

## 첨가제의 종류와 이온강도에 따라 추출되는 육단백질의 기능적 특성

이민석 · 이준섭 · 고경철\* · 김영교 · 김병철  
고려대학교 자연자원대학, \*축산물등급판정소

### Functionality of Extracted Proteins by Additives and Ionic Strength

Min-Suk Rhee, Jun-Sup Lee, Kyung-Chul Koh\*,  
Young-Kyo Kim and Byoung-Chul Kim  
College of Natural Resources, Korea University,  
\*Animal Product Grading Service

#### Abstract

This study was investigated to determine the effect of additives and ionic strength on the functionality of extracted proteins in preblends in order to use less additive in restructured meat products. Preblends contained the combinations of sodium chloride (NaCl; 0, 4.5, 9.0%), sodium tripolyphosphate (STPP; 0, 2.5, 5.0%), and tetrasodium pyrophosphate (PP; 0, 2.44, 4.88%). The pH values increased linearly with increasing STPP and PP concentrations ( $p < 0.01$ ). In the equivalent ionic strengths, PP was more effective than STPP in increasing pH. Phosphate ions were more effective on total extractable protein (used 1 M NaCl buffer) than chloride ion at equivalent ionic strengths. Solubility was decreased by adding NaCl and increasing total extractable proteins. Meat sulfhydryl contents were high with increasing total extractable proteins. When protein extracts were heated at 65°C, 7 min, meat sulfhydryl contents decreased and surface hydrophobicity increased ( $p < 0.01$ ). However, all protein extracts showed no differences in SDS-PAGE pattern. In conclusion, PP is more effective than STPP in order to use less additive but there was no linear relationship between functional improvement and ionic strength.

Key words: ionic strength, sodium chloride, phosphate type, meat preblends, meat proteins

#### 서 론

육단백질의 기능적 특성은 팽윤, 용해성, 점성, 수분·지방과의 결합, 젤화, 유화성 등으로 대표될 수 있다<sup>(1)</sup>. 이러한 기능성은 표면전하, sulfhydryl 함량, 소수성, 분자량, 구조적 안전성, 회합/해리 등의 단백질의 이화학적 특성으로 표현될 수 있으며<sup>(2)</sup>, 가공조건이나 이온강도, 다른 이온의 존재, pH, 온도, 수분함량 등에 의해 분자특성에 변화를 주어 단백질의 이화학적 특성에 영향을 미친다.

가공전 분쇄육에 염이 첨가되면 염의 작용에 의해 단백질이 용해되고 용해된 단백질은 가공육에 특성을 부여해 열처리 후 결합되거나 젤화된다. 따라서 육괴간의 결합은 염용성 근원섬유단백질이 육괴간에 밀집되어 강한 단백질 matrix를 형성한 후 열처리에 의

해 응결되는 것으로 용해된 육단백질이 육표면에서 구조적 재배열을 함으로써 일어나는 현상이라 할 수 있다<sup>(3)</sup>.

또한 추출되는 염용성 단백질의 양은 결합능, 유화용량, 젤화 같은 육단백질의 기능적 특성에 영향을 미친다. 염용성단백질의 추출이 근장단백질보다 높은 결합능을 나타내는 것으로 보고되었으며<sup>(4,5)</sup>, 적육으로부터 염용성단백질의 추출은 염의 농도, 추출시간, 육의 강직상태, 추출온도<sup>(6)</sup>, 육의 입자크기<sup>(7)</sup> 등의 다양한 요인에 의해 영향을 받는다. 근원섬유단백질의 충분한 용해를 위하여 일반적으로 사용되는 첨가제가 소금과 인산염이지만 이러한 첨가제를 줄이려는 추세가 제품내 많은 변화를 야기하게 되었고 이에 대한 연구나 대체제의 개발도 많이 진행되고 있다.

본 연구는 육제품내 첨가제의 수준을 줄이는데 있어 예비혼합물내의 변화를 관찰하여 단백질의 특성을 극대화 시킬 수 있는 조건을 설정하고자 실시하였다. 각 첨가제의 수준을 다르게 조합하여 제조한 예비혼

Corresponding author: Byoung-Chul Kim, College of Natural Resources, Korea University, 5-1 Anam-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-701, Korea

합물로 부터 다양한 이온강도하의 염의 종류, 첨가제 간의 상승작용에 대한 효과를 모색하고 추출한 단백질의 기능적 특성에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 원료육으로부터 단백질 추출

