에서 24시간 정도 shaker에서 교반시킨 후 시료의 추출과정과 같은 방법으로 추출하였다.

시료 추출과정 중의 가열처리와 SDS 첨가에 따른 반응성의 변화를 조사하기 위하여 추출후 열변성 표준 대두단백과 추출전 열변성 대두단백을 제조하였는데 추출후 열변성된 표준 대두단백은 표준 대두단백(10 mg/ml)을 extraction buffer 녹여 24시간 교반하여 추출한 후 각각 0°C, 75°C에서 30분, 100°C에서 30분, 120°C에서 15분간 가열 처리하여 열변성 시킨 후 시료로 사용하였으며 추출전 열변성된 표준 대두단백은 대두단백(ISP)을 10 mg/ml의 농도가 되도록 PBS(SDS와 2-ME가 포함되지 않은)에 녹여 0°C, 75°C에서 30분, 100°C에서 30분, 120°C에서 15분 가열 처리한 후 5%(w/v) SDS와 5%(v/v) 2-ME를 첨가하여 24시간 교반한 후 시료의 추출과 같은 방법으로 처리하였다.

대두단백의 회수를 측정

대두단백의 회수를 측정하는 항원을 coating한 indirect ELISA법을 사용하여 실시하였으며 중요사항을 요약하면 다음과 같다.

면역항원(1.75 µg/ml)을 coating buffer(0.05 M sodium carbonate buffer, pH 9.6)에 녹여 0.2 ml씩 immunotiter plate에 분주하여 4°C에서 overnight 반응시킴으로서 coating시켰다. Plate에 coating 되지 못한 항원을 washing buffer(0.05 M PBS, 0.05% Tween 20) 0.2 ml로 3회 세척하고, 3% bovine serum albumin(BSA)으로 blocking시켰다. 위에서 준비된 표준항원과 측정하고자 하는 시료는 표준항원은 250 : 1(4 µg/100 ml)부터 희석하여 plate의 두개의 well에 측정하고자 하는 시료는 250 : 1, 500 : 1, 1,000 : 1로 희석하여 각각 3개의 well에 0.1 ml씩 첨가한 후 5,000 : 1로 희석한 항체를 0.1 ml 첨가하여 경쟁반응이 일어나게 37°C에서 2시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 immunotiter plate를 다시 3회 세척하고, Goat anti-Rabbit IgG-HRP conjugate용액(1 : 30,000 dilution in PBS)을 첨가하여, 37°C에서 2시간 첨가반응시켰다. 다시 immunotiter plate를 세척하고, 효소 HRP(horse-radish peroxidase)의 기질인 OPD용액(OPD 40 mg, DW 50 ml, 0.1 M citric acid 24.3 ml, 0.2 M sodium phosphate dibasic 25.7 ml, 30% H₂O₂ 40 ml, pH

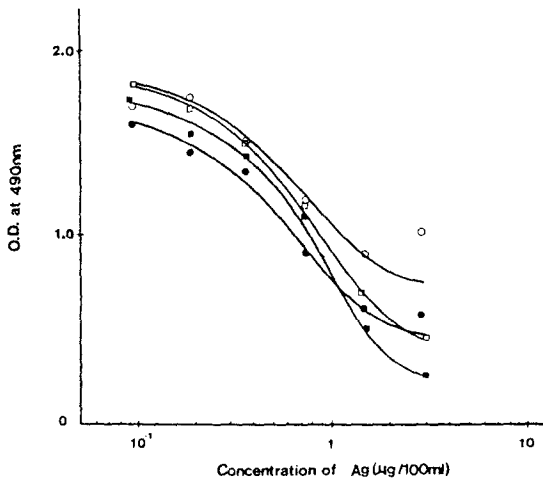


Fig. 1. Comparison of calibration curves made with heat-denatured soy protein after extraction procedure heating temperature raw(□), 75°C 30 min(■), 100°C (●) and 120°C 15 min(○)

