

생선단백질의 열안정성과 조직형성속도에 공정조건이 미치는 영향

박성진 · 김병용

경희대학교 산업대학 식품가공학과

Effect of Processing Conditions Upon Heat Stability and Structure Formation in Fish Protein

Sung-Jin Park and Byung-Yong Kim

Department of Food Processing, Kyunghee University

Abstract

Effect of thermal processing upon the structure formation of surimi was investigated by differential scanning calorimeter (DSC), rigidity changes during heating, and scanning electron microscopy (SEM). DSC studies showed the transition temperatures and heat capacity of the proteins during heating. Thermal transition peaks of the proteins were shifted to the lower temperatures or disappeared by the addition of salt and higher heating rate or setting treatment (4°C or 40°C). Whereas setting at 4°C for 24 hr produced elastic component and showed a permanent effect in rigidity development during heating, setting at 40°C for 30 min produced a temporary effect. SEM studies in conjunction with rigidity scanning provided an insight into the structural features of the gel and helped clarify the setting and protein modification effects.

Key words: fish protein, rigidity, thermal transition temperature

서 론

Surimi는 물로 세척하여 같은 생선단백질의 집합체로써, 조직감을 형성하는 주된 기능을 가지고 있으며 지방이나 물과 결합하는 기능도 갖고 있어서 주로 맛살류, kamaboko류, 생선 소세지류 등에 사용되고 있다. 이러한 식품을 만들 때, 생선단백질을 용해시키기 위해 2~3%의 소금을 첨가하며, 특징적인 조직감을 형성하기 위해 80~90°C에서 가열한다. 이러한 가열은 단백질의 구조를 변화시켜 물이 고정화된 상태에서 단백질 matrix의 3차원적 구조를 형성하며, 이와 같은 물리적 성질의 변화는 점성의 유체상태에서 탄성의 고체상태로의 변환을 의미하는 것이 되겠다. 열에 의한 생선단백질의 gel화에 대한 연구는 광범위하게 수행되어 왔다¹⁻⁴⁾. 특히 생선단백질은 90°C에서 가열하기 전에 40°C 정도에서 예열 처리시 더욱 더 강하고 탄성력이 뛰어난 조직을 얻을 수 있다는 점에서, 달걀, whey나 근육단백질과는 다른 gelling 온도와 특성을 갖고 있다^{2,5)}. 또한 생선단백질을 0°C 근처의 냉장온도에서 하루 예치시에도 40°C setting과 같은 효과를 나타내지만 생선의 종류에 따라 그 효과는 다르며 그 기작도 매우 상이하다고 볼 수 있다.

본 연구에서는 생선단백질의 가열공정에 따라 변하는 열안정성을 조사하고, 생선단백질의 조직형성과정을 측정하여 궁극적으로 생선 단백질의 가열특징과 가열시 gel 조직의 형성기작을 이해하고자 함이 목적이라 하겠다.

재료 및 방법

재료

신선한 생선(명태류)에서 만든 surimi를 이용했으며, 이 surimi에 보존료로서 8% sorbitol를 첨가하여 섞은 후, -20°C에서 급냉동하여 저장시키고 사용하였으며 그 만드는 과정은 Fig. 1과 같다.

단백질의 heat stability 측정

공정조건(NaCl과 heating rate 등)에 의해 야기되는 생선단백질의 열안정성의 변화는 DSCIV(Perkin Elmer Corp. Norwalk, CT.)를 이용하여 구하였다. 시료 20 mg을 취하여 volatile sample pan에 넣어 봉하고 10°C/min의 속도로 20°C에서 90°C로 가열하는 동안에 변성 온도 변화를 측정하였다. Instrumental output sensitivity는 0.15 mcal/sec이며 물이 기준물질로 사용되었다.

Gel의 조직형성속도의 측정

가열하는 동안 생선단백질의 조직형성은 조직형성시 나타나는 힘을 측정할 수 있는 rigidity scanner⁽⁶⁾를 이

Corresponding author: Sung-Jin Park, Department of Food Processing, College of Industry, Kyunghee University, Yongin-kun, Kiheung-myun Kyungki-do 449-701, Korea

