

## Pepsin으로 수식된 정어리 myofibrillar protein의 특성

김병목 · 김병열

중앙대학교 식품가공학과

### Physicochemical and Functional Properties of Pepsin-modified Myofibrillar protein from Sardine, *Sardinops melanosticta*

Byung-Mook Kim and Byung-Ryul Kim

Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University,  
40-1 NaeRi-san, Daeduck-myun, AnSung-gun, KyungKi-do, 456-756, Korea

#### Abstract

In order to study the effects of enzyme modification on the physico-chemical and functional properties of myofibrillar protein prepared from the frozen sardine, *Sardinops melanosticta*, the protein was hydrolyzed with pepsin under the enzyme-substrate ratio 1:100 at 37°C and pH 1.65 for 1, 4, 8, 12, and 24 hr, respectively. The properties of pepsin-modified sardine myofibrillar protein were determined. The extents of proteolysis with pepsin as a function of time was showed a typical enzyme hydrolysis curve with an initial region of 4 hour period followed by plateau region. The SDS-acrylamide slab gel electrophoresis patterns of pepsin-modified proteins showed mainly disappearances of minor protein bands, but no changes of main protein bands. The gel filtration patterns through Sephadex G-75 of sardine myofibrillar protein showed two big peaks and three small peaks. All the small peaks were disappeared by proteolysis with pepsin in one hour, and during the period of proteolysis the fast big peak became gradually smaller and the late big peak eluted more slowly. By proteolysis, the emulsifying activity and emulsifying capacity of sardine myofibrillar protein were all decreased. The effects of pepsin-modification on emulsifying capacity were greater than those on emulsifying activity of protein. The aeration capacity of the protein was increased about 1.9 folds and the foam stability decreased to 0.6 folds of control by pepsin-modification. The pepsin-modified sardine myofibrillar proteins showed about 0.6 folds of heat coagulation and 1.4 folds of viscosity of control. The pH dependence of solubilities of sardine myofibrillar protein showed two isoelectric areas of pH 5 and 9. The pepsin-modified protein showed more clear pH dependences at the early stage but not at the late stage of proteolysis.

Key words: pepsin-modification, sardine, myofibrillar protein, physico-chemical properties, functionality

#### 서 론

정어리는 청어과에 속하는 어류로서 세계 2대어종(청어, 정어리) 중의 하나이며 국내 10대 어종중의 하나이다. 정어리는 어획량의 약 20% 이하가 통조림 등의 가공식품으로 처리되거나 직접 생선으로 사용될 뿐, 나머지는 대부분 어분 및 어유의 원료용으로 사용되고 있다.

이처럼 정어리의 가공성이 낮은 이유는 열용성 단백질의 함량이 크지 못하고 단백질의 기능적 특성 또한 좋지 못하며 또한 선도가 쉽게 떨어지기 때문이다. 정어리는 적색육어류로서 일반 어종에 비하여 혈합육의

비율이 높고 지방의 함량도 많으며 계절적인 변화도 심하여 선도유지가 어렵고 특히 정어리는 회유성어족이므로 운동량이 많기 때문에 살아 있을 때에는 근육중에 glycogen을 다량 함유하고 있고 사후에는 이 glycogen이 젖산으로 변하여 근육을 산성화시키게 됨으로 이로 인하여 근육의 단백질은 쉽게 변성을 초래하게 되어 가공성을 상실하게 된다. 또한 이처럼 정어리는 선도가 쉽게 떨어지므로 흔히 냉동 유통되고 있는데 냉동된 정어리육은 단백질변성등에 의하여 더욱 가공성이 떨어진다.

이러한 단점을 극복하기 위한 방법의 하나로서, 정어리단백질을 분리하여 효소적 수식(enzymatic modification)에 의해 기능적 특성을 개선시키는 방법이 있다. 효소적 수식(enzymatic modification)은 주로 proteases에 의한 단백질의 부분가수분해 및 peptide의 효소적 재결

Corresponding author: Byung-Mook Kim, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, 40-1 NaeRi-san, Daeduck-myun, AnSung-gun, KyungKi-do 456-756, Korea

합에 의한 plastein의 합성에 의하여 단백질의 특성을 변화시키는 것인데 최근 여러 동, 식물성 단백질의 기능적특성 개선에 많이 응용되고 있다. 효소수식된 단백질은 영양적 가치에 해를 끼치지 않으며 독성이 없고 특이성이 강하다는 장점을 가지고 있어 식품에 대하여 일반적으로 널리 응용되어지고 있다.