원료육은 도살 후 48시간 이내의 돼지전지부위를 마 장동에서 구입하여 지방 및 결체조직을 최대한 제거하였다. 총제품(1.6 kg)의 10% (W/W) 중량을 예비혼합물로 이용하는 것으로 설정하여 예비혼합물에 첨가하는 염의 수준은 sodium chloride (NaCl) 0, 4.5, 9.0%, sodium tripolyphosphate (STPP) 0, 2.5, 5.0%, tetrasodium pyrophosphate (PP) 0, 2.44, 4.88%로 각각 세단계로 이온강도를 같게 산출하여 조합첨가함으로써 27가지의 예비혼합물을 제조하였다. 원료육을 분쇄기(Model A-200 mixer-chopper, The Hobart Mfg. Co., U.S.A.)를 이용하여 분쇄(1.6 cm plate)한 후, 이것을 0.3 cm plate로 다시 세절하였다. 2회 세절한 원료육 160 g에 3종류의 첨가제(NaCl, STPP, PP)를 27가지 예비혼합물의 첨가비로 산출하여 각각 44.5 mL의 deionized water에 용해시킨 후 그 용액을 가하여 혼합기로 5분간 혼합시켰다. 단백질 추출을 위해 2시간 동안 냉장실(2°C)에 저장한 후 1.05 g을 채취하여 35 mL의 추출용액(0.01 M sodium phosphate, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 M NaCl, pH 6.0)에 넣어 10,000 rpm의 속도로 1분간 균질하고 4°C에서 3,000×g로 1시간 원심분리(Centrikon T-124, Kontron instruments Co., Switzerland)하였다. 분리된 상정액은 냉장실(2°C)에서 여과(Whatman No.3, England)하였다.

### 이온강도(Ionic Strength)

예비혼합물에 첨가되는 NaCl, STPP와 PP의 양에 따른 이온강도는 다음과 같은 공식<sup>(8)</sup>을 이용하여 산출하였다(Table 1).

$$\mu = 1/2 \sum CiZi^2$$

Ci=concentration of species i

Zi=charge of species i

### pH

시료 4 g과 deionized water 20 mL를 혼합한 후 균질기(Ace Homogenizer AM-8, Nissei Co., Japan)를 이용하여 균질(5,000 rpm, 40 sec)한 후 pH(Model No. 32, Beckman Co., U.S.A.)를 측정하였다.

Table 1. Ionic strength (IS) of preblends

%NaCl	%STPP	%PP	IS of preblend
0	0	0	0
0	0	2.44	0.77
0	0	4.88	1.54
0	2.5	0	0.77
0	2.5	2.44	1.54
0	2.5	4.88	2.31
0	5.0	0	1.54
0	5.0	2.44	2.31
0	5.0	4.88	3.08
4.5	0	0	0.77
4.5	0	2.44	1.54
4.5	0	4.88	2.31
4.5	2.5	0	1.54
4.5	2.5	2.44	2.31
4.5	2.5	4.88	3.08
4.5	5.0	0	2.31
4.5	5.0	2.44	3.08
4.5	5.0	4.88	3.85
9.0	0	0	1.54
9.0	0	2.44	2.31
9.0	0	4.88	3.08
9.0	2.5	0	2.31
9.0	2.5	2.44	3.08
9.0	2.5	4.88	3.85
9.0	5.0	0	3.08
9.0	5.0	2.44	3.85
9.0	5.0	4.88	4.62

### 총 단백질 추출성(Total Extractable Protein: TEP)

여과된 추출액의 단백질 농도는 Biuret 방법<sup>(9)</sup>에 의하여 측정하였다. 단백질 농도의 표준곡선은 bovine serum albumin (5 mg protein/mL)을 이용하여 산출하였고, 단백질 농도는 다음과 같은 식으로 mg protein으로 환산하였다.

$$TEP(\text{mg protein/g meat}) =$$

$$\frac{\text{단백질농도}(\text{mg/mL}) \times \text{최종부피}(\text{mL})}{\text{meatsample}(\text{g})}$$

### 용해성(Solubility)

추출된 단백질의 용해성은 Li-Chan 등<sup>(10)</sup>의 방법을 변형하여 실시하였다. 여과된 단백질 추출액 5 mL를 원심분리(10,000×g, 1 hr, 4°C)한 후 상정액을 Biuret 방법으로 단백질 농도를 측정하여 원심분리기 전 단백질양에 대한 백분율을 용해성(%)으로 나타내었다.

### Sulfhydryl 함량

단백질 추출물의 sulfhydryl (SH) 함량은 예비가열한 효과를 살펴보기 위하여 열처리 한 것과 열처리 하

지 않은 것으로 나누어 실시하였다. 열처리하는 항온수조(Model No.2440, Dongyang Sci. Co., Korea)를 이용하여 65°C로 7분간 처리하였다. 두 처리구의 sulfhydryl 함량은 Beveridge 등<sup>(11)</sup>과 Li-Chan<sup>(12)</sup>의 방법에 따라 Ellman's reagent (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid, DTNB)를 사용하여 측정하였다. 추출물 85 µL와 reaction buffer (0.086 M Tris-0.09 M glycine-0.004 M ethylenediamine tetraacetic acid, pH 8, containing 8 M urea) 3 mL와 Ellman's reagent (4 mg/mL of reaction buffer) 0.03 mL를 혼합하고 15분간 정치한 후 spectrophotometer 를 이용하여 흡광도(A<sub>412</sub>)를 측정하였다. 추출물의 sulfhydryl 농도는 다음과 같은 식에 의하여 계산되었다.

$$\mu\text{M SH} = (A_{412} / 0.0136) \times 36.647$$

A<sub>412</sub> : 412 nm에서 측정된 흡광도  
 0.0136 : micromolar extinction coefficient of DTNB<sup>(13)</sup>  
 36.647 : dilution factor (total volume of 3.115 mL / 0.085 mL of extract)

이것을 원료육의 g 당 SH 기(meat sulfhydryl content)와 추출된 단백질의 mg 당 결합 SH 기(unit sulfhydryl content)로 환산하였다<sup>(14)</sup>.