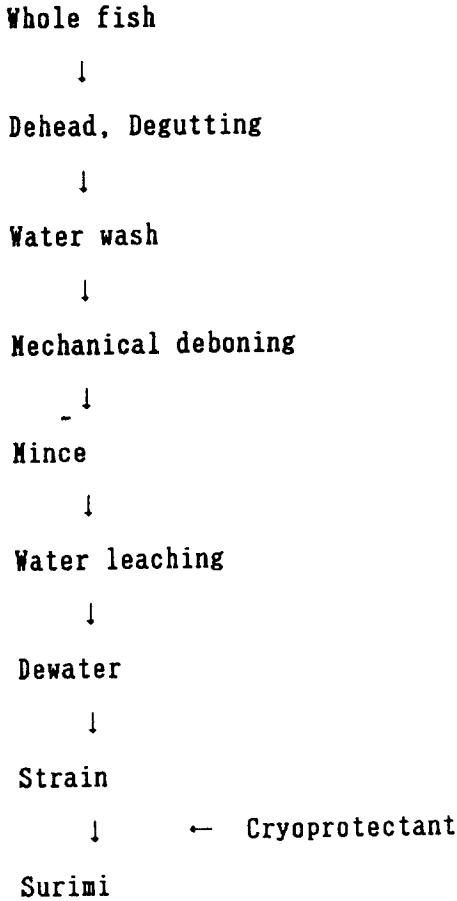


Fig. 1. Schematic of surimi production

용하여 측정하였다(Fig. 2). Rigidity scanner(지름=3.33 cm and 높이=3.81 cm)는 Instron의 tension load cell에 부착되고 0.0105 sec⁻¹의 전단속도로서 cycli 운동이 조절된다. Crosshead speed는 0.5 cm/sec이고 shear modulus는 전단응력을 전단변형값으로 나누어 구했으며 그 값을 modulus of rigidity의 척도로 삼았다¹⁾.

Shear modulus(Pa) = $[F / (2\pi \cdot d \cdot h)] \times \ln(R_2/R_1)$
 F는 힘, R₁과 R₂는 bob과 cup의 반지름, d는 변형거리, h는 높이이다.

일부 mechanical energy는 물질의 점성에 의해 열로 분산된다. 힘의 loading과 unloading에 의한 cyclic 운동으로 인하여 hysteresis 현상을 보여주며 % energy loss (%E.L)는 다음과 같이 계산한다(Fig. 3).

$$\% \text{energy loss} = \frac{\text{Energy lost per cycle}}{\text{Peak energy input}} \times 100$$

$$100 = \frac{\text{면적 } A_2}{\text{면적}(A_1 + A_2)} \times 100$$

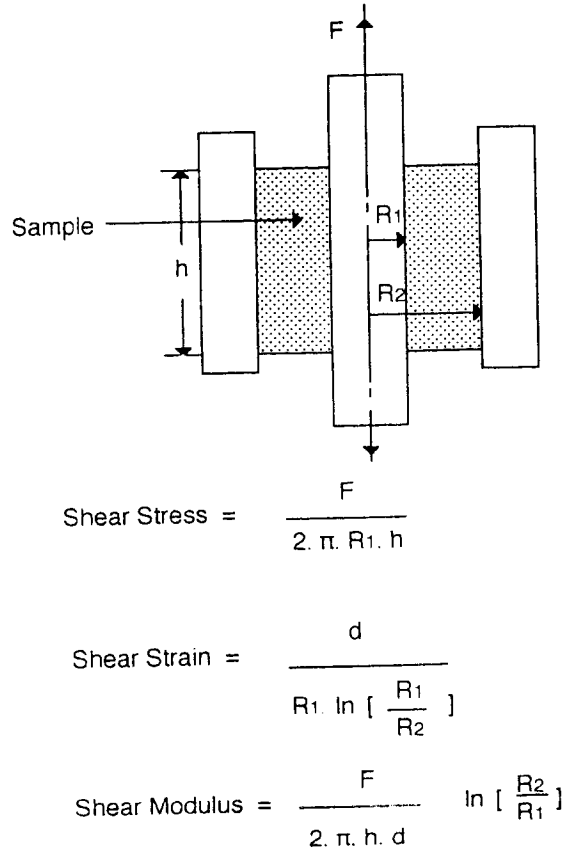


Fig. 2. Diagram of thermal scanning rigidity monitor

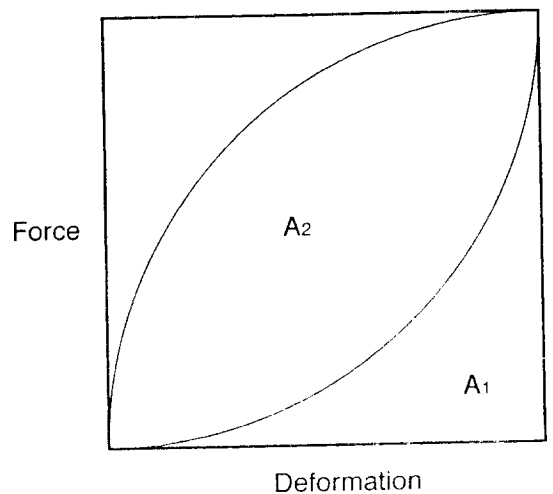


Fig. 3. Hysteresis loop produced by a viscoelastic material during a loading-unloading cycle