효소수식에 의한 단백질의 기능성개선 연구로서는 단백질의 가용화<sup>(1-4)</sup>, 기포성, 유화특성의 증대<sup>(5-8)</sup> 등이 많이 보고되고 있다. 예컨대, 어육단백질농축물(fish protein concentrate; FPC)은 고기를 열용매로 추출처리하여 조제하는데 이렇게 조제된 FPC는 용해도가 현저히 떨어지므로 이를 개선하기 위해서 효소수식에 의한 가용화의 방법<sup>(9-11)</sup>이 연구되고 있다. 또 고기에서 NaCl용액을 사용하여 추출한 근원섬유단백질의 경우도 효소수식에 의하여 기능성을 개선하는 연구<sup>(6)</sup>가 이루어지고 있고, 고기전체를 단백질분해시켜 FPC를 조제하는 연구<sup>(12)</sup>도 이루어지고 있다. 한편 이 경우 고미 peptide 생성<sup>(4)</sup> 등 몇가지 문제점이 제시되고 있으나 pronase 처리에서 처럼 고미에 능가하는 지미(brothy taste)를 나타내는 방법<sup>(13)</sup>과 단백질분해효소를 작용시켜 단백질가수분해물의 농축물을 plastein으로 변환시키는 방법<sup>(14)</sup> 등에 의하여 이들 고미 peptide를 제거하는 방법이 보고되고 있다. 정어리단백질의 수식에 대한 연구보고는 별로 없으나 최근 김과 박<sup>(15)</sup> 등이 정어리 myofibrillar protein의 탈지 및 acyl화가 기능적특성에 미친 영향을 검토 보고한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 이상의 연구배경을 토대로 하여 정어리의 가공특성을 개선시키기 위하여 주로 효소적수식을 도입하는 경우, 이들이 단백질의 특성에 어떤 영향을 미치게 되는가를 검토하기 위하여, 우선 정어리육에서 가공특성에 근원적인 역할을 하는 성분으로 알려진 myofibrillar protein를 조제한 후 동물성급원 효소인 pepsin으로 수식시켜 단백질의 물리화학적 및 기능적 특성에 미치는 영향을 검토하였다.

## 실험재료 및 방법

### Myofibrillar protein의 조제

원료 정어리를 우선 dressing한 후 육편을 분리한 다음 Yutake와 Wataru의 방법<sup>(16)</sup>에 준하여 myofibrillar protein을 조제하였다. 즉 분리된 어육에 1.5배량의 0.1 N NaHCO<sub>3</sub>용액을 넣어 homogenizer로 마쇄한 후 4°C, 13,500 rpm에서 4분간 원심분리하여 수용성단백질을 분리하고 남은 잔사(myofibril)에 0.58 M NaCl-0.01 N NaHCO<sub>3</sub>를 가하여 다시 추출한 후 원심분리하여 불용성단백질을 제거하고 myofibrillar protein를 얻어 동결건조시켜 보관하며 시료로 사용하였다.

### Proteolysis 및 Proteolysis도 측정

Yamashita 등<sup>(17)</sup>과 Edward와 Shipe<sup>(18)</sup>의 방법에 준한다. 즉 myofibrillar protein 30g에 물 2.89 liter를 혼합한

후 pH를 1.65로 조절하고 pepsin 0.3g을 첨가하여 1, 4, 8, 12, 24시간 동안 37°C 에서 가수분해시키고 각 시간대별로 분리해 낸 시료액에 2 N NaOH를 이용 pH 7로 조절하여 가수분해를 중지시켰다. Proteolysis도는 각 시간단대 별로 얻은 가수분해액 50 ml에 20% trichloro acetic acid(TCA) 50 ml를 첨가하여 10%의 TCA용액이 되게하여 TCA 불용물을 침전시켜 제거한 후 얻어진 단백질량을 측정하여 총단백질에 대한 백분율(%)로 표시하였다. 단백질량은 Lowry 등의 방법<sup>(19)</sup>에 의하여 정량하였다.

### 전기영동

전기영동은 Laemmli buffer system<sup>(20)</sup>에 의하여 조제한 SDS-polyacrylamide slab gel(두께 0.75 mm)상에 0.01% bromophenol blue를 indicator로서 조제한 시료를 얻은 다음, Bio-Rad Model 3000/300 power supply를 사용하여 stacking gel의 경우는 13 mA/gel, separating gel의 경우는 18 mA/gel로 pH 8.3에서 전기영동시켰다. 영동이 완료된 gel은 0.1% coomassie blue로 30분간 염색후, 40% methanol/10% acetic acid로 탈색시켰다.

### Sephadex G-75 Gel여과

Sephadex G-75 column(size 1.3×55 cm)상에서 0.01 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)을 사용하여 flow rate 5.0 ml/hr)로 gel 여과시켰다.

### 유화활성 측정

Yasumatsu법<sup>(21)</sup>에 의하여 측정하였다. 즉 단백질 0.05 g을 1% brilliant blue 수용액 1 drop을 첨가한 물 10 ml에 분산시킨 후 olive oil 10 ml를 첨가하여 blending(13,500 rpm, 4 min)하고 원심분리하여 분리된 수용액층을 측정하고 총 액량에서 수용액층량을 뺀 후 총량에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

### 유화용량 측정

Webb의 방법<sup>(22)</sup>을 약간 수정한 Spinelli법<sup>(23)</sup>에 의하여 측정하였다. 즉 단백질 100 mg을 100 ml 물에 분산시킨 후, 매초당 oil을 1 ml의 속도로 첨가하며 waring blender를 사용하여 13,500 rpm에서 blending하였을 때 emulsion이 형성되고 있는 최고 oil 첨가량을 측정하였다.