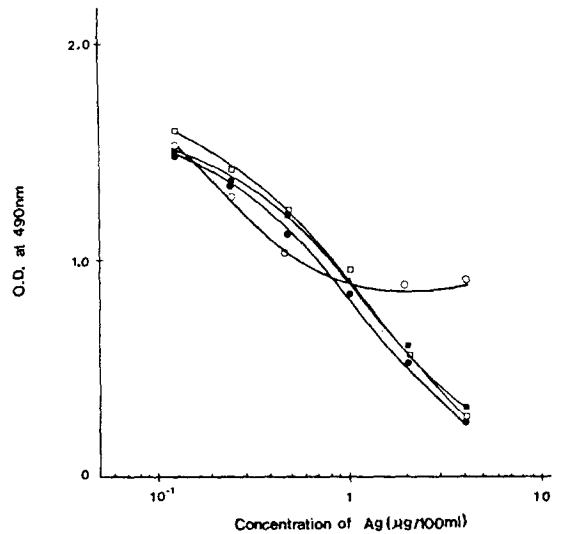


Fig. 2. Comparison of calibration curves made with heat-denatured soy protein before extraction procedure Legends are the same as in Fig. 1

5.0)을 넣고 37°C 에서 30분 반응시킨 후, 반응정지용액인 2 N H₂SO₄를 50 µl씩 넣고 490 nm에서 O.D값을 읽었다. 본 실험에서 시료의 최종 SDS 함량은 0.02%가 되게 하였으며 Plate의 맨 처음열은 B₀로 하였으며, 마지막열은 non-specific binding(NSB)으로 하였다.

결과 및 고찰

표준항원(대두단백)의 열변성 조건에 따른 반응성의 변화

본 실험에서는 표준곡선의 작성에 사용되는 표준항원을 가열하여 가열온도, 가열시 SDS의 유무 등을 달리 하여 반응성의 변화를 조사하였다. Extraction buffer 내에서 추출시킨 후 가열하여 변성시킨 항체와 추출과정 전에 변성시켜 추출한 항체를 사용하여 검정곡선(calibration curve)을 작성하였던 바 Fig. 1, 2와 같은 결과를 나타내었다. Extraction buffer 내에서 추출시킨 후 온도를 달리하여 가열한 후 반응성의 차이를 조사한 경우 가열온도가 증가함에 따라 반응성은 다소 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았으며, 추출과정 전에 변성시켜 추출한 시료의 경우 역시 가열온도가 증가함에 따라 반응성은 다소 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았으며 두 처리구 모두 120°C 에서 가열처리한 시료의 반응성의 연관성이 다소 낮게 나타났다. 이것은 7S globulin과 11S globulin 특히 7S globulin의 β-subunit과 11S globulin의 basic subunit이 가열에 의하여 가용성 상호결합체를 생성하는 겔화(gelation)가 일어나고 SDS 첨가에 의하여 소수성 결합인 이 복합체는 다시 해리된다^{10,22)}. 하지만 가열에 의하여 응고되기 전의 상태의 항원과 응고가 일어난 후 SDS의 첨가에 의하여 해리된 항원의 상태는 동일하다고 할 수 없으며, 가열온도에 따른 열

응고 정도가 동일하다고 할 수 없다¹⁹⁾. 이러한 이유에서 반응성의 차이가 나타나는 것으로 사료된다.

대두단백 농도, 가열조건에 따른 고기혼합물의 대두단백 회수율

돈정육, 염, 얼음, 대두단백만을 혼합하여 만든 고기 혼합물의 대두단백 회수율을 측정할 결과 Table 1과 Fig. 3에 나타나 있다. Table 1에 표시된 실제함량은 각 시료를 extraction buffer를 사용하여 추출한 후 추출액 속에 함유된 대두단백 함량을 산술적으로 산정한 함량이다. Table 1는 반복실험에 따른 회수율의 변화(day-to-day variation)의 결과와 팔호 안은 백분율로 나타낸 결과이고, 시료내의 실제 대두단백 함량과 실험을 통해 검출된 함량과의 연관성은 Fig. 3과 같이 나타났다. 이 결과로 보아 회석비율 및 가열온도에 따른 반응성의 차이는 볼 수 있으나 유의성은 인정되지 않았으며, 대두단백 무첨가구는 거의 반응성이 나타나지 않았으나 100°C 와 120°C 에서 가열처리한 시료의 경우 회석비율 500 : 1과 1,000 : 1에서 반응성을 나타내었으나 낮은 값이었다. 이것은 열변성된 시료를 SDS를 사용하여 추출하는 과정에서 모든 시료의 대두단백을 아주 동일한 항원적 형태로 항상 전환시키지 않는다^{23,24)}는 것을 알 수 있다. 따라서 육에 의한 반응성의 방해작용은 일부의 처리구에서는 나타났으나 유의성은 인정되지 않아 대두단백 정량에 영향을 주지 않는다는 것을 알 수 있다. Griffiths 등²⁰⁾은 대두단백이 변성된 육내의 다른 성분들과 교차결합을 하며 불용성의 혼합물을 생성하여 방해작용을 나타낸다고 하였지만, Ravestem 등¹⁹⁾과 Hitchcock 등²³⁾은 육성분에 의한 방해작용이 없다고 보고하였다.

