

## 광 조사 및 차단 조건에서의 고기모형 유화물의 지방산화에 미치는 수용성 단백질의 효과

박형일 · 정명섭\* · 이무하\*\*  
롯데그룹중앙연구소, \*한국식품위생연구원,  
\*\*서울대학교 동물자원학과

### Effects of Light and Water Soluble Proteins on the Lipid Oxidation of Meat Emulsion Model System during Refrigerated Storage

Hyung-Il Park, Myung-Sub Chung\* and M. Lee\*\*

Lotte Group R&D Center, \*Korea Institute of Food Hygiene,

\*\*Department of Animal Science and Technology, Seoul National University

#### Abstract

Meat model emulsions were prepared with salt-soluble protein and soybean oil. Effects of water-soluble protein (WSP) on the meat model emulsion treated with/without BHT during 8 day storage 5°C under both dark and light illumination were studied by measuring POV and TBA. An emulsion without BHA and WSP was used as a control. Under light storage, there was no significant difference in peroxide values between the control and the sample treated with BHA except the 2nd day of storage. However, TBA values of the sample treated with BHA were significantly ( $p < 0.05$ ) lower than those of control except the 4th day of storage. TBA and POV of the samples treated with WSP and WSP + BHA were higher than control after 4th day of storage under light. That is, water soluble protein, which was composed mainly of myoglobin, increased lipid oxidation under light storage. The similar trends were also shown in the samples stored under dark. These results suggested that acceleration of lipid oxidation of the meat model emulsions by water soluble protein (WSP) under both light and dark might not be due to the singlet oxygen formation, but due to superoxide anion formed.

Key words: lipid oxidation, water soluble protein, light illumination

#### 서 론

지방의 산화는 식육과 가공육제품의 품질을 저하시키는 중요한 요인 중에 하나이다. 이러한 지방의 산화는 미생물이 생산하는 효소나 고기 자체의 효소, 또는 고기 중 지방의 자동산화에 의해 유발된다. 식육의 지방이 산화하면 그 자체로나 또는 식육내의 다른 성분(색소물질, 단백질, 탄수화물, 비타민 등)과 반응하여 색, 풍미, 영양의 측면에서 바람직하지 않은 변화를 초래한다<sup>(1)</sup>. 육류를 열처리한 후 냉장 저장할 때 수 시간 내에 발생하는 불쾌취(off flavor)는 thiobarbituric acid value의 증가와 밀접한 관련이 있을 것으로 추정된

다<sup>(2)</sup>. 신선육에서 ferric heme이 원인인 것으로 알려진 갈변화와 지방산화는 소비자의 입장에서는 바람직하지 않은 변화인데 열처리한 식육에서 색소물질은 활성이 있는 변성 ferric hemochromogen 형태를 띠며 이러한 물질이 지방산화를 촉매하는 반면, 염지육에서는 색소물질이 nitrosohemochromogen으로 전변되어 불활성화되기 때문에 지방산화가 지연된다고 보고되었다<sup>(3)</sup>. 또한, metmyoglobin은 갈변화와 불포화지방산의 산화촉진 효과가 있으며 이 과정에서 생성되는 free radical은 색소물질의 파괴와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려졌다<sup>(4)</sup>. 이렇게 고기의 지방산화는 여러가지 요인에 의해 발생할 수 있다는 연구가 다양하게 보고되었다.

Myoglobin과 마찬가지로 hemoglobin이나 다른 iron porphyrin류도 지방 산화를 촉진하는 것으로 알려져

Corresponding author: Myung-Sub Chung, Korea Institute of Food Hygiene, 57-1 Noryangjin-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-050, Korea