### 기포성 측정

Groniger와 Miller의 방법<sup>(6)</sup>에 준하였다. 즉 단백질 1 g을 0.3% NaCl용액 100 ml로 분산시킨후 9,500 rpm에서 10분간 blending하여 생성된 거품의 양을 측정하였다.

### 거품안정성 측정

기포성측정에서 생성된 거품을 funnel에 옮긴 후 흘러 나오는 유출액량을 15분간 측정하였다.

**열응고성 측정**

Kramer와 Kwee의 방법<sup>(24)</sup>에 준하여 측정하였다. 즉 2% 단백질용액(pH 6.8) 1 ml를 100°C 수욕상에서 20분간 가열한 후 실온으로 냉각시키고 원심분리하여 상정액중의 단백질을 측정하였다. 열응고성은, 열응고제거된 단백질량의 열처리하지 않은 원액중의 단백질에 대한 백분율(%)로 나타내었다.

**점도 측정**

점도는 부유침전물의 영향을 제거하기 위하여 여과한 후 여액에 대하여, 실온하에서 점도계(Brookfield Engineering Lab. Inc. USA)를 사용하여 측정하였다.

**흡수율 측정**

흡수율측정은 Smith와 Circle의 방법<sup>(25)</sup>에 준하였다. 물 10 ml에 단백질 0.5g을 분산시킨 후 2,000 rpm에서 10분간 원심분리한 다음 상정액의 양을 측정하여 단백질 g당 흡수량을 측정하였다.

**용해도 측정**

Franzen과 Kinsella의 방법<sup>(26)</sup>에 준하여 측정하였다. 단백질을 0.1 N NaOH에 녹여 1% 용액을 만들고 이 용액 6 ml씩을 각각 15 ml용 centrifuge tube에 취한 후 1 N HCl과 1 N NaOH로 각각 pH 3, 5, 7, 9, 12 등으로 맞추고 25°C 에서 1시간 흔들어 녹인 다음 4,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 얻어진 상정액중의 단백질을 측정하여 각 pH에서의 용해도로 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**정어리 myofibrillar protein의 proteolysis곡선**

정어리육에서 분리한 myofibrillar protein을 1% 수용액으로 만들고 여기에 기질량의 1/100되는 pepsin을 첨가한 후 37°C, pH 1.65에서 효소수식시켰을 때 시간별 가수분해곡선은 Fig. 1과 같다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 정어리 myofibrillar pro-

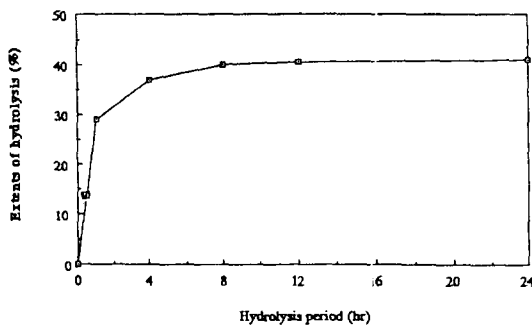


Fig. 1. Hydrolysis of sardine myofibrillar protein with pepsin at 37°C

tein은 1/100량의 pepsin 에 의하여 가수분해 30분에서 약 13%의 가수분해율을 나타내었고, 다시 1시간까지는 직선적으로 가수분해율이 증가되어 약 30%의 가수분해율을 나타내었으며, 가수분해 4시간에는 약 40%의 가수분해율을 나타내었으나, 그 이후에는 더이상 가수분해되지 않아 가수분해 24시간에도 가수분해율은 크게 증가되지 않았다. 이것은 pepsin에 의한 가수분해가 비교적 짧은 시간에 이루어 지고 있음을 의미하며, 한편 가수분해율이 낮은 것은 작용시킨 효소의 양을 더 증가시켜도 크게 개선되지 않는 점으로 미루어 보아 효소량의 부족에 기인된 것이라기 보다는 정어리 myofibrillar protein에 대한 pepsin분해의 한계성에 기인된 것으로 해석된다.

**효소수식 myofibrillar protein의 전기영동 Pattern**

효소수식에 따른 정어리 myofibrillar protein의 SDS-polyacrylamide gel 전기영동 pattern의 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 정어리 myofibrillar protein의 전기영동상은 분자량 40,000정도에 해당하는 굵은 band와 분자량 45,000내지 66,000사이에 드는 수개의 작은 band들, 24,000이하 14,200사이에 드는 수개의 band들을 나타내고 있고, 66,000보다 더 큰 몇개의 band들이 다소 얇게 gel의 상층부위에 나타나 있다. Pepsin수식에 의하여 분자량 40,000정도의 굵은 band는 가수분해 1시간에 분자량이 다소 작아지고 현저히 굵어졌다가 그 이후 다소 얇어지면서 가수분해 24시간까지 이어지는 경향을 나타내었고, 분자량 16,000정도의 작은 band는 가수분해가 진행되면서 점차 굵어는 경향을 나타내고 있다. 그러나 분자량이 큰 상층부의 몇몇 band는 가수분해 1시간에 분자량이 다소 더 작은 수개의 band로 확산되는 경향을 나타내다가 가수분해 4시간 이후에는