Scanning electron microscopy의 관찰

가열온도에 따라 생성된 gel들의 구조적인 특성은 주

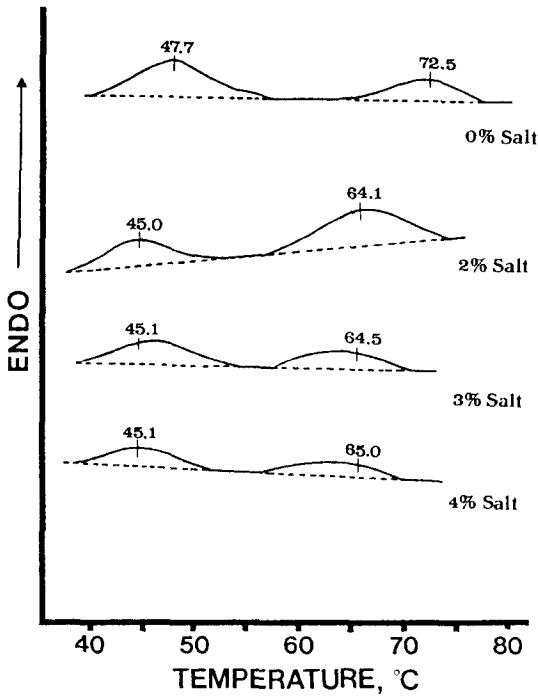


Fig. 4. DSC thermograms of pollack surimi showing effects of salt addition

사전자현미경(Scanning electron microscopy, Model Jeol T-200, Japan)을 사용하여 관찰하였다. 즉 생성된 gel(15×5×5 mm)을 4% glutaraldehyde에서 2시간 동안 2°C 에서 고정화시킨 후에 액체질소에 담가 급냉시킨다. 급냉 후 다시 자른 gel(2×2×0.5 mm)을 4% glutaraldehyde에 고정화시킨 후 0.1 M의 phosphate buffer에 서너번 세척하고 여러 농도의 에탄올과 후레온을 이용하여 건조시킨다. 건조시킨 sample의 표면장력에 의한 손상을 피하기 위해 CO₂를 이용하여 critical point drying을 한후 sputter coating에 이어 5000배의 배율로서 microscopy로서 관찰하였다.

결과 및 고찰

Differential scanning calorimeter(DSC) response

생선단백질에 첨가한 소금농도에 따른 DSC thermogram은 Fig. 4에 나타나 있다. 일반적으로 생선단백질은 다른 근육단백질보다 열에 더 불안정하므로 생선단백질의 변성온도는 다른 근육단백질보다 더 낮은 온도에서 나타난다. 명태 surimi는 2개의 endothermic peak(48, 73°C)을 보이며 소금 양을 증가시켰을 때 최대 변성온도는 더 낮은쪽(45, 65°C)으로 이동하였고 단백질은 불안정한 상태로 만들었다. 또한 소금의 양이 증가함에 따라 peak 면적의 감소가 뜻하는 단백질의 열용량의 감소가 두드러짐을 알 수 있다. 보통 생선 gel을 만들

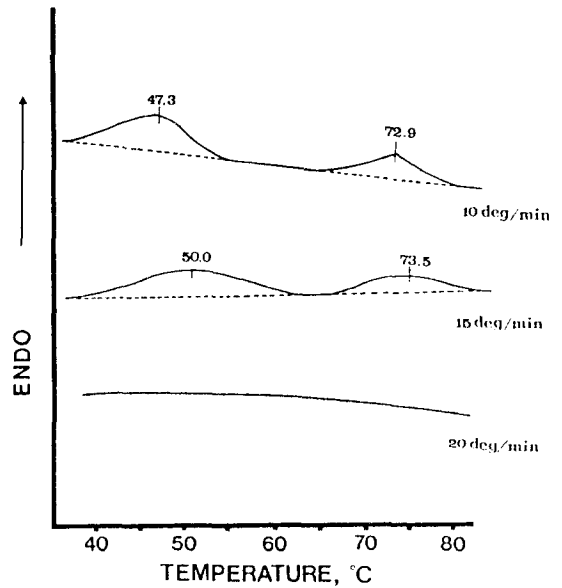


Fig. 5. DSC thermograms of pollack surimi showing effects of heating rate

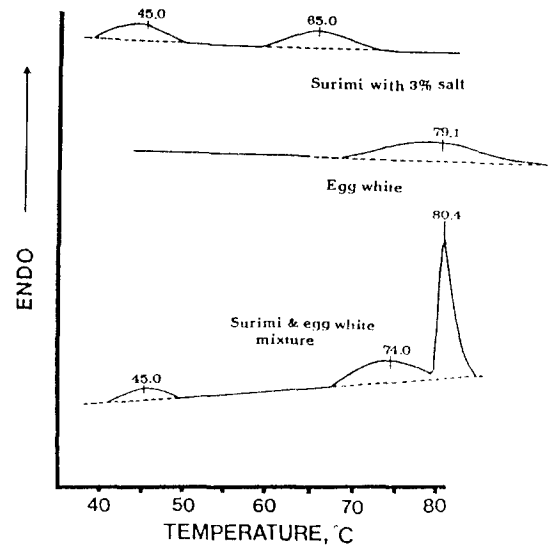


Fig. 6. DSC thermograms of pollack surimi and egg white mixtures

때 2~3%의 소금을 첨가하여 만들며 첨가한 소금은 단백질의 charge density를 증가시키며 등전점을 이동시키고 결국은 hydrophobic 결합 site를 노출시키는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾.