**표면 소수성(Surface hydrophobicity)**

표면 소수성은 sulfhydryl 함량과 마찬가지로 열처리 한 것과 열처리 하지 않은 구로 나누어 실시하였다. Li-Chan 등<sup>(15,16)</sup>의 방법으로 cis-parinaric acid (CPA)를 사용하였다. 추출용액을 이용하여 단백질 추출물을 회석한 후 CPA를 첨가하고 형광분광광도계(SFM 25, Kontron instruments Co., Switzerland)의 여기파장 325 nm, 방출파장 470 nm에서 형광강도를 측정하였다. 이 형광강도에서 CPA를 첨가하지 않은 회석된 단백질의 형광강도를 감한 후 각 단백질 농도와 대비하여 표면 소수성으로 나타내었다.

**전기영동 (SDS-PAGE)**

Greaser 등<sup>(17)</sup>의 방법을 변형하여 전기영동(SDS-PAGE)을 실시하였다(SE 600 slab gels, Hofer, U.S.A.). Resolving gel과 stacking gel은 각각 10%와 3% acrylamide gel로 농도를 맞추어 사용하였다. 분자량은 molecular weight marker (Sigma Chemical Co., U.S.A.)의 상대이동도로써 작도한 관계곡선으로 분자량을 측정하였고<sup>(18)</sup>, 단백질 밴드는 Porzio와 Pearson<sup>(19)</sup>이 보고한 단백질 전기영동패턴으로 확인하였다.

**통계 처리 방법**

본 실험의 기본설계는 3×3×3요인으로 배열된 completely randomized design (CRD)이었으며, 실험결과는 SAS<sup>(20)</sup>의 General Linear Model 방식으로 분석하였고, least-squares (LS) means는 t-test를 사용하여 비교하였다.

**결과 및 고찰**

**pH**

예비혼합물의 pH는 STPP와 PP간의 2요인 교호작용이 유의적인 차이(p<0.01)를 보였다. Table 2에 나타난 바와 같이 STPP와 PP는 대체로 pH 상승효과를 보였는데 각각의 STPP 수준(0, 2.5, 5.0%)에서 PP의 첨가수준이 높아질수록 예비혼합물의 pH가 유의성(p<0.05)있게 상승되었다. 한편 PP가 첨가되지 않은 예비혼합물에서는 STPP 첨가수준에 따라 pH가 증가되지만, 일단 PP를 첨가했을 경우 STPP의 첨가수준이 증가되어도 pH 변화에 큰 영향을 미치지 않았는데, 이는 PP가 첨가되어 있는 상태에서는 STPP의 pH 상승효과는 억제되는 것으로 생각된다. 또한, 이온강도가 높아짐에 따라 예비혼합물의 pH는 높아지나 동일한 이온강도하에서는 PP의 함유비율이 높을수록 pH가 더 높게 나타나 pH를 증가시키는 효과로는 STPP보다 PP가 뛰어난 것으로 나타났다.

NaCl의 경우 다른 첨가제와의 교호작용은 없었으나 예비혼합물의 pH에 대한 NaCl의 효과를 분석해보면 NaCl의 첨가수준을 높일수록 pH는 각 단계별로 유의적으로 하강하였다(p<0.05, Table 3). 이는 pH를 상승시킨 STPP나 PP의 효과와는 대조적이라고 할 수 있는데 쇠고기를 이용한 재구성육 제조실험에서 Koh<sup>(14)</sup>는 본 실험과 유사하게 NaCl의 pH 하강효과와 STPP의 pH 상승효과를 보고하였다.

**Table 2. Least squares means of pH of meat preblends for the interactions of sodium tripolyphosphate and tetrasodium pyrophosphate treatments<sup>1)</sup>**

Treatment level	%STPP		
	0.0	2.5	5.0
0.00	5.49 <sup>a</sup>	6.38 <sup>d</sup>	6.96 <sup>c</sup>
%PP	2.44	6.75 <sup>a</sup>	7.01 <sup>a</sup>
4.88	7.51 <sup>bc</sup>	7.66 <sup>bc</sup>	7.68 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 0.09.  
<sup>2)</sup>LS means with different superscripts are significantly different (p<0.05).

**Table 3. Least squares means of pH difference between meat sources and meat preblends for the additives**

Treatment levels	pH of meat sources <sup>1)</sup>	pH of meat preblends <sup>2)</sup>	DIFF <sup>3)</sup>
%NaCl	0.00	5.55 (0.05) <sup>4)</sup>	7.21 <sup>a</sup> (0.05) 1.66 <sup>a</sup> (0.06)
	0.45	5.49 (0.05)	6.97 <sup>b</sup> (0.05) 1.49 <sup>a</sup> (0.06)
	0.90	5.51 (0.05)	6.76 <sup>c</sup> (0.05) 1.25 <sup>b</sup> (0.06)
%STPP	0.00	5.49 (0.05)	6.58 (0.05) 1.10 <sup>a</sup> (0.06)
	0.25	5.58 (0.05)	7.01 (0.05) 1.43 <sup>b</sup> (0.06)
	0.50	5.47 (0.05)	7.34 (0.05) 1.87 <sup>c</sup> (0.06)
%PP	0.000	5.56 (0.05)	6.28 (0.05) 0.72 <sup>a</sup> (0.06)
	0.244	5.50 (0.05)	7.05 (0.05) 1.55 <sup>b</sup> (0.06)
	0.488	5.49 (0.05)	7.62 (0.05) 2.13 <sup>c</sup> (0.06)

<sup>a-c</sup>LS means with different superscripts in the same column of each treatment group are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>1)</sup>Raw meat.