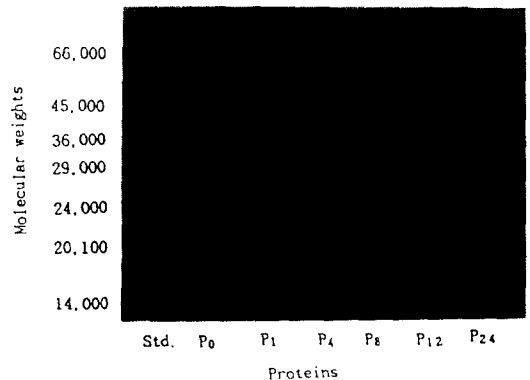


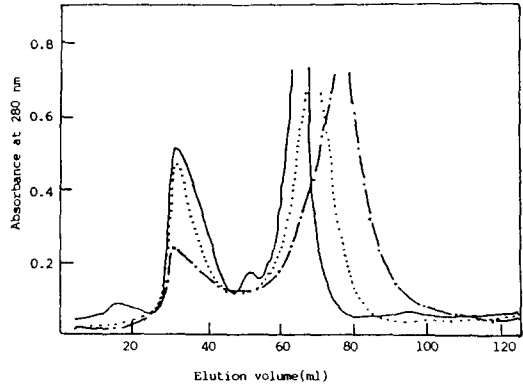
Fig. 2. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis pattern of pepsin-modified sardine myofibrillar protein. Std. represents standard proteins, and P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>8</sub>, P<sub>12</sub>, and P<sub>24</sub> represent 0, 1, 4, 8, 12, and 24 hr hydrolyzed protein, respectively

서서히 소실되어가는 양상을 나타내었다. 또 분자량이 작은 하층부의 band들은 가수분해가 진행되면서 소실되었고 중간부위에 위치하는 몇몇 얇은 band는 가수분해시간이 지나면서 일부 소실되거나 하나로 뭉쳐지는 듯한 경향을 나타내고 있다. 이와 같은 현상으로 미루어 볼 때 가수분해 1시간에 이미 단백질의 분자구조에 변화가 일어나는 것으로 여겨지며 이는 앞서 분해도곡선의 고찰과도 일치되는 것으로 여겨진다. 다만 그 이후 단백질의 변화는 다소 복잡한 양상을 보여 굵은 band의 분자량 40,000정도의 것과 16,000정도의 것은 큰 변화를 나타내지 않으나 얇은 band의 단백질들은 분해가 현저하여 일부는 분해소실되어지고 다른 일부 단백질은 회합이 일어나 분자량이 비교적 작은 쪽의 band들이 더욱 뚜렷해 지는 것으로 해석된다. 특히 Sender<sup>(27)</sup>, Stone과 Perry<sup>(28)</sup>, Margossian과 Lowey<sup>(29)</sup>, Maruta 등<sup>(30)</sup> 여러 연구자들의 보고를 종합하여 고찰하면, 여기서 분자량 40,000정도의 band와 45,000~66,000의 band들은 actin과 그의 유도체들에 해당되며, 66,000이상의 상층부에 위치하는 band들은 myosin heavy chain(MHC)과 그 외 titin, nebulin 등에 해당되고, 14,200~24,000의 band들은 myosin light chain(MLC)들에 해당되는 것으로 보인다. 따라서 이로 보건테 pepsin수식에 의하여 정어리 myofibrillar protein은 actin이나 MLC 등의 경우보다는 MHC나 기타 거대분자 단백질의 분해가 현저하며 actin과 MLC 등의 경우도 상당부분 저분자 단백질로 분해되고, 이들은 가수분해가 더욱 진행되면서 잔존 MLC들과 혼합축적되고 한편 일부 저분자 물질은 소실되면서 일부는 서로 회합되는 등 복잡한 변화를 일으키는 것으로 여겨진다. 그러나 이에 대한 더 정확한 정보를 얻기 위해서는 단백질화학적 연구가 더 이루어져야 되리라 생각된다.

**효소수식 myofibrillar protein의 gel여과 pattern**

효소수식에 따른 정어리 myofibrillar protein의 Sephadex G-75 column을 통한 gel여과 pattern의 변화는 Fig.3에서 보는 바와 같다.

Fig.3에서 보는 바와 같이 정어리 myofibrillar pro-



**Fig. 3. Gel-filtration pattern of pepsin-modified sardine myofibrillar protein through Sephadex G-75**

Column size: 1.3×55 cm, flow rate; 5.0 ml/hr, ----; unhydrolyzed protein, ····; 1 hr hydrolyzed protein, - · - · -; 24 hr hydrolyzed protein

tein의 gel여과 pattern은 두개의 큰 peak와 세개의 작은 peak를 나타내 주고 있는데 가수분해 1시간에 작은 peak는 모두 사라지고 앞쪽의 큰 peak는 가수분해시간이 지남에 따라 점차 작아지고 뒷쪽의 큰 peak는 가수분해시간이 지남에 따라 점차 약간씩 뒤로 밀려가는 경향을 나타내었다. 이는 앞서 전기영동의 pattern에서 보여지는 것과 잘 일치하는 결과로서 minor protein들로 보이는 단백질들은 모두 가수분해 초기에 사라지고 major protein부분은 가수분해에 의하여 조금씩 쪼개져 나가는 것이 아닌가 사료된다. 특히 가수분해 24시간의 경우 뒷쪽 큰 peak의 면적이 더욱 증대된 것은 전기영동 pattern에서의 중간부위 band들에 해당되는 단백질들이 회합되어 함께 용출되어 나온 것을 나타내 주는 것으로 보여진다.