가열속도에 따른 단백질의 열안정성을 살펴보았을 때 (Fig. 5), 가열속도가 10°C 에서 15°C/min로 빨라짐에 따라 peak의 분포가 작고 넓게 나타났으며 20°C/min으로 가열시 모든 변성온도는 없어졌다. 이와 같이 변성과

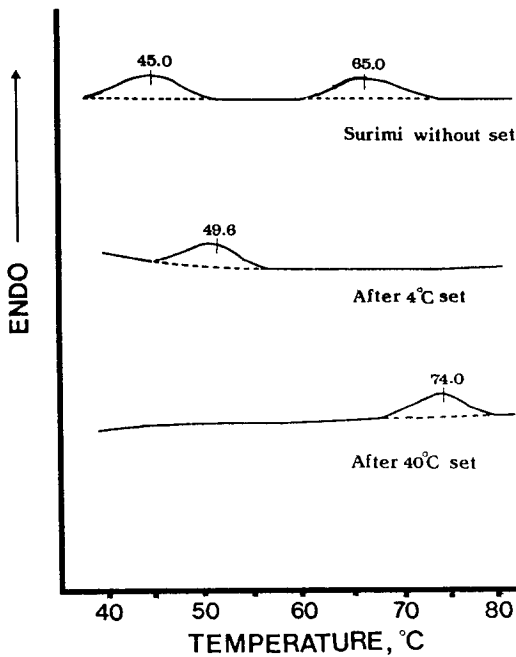


Fig. 7. DSC thermograms of pollack surimi showing effects of pre-set at 4°C and 40°C

결합을 동시에 나타내는 빠른 가열속도로 가열한 결과는 짧은 가열시간을 나타내며 낮은 정도의 ordered 단백질 구조와 낮은 elasticity 형성을 야기시키고 그 결과로서 gel 조직의 낮은 강도를 나타냄을 예측할 수 있다^(7,11).

일반적으로 gel 강도의 증가를 위해 달걀단백질이나 전분과 같은 물질을 가한다⁽¹²⁾. 첨가한 달걀단백질이 생선단백질의 변성온도에 미치는 영향은 Fig. 6에 나타내었다. 한개의 최대 변성온도(79°C)를 보이는 달걀단백질과 생선단백질(45, 65°C)을 섞었을 때 3개의 peak(45, 74, 81°C)들이 나타났다. 즉, 생선단백질의 마지막 변성 온도만이 크게 오른쪽으로 이동하였으나 달걀단백질의 경우 큰 변화가 없었으며, 일반적으로 서로간의 gel화에 영향을 미치지 않고 서로간에 독립적으로 영향을 미치는 것으로 예측할 수 있겠다.

90°C로 가열하기 전에 4°C나 40°C로 전처리한 경우 변하는 열안정성은 Fig. 7에 나타내었다. 40°C에서 30분 동안 전처리시 45°C에서의 처음 변성 peak가 사라졌는데 이는 40°C 근처에서 전처리시 단백질의 일부에 열변성이 일어나며 그 결과 unfold된 분자들의 결합이 더 빨리 일어나게 된다. 이와 같은 가열에 의한 단백질 변성은 40°C 전처리시 gel의 강도 증가 등과 서로간에 밀접한 관계가 있어 보인다⁽¹³⁾. 그러나 4°C에서 24시간 동안 유지한 후의 경우에는 처음 peak 대신 두번째 peak가 사라져 40°C 경우와는 반대현상을 보인다. 즉, 4°C에서 전처리시 70°C 근처의 peak이 사라진 것을 알 수 있으며 4°C에서 전처리시 형성된 탄성률과 rigidity의 상승작용

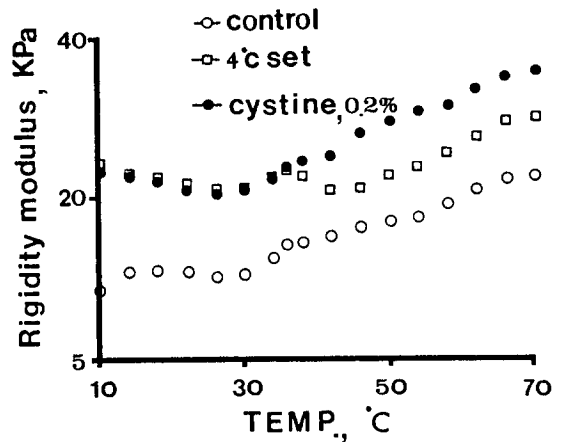


Fig. 8. Effect of setting at 4°C and cystine on subsequent rigidity thermogram of pollack surimi