그리고 Armstrong 등⁽¹⁴⁾은 SDS-PAGE를 사용하여 육제품내의 대두단백 정량이 가능하지만 멸균된 제품의 정량은 불가능하다고 하였다. 하지만 ELISA법을 사용한 본 실험의 연관성은 가열처리하지 않은 시료(87.74~117.5%)가 다소 높게 나타났으며, 120°C에서 가열처리한 시료(66.27~90.86%)의 연관성이 다소 낮게 나타났으나

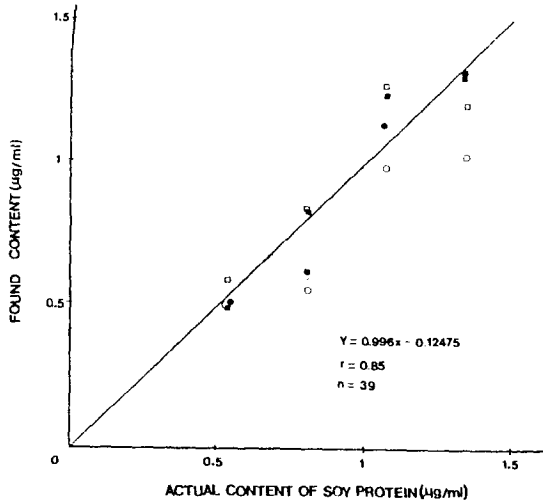


Fig. 3. Correlation between actual content of soy protein and found content by ELISA in Homogenate
Legends are the same as in Fig. 1

정량이 가능하였다.

유화형 소세지에서 대두단백 회수율 측정

돈지방이 첨가된 유화형 소세지의 대두단백질 회수율을 측정된 결과는 Table 2에 나타나 있으며, 지방함량에 따른 실험의 연관성은 Fig. 4~6에 나타내었다. 회석비율이 증가함에 따라 대두단백 회수율은 다소 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았으며, 가열온도가 증가함에 따라서도 동일한 추세를 보였다. 지방 첨가량에 따른 회수율의 변화는 0%에서 10%, 15%로 첨가량이 증가함에 따라서 다소 증가하였으나 유의성은 인정되지 않았으며 가열하지 않은 시료의 연관성(79.1~106.3%)이 다소 높게 나타났으며 대두 첨가함량이 높은 10% 첨가구(72.9~102.2%)가 낮은 첨가구(2, 5%)보다 연관성이 다소 낮게 나타났다. Table 2의 3회 반복한 실험의 변화는 Ravestein 등⁽¹⁹⁾의 결과와 유사한 경향을 보였으며, Hitchcock 등⁽²³⁾은 ELISA법 자체가 실험상의 오차를 가지므로 이러한 오차는 실험의 반복수를 증가함으로써 줄일 수 있다고 하였다.

지방의 첨가에 의해서 반응성은 다소 증가하는 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았으며, 현재까지 발표된 논문은 ELISA법에 의한 대두단백 정량에 있어서 지방에 의한 방해작용이 거의 없다고 한다⁽¹⁹⁾. 본 실험에서 지방첨가에 의해 반응성이 다소 증가하는 것은 ELISA법 자체의 실험오차에 의해서 나타나는 것으로 사료된다⁽¹⁹⁾. 따라서 지방이 첨가된 시료에서도 대두단

Table 1. Recovery of soybean protein from meat-soy blend (homogenate) after extracting with extraction buffer¹⁾

| ISP(%) | Raw | 75°C, 30 min | 100°C, 30 min | 120°C, 10 min |
|--------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| 0 | | | 0.02 이하 | 0.02 이하 |
| 2 | 1.75(87.7± 2.6) | 1.79(89.6± 10.6) | 2.19(109.5± 15.1) | 1.78(89.0± 31.4) |
| 3 | 3.09(102.9± 23.5) | 3.09(102.9± 12.5) | 2.27(75.5± 31.4) | 2.00(66.3± 22.4) |
| 4 | 4.71(117.7± 7.8) | 4.71(117± 9.9) | 4.26(106.5± 39.3) | 3.64(90.9± 5.5) |
| 5 | 4.79(95.7± 13.8) | 4.70(94± 7.1) | 4.79(95.7± 11.4) | 4.22(84.4± 9.9) |