<sup>2)</sup>After mixing with pre-salted meat.

<sup>3)</sup>DIFF=pH of meat preblends-pH of meat sources.

<sup>4)</sup>Standard error of LS means within each treatment group.

### 총 단백질 추출성(Total Extractable Protein)

총 단백질 추출성에 있어서 STPP와 PP 간의 2요인 교호작용과 NaCl의 단독효과만이 유의적( $p < 0.05$ )인 차이를 나타냈다. Table 4에서 보는 바와 같이 NaCl을 4.5% 첨가하여 예비혼합한 경우 무첨가구와 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 추출성이 감소되었고, 9.0% 첨가하여 추출한 경우에는 다시 증가하였다. Grabowska와 Hamm<sup>(21)</sup>은 우육내 단백질의 추출은 6% NaCl일 때 최대에 이르는데 이것은 근원섬유단백질의 추출이 6% NaCl에서 최대이기 때문이라고 하였으며

**Table 4. Least squares means for total extractable protein and solubility of extracted protein**

Treatment level	TEP (mg protein/g meat)	Solubility (%)	
%NaCl	0.0	74.32 <sup>ab</sup> (1.77) <sup>1)</sup>	92.21 <sup>a</sup> (1.29)
	4.5	70.07 <sup>a</sup> (1.77)	87.84 <sup>b</sup> (1.29)
	9.0	77.65 <sup>b</sup> (1.77)	87.45 <sup>b</sup> (1.29)

<sup>1)</sup>Standard error of LS means within each treatment.

<sup>a-b</sup>LS means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 5. Least squares means of total extractable protein (mg protein/g meat) for the interactions between sodium tripolyphosphate and tetrasodium pyrophosphate treatments<sup>1)</sup>**

Treatment levels	%STPP			
	0.0	2.5	5.0	
%PP	0.00	66.88 <sup>ab</sup>	89.00 <sup>c</sup>	69.14 <sup>ab</sup>
	2.44	84.63 <sup>bc</sup>	72.79 <sup>ac</sup>	63.04 <sup>b</sup>
	4.88	79.97 <sup>cd</sup>	71.53 <sup>abc</sup>	69.15 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 3.06.

<sup>a-c</sup>LS means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

근장단백질의 추출은 NaCl의 농도와 무관하다고 보고하였다. 또한 Gillett 등<sup>(22)</sup>도 추출용액내 NaCl의 농도 12%까지, Koh<sup>(14)</sup>는 10.5%까지 단백질 추출성이 증가한다고 보고하였다.

추출성에 대한 STPP와 PP 간의 교호작용을 살펴보면 일단 무첨가구의 단백질 추출성이 가장 낮고 STPP나 PP 모두 이온강도 0.77 μ에서 추출성이 가장 높게 나타났다(Table 5). STPP나 PP 모두 이온강도 0.77까지는 추출성이 현저히 증가하였으나 이온강도 1.54에서는 추출성이 다시 감소하였다. 같은 이온강도내에서의 비교를 살펴보면 1.54에서 PP를 4.88% 첨가한 구가 STPP 5.0% 첨가한 구보다 추출성이 뛰어났으며, 일단 STPP가 5.0% 첨가된 것은 추출성이 떨어지는 것으로 나타났다.

한편 전체적으로 첨가제에 대한 단백질 추출성을 같은 이온강도 하에서 비교해보면 STPP나 PP가 NaCl보다 추출성이 좋은 것으로 나타나 단백질 추출성에는 chloride 이온보다 phosphate 이온이 효과적이라고 생각되었다.

### 용해성 (Solubility)

단백질 추출물의 용해성에 대해서는 STPP와 PP 간의 2요인 교호작용과 NaCl에 대하여 유의적( $p < 0.05$ )인 차이를 나타냈다. 용해성에 대한 NaCl 효과로 4.5%, 9.0% 첨가시 비슷한 용해성을 나타내었고 무첨가구에 비해 유의적으로 용해성이 낮게 나타났다(Table 4). 그러나 Koh<sup>(14)</sup>는 단백질 추출물의 용해성은 첨가하는 NaCl에 대해 차이가 나지 않고 추출용액의 NaCl이 증가할수록 용해성이 증가하는 경향을 나타낸다고 하였다.