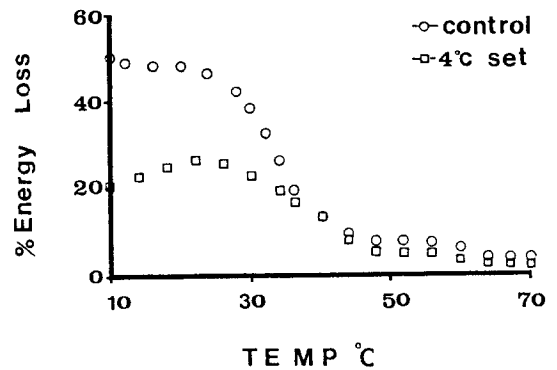


Fig. 9. Percent energy loss changes for pollack surimi during heating after 4°C set

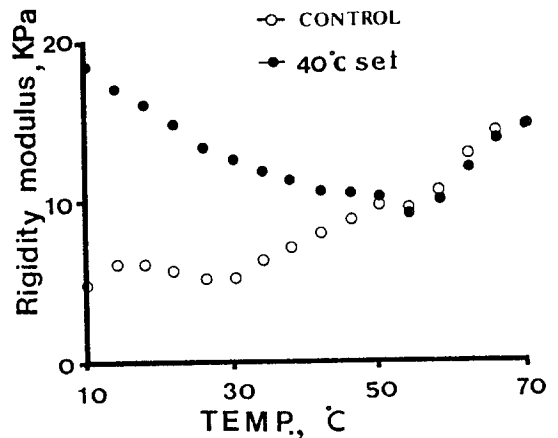
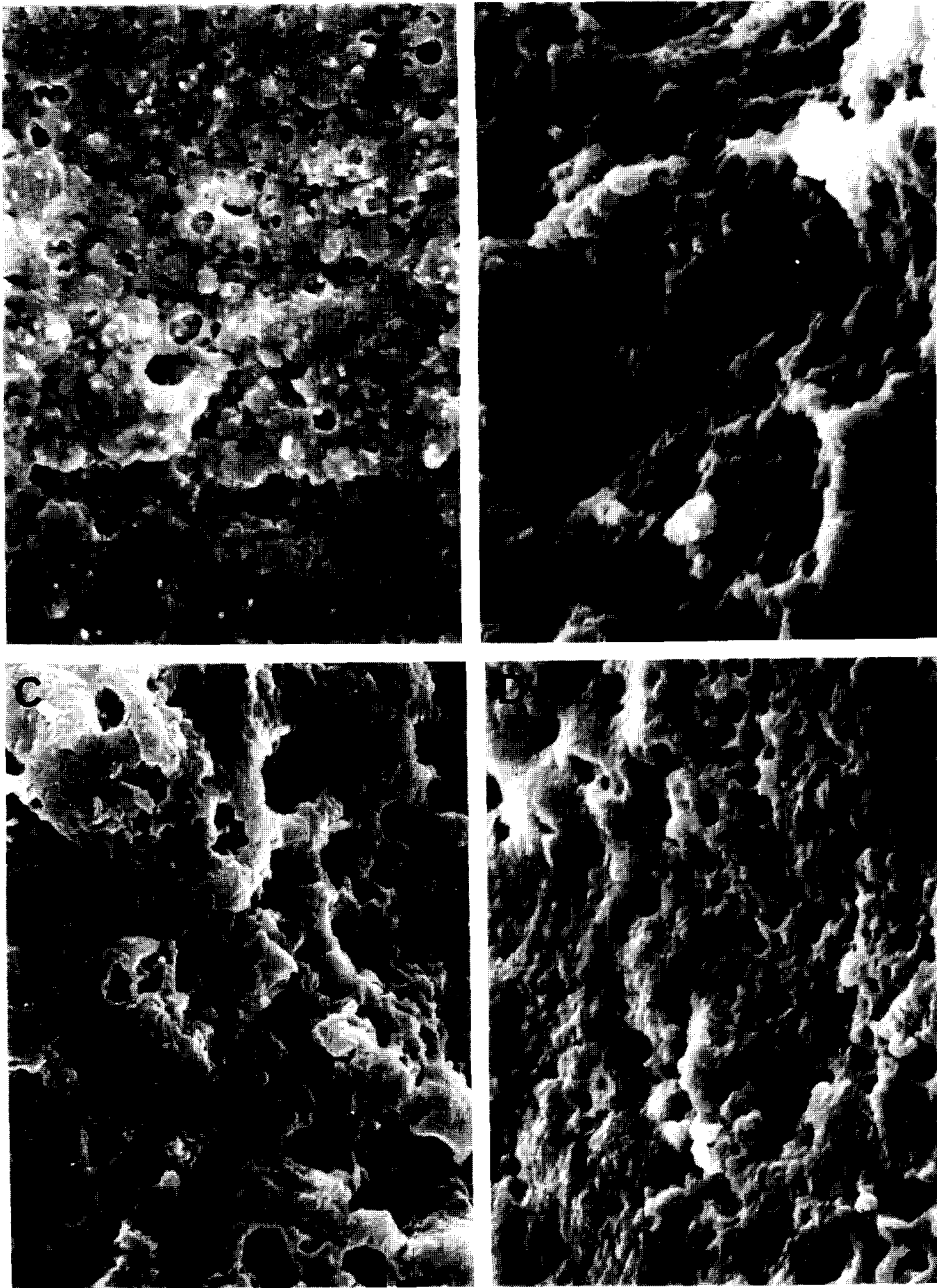