¹⁾Values are means of three replications (% recovery± standard deviation)

Table 2. Recovery of soybean protein from emulsion-type sausage after extracting with extraction buffer¹⁾

| Treatment | | Raw | 75°C, 30 min | 100°C, 30 min | 120°C, 30 min |
|-----------|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Fat(%) | ISP(%) | | | | |
| 0 | 2 | 1.95(97.5± 5.9) | 1.95(97.5± 12.4) | 1.81(90.5± 9.3) | 1.79(89.5± 10.2) |
| | 5 | 4.24(84.8± 10.0) | 4.13(83.8± 4.6) | 4.09(81.8± 4.6) | 4.10(82.0± 3.0) |
| | 10 | 8.30(83.0± 4.2) | 7.88(78.8± 1.8) | 8.09(80.0± 3.5) | 7.84(78.4± 2.4) |
| 10 | 2 | 1.98(98.0± 12.6) | 1.72(86.0± 17.2) | 1.55(77.5± 0.9) | 1.90(95.0± 7.4) |
| | 5 | 4.84(96.8± 10.6) | 4.74(94.8± 7.6) | 4.81(96.7± 8.7) | 4.57(91.4± 6.0) |
| | 10 | 8.96(89.6± 14.2) | 8.83(88.3± 3.7) | 8.99(89.9± 3.1) | 9.10(91.0± 0.6) |
| 15 | 2 | 2.16(108.0± 14.9) | 2.14(107.0± 7.7) | 2.16(108.0± 14.1) | 2.10(105.0± 11.5) |
| | 5 | 4.98(99.6± 12.4) | 5.01(100.2± 14.8) | 4.95(99.0± 12.5) | 4.77(95.4± 10.1) |
| | 10 | 9.47(94.7± 6.6) | 8.66(86.6± 2.5) | 9.34(93.4± 2.3) | (-) |

¹⁾Values are means of three replications (% recovery± standard deviation)

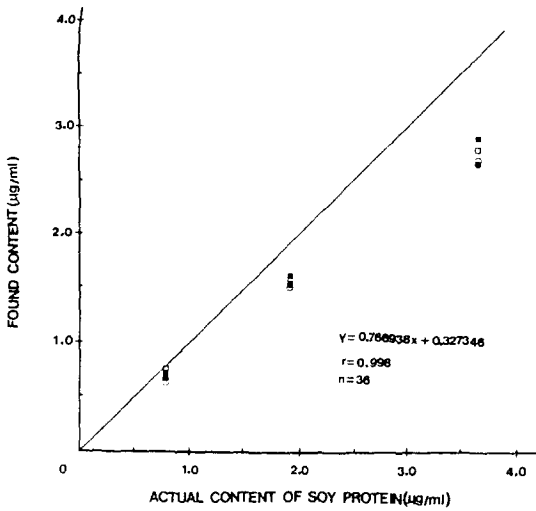


Fig. 4. Correlation between actual content of soy protein and found content by ELISA in emulsion-type sausage without fat

Legends are the same as in Fig. 1

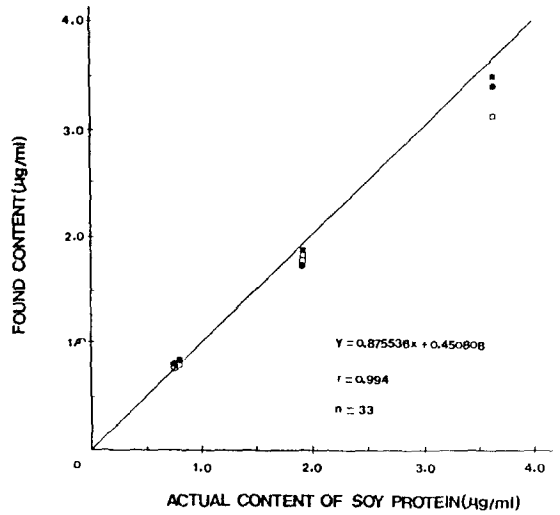


Fig. 6. Correlation between actual content of soy protein and found content by ELISA in emulsion-type sausage with 15% fat concentration