**효소수식 정어리 myofibrillar protein의 기능적특성**

정어리 myofibrillar protein에 기질량의 1/100되는 pepsin을 첨가한 후 37°C, pH 1.65에서 효소수식시켰을 때 시간별 몇몇 기능적특성의 변화는 Table 1과 같다.

**Table 1. Functional properties of pepsin-modified sardine myofibrillar protein**

Functionalities	Period of hydrolysis (hr)					
	0	1	4	8	12	24
Emulsifying Activity(%)	52.0(100.0)	48.8(93.8)	49.1(94.4)	48.9(94.0)	48.8(93.8)	48.6(93.5)
Emulsifying capacity (ml)	8.5(100.0)	7.8(91.8)	7.1(83.5)	6.4(75.3)	5.8(68.2)	5.0(58.8)
Aeration capacity (ml)	363(100.0)	488(134.4)	525(144.6)	550(151.5)	650(179.1)	675(186.0)
Foam stability (ml)	3.5(100.0)	2.5(71.4)	2.0(57.1)	2.0(57.1)	2.3(65.7)	2.9(82.9)
Heat coagulation (%)	68.5(100.0)	44.5(65.0)	47.2(68.9)	39.3(57.4)	38.2(55.8)	44.0(64.2)
Viscosity (cP)	5.0(100.0)	5.0(100.0)	5.2(104.0)	5.4(108.0)	6.0(120.0)	6.8(136.0)
Water absorption (ml)	0.63(100.0)	0.20(31.7)	0.15(23.8)	0.14(22.2)	0.14(22.2)	0.14(22.2)
Solubility (OD <sub>500</sub> )	0.185(100.0)	0.270(145.9)	0.278(150.3)	0.295(159.5)	0.301(162.7)	0.298(161.1)

\*Numbers in parenthesis represent relativity.

Table 1에서 보는 바와 같이 정어리 myofibrillar protein의 유화활성과 유화용량은 pepsin 가수분해에 의하여 모두 감소되었으며 특히 유화용량은 가수분해시간이 경과되면서 현저히 감소되어 가수분해 24시간에는 약 59%로 저하되었다. 유화활성은 가수분해 기간중 큰 변화를 나타내지 않아 가수분해 24시간에도 약 94%의 유화활성이 유지되었다. 이는 Miller와 Groninger<sup>(31)</sup>가 rockfish myofibrillar protein을 acyl화 시킨 후 bromelain으로 처리했을 경우 유화활성과 유화용량이 모두 감소되었다는 보고와 강 등<sup>(32)</sup>이 콩단백질을 alcalase, pronase 등으로 처리했을 때 유화용량이 감소되었다는 보고와 일치되나 Smith와 Brekke<sup>(33)</sup>이 소심장단백질을 효소로 수식했을 때 유화용량이 가수분해시간에 따라 계속 증가하여 가수분해 2.5시간에는 40% 증대되었다는 보고와는 일치되지 않았고, 또 본 실험에서 유화활성과 유화용량의 변화가 정어리 myofibrillar protein의 시간별 가수분해율의 변화와는 일치되는 경향이 아니었다. 따라서 이러한 현상으로 미루어 볼때 단백질의 효소수식에 따른 기능성변화가 기질단백질의 종류에 따라 다를 수 있고 특히 본 연구에서 정어리단백질의 유화용량과 유화활성의 변화는 peptide 크기 이외에 peptide의 구조 및 주변 다른 성분과의 반응 등에 의해서 영향을 받은 것으로 사료된다.