Fig. 10. Effect of setting at 40°C on subsequent rigidity thermogram of pollack surimi



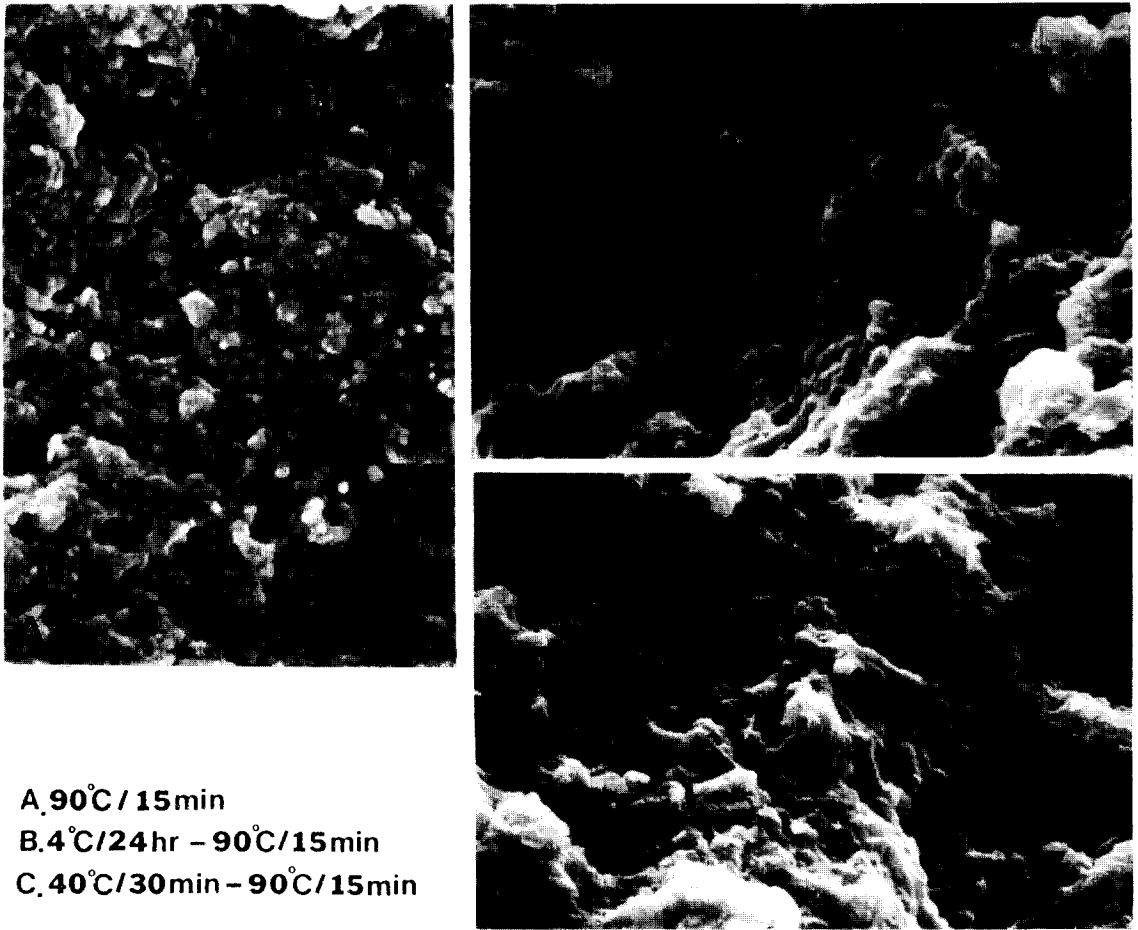
A. Control B. 0.4% Cystine
C. 0.4% NEM D. 0.4% NaBH₄

Fig. 11. SEM micrographs of cryofractured surfaces of pollack surimi gel preparations as affected by setting

은 열에 의한 변성이 아닌 저온변성에 기인한 것으로 조직강화 효과를 설명할 수 있겠다.