있다. Watts<sup>(6)</sup>는 산화 과정에 의해 지방조직의 산화와 색소물질의 파괴도 초래한다고 보고하였다. 이러한 산화촉진 물질들은 지방산화물과 iron porphyrin의 반응에서 유래한다고 하였고<sup>(6)</sup>, Tappel<sup>(7)</sup>은 heme이 지방과산화물과 반응하여 불안정한-화합물을 만들고 이것이 분해될때 free radical을 형성시켜 chain reaction의 시작이 가능하게 되는 것이라고 제안하였다. Greene<sup>(8)</sup>은 분쇄한 쇠고기를 냉장 저장하면서 propyl gallate (PG)와 butylated hydroxyanisole (BHA)를 첨가했을때 산패취 발현을 지연시켰으며, 첨가하지 않은 처리보다 육색의 변색도 지연시켰다고 보고하였다. Watts와 Lehmann<sup>(9)</sup>, Rickert 등<sup>(9)</sup>은 일반적인 항산화제인 ascorbic acid는 낮은 농도에서는 변색 억제효과가 있었으나 높은 농도에서는 오히려 색소물질의 산화를 촉진시켰다고 하였다. Labuza<sup>(10)</sup>와 Frankel<sup>(11)</sup>은 BHA 같은 항산화제는 free radical scavenger로서 연쇄반응 중 propagation 단계에 관여하여 지방 산화를 지연 또는 억제시킨다고 보고하였다. 또한 광산화에 민감한 식품들로는 식물성 유지, 버터 및 우유제품들이 알려져 있으며 이들 식품에 대한 광산화 안전성은 비교적 많이 연구되어져 왔다<sup>(12-15)</sup>. 육류에 함유되어 있는 myoglobin 유도체들이 광감체로 작용하여, 광저장중 이들 유도체로 인한 일중항산소의 생성으로 육류의 지방 산화를 촉진시킨다는 사실들은 보고된 바 있으나, 식육중에 존재하는 수용성단백질이 광선조사 조건이나 암소저장중 육류의 산화에 미치는 영향에 관한 연구는 미흡하다.

따라서 본 실험은 식육내에 존재하는 수용성단백질을 분리하여 이들 수용성단백질이 광 조사되는 조건 및 광선이 차단된 조건하에서 염용성단백질과 대두유를 이용하여 제조한 고기모형유화물을 냉장 저장하는 동안 지방산화에 미치는 영향을 연구하기 위하여 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 시료

시중 수입육판매점에서 구입한 우둔 부위의 수입쇠고기를 3 mm plate-eye를 장착한 육세절기(Kitchenaid, K45SS, U.S.A.)로 분쇄시켰다.

### 수용성 및 염용성단백질 추출

수용성단백질의 추출을 위해 분쇄육 200 g을 400 mL의 증류수와 함께 blender (Kitchen Center, U.S.A.)로 3000 rpm으로 5분간 균질시킨 후 혼합액을 원심분

리기 (DuPont, RC5B, U.S.A.)로 1,000 rpm으로 10분간 원심분리시켰다. 냉장고에서 2분간 방치한 후 상층액을 여과지(Whatman #1)로 걸러냈다. 걸러진 용액을 병에 넣고 알루미늄 foil로 싸서 빛을 차단시킨 후 냉장보관하였다. 시료에 남아 있는 수용성단백질을 제거하기 위해 원심분리 후 남은 침전물을 400 mL의 증류수로 앞서 한 것과 같은 조건으로 다시 균질과 원심분리를 실시하였다. 상층액을 버린 후 세척과정을 한번 더 반복하였다. 염용성단백질 추출을 위해 원심분리 후의 침전물을 3% NaCl용액 400 mL와 함께 3,000 rpm에서 균질시킨 후 13,000 rpm으로 20분간 원심분리시켰다. 상층액을 glass wool을 통해 걸러낸 후 용액을 보관용 병에 담아 빛을 차단시킨 후 냉장보관하였다.