Legends are the same as in Fig. 1

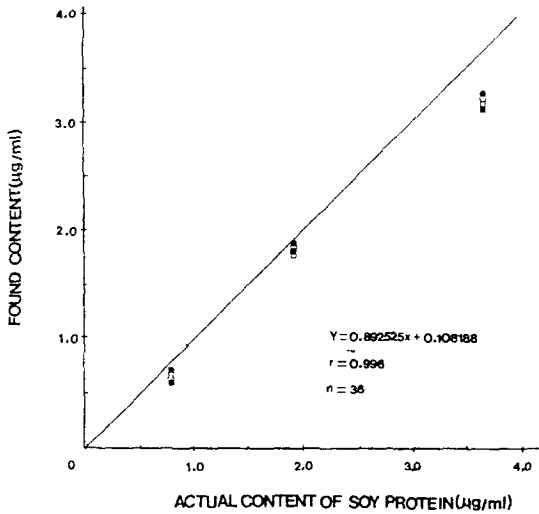


Fig. 5. Correlation between actual content of soy protein and found content by ELISA in emulsion-type sausage with 10% fat concentration

Legends are the same as in Fig. 1

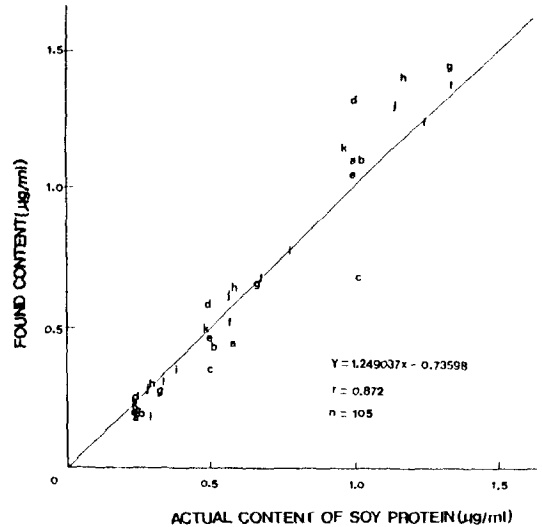


Fig. 7. Correlation between actual content of soy protein and found content by ELISA in commercial products

백의 정량이 가능하다는 것을 본 실험의 결과로 알 수 있다.

시판육제품의 대두단백 회수율 측정

시판육제품의 대두단백 회수율 측정의 결과는 Table 3과 Fig. 7에 나타내었다. Table 3에서 볼 수 있듯이 회석비율이 증가함에 따라 회수율은 다소 감소하는 경향을 보였으며, 생마늘과 양파를 첨가한 시료 c(72.2±6.4%)과

소맥전분을 첨가한 시료 d(115.8±13.0)는 다소 낮은 연관성을 나타내었지만 나머지 시료의 경우 대두단백 회수율이 86.7~109.9%로 비교적 높은 연관성을 보였다. 본 실험의 결과로 시제품의 대두단백을 정량하는데 있어서 육제품의 제조에 첨가된 대두단백 이외의 첨가물에 의한 정량의 방해작용은 나타나지만 그 반응성의 정도가 크지 않으므로 정량에 큰 문제가 없다는 것을 알 수 있다. Hichcock 등⁽²³⁾은 ELISA법을 사용하여 대두단백을 정

Table 3. Recovery of soybean protein from commercial meat products after extracting with extraction buffer^{1,2)}