STPP와 PP 간의 교호작용에서 PP를 첨가하지 않고 STPP만 첨가한 경우 이온강도 0.77에서는 용해성이 감소되고 다시 1.54에서는 증가되었다(Table 6). 또한 이온강도 1.54에서는 모두 용해성이 좋게 나타났는데

**Table 6. Least squares means of solubility for the interactions between sodium tripolyphosphate and tetrasodium pyrophosphate treatments<sup>1)</sup>**

Treatment levels	%STPP		
	0.0	2.5	5.0
0.00	92.67 <sup>a</sup>	81.98 <sup>c</sup>	94.61 <sup>a</sup>
%PP	2.44	88.13 <sup>abc</sup>	92.35 <sup>a</sup>
4.88	90.10 <sup>ab</sup>	89.18 <sup>ab</sup>	84.61 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 2.23

<sup>a-c</sup>LS means with different superscripts are significantly different (p<.05).

이러한 경향은 단백질 추출성이 높은 구에서 용해성이 떨어지는 것으로 나타나 추출성이 상대적으로 낮은 구에서 용해성이 증가하는 경향을 보였다. Scopes<sup>(23)</sup>는 염의 농도가 증가함에 따라 각 pH와 온도에서 단백질 용해성이 증가하는 "salting-in" 효과를 설명하였는데 본 실험에서 그 효과는 뚜렷하게 나타나지는 않았다. 본 실험에서 추출한 용액의 염농도를 달리하지는 않았기 때문에 첨가제를 첨가한 다음 추출한 단백질의 용해성에는 큰 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다. 한편 Creighton<sup>(24)</sup>은 disulfide group을 가진 아미노산 cystine이 sulfhydryl group을 가진 아미노산보다 높은 용해성을 가지므로 sulfhydryl groups 보다 disulfide groups이 높은 용해성을 보인다고 하였다.

**Sulfhydryl 함량(Sulfhydryl content)**

단백질 추출물의 sulfhydryl 함량에 대해 STPP와 PP 간의 2요인 교호작용이 유의적(p<0.01)인 차이를 나타냈다. 이 결과는 총 단백질 추출성의 결과와 비슷한 경향을 보였는데, 단백질 추출성이 좋은 경우 SH기 함량이 증가하였고, 추출성이 낮은 경우 SH기 함량이 감소하였다(Table 7). 근원섬유단백질내의 sulfhydryl groups의 분포가 actomyosin system에 95% 이상이 존재<sup>(25)</sup>하기 때문에, 본 실험의 결과도 추출된 근원섬유 단백질의 양에 따른 차이라고 생각된다. 한편 단백질

**Table 7. Least squares means of meat sulfhydryl contents (μmole SH/g meat) between sodium tripolyphosphate and tetrasodium pyrophosphate treatments<sup>1)</sup>**

Treatment levels	%STPP		
	0.0	2.5	5.0
0.00	6.467 <sup>ab</sup>	7.087 <sup>a</sup>	6.832 <sup>ac</sup>
%PP	2.44	7.501 <sup>a</sup>	6.872 <sup>a</sup>
4.88	7.318 <sup>a</sup>	6.445 <sup>ab</sup>	6.459 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 0.282.

<sup>a-c</sup>LS means with different superscripts are significantly different (p<.05).

**Table 8. Least squares means of meat sulfhydryl content of extracted protein for the heat treatments<sup>1)</sup>**

Meat SH (μmole SH/g meat)	
unheated	heated
6.766 <sup>a</sup>	6.398 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 0.027.

<sup>a,b</sup>LS means with different superscripts are significantly different (p<.01).

**Table 9. Least squares means of meat sulfhydryl contents of extracted protein for the interactions between sodium tripolyphosphate and heat treatments<sup>1)</sup>**

Treatment	Meat SH (μmole SH/g meat)	
	unheated	heated
0.0	7.096 <sup>a</sup>	6.566 <sup>c</sup>
%STPP	2.5	6.801 <sup>b</sup>
5.0	6.401 <sup>d</sup>	6.092 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 0.047.

<sup>a-d</sup>LS means with different superscripts are significantly different (p<.05).

추출물의 무게비(μmole SH/mg protein extracted)로 산출한 결합 SH기에 대해서는 유의적인 차이(p<0.05)는 나타나지 않았다.

단백질 추출액을 65°C에서 7분간 열처리하여 가열효과를 측정된 결과 원료육내 SH기 함량은 열처리에 의한 유의성(p<.01)을 나타냈으며, 원료육의 sulfhydryl 함량에 대한 STPP와 열처리 간에 교호작용이 나타났다. Table 8에 나타난 바와 같이 원료육의 SH기는 열처리에 의해 함량이 감소하였다. STPP와 열처리 간의 교호작용을 살펴보면 STPP의 함량이 증가될수록 SH기가 감소되었고 열처리에 의해서는 각 첨가수준에서 모두 감소되었다(Table 9). Sulfhydryl groups과 disulfides는 상호변환되고 disulfide 결합은 단백질 구조를 안정화시키는 것<sup>(26)</sup>으로 알려져 있다. pH나 온도 같은 요인에 의해 상호변환이 일어날 수 있으며 SH기의 감소는 SS 결합의 증가로 생각할 수 있다.