### 유화물 제조와 항산화제 첨가

추출된 염용성단백질 용액 400 mL를 취하여 두개의 1,000 mL 비이커에 200 mL씩 나누어 담고 한쪽에는 100 mL의 수용성단백질 용액을(WSP시험구) 넣고, 다른 한쪽에는 100 mL의 증류수를 넣은 후(대조구) 각각 3,000 rpm으로 균질기(Virtis 6-105-AF, U.S.A.)에서 균질시켰다. 각 처리구의 유화물 제조는 균질기 5,000 rpm에서부터 5,400 rpm까지 증가시키며 염용성단백질 용액량의 4배에 해당하는 대두유를 3회에 걸쳐 첨가하였다. WSP시험구의 유화물을 제조하는 동안 항산화제인 BHA (Butylated Hydroxyanisole)는 최종 유화물내 BHA 용액의 농도가  $4 \times 10^5$  M이 되게 첨가하였고(WSP+BHA 시험구), 대조구처리구의 유화물 제조시 같은 방법으로 BHA를 첨가하였다(BHA시험구). 유화물이 만들어진 각각의 비이커에서 유화물을 취한 후 24개의 15 mL vial에 3 g씩 채워 넣고 뚜껑으로 밀봉하였고 24개의 vial 중 절반인 12개는 알루미늄 호일로 싸서 빛을 차단시킨 후 형광등 조사하의 냉장실에 보관하면서 1, 2, 4, 8일째 되는 날에 분석을 실시하였다. POV (Peroxide value) 분석을 위한 유화물의 경우 vial에 6 g씩 넣고 절반은 빛을 차단시킨 후 냉장보관하였으며 나머지 과정은 TBA 분석의 경우와 동일하였다. WSP+BHA 처리구와 WSP처리구의 경우, 수용성단백질 용액중에 근육조직으로부터 유래하는 내생성 효소들을 변성시켜 그들의 활성을 억제할 목적으로 항온수조에서 90°C까지 가열한 후 상온에서 완전히 식힌 후에 여과지(Whatman #1)로 거른 후 첨가하였다. 각 처리구에는 균질도중에 non-heme iron에 의한 산화촉진 효과를 배제시키기 위해 최종 유화물내의 EDTA (ethylene diamine tetraacetate)용액의 농도가  $10^{-2}$  M이 되도록 각각에 22 mL의 EDTA용액(0.5

M, pH 8.0)을 넣고 균질시켰다.

**분석**

TBA (thiobarbituric acid) 분석은 Witte 등<sup>(16)</sup>의 방법에 의거하여 분석되었고 POV 분석은 수정된 AOCS 법<sup>(17)</sup>에 따라 분석하였다. 유화물 시료 5 g에 1~2 g의 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가한 후 30 mL의 Chloroform과 함께 2분 동안 균질시켰다. 혼합액을 여과지(Whatman #1)를 통해 250 mL 삼각플라스크에 여과하였다. 30 mL의 증류수와 0.4 mL의 포화 KI용액을 플라스크에 첨가하고 2분간 반응시켰다. 20 mL의 증류수와 0.4 mL의 1% 전분용액을 첨가하였다. 0.1 N sodium thiosulfate 용액으로 노란색이 없어질 때까지 적정하였다. 통계 분석은 SAS<sup>(18)</sup>에 있는 Duncan의 multiple range test로 처리간의 결과의 유의성차이를 분석하였다.

**결과 및 고찰**

조명하에서 수용성단백질과 BHA가 산화에 미치는 효과

수용성단백질과 BHA (butylated hydroxyanisole)의 첨가가 형광 조사하에서 냉장저장된 고기모형유화물의 POV값과 TBA가에 미치는 효과는 Fig. 1과 Fig. 2에 각각 나타나 있다. 대조구와 BHA를 첨가한 시험구(BHA)간에는 저장 2일째를 제외하고는 저장기간

동안 과산화물가의 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 그러나 TBA가는 저장 4일째를 제외하고는 전반적으로 BHA 시험구가 대조구보다 현저하게 낮게(p<0.05) 나타났다. 이러한 결과는 BHA가 삼중항산소에 의한 자동산화에 어느 정도의 항산화 작용을 하였기 때문으로 사료된다.