정어리 myofibrillar protein의 기포력은 pepsin의 수식에 의하여 크게 증가되어 가수분해 24시간에는 대조구의 1.9배나 증가되었다. 거품안정성은 반대로 감소되어 가수분해 8시간에는 약 0.6배로 감소되었으나 그 이후에는 다시 증가되어 가수분해 24시간에는 약 0.8배로 감소율이 둔화되었다. 이러한 현상도 역시 효소수식에 의한 단백질의 기능성변화가 단순히 peptide 크기의 변화에 따른 것이 아닌 단백질의 구조변화, 기타 혼재되어 있는 다른 성분조성의 변화 등의 복합적인 영향에 기인되는 것으로 해석된다. 다만 본 연구의 결과는 Grinden 등<sup>(7)</sup>의 달걀단백질의 경우 trypsin, bromelain, 및 *A. oryzae* protease 처리에 의하여 기포성이 크게 증가되고 거품안정성이 저하되었다는 보고와 Spinelli 등<sup>(6)</sup>이 용매 추출 FPC를 세균의 alkali성 protease로 처리하여 70%의 거품체적 증가와 50%의 거품안정성 감소 등을 얻었다는 보고와 잘 일치하나 Miller와 Groninger<sup>(31)</sup>가 rockfish myofibrillar protein을 succinic anhydride와 acetic anhydride로 acyl화시키고 bromelain 처리했을 때 기포력과 거품안정성이 모두 증가되었다는 보고와 Groninger와 Miller<sup>(8)</sup>이 위의 어근원섬유를 bromelain으로 가수분해시키고 succinyl anhydride로 acyl화 시켰을 때 기포력과 거품안정성이 모두 증가되었다는 보고와는 일치하지 않았다. 특히 Groninger와 Miller<sup>(8)</sup>의 경우 단백질과 효소량의 비, acyl화도, 가수분해조건, 단백질기질의 조성 등 여러 요인에 의해 기포력과 거품안정성이 영향을 받는다고 한 점으로 미루어 본 연구에서도 보다 더 종합적인 고찰이 필요하리라고 여겨진다.

효소수식에 따른 정어리 myofibrillar protein의 열응고성은 pepsin수식에 의하여 0.55 내지 0.69배로 감소되었으며 점도는 가수분해시간이 길어지면서 점차 증대되어 가수분해 24시간에는 약 1.36배 증대되었다. 이는 강 등<sup>(32)</sup>의 콩단백질 효소수식의 경우 열응고성이 증가되고 동점도는 큰 변화가 없었다는 보고와는 일치되지 않았다. 다만 본 연구의 경우 단백질의 절단에 의한 분자량의 감소가 원인이 되어 열응고성이 감소된 것으로 보이며 점도의 증가는 단백질분자의 구조적변화에 의하여 점성 radical의 형성을 나타낸 것인지 아니면 혼재되어 있는 탄수화물 등 기타성분이 효소수식중 장시간 가온 처리되어 점성을 띄게 된 것인지 확실하지 않다.

정어리 myofibrillar protein은 효소수식에 의하여 흡수율이 현저히 떨어져 가수분해 1시간에 약 0.32배로 감소되었고 용해도는 현저히 커져 가수분해 1시간에 약 1.46배로 증대되었다. 그러나 그 이후에는 흡수율이나 용해도 모두 더 이상 큰 변화를 나타내지 않았다. 이는 이미 Spinelli 등<sup>(6)</sup>, Cheftel<sup>(1)</sup> 등 많은 연구자의 보고에서 효소수식에 의하여 단백질의 용해도가 증가된 것과 일치한다. 또한 Smith와 Brekke<sup>(33)</sup>이 소심장 myofibrils를 ficin으로 수식시켰을 때 용해도가 가수분해 40분경까지 급격히 상승하여 약 50% 증대되었으며 그 이후에는 용해도 증가율이 다소 둔화되었다고 보고한 내용과 Miller와 Groninger<sup>(31)</sup>가 rockfish myofibrillar protein을 bromelain으로 처리했을 때 흡수율이 감소되었다는 보고는 본 연구의 경우와 잘 일치되었다. 특히 본 연구에서 단백질의 흡수력과 용해도의 가수분해시간별 변화경향이 단백질의 가수분해곡선과 잘 일치되었는데 이는 가수분해가 진행되면서 단백질분자의 크기가 작아져 이것에 의하여 단백질의 수분포집력은 떨어지고 반대로 단백질의 용해도는 커지는 것을 단적으로 나타내는 것이라고 해석되어 흥미롭다.

#### 용해도의 pH의존성

정어리 myofibrillar protein의 효소수식에 따른 용해도의 pH의존성을 검토하기 위하여 1N HCl과 1N NaOH를 사용하여 단백질용액의 pH를 각각 3, 5, 7, 9, 12 등으로 조절하여 용해도를 측정한 결과는 Fig. 4와 같다.

Fig. 4에서 보는 바와 같이 정어리 myofibrillar protein의 용해도는 pH 5와 9부근에서 다소 낮은 경향을 나타내었으며 pepsin 수식에 의하여 이러한 경향은 가수분해 초기인 1시간에는 더욱 뚜렷이 나타났다가 가수분해 후기인 24시간에는 크게 둔화되는 양상을 나타내었다. 결국 이 현상은 정어리 myofibrillar protein의 등전점은 pH 5와 7의 두 부위에 존재하며 가수분해가 진행되면서 분자구조에 변화가 일어나 등전점부위의 용해도에 영향을 주는 것으로 보이며 한편 극산성부위인 pH 3과 극alkali성부위인 pH 12에서의 용해도가 낮아져 pH의존성에 차이를 가져온 것으로 파악된다.