**표면 소수성(Surface Hydrophobicity)**

단백질 추출물의 표면 소수성에 대해서는 STPP와 PP 간의 2요인 교호작용이 유의성(p<.01)을 보였다. 단백질 소수성의 증가는 STPP 무첨가시 PP의 첨가로 증가되는 것으로 나타났고, 다른 조합첨가의 경우 유의적인 차이가 뚜렷하게 나타나지는 않았으나 STPP의 5.0% 첨가에 의한 PP의 조합첨가의 경우 소수성이 낮아지는 것으로 나타났(Table 10). Trout와 Schmidt<sup>(25)</sup>는 인산염에 의해 육단백질의 기능적 특성이 증가하

**Table 10. Least squares means of surface hydrophobicity ( $\times 10^3$ ) for the interactions between sodium tripolyphosphate and tetrasodium pyrophosphate treatments<sup>1)</sup>**

Treatment level	%STPP			
	0.0	2.5	5.0	
	0.00	3.33 <sup>abc</sup>	3.86 <sup>ade</sup>	3.58 <sup>abcd</sup>
%PP	2.44	4.14 <sup>c</sup>	3.70 <sup>ade</sup>	3.06 <sup>c</sup>
	4.88	4.01 <sup>de</sup>	3.60 <sup>bcd</sup>	3.15 <sup>bc</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 0.10.

<sup>a-e</sup>LS means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

는 것은 소수성 상호작용에 대한 변화 때문이라고 설명하였다. 이는 표면 소수성의 증가로 표면에 대해 내부 소수성 잔기를 노출시키는 단백질 변성과 관계가 있는데<sup>12)</sup>, Melander와 Horvath<sup>12b)</sup>는 0.1  $\mu$ 보다 높은 이온강도에서 염이 주로 소수성 상호작용에 영향을 미친다고 하였으며, 낮은 이온강도에서는 정전기적 상호작용이 영향을 미치는 반면에 전하를 띠는 단백질 잔기를 둘러싼 높은 이온농도는 다른 전하 입자와의 상호작용을 막는다고 설명하였다.

열처리한 단백질 추출물의 소수성에 대해서도 STPP 처리에 의해 유의성이 나타났는데 무첨가구에서 소수성이 가장 높고 STPP 2.5, 5.0% 첨가군에서는 소수성이 낮아졌다(Table 11). 단백질의 가열처리를 가상한 65°C, 7분간의 단백질 추출물의 열처리 효과 ( $p < 0.01$ )는 SH기 함량을 감소시키고 표면 소수성을 증가시켰다(Table 12). 이러한 결과로 부터 열처리는 disulfide 형성을 증가시키고 단백질의 표면에 소수성

**Table 11. Least squares means of heated meat hydrophobicity of extracted protein for the sodium tripolyphosphate treatments<sup>1)</sup>**

Treatment	Surface hydrophobicity ( $\times 10^3$ )	
	0.0	7.15 <sup>a</sup>
%STPP	2.5	6.39 <sup>b</sup>
	5.0	6.21 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 0.22.

<sup>a-b</sup>LS means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 12. Least squares means of surface hydrophobicity ( $\times 10^3$ ) of extracted protein for the heat treatment<sup>1)</sup>**

Surface hydrophobicity ( $\times 10^3$ )	
unheated	heated
3.60 <sup>a</sup>	6.58 <sup>b</sup>

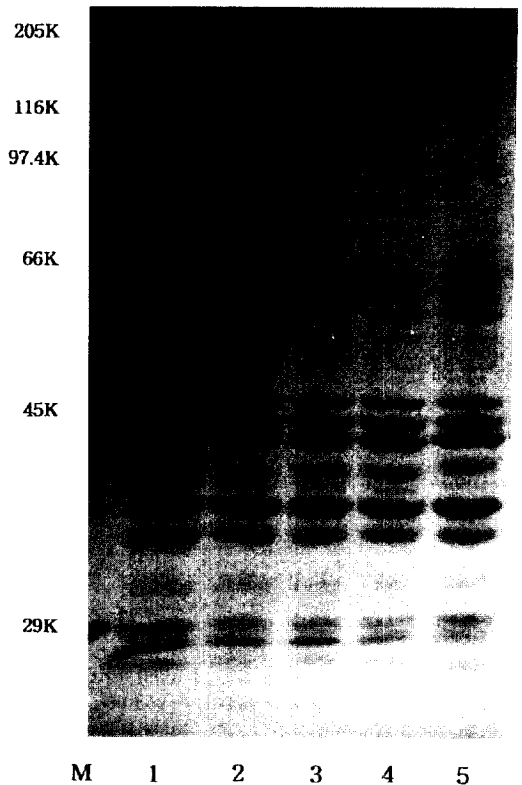
<sup>1)</sup>Standard error of LS mean is 0.09.

<sup>a-b</sup>LS means with different superscripts are significantly different ( $p < 0.1$ ).

잔기를 노출시킴으로써 추출단백질의 열변성을 일으킨다고 볼 수 있다.