그러나 저장 4일째와 8일째 부터는 수용성 단백질 을 첨가한 시험구(WSP)와 수용성단백질과 BHA를 함께 첨가한 시험구(WSP+BHA)는 대조구나 BHA 처리구 보다 유의성 있게(p<0.05) 높은 과산화물가를 나타냈다. 이러한 경향은 TBA가 측정에서도 유사하게 나타났다. WSP처리구와 WSP+BHA처리구 중에는 WSP 처리구가 WSP+BHA처리구 보다 높은(p<0.05) 과산화물 생성과 TBA값을 나타냈으나 유의성이 인정되지 않았다. 이러한 결과를 종합해 보면, 육색소인 myoglobin을 함유하고 있는 수용성단백질이 산화를 촉진 하였으나 이러한 산화를 BHA가 충분히 억제하지 못하였다는 것을 나타내고 있다. 따라서, 수용성단백질에 의한 산화 촉진은 일반적인 삼중항산소에 의한 산화 외에 일중항산소(O<sub>2</sub>)나 superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)또는 HO<sub>2</sub><sup>-</sup>와 같은 활성산소가 지방의 산화에 관여할 수 있다는 가능성을 시사하고 있다. 왜냐하면 일반적인 O<sub>2</sub>에 의한 산화는 BHA가 억제할 수 있으나 O<sub>2</sub>나 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 또는 HO<sub>2</sub><sup>-</sup>와 같은 활성산소에 의한 산화는 BHA가 억제할 수 없기 때문이다. 칠면조의 가슴육과

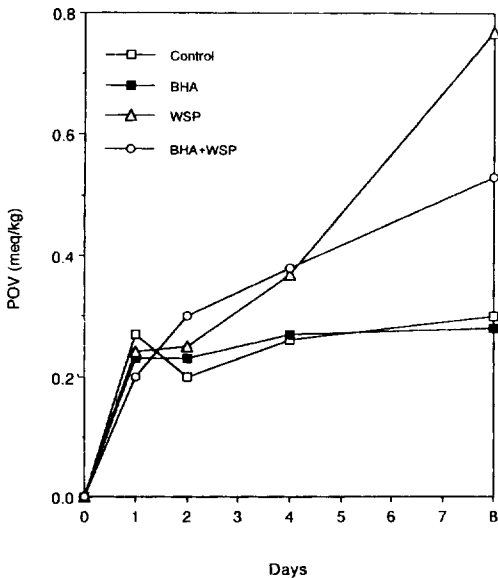


Fig. 1. POV changes of meat emulsion model system with and without water soluble protein stored for 8 days at 5°C under light.

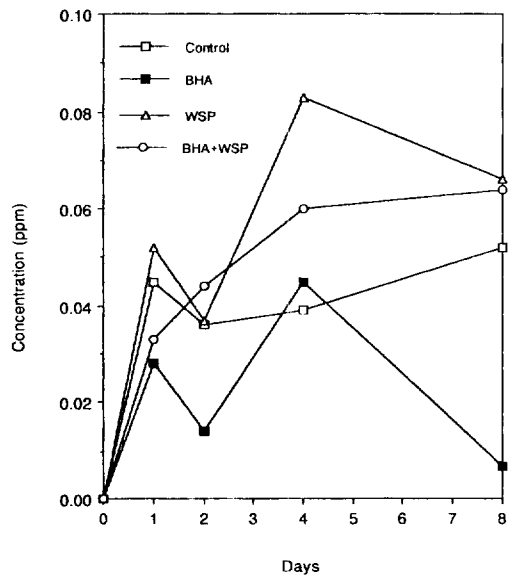


Fig. 2. TBA changes of meat emulsion system with and without water soluble protein stored for 8 days at 5°C under light.