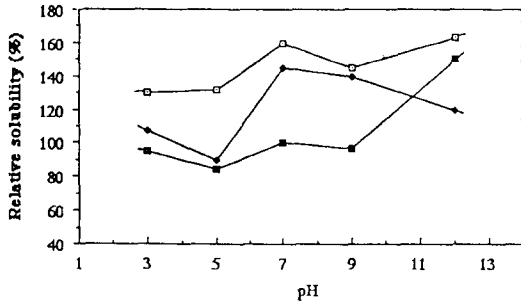


Fig. 4. The pH-dependence of solubility of pepsin-modified sardine myofibrillar protein

■—■; unhydrolyzed protein, ◆—◆; 1 hour pepsin-hydrolyzed protein, □—□; 24 hour pepsin-hydrolyzed protein

요 약

효소적수식에 따른 정어리 myofibrillar protein의 특성변화를 연구하기 위하여 1/100량의 pepsin으로 37°C, pH 1.65에서 각각 1, 4, 8, 12, 24시간 부분가수분해시킨 후 단백질의 물리화학적 및 기능적 특성을 검토하였다. 정어리 myofibrillar protein은 pepsin에 의하여 가수분해 1시간까지는 직선적으로 가수분해율이 증가되어 약 30%의 가수분해율을 나타내었고 가수분해 4시간에는 약 40%의 가수분해율을 나타내었으나, 그 이후에는 더이상 가수분해되지 않아 가수분해 24시간에도 가수분해율은 크게 증가되지 않았다. 전기영동상은 분자량 40,000 정도의 굵은 band는 큰 변화를 나타내지 않고 비교적 분자량이 큰 것으로 보이는 상층부의 몇몇 얇은 band와 분자량이 작은 하층부의 band가 가수분해가 진행되면서 소실되었다. 중간부위에 위치하는 몇몇 얇은 band는 가수분해시간이 지나면서 하나로 뭉쳐지는 듯한 경향을 나타내었다. Gel여과 pattern은 두개의 큰 peak와 세개의 작은 peak를 나타내 주고 있는데 가수분해 1시간에 작은 peak는 모두 사라지고 앞쪽의 큰 peak는 가수분해시간이 지남에 따라 점차 작아지고 뒷쪽의 큰 peak는 가수분해시간이 지남에 따라 점차 약간씩 뒤로 밀려가는 경향을 나타내었다. 유화활성과 유화용량은 pepsin 가수분해에 의하여 모두 감소되었으며 특히 유화용량은 가수분해시간이 경과되면서 현저히 감소되어 가수분해 24시간에는 약 59%로 저하되었다. 유화활성은 가수분해기간중 큰 변화를 나타내지 않아 가수분해 24시간에도 약 94%의 유화활성이 유지되었다. 기포력은 크게 증가되어 가수분해 24시간에는 대조구의 1.9배나 증가되었다. 거품안정성은 반대로 감소되어 가수분해 8시간에는 약 0.6배로 감소되었으나 그 이후에는 다시 증가되어 가수분해 24시간에는 약 0.8배로 감소율이 둔화되었다. 열응고성은 pepsin수식에 의하여 0.55 내지 0.69배로 감소되었으며 점도는 가수분해시간이 길어지면서 점차 증대되어 가수

분해 24시간에는 약 1.36배 증대되었다. 흡수율은 현저히 떨어져 가수분해 1시간에 약 0.32배로 감소되었고 용해도는 현저히 커져 가수분해 1시간에 약 1.46배로 증대되었다. 그러나 그 이후에는 흡수율이나 용해도 모두 더 이상 큰 변화를 나타내지 않았다. 용해도의 pH의존성은, pH 5와 9부근에서 다소 낮은 용해도를 나타내었으며 pepsin수식에 의하여 이러한 경향은 가수분해 초기인 1시간에는 더욱 뚜렷이 나타났다가 가수분해 후기인 24시간에는 크게 둔화되는 양상을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 1992년도 한국학술진흥재단 자유공모과제 지원 연구비에 의하여 이루어진 내용의 일부입니다. 깊은 감사사를 드립니다.

문 헌

- Cheftel, C.: Continuous enzymatic solubilization of fish protein concentrate. Enzyme recycling studies. *Ann. Technol. Agric.*, 21, 423(1972)
- Archer, M.C., Ragnarsson, J.O., Tannenbaum, S.R. and Wang, D.I.C.: Enzymatic solubilization of an insoluble substrate, fish protein concentrate: process and kinetic considerations. *Biotechnol. Bioeng.*, 15, 181(1973)
- Archer, M.C., Tannenbaum, S.R. and Wang, D.I.C.: Enzymatic solubilization of FPC. In "The Economics, Marketing and Technology of Fish Protein Concentrate," Ed. Tannenbaum, S.R., Stillings, B.R. and Scrimshaw, N.S., p.283. The MIT Press, Cambridge, Mass (1974)
- Hevia, P., Whitaker, J.R., Olcott, H.S.: Solubilization of a fish concentrate with proteolytic enzymes. *J. Agric. Food Chem.*, 24, 383(1976)
- Phillips, R.D. and Beuchart, L.R.: Enzyme modification of proteins. In "Protein Functionality in Foods." Ed. Cherry, J.P., p.275. Am. Chem. Soc. Washington, D.C. (1981)
- Spinelli, J., Koury, B. and Miller, R.: Approaches to the utilization of fish for the preparation of isolates. Enzymic modifications of myofibrillar fish proteins. *J. Food Sci.*, 37, 604(1972)
- Grinden, L.P., Vadehra, D.V. and Baker, R.C.: Effects of proteolytic enzymes on the functionality of chicken egg albumin. *J. Food Sci.*, 39, 841(1974)
- Groninger, H.S. Jr. and Miller, R.: Preparation and aeration properties of an enzyme-modified succinylated fish protein. *J. Food Sci.*, 40, 327(1975)
- Mattil, K.F.: The functional requirements of proteins for foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 48, 477(1971)
- Cheftel, C., Ahern, M., Wang, D.I.C. and Tannenbaum, S.R.: Enzymatic solubilization of fish protein concentrate: Batch studies applicable to continuous enzyme recycling processes. *J. Agric. Food Chem.*, 19, 155 (1971)
- Weetal, H.H.: Immobilized enzymes-Industrial applications. *Biochemical engineering. "Immobilized Enzy-*