전기영동 (SDS-PAGE)

첨가제의 조합에 의해 총 27개 예비혼합물의 추출액으로 단백질을 확인한 결과 모든 처리구에 대해 그 차이는 나타나지 않았다(Fig. 1). 첨가제에 관계없이 모든 단백질 추출물에서 myosin heavy chain (205 K) 과 actin (45 K)이 뚜렷하게 나타났고, creatine phosphokinase로 예측할 수 있는 97K와 아직 밝혀지지 않은 60 K, 56 K의 밴드와 troponin (Tn)-T (37 K), myosin light chain (25 K, LC-1), Tn-I (24 K)와 Tn-T (20 K)를 확인할 수 있었다. 또한, myosin 추출에 필요한 이온강도가 0.5 이상<sup>17)</sup>으로 알려져 있고, 본 실험 추출 용액의 조건이 이온강도 0.5를 넘기 때문에 무첨가구



**Fig. 1. SDS polyacrylamide gel of proteins extracted from meat preblends at different levels of presalting conditions. Lanes marked M are molecular weight markers. (Lane 1: 0% NaCl, 0% STPP, 0% PP, Lane 2: 4.5% NaCl, 0% STPP, 0% PP, Lane 3: 9.0% NaCl, 0% STPP, 2.44% PP, Lane 4: 0% NaCl, 2.5% STPP, 2.44% PP, Lane 5: 4.5% NaCl, 2.5% STPP, 4.88% PP).**

에서도 추출이 가능했던 것으로 생각된다. 단백질 추출효과에 대한 연구에서 Paterson 등<sup>(28)</sup>은 NaCl의 농도를 0.1 M에서 1 M까지 증가시키기에 따라 우육의 근원섬유단백질이 더 많이 추출된다고 하였으며, Offer와 Trinick<sup>(29)</sup>은 토육의 근원섬유단백질의 추출에 NaCl 농도 0.6 M~1.0 M의 추출이 0.6 M이하 농도 보다 더 효과적이라고 보고하였다.

Yasui 등<sup>(30)</sup>은 phosphate 이온이 근원섬유단백질에 결합하는 것은 다른 전기영동 이동도를 나타낸다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 추출된 단백질의 전기영동적 이동도는 세 첨가제의 조합에 의한 변화는 나타나지 않았고 동일한 이동패턴을 나타내었다. 한편 본 실험에서 단백질 추출은 증가되는 것으로 나타나는 처리구도 전기영동상으로는 측정되지 않는 단백질의 부분은 쉽게 설명되지 않는다. 이러한 원인은 육내 높은 NaCl (>0.5 M) 농도에 대한 전기영동상의 분리능의 문제<sup>(17)</sup>로 생각된다. 결과적으로 용해성이나 SH기 함량측정으로 볼 때 이온강도의 차이에 따른 단백질의 응집, 변성, 분해 같은 다른 특성들이 있을 수도 있었으나 본 실험의 전기영동상의 조건으로 그 특성차이는 나타나지 않았다.

## 요 약

본 연구는 재구성육제품내 첨가제를 줄이는데 있어 예비혼합물에 첨가제를 전량 첨가하여 그 기능적 특성을 최대한 부여시킬 수 있는 첨가제의 종류와 이온강도 효과의 조건을 설정하고자 실시하였다. 육제품의 10%를 예비혼합물로 설정하여 돼지전지부위에 NaCl (0, 4.5, 9.0%), STPP (0, 2.5, 5.0%), PP (0, 2.44, 4.88%)를 각각 세단계로 이온강도를 같게 설정한 후 조합첨가하여 27가지 예비혼합물을 제조하고 pH와 추출한 단백질의 기능적 특성을 조사하였다. pH는 STPP와 PP의 첨가에 의해 증가하는 경향을 나타냈으며( $p < 0.01$ ), 동일 이온강도에서 PP가 STPP에 비해 높은 pH 증진효과를 보였다. 예비혼합물에서 추출한 단백질(1 M NaCl, 동일한 염추출 용액 사용)의 특성 중 총 단백질추출성에 대하여 동일 이온강도 하에서 phosphate 이온이 chloride 이온보다 추출효과가 뛰어났다. 단백질의 용해성은 NaCl의 첨가로 용해성이 낮아졌으며( $p < 0.05$ ), 단백질추출성이 좋을 수록 용해성이 감소하는 것으로 나타났다. 원료육 내의 SH기 함량은 단백질추출성이 좋은 경우 SH기 함량이 높은 경향을 보였다. 단백질의 가열처리를 가상한 65°C, 7분간의 단백질 추출물의 열처리 효과로 원료육의 SH기 함량

이 낮아지고 소수성은 증가하였다( $p < 0.01$ ). 그러나 세 첨가제에 의한 27가지의 예비혼합물에서 추출한 단백질의 전기영동상 형태는 차이가 나타나지 않았다. 결론적으로 첨가제의 조합에 의해 이온강도가 높아짐에 따라 기능적 특성이 증가되지는 않았으나 인산염 중 동일이온강도를 감안할 때 첨가제를 줄이는 방안으로 STPP보다 PP가 좋은 것으로 판단되었다.

## 감사의 글

본 연구는 대산농촌문화재단 학술연구비(1995년)의 지원을 받아 수행된 것으로 재단에 감사의 뜻을 포함합니다.