가열하는 동안의 rigidity 형성과 %energy loss 변화
형태 surimi의 수분함량은 75.7%이고 단백질 함량은

16.0%이며 나머지 고형분은 sorbitol과 같은 8%의 보존료이며 이 값들은 물과 단백질 함량을 일정한 비율(5 : 1)로 조절하는데 사용되었다. Fig. 8은 3% 소금을 첨가한 surimi를 1°C/min로 가열하는 동안 생성되는 조직의 굳기(rigidity modulus)를 나타낸 thermogram이다. 36°C



A. 90°C / 15 min

B. 4°C / 24 hr - 90°C / 15 min

C. 40°C / 30 min - 90°C / 15 min

Fig. 12. SEM micrographs of cryofractured surfaces of pollack surimi gel preparations as affected by SH modifying reagents

근처에서 나타난 급격한 rigidity의 증가는 일반적으로 40°C 근처에서 예열지리한 생선단백질에서 나타나는 setting 현상과 관계가 있어 보이며 55°C 근처에서 보이는 더욱 큰 rigidity의 증가는 조직의 3차원적 matrix를 형성하는 것으로 보인다. 명태 surimi를 4°C에서 24시간 보관시킨 후 가열하는 동안의 rigidity 형성 profile을 살펴보면 초기 rigidity는 4°C 전처리 안한 surimi보다 거의 2배의 크기를 나타내며 50°C 이후에서는 거의 일정한 rigidity의 증가를 보인다.

Surimi sol에 0.2% cystinet(SH oxidizing reagent)을 첨가할 후 4°C에서 전처리시의 rigidity 형성을 살펴보면 (Fig. 8), rigidity 형성속도는 40°C에서 특히 많은 증가를 보이며, 그 이후에도 계속적인 rigidity 증가를 보여준다. 일반적으로 cystine은 30~50°C 범위에서 생기는 rigidity 감소현상을 방지하고, secondary bond의 일관성의 감소도 보상해 주고 있으며, 또한 cystine을 첨가함으로써 disulfide bond의 교환작용을 촉진시켜 전체적인 rigidity값의 증가를 보여주는 것으로 이기 같다.

가열하는 동안 sol에서 gel로의 변환을 나타내는 % energy loss(%E.L)를 살펴본 결과는 Fig. 9에 나타내었다. 4°C 전처리 안한 명태 surimi의 경우 초기의 10°C에서는 매우 높은 유동특성을 나타내는 52%의 E.L을 나타내었다. 28°C에 이르러서는 44%로 감소하였고 그후 급격히 줄어들어서 48°C에 이르러서는 약 8%로 변하였다. 이 결과 rigidity와 같은 조직의 강도를 나타내는 조직의 형성은 30°C에서 50°C 사이에서 이미 천천한 속도로 형성되는 것을 알 수 있다. 4°C에서 전처리한 surimi의 경우 초기 20%의 E.L을 보이며 이는 4°C 전처리하는 동안 이미 조직의 gel화 현상이 있었음을 나타내고 이와 같은 가열하기 전에 4°C에서 이미 형성된 조직의 elasticity는 조직의 강도에도 영향을 미칠 것으로 보인다.

높은 온도에서의 setting(40°C에서 30분) 효과를 같은 방법으로 측정된 결과(Fig. 10), 4°C setting 후 나타난 효과와는 반대현상이 나타났다. 즉 초기 40°C 전처리에서 생기는 rigidity의 감소효과가 다시 10°C에서 80°C로 가열

시 55°C 근처부터는 40°C에서 전처리 안한 것과 같은 rigidity 값을 보여주었다. 이렇게 서로 다른 4°C와 40°C 전처리 효과를 온도에 따라 rigidity 형성으로 살펴보면 이러한 효과는 형성된 gel의 물성학적인 변화에 크게 영향을 미침을 예측할 수 있다.

Scanning electron microscopy 관찰

명태 surimi gel의 visual 4°C와 40°C의 setting 효과는 Fig. 11에 나타내었다. 90°C에서 가열한 gel의 경우 작은 집성물(conglomerate)과 많고 작은 공동(cavity)이 있는 반면 4°C나 40°C에서 전처리한 경우 큰 집성물이 보이며 공동은 거의 보이지 않았다. 이것이 rigidity의 증가나 gel 강도의 증가를 일으키는 구조적 이유가 되리라 생각된다. 비록 4°C와 40°C의 setting 기작이 틀리리라 생각되지만 gel 구조적인 면에서는 비슷한 면을 보여준다.