다리육에 항산화제 및 Singlet Oxygen Quencher를 처리하여 POV와 TBA값을 측정하였던 Whang과 Peng<sup>(19)</sup>은 고기에서 'O<sub>2</sub>이 생성될 수 있다고 발표하였다. Korycka-Dahl과 Richardson<sup>(20)</sup>은 'O<sub>2</sub>이 생성되기 위해서는 광감체와 빛 그리고 'O<sub>2</sub>이 필수적으로 요구된다고 보고하였다. 그리고 Rawls와 Van Santen<sup>(21)</sup>, Rogers<sup>(22)</sup>는 육색소인 myoglobin을 함유하고 있는 methyl linoleate/methanol 용액에서 'O<sub>2</sub>이 생성되는 것은 myoglobin이 광감체로 작용하였기 때문이라고 보고하였다. 따라서 육색소인 myoglobin을 함유하고 있는 WSP처리구가 높은 과산화물가를 나타낸 것은 일반적인 자동산화와 수용성단백질에 의해 산화 촉진 효과가 더해진 것으로 추측할 수 있다. 일반적인 'O<sub>2</sub>에 의한 산화외에 'O<sub>2</sub>나 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 또는 HO<sub>2</sub><sup>-</sup>와 같은 활성산소가 고기내에서 지방의 산화에 관여할 수 있다는 가능성을 밝히기 위해서는 보다 많은 연구가 요구된다.

암소에서 수용성단백질과 BHA가 산화에 미치는 효과 Korycka-Dahl과 Richardson<sup>(20)</sup>은 'O<sub>2</sub>이 생성되기 위해서는 광감체와 빛 그리고 'O<sub>2</sub>이 필수적으로 요구된다고 보고하였기 때문에 이 중에 한 필수 요소인 빛을 제거하여 같은 실험을 수행하였다. 수용성단백질과 BHA를 첨가한 고기모형유화물을 형광 조사없는 상태에서 냉장 저장하여 측정된 POV값과 TBA가는 Fig. 3과 Fig. 4에 각각 나타나 있다. 대조구와 BHA처리구

의 POV값과 TBA가는 형광 조사시험구들의 결과와 유사한 경향을 보였고, 8일간의 저장동안 전반적으로 WSP와 BHA+WSP 처리구의 POV값과 TBA가 보다 낮게 나타났다(p<0.05). 빛을 차단시킨 조건하에서도 WSP와 BHA+WSP처리구와 같은 수용성단백질을 함유하고 있는 처리구가 대조구나 BHA처리구보다 산화가 촉진된 결과는 광감체나 빛의 조사가 필수적으로 요구되는 'O<sub>2</sub>의 생성보다는 육색소(myoglobin)가 주요성분인 수용성단백질에 의해 superoxide anion과 같은 활성산소가 생성되어 POV값이나 TBA가를 증가시키는데 작용한 것으로 사료된다. superoxide anion의 육색소나 혈색소(hemoglobin)에 의한 생성은 여러학자들이 발표한 바 있다. Weiss<sup>(23)</sup>는 산소화된 myoglobin인 oxymyoglobin이 metmyoglobin으로 산화되는 과정에서 결합된 산소에 전자를 줌으로서 superoxo-ferriheme복합체(Fe<sup>3+</sup>-O<sub>2</sub><sup>-</sup>)를 형성한 후, 철이온으로부터 산소가 떨어져 나와 superoxide anion을 형성한다고 발표하였다. 유사한 연구 결과가 여러 학자들에 의해 발표되었다<sup>(23,24)</sup>. 즉, 수용성단백질을 함유하고 있는 고기모형유화물의 빠른 산화는 빛이 없이도 생성될 수 있는 superoxide anion과 같은 활성산소의 생성에 의한 결과라고 유추할 수 있다. 그러나, 고기내에서 생성될 수 있는 일중항산소나 superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 또는 HO<sub>2</sub><sup>-</sup>와 같은 활성산소의 생성가능성 및 지방산화에 영향을 주는 정확한 기작에 대한