| Sample No. | Actual content | dilution rate | | |
|------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | 250 : 1 | 500 : 1 | 1,000 : 1 |
| a | 2.43 | 2.60(107.1± 8.4) | 2.20(90.3± 4.1) | 1.80(74.1± 4.9) |
| b | 2.57 | 2.60(101.3± 11.2) | 2.14(83.3± 6.6) | 1.94(75.5± 7.3) |
| c | 2.53 | 1.58(66.4± 12.2) | 1.77(70.1± 2.6) | 2.02(80.2± 5.0) |
| d | 2.49 | 3.25(130.8± 7.6) | 2.88(115.8± 10.3) | 2.51(100.7± 7.8) |
| e | 2.50 | 2.60(104.0± 22.3) | 2.31(92.2± 10.9) | 2.02(80.9± 11.5) |
| f | 5.62 | 6.58(117.2± 11.0) | 6.20(110.3± 9.3) | - (-) |
| g | 3.33 | 3.59(107.7± 20.3) | 3.28(98.6± 9.5) | 2.84(85.3± 8.2) |
| h | 2.92 | 3.47(119.4± 14.8) | 3.19(108.9± 11.3) | 2.96(101.3± 12.4) |
| i | 1.95 | 1.94(99.9± 15.5) | 1.74(89.8± 8.9) | 1.77(91.1± 10.3) |
| j | 2.86 | 3.22(112.6± 17.9) | 3.04(106.3± 11.2) | 2.78(97.3± 8.4) |
| k | 2.43 | 2.84(116.9± 6.1) | 2.45(100.9± 7.2) | 2.34(96.4± 6.1) |
| l | 3.33 | 3.43(102.8± 16.3) | 3.31(99.2± 11.0) | 3.03(90.5± 12.5) |

¹⁾Results obtained with 250 : 1, 500 : 1 and 1,000 : 1 dilution

²⁾Values are means of three replications (% recovery± standard deviation)

량하는데 있어서 대두단백 이외의 성분과의 반응성을 조사한 결과 육성분과는 반응성이 나타나지 않았으며, 우유분말(milk powder), 계란분말(egg powder), 밀가루(wheat powder) 등과는 반응성이 나타나며 Lecithin의 첨가에 의해서 높은 반응성을 나타냄을 보고하였다. 본 실험의 결과는 소맥전분을 첨가한 제품은 항원-항체 반응성에 방해를 받아 다소 높은 값을 나타냈으며 생마늘이나 양파는 비특이적인 결합을 일으키거나 시료내의 대두단백과 항체와의 반응성을 다소 증진시킴으로 다소 낮은 값을 나타낸 것으로 사료된다. 따라서 첨가물과 다른 단백질원에 대한 보다 많은 실험을 통하여 대두단백과의 반응성에 관한 연구를 수행하여야 할 것이다.

Hitchcock 등⁽²³⁾은 대두단백의 제조방법에 따라 즉, 뜨거운 용매를 사용하여 추출함으로 인해 열변성 정도가 심한 concentrated, extruded 또는 textured 등의 대두단백이 반응성이 낮게 나타난다고 하였으나 Ravestein 등⁽¹⁹⁾은 제조방법이 다른 대두단백 및 품종이 다른 대두단백도 반응성의 변화가 없이 정량할 수 있다는 상반된 결과를 제시하였다. 본 실험의 결과로 보아 시판육제품 정량의 연관성이 높게 나타나 대두단백 정량이 가능하다는 것을 알 수 있다.

요 약

본 실험은 육가공품에 첨가된 대두단백질(soy protein)을 정량하기 위한 면역분석법의 개발을 위해 고기 혼합물, 유화형소세지 및 시판육제품을 사용하여 정량 실험을 실시하였다. 본 실험에 사용한 standard 항원을 추출과정 전과 후에 가열처리하여 반응성을 조사한 결과 가열온도에 따른 반응성 변화의 유의성은 인정되지 않았다. 고기혼합물과 유화형소세지의 대두단백 회수율에서 가열온도에 따른 반응성 변화의 유의성은 인정되지

않았으며, 지방 및 첨가된 향신료에 의한 반응성의 방해는 나타나지 않았다. 실험의 연관성은 대두함량이 높은 10% 첨가구에서 낮은 첨가구(2, 5%)보다 다소 낮게 나타났다. 시판 육제품의 대두단백 회수율은 제품간의 차이를 나타냈으며, 생야채와 소맥전분 등을 첨가한 일부 제품에서는 다소 낮게 나타났으나, 실험을 통한 회수율의 연관성은 인정되었다.

감사의 말

본 연구는 1989~1990년도 문교부지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구비 조성에 의하여 수행된 연구결과의 일부로 이에 깊은 감사를 드립니다.