SH기에 관련있는 시약을 첨가하여 생선단백질을 변형시키고 90°C로 가열하였을 때의 결과는 Fig. 12에 나타내었다. 0.4% cystine을 함유한 gel의 경우 큰 집성물을 보여주며 역시 공동은 잘 보이지 않는다. 참고로 sodium borohydride(SH 환원제)로 변형시킨 gel은 부드러운 표면과 많은 pocket들을 보여주며 많은 공동과 조그마한 집성물들이 보인다는 점에서 90°C에서 직접 가열한 gel과 유사한 구조형성을 보여준다. NEM(SH blocking reagent)으로 변형시킨 gel은 스펀지 구조와 같은 많은 수의 구멍들을 보이며 이는 파손변형력이 매우 작은 brittle gel의 특성이기도 하다. 특히 SH기를 변형시킨 gel이나 90°C로 직접 가열한 경우 많은 open pocket이 보여지는데 이는 물이 gel 구조내에 고정되어 있는 것을 보여준다.

요 약

열공정이 생선단백질의 조직형성에 미치는 영향을 단백질 sol의 열안정성과 가열시의 rigidity 형성 및 최종 겔의 구조적인 측면으로 살펴보았다. 가열하는 동안에 나타나는 변성 피크는 소금첨가에 따라서, 가열속도에 따라서 또한 낮은 온도에서의 전처리에 따라 변성온도가 사라지거나 낮은 쪽으로 이동하였고 단백질의 열용량도 줄어들고 불안정한 상태로 변하였다. 4°C에서의 전처리는 가열시 조직의 균기형성에 지속적인 상승효과를 가져왔고 많은 탄성력의 증가를 가져왔으나, 40°C에서의 전처리는 일시적인 조직강도의 증가만 가져왔다. 그러나 낮은 온도(4°C나 40°C)에서의 전처리 후 생성되는 겔 내부조직은 큰 집성물이 보이는 구조적 유사성을 보였으며, SH기를 변형시킨 겔의 구조도 조직의 강도변화를 나타내는 특징을 나타내었다.

감사의 말

이 연구는 1991년도 한국과학재단 연구비지원에 의한

결과의 일부로서 이에 감사를 드립니다.

문 헌

1. Niwa, E., Nakayama, T. and Hamada, I.: Effect of setting on the network structure of protein in fish flesh gel. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 245(1983)
2. Shimizu, Y., Machida, R. and Takenami, S.: 1981. Species variations in the gel forming characteristics of fish meat paste. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **47**, 95(1981)
3. Lanier, T.C., Lin, T.S., Liu, Y.M. and Hamann, D.D.: Heat gelation properties of actomyosin and surimi prepared from Atlantic croaker. *J. Food Sci.*, **47**, 1921(1982)
4. Wu, M.C., Akahane, T., Lanier, T.C. and Hamann, D. D.: Thermal transitions of actomyosin and surimi prepared from Atlantic croaker as studied by differential scanning calorimetry. *J. Food Sci.*, **50**, 14(1985)
5. Montejano, J.G., Hamann, D.D. and Lanier, T.C.: Thermally induced gelation of selected comminuted muscle systems.-Rheological changes during processing, final strength and microstructure. *J. Food Sci.*, **49**, 1496(1984)
6. Kim, B.Y. and Kinsella, J.E.: Rheological change during slow induced gelation of milk by D-glucono- δ -lactone. *J. Food Sci.*, **54**, 894(1989)
7. Hamann, D.D.: Methods for measurement of rheological changes during thermally induced gelation of proteins. *Food Tech.*, **41**, 100(1987)
8. Wright, D.J., Leach, I.B. and Wilding, P.: Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituent proteins. *J. Sci. Food Agric.*, **28**, 557(1977)
9. Suzuki, T.: Fish and Krill Protein: Processing technology. Appl. Sci. Pub. Ltd., London, p.45(1981)
10. Niwa, E.: Chemistry of surimi gelation. In *Surimi Technology*. Lanier, T.C.(ed). Marcel Dekker, New York, p.389(1992)
11. Hermansson, A.M.: Aggregation and denaturation involved in gel formation. In *Functionality and protein structure*. ACS symposium series 92, Washington, D.C. p.50(1979)
12. Burgarella, J.C., Lanier, T.C. and Hamann, D.D.: Effects of added egg white or whey protein concentrate on thermal transitions in rigidity of croaker surimi. *J. Food Sci.*, **50**, 1588(1985)
13. Lanier, T.C.: Measurement of surimi composition and functional properties. In *Surimi Technology*. Lanier, T.C.(ed). Marcel Dekker New York, p.123(1992)
14. Billmeyer, F.W.: Rheology and the mechanical properties of polymer. In *Textbook of polymer science*, 2nd ed. Wiley-Interscience, NY(1971)
15. Itoh, Y., Yoshinaka, R. and Ikeda, S.: Effects of cysteine and cystine agents on the gel formation of fish meat by heating. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **45**, 341(1979)

(1992년 7월 31일 접수)