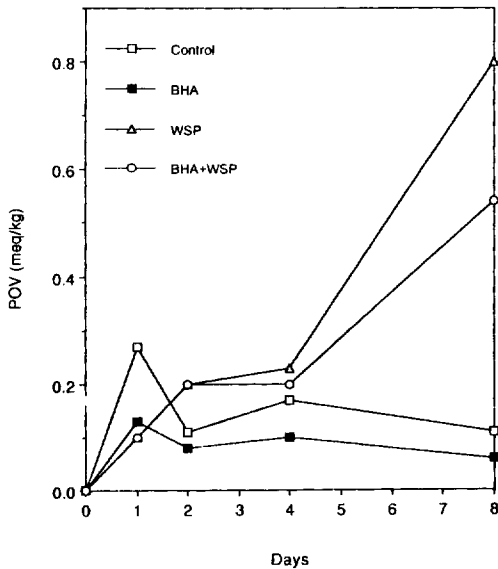


Fig. 3. POV changes of meat emulsion model system with and without water soluble protein stored for 8 days at 5°C under dark.

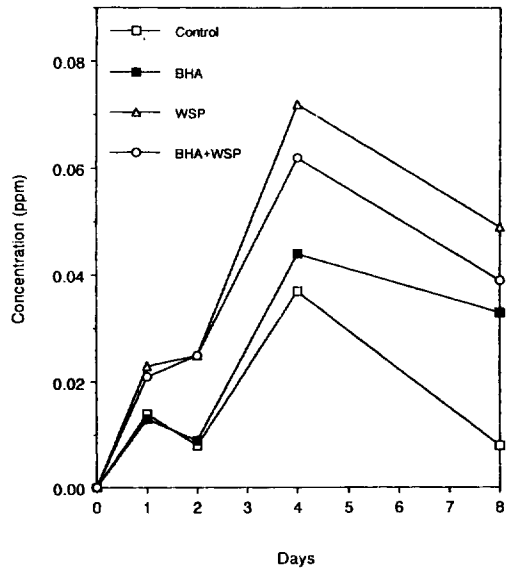


Fig. 4. TBA changes of meat emulsion model system with and without water soluble protein stored 8 days at 5°C under dark.

연구가 요구된다.

## 요 약

본 연구는 염용성단백질과 대두유를 사용하여 제조한 고기모형유화물의 지방의 산화에 대한 수용성단백질과 빛의 효과를 알아보기 위하여 5°C에서 8일간 광선의 조사조건 및 광차단 조건하에서 저장하여 POV와 TBA가의 변화를 측정하여 비교하였다. 유화물 시험구는 모두 네가지로서 염용성단백질로만 제조한 대조구와, 염용성단백질에 수용성단백을 첨가한 WSP 시험구, 염용성단백질에 BHA를 첨가한 BHA 시험구, 그리고 염용성단백질에 수용성단백질, BHA를 모두 첨가한 BHA+WSP 시험구이었다. 광선 조사 조건하에서 대조구와 BHA를 첨가한 시험구(BHA)간에는 저장 2일째를 제외하고는 저장기간 동안 과산화물가의 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 그러나 TBA가는 저장 4일째를 제외하고는 전반적으로 BHA 시험구가 대조구보다 현저하게 낮게 나타났다. 저장 4일째와 8일째 부터는 WSP 시험구와 WSP+BHA 시험구는 대조구나 BHA 처리구 보다 높은 과산화물가를 나타냈다. 이러한 경향은 TBA가 측정에서도 유사하게 나타났다. 이러한 결과를 종합해 보면, 육색소인 myoglobin을 함유하고 있는 수용성단백질이 산화를 촉진하였으나 BHA를 첨가해도 산화를 억제하지 못하였다. 수용성단백질과 BHA를 첨가한 고기모형유화물을 형광 조사가 없는 상태에서 냉장 저장하여 측정한 POV값과 TBA가는 형광 조사 시험구들의 결과와 유사한 경향을 보였다. 따라서 광감체나 빛의 조사가 필수적으로 요구되는 'O<sub>2</sub>'의 생성보다는 육색소가 주요성분인 수용성단백질에 의해 superoxide anion과 같은 활성산소가 생성되어 POV값이나 TBA가를 증가시키는데 작용한 것으로 사료된다.