문 헌

1. Damodaran, S. and Kinsella, J.E.: Effect of conglycinin on the thermal aggregation of glycinin. *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 812(1982)
2. Ishino, K. and Kudo, S.: Relationship between gelatin and aggregation of alkali-treated soybean 7s and 11s globulins. *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 1029(1979)
3. Kitamura, K., Takagi, T. and Shibasaki, K.: Subunit structure of soybean 11s globulin. *Agric. Biol. Chem.*, **4**, 1839(1976)
4. Staswick, P.E., Hermodson, M.A. and Nielsen, N.C.: Identification of the acidic and basic subunit complexes of glycinin. *J. Biol. Chem.*, **256**, 8752(1981)
5. Lei, M.G. and Reek, G.R.: Two dimensional electrophoretic analysis of the proteins of isolated soybean protein bodies and the glycosylation of soybean proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 296(1987)
6. Utsumi, S. and Kinsella, J.E.: Structure-function relationships in food proteins; Subunit interactions in heat induced gelation of 7s, 11s and soy isolate pro-

- teins. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 297(1985)
7. Moreira, M.A., Hermodson, M.A., Larkins, B.A. and Nielsen, N.C.: Partial characterization of the acidic and basic polypeptides of glycinin. *J. Biol. Chem.*, **254**, 9921(1979)
 8. Llewellyn, J.W., Dean, A.C., Sawyer, R., Bailey, F.J. and Hitchcock, C.H.S.: Technical note; the determination of meat and soya proteins in meat products by peptide analysis. *J. Food Technol.*, **13**, 249(1978)
 9. Kitamura, K., Toyokawa, Y. and Harada, K.: Polymorphism of glycinin in soybean seeds. *Phytochemistry*, **19**, 1841(1980)
 10. Nakamura, T., Utsumi, S. and Mori, T.: Interactions during heat-induced gelation in a mixed system of soybean 7s and 11s globulins. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2429(1986)
 11. Wolf, W.J. and Tamura, T.: Heat denaturation of soybean 11s protein. *Cereal Chem.*, **46**, 331(1969)
 12. Utsumi, S., Damodaran, S. and Kinsella, J.E.: Heat-induced interactions between soybean proteins; Preferential association of 11s basic subunits and β -subunit of 7s. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 1406(1984)
 13. Moreira, M.A., Mahoney, W.C., Larkins, B.A. and Nielsen, N.C.: Comparison of the antigenic properties of the glycinin polypeptides. *Archiv. Biochem. Biophys.*, **210**, 643(1981)
 14. Armstrong, D.J., Richert, S.H. and Rieman, S.M.: The denaturation of isolated soybean protein in raw and pasteurized meat products. *J. Food Technol.*, **17**, 327(1982)
 15. Iwabuchi, S. and Yamauchi, F.: Determination of glycinin and β -conglycinin in soybean proteins by immunological methods. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 200(1987)
 16. Lee, Y.B., Rickansrud, D.A., Harberg, E.C. and Briskey, E.J.: Quantitative determination of soybean in fresh and cooked meat-soy blends. *J. Food Sci.*, **40**, 380(1975)
 17. Hughes, S.A. and Murphy, P.A.: Varietal influence on the quantity of glycinin in soybeans. *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 376(1983)
 18. Murphy, P.A. and Resurreccion, A.P.: Varietal and environmental differences in soybean glycinin and β -conglycinin content. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 911(1984)
 19. Ravestain, P. and Driedonks, R.A.: Quantitative immunoassay for soya protein in raw and sterilized meat products. *J. Food Technol.*, **21**, 19(1986)
 20. Griffiths, N.M., Billington, M.J., Crimes, A.A. and Hitchcock, C.H.S.: An assessment of commercially available reagents for an enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) of soya protein in meat products. *J. Sci. Food Agric.*, **35**, 1255(1984)
 21. Yamagishi, T., Miyakawa, A., Noda, N. and Yamauchi, F.: Isolation and electrophoretic analysis of heat-induced products of mixed soybean 7s and 11s globulins. *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 1129(1983)
 22. Dimitriadis, G.J.: Effect of detergents on antibody-antigen interaction. *Anal. Biochem.*, **98**, 445(1979)
 23. Hitchcock, C.S.H., Bailey, F.J., Crimes, A.A., Dean, D.A. and Davis, P.J.: Determination of soya proteins in food using an enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) procedure. *J. Sci. Food Agric.*, **32**, 157(1981)
 24. Eldridge, A.C. and Holmes, L.G.: Evaluation of a fluorometric technique for quantitative determination of soy flour in meat-soy blends. *J. Food Sci.*, **44**, 763(1979)

(1992년 1월 10일 접수)