## 문 헌

1. Smith, D.M.: Meat proteins: functional properties in comminuted meat products. *Food Technol.*, **42**(4), 116 (1988)
2. Creighton, T.E.: *Proteins*. W.H. Freeman and Co., New York (1984)
3. Schmidt, G.R., Mawson, R.F. and Siegel, D.G.: Functionality of a protein matrix in comminuted meat products. *Food Technol.*, **35**(5), 235 (1981)
4. Siegel, D.G. and Schmidt, G.R.: Ionic, pH and temperature effects on the binding ability of myosin. *J. Food Sci.*, **44**, 1686 (1979)
5. Ford, A.L., Jones, P.N., MacFarlane, J.J., Schmidt, G.R. and Turner, R.H.: Binding of meat pieces: objective and subjective assessment of restructured steakettes containing added myosin and/or sarcoplasmic protein. *J. Food Sci.*, **43**, 815 (1978)
6. Bard, J.C.: Some factors influencing extractability of salt-soluble proteins. *Proc. Meat Indust. Res. Conf.*, p.69 (1965)
7. Acton, J.C.: The effect of meat particle size on extractable protein cooking loss and binding strength in chicken loaves. *J. Food Sci.*, **37**, 420 (1972)
8. Regenstejn, J.M. and Regenstejn, C.E.: *Food Protein Chemistry*. Academic Press, Inc. Orlando, FL., U.S.A. p. 26. (1984)
9. Gornall, A.G., Bardawill, C.J. and David, M.M.: Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751 (1949)
10. Li-Chan, E., Nakai, S. and Wood, D.F.: Muscle protein structure-function relation and discrimination of functionality by multivariate analysis. *J. Food Sci.*, **52**, 31 (1987)
11. Beveridge, T., Toma, S.J. and Nakai, S.: Determination of SH- and -SS- groups in some food proteins using Ellman's reagent. *J. Food Sci.*, **39**, 49 (1974)
12. Li-Chan, E.: Heat-induced changes in the proteins of whey protein concentrate. *J. Food Sci.*, **48**, 47 (1983)
13. Ellman, G. L.: Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70 (1959)
14. Koh, K.C.: Functionality and binding of washed mech-

- anically separated beef in restructured meats. *Ph. D. Dissertation*, Louisiana State University, Baton Rouge LO., U.S.A. (1990)
15. Li-Chan, E., Nakai, S. and Wood, D.F.: Hydrophobicity and solubility of meat proteins and their relationship to emulsifying properties. *J. Food Sci.*, **49**, 345 (1984)
  16. Li-Chan, E., Nakai, S. and Wood, D.F.: Relationship between functional (fat binding, emulsifying) and physicochemical properties of muscle proteins. Effects of heating, freezing, pH and species. *J. Food Sci.*, **50**, 1034 (1985)
  17. Greaser, M.L., Yates, L.D., Krzywicki, K. and Roelke, D.L.: Electrophoretic methods for the separation and identification of muscle proteins. *Proc. Recip. Meat Conf.*, **36**, 87 (1983)
  18. Weber, K. and Osborn, M.: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406 (1969)
  19. Porzio, M.A. and Pearson, A.M.: Improved resolution of myofibrillar proteins with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochim. Biophys. Act.*, **490**, 27 (1977)
  20. SAS Institute, Inc.: *SAS User's Guide: Statistics*. SAS Institute, Cary, NC. (1995)
  21. Grabowska, J. and Hamm, R.: Proteinlöslichkeit und wasserbindung unter den in bruhwurstbraten gegebenen bedingungen [protein solubility and water binding under the conditions obtained in frankfurters]. *Fleischwirtschaft.*, **59**, 1166 (1979)
  22. Gillett, T.A., Meiburg, D.E., Brown, C.L. and Simon, S.: Parameters affecting meat protein extraction and interpretation of model system data for meat emulsion formation. *J. Food Sci.*, **42**, 1606 (1977)
  23. Scopes, R.K.: *Protein purification principles and practice*. 2nd Ed. Springer-Verlag New York Inc. p.44. (1987)
  24. Hofmann, K. and Hamm, R.: Sulfhydryl and disulfide groups in meats. *Adv. Food Res.*, **24**, 1 (1978)
  25. Trout, G.R. and Schmidt, G.R.: Effect of phosphate type and concentration, salt level and method of preparation on binding in restructured beef rolls. *J. Food Sci.*, **49**, 687 (1984)
  26. Melander, W. and Horvath, C.: Salt effects on hydrophobic interactions in precipitation and chromatography of proteins: an interaction of the lyotropic series. *Arch. Biochem. Biophys.*, **183**, 200 (1977)
  27. King, N.L. and MacFarlane, J.J.: *Muscle proteins: Advances in meat research*, Vol. 3. Van Nostrand Reinhold Co., New York. (1987)
  28. Paterson, B.C., Parrish, F.C., Jr. and Stromer, M.H.: Effects of salt and pyrophosphate on the physical and chemical properties of beef muscle. *J. Food Sci.*, **53**, 1258 (1988)
  29. Offer, G. and Trinick, J.: On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Sci.*, **8**, 245 (1983)
  30. Yasui, T., Fukazawa, T., Takahashi, M. and Hashimoto, Y.: Specific interaction of inorganic polyphosphates with myosin B. *J. Agric. Food Chem.*, **12**, 392 (1964)

---

(1997년 8월 26일 접수)