## 문 헌

1. Love, J.D. and Pearson, A.M.: Lipid oxidation in meat and meat products. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **48**, 547 (1971)
2. Tims, M.J. and Watts, B.M.: Protection of cooked meats with phosphates. *Food Technol.*, **12**, 240 (1958)
3. Tappel, A.L.: Linoleate oxidation catalyzed by hog muscle and adipose tissue extracts. *Food Res.*, **18**, 104 (1953)
4. Greene, B.E.: Lipid oxidation and pigment changes in raw meat. *J. Food Sci.* **34**, 110 (1969)
5. Watts, B.M.: Meat products. In *Symposium of Foods Lipids and Oxidation*, Schulz, H.W., Day, E.A. (Ed.) Avi

6. Banks, A.: A method for studying the effect of antioxidants on the oxidation of aqueous suspensions of unsaturated fatty acids. *J. Soc. Chem. Ind.*, **63**, 8 (1944)
7. Tappel, R.O.: Hematin compounds and lipoxidases as biocatalysts. In *Symposium of Foods: Lipids and Their Oxidation* Schulz, H.W. (Ed.), Avi. Publ. Co., Westport, CT, p.122 (1962)
8. Watts, B.M. and Lehmann, B.T.: The effect of ascorbic acid on the oxidation of hemoglobin and formation of nitric oxide hemoglobin. *Food Res.* **17**, 100 (1952)
9. Rickert, J.A., Bressler, L., Ball C.O. and Stier, E.F.: Factor affecting quality of pre-packaged meat. *Food Technol.*, **11**, 567 (1957)
10. Labuza, T.P.: Kinetics of lipid oxidation in food. *Crit. Rev. Food Technol.*, **2**, 335 (1971)
11. Frankel, E.N. Lipid oxidation: Mechanism, products and biological significance. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1908 (1984)
12. Chahine, M.H. and deMan, J.M.: Autoxidation of corn oil under the influence of fluorescent light. *Can. Inst. Food Technol. J.*, **4**, 24 (1971)
13. Aurand, L.W., Boone, N.H. and Giddings, S.G.: Superoxide and singlet oxygen in milk lipid peroxidation. *J. Dairy Sci.*, **60**, 363 (1977)
14. Kiritsakis, A. and Dugan, L.R.: Studies in photooxidation of olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **62**, 892 (1985)
15. Luby, J.M., Gray, J.I., Harte, B.R. and Ryan, T.C.: Photooxidation of cholesterol in butter. *J. Food Sci.*, **51**, 904 (1986)
16. Witte, V.C., Krause, G.F. and Bailey, M.E.: A new extraction for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *J. Food Sci.*, **35**, 582 (1970)
17. A.O.C.S.: *Official Tentative Methods*. American Oil Chemist's Society, Champaign, IL, USA (1980)
18. SAS: *SAS User's Guide*. SAS Institute, Inc., Cary, N.C. (1991)
19. Whang, K. and Peng, I.C.: Electron paramagnetic resonance studies of the effectiveness of myoglobin and its derivatives as photosensitizers in singlet oxygen generation. *J. Food Sci.*, **53**, 1863 (1988)
20. Korycka-Dahl, M.B. and Richardson, T.: Activated oxygen species and oxidation of food constituents. *Food Sci. Nutr.*, **209** (1978)
21. Rawls, H.R. and Van Santen, P.J.: A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autooxidation. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **47**, 121 (1970)
22. Rogers, Jr., T.L.: Hemoglobin and myoglobin catalyzed oxidation of methyl linoleate. *Ph.D. Thesis*, Univ. of Georgia, Athens, GA (1983)
23. Weiss, J.J.: Nature of the iron-oxygen bond in oxyhemoglobin. *Nature.*, **202**, 83 (1964)
24. Misra, H.P. and Fridovich, I.: The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *J. Biol. Chem.*, **247**, 6960 (1972)