- mes for Industrial Reactors*", Messing R.A. Ed., Academic, New York, p.118(1975)
12. Sen, D.P., Sripathy, N.V., Lahiry, N.L., Sreenivasan, A. and Subrahmanyam, V.: Fish hydrolysates. 1. Rate of hydrolysis of fish flesh with papain: 2. Standardization of digestion conditions. *Food Technol.*, **23**, 107 (1969)
  13. Fujimaki, M., Arai, S., Yamashita, M., Kato, H. and Noguchi, M.: Taste peptide fractionation from a fish protein hydrolysate. *Agric. Biol. Chem.(Tokyo)* **37**, 2891(1973)
  14. Onoue, Y. and Riddle, V.M.: Use of plastein reaction in recovering protein from fish waste. *J. Fish Res. Board Can.*, **30**, 1745(1973)
  15. 김병목, 박성수: 냉동 정어리 myofibrillar protein의 기능적특성에 미치는 탈지 및 acyl화의 영향. 중앙대학교논문집(자연과학편), **34**, 431(1992)
  16. Yutake, S. and Wataru, S.: Studies on muscle of aquatic animal protein composition of fish muscle. *Bulletin of the Japanese Society of scientific fisheries*, **26**(8), 806 (1960)
  17. Yamashita, M., Arai, S., Matsuyama, J., Gonda, M., Kato, H. and Fugimaki, M.: Enzymatic modification of proteins in foodstuffs. Part III. Phenomenal survey on  $\alpha$ -chymotryptic plastein synthesis from peptic hydrolysate of soy protein. *Agr. Bio. Chem.*, **34**, 1484 (1970)
  18. Edwards, J.H. and Shipe, W.F.: Characterization of plastein reaction products formed by pepsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, and papain treatment of egg albumin hydrolysates. *J. Food Sci.*, **43**, 1215(1978)
  19. Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, L.A. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
  20. Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature*, **227**, 680(1970)
  21. Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Ioda, J., Wada, T. and Joshi, K.: Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 719(1972)
  22. Webb, N.B., Ivey, F.J., Craig, H.B., Jones, V.A. and Monroe, R.T.: The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. *J. Food Sci.*, **35**, 501(1970)
  23. Spinelli, J., Koury, B. and Miller, R.: Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates: Isolation and properties of myofibrillar and sarcoplasmic fish proteins. *J. Food Sci.*, **37**, 599(1972)
  24. Kramer, A. and Kwee, W.H.: Function and nutritional properties of tomato protein concentrates. *J. Food Sci.*, **42**, 207(1977)
  25. Smith, A.K. and Circle, S.J.: Soybean. Soybean-composition. Soyfoods. Soybean products. "Soybeans Chemistry and Technology", The Avi Publishing Co.Inc., p.445 (1972)
  26. Franzen, K.L. and Kinsella, J.E.: Functional properties of succinylated and acetylated soy protein. *J. Agri. Food Chem.*, **24**, 788(1976)
  27. Sender, P.M.: Muscle fibrils: Solubilization and gel electrophoresis. *FEBS Letters*, **17**, 106-110(1971)
  28. Stone, D. and Perry, S.V.: Studies on the heterogeneity of subfragment-1 preparations: Isolation of a new proteolytic fragment of the heavy chain of myosin. *Biochem. J.*, **131**, 127-137(1973)
  29. Margossian, S.S. and Lowey, S.: Interaction of myosin subfragments with F-actin. *Biochemistry*, **17**, 5431-5439(1978)
  30. Maruta, H., Gadasi, H., Collins, J.H. and Korn, E.D.: The isolated heavy chain of an *acanthamoeba* myosin contains full enzymatic activity. *J. Biol. Chem.*, **253**, 6297-6300(1978)
  31. Miller, R. and Groninger, H.S. Jr.: Functional properties of enzyme-modified acylated fish protein derivatives. *J. Food Sci.*, **41**, 268(1976)
  32. Kang, Y.J., Rhee, K.C. and Park, Y.H.: Effect of proteolysis on the functionalities of 7S and 11S soy proteins. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **20**, 344(1988)
  33. Smith, D.M. and Brekke, C.J.: Functional properties of enzymatically modified beef heart protein. *J. Food Sci.*, **49**, 1525(1984)

---

(1993년 9월 20일 접수)