

Plastein 반응에 의한 고온조리 어육추출물의 기능성 개선

이근태[†] · 박성민 · 이상호 · 류홍수*

부경대학교 식품공학과

*부경대학교 식품생명과학과

Improvement of Functional Properties of Extracts from Hydrothermal Cooked Fish Meat by Plastein Reaction

Keun-Tai Lee[†], Seong-Min Park, Sang-Ho Lee and Hong-Soo Ryu*

Dept. of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Dept. of Food and Life Science, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Abstract

In order to improve the functional properties of several fish meat extracts as an alternate protein source, their basic plastein reactions were evaluated. The UV absorption at 270 and 290 nm indicated that plasteins had higher amount of hydrophobic peptide or amino acid than the fish meat extracts. The water solubilities of the extracts were about 80% higher than those of the plasteins in all range of pH values, although the tendency was reduced at acidic pH. Values for the emulsifying capacity of the extracts and plasteins were over 30% although the latter showed the higher ones than the former. The osmolalities of the extracts at 1.0% concentration were 39(loach), 33(bastard halibut), 30(jacopever) and 24(crucan carp)milliosmole. Generally the slightly higher osmolalities were noted in the plasteins to be compared with the extracts. Both the extracts and plasteins exhibited a higher antioxidative effect than tocopherol. The hydrophobic amino acid which had been introduced at plastein reaction attributed the stronger antioxidative effect of its product than the extracts.

Key words: fish meat extracts, plastein reaction, functional property, emulsifying capacity, osmolality, antioxidative effect

서론

1886년 Dailewsky는 pepton의 농축액 및 ovalbumin의 가수분해액에 소량의 pepsin을 가함으로써 불용성 단백질과 같은 물질이 형성됨을 발견하였다. 이 불용성 물질은 Sawjalow에 의해 plastein이라 불리워졌고 그 합성과정을 plastein반응이라 하였다(1). Plastein은 부드럽고 냄새가 없으며 색이 없는 gel형태로 TCA용액에 불용성인 것이 특징이다(2).

Plastein 반응은 일부 아미노산이 부족한 단백질에 필수아미노산을 도입하기 위한 수단으로써 연구되고 있다(3). 식품에 아미노산의 보충은 일반적으로 유리아미노산이 첨가되는데 이와 같은 방법으로 보충된 아미노산은 가공 또는 조리 중에 쉽게 소실된다. 이 뿐만 아니라, plastein 반응과 그 제품인 plastein은 식품공업에서

매우 가치가 있는 것으로 보고 있다. 즉, 영양적 가치에 해를 끼치지 않으며 독성이 없고 특이성이 강하다는 장점을 가지고 있어 식품에 대하여 일반적으로 널리 응용되어지고 있다. Plastein 반응은 단백질 가수분해물 중의 쓴맛을 감소시키기 위해 이용될 수 있으며(4), 또한 균형있는 단백질 강화식품을 생산하기 위해 아미노산 보강을 위한 방법으로 이용할 수 있다. 또한 plastein에 의한 gel형성은 새로운 식품의 소재개발에 응용할 수 있을 것으로 여겨진다.

우리나라에서는 옛부터 노약자나 임산부 등의 영양식으로 어육고음을 이용하여 왔는데 이러한 전통 어육고음은 안정성이 낮아 저장 중 변질이 많이 일어나는 문제점을 가지고 있을 뿐만 아니라 어육고음추출물의 기능성에 대한 조사도 체계적으로 이루어진 바 없는 실정이다. 이러한 어육고음추출물의 품질 안정화와 동시에

[†]To whom all correspondence should be addressed

기능성 개선의 방법으로 plastein 반응의 도입은 매우 의미있는 작업이라 생각된다.

따라서 본 연구에서는 고온조리한 어육추출물의 기능성 개선과 새로운 단백질 공급원 개발의 기초단계로서 어육고음추출물과 이를 이용한 plastein의 기능특성을 조사하여 plastein 반응을 이용한 가수분해물의 기능성 개선의 가능성을 살펴보았다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 어류 중 담수어종으로는 미꾸라지 (*Misgurnus anguillicaudatus*)와 붕어 (*Carassius carassius*), 해수어종으로는 광어 (*Paralichthys olivaseus*)와 조피볼락 (*Sebastes ineronis*)을 빙장상태에서 실험실로 운반한 후 점질물 및 내장제거 등의 전처리를 하고, 적당한 크기로 절단하여 폴리에틸렌백에 1kg씩 담아 서냉고(-20°C)에 보관하면서 어육추출물 제조용 원료로 사용하였다.

고온가열 어육추출물의 제조

각 원료어 1kg에 대하여 일정량의 물을 가하고 가압추출기(고려한약추출기, 세동 Co.)로 어육추출물을 제조하였다. 추출을 위한 고온조리조건은 중심합성계획법(5)에 따라서 각 조건별로 어육추출물을 제조하여 plastein 반응을 위한 최소 조건인 추출물의 가수분해도가 60% 이상이 되는 조건(6)을 반응표면분석으로 설정하였다. 이와 같이 설정된 조건은 가열온도의 경우 미꾸라지 140°C, 붕어 136.7°C, 광어 140°C, 조피볼락 140°C이었으며, 가열시간은 미꾸라지 10.08hr, 붕어 7.25hr, 광어 9.85hr, 조피볼락 9.38hr이었고, 어체중량에 대한 물의 양(sample : water)인 가수량은 붕어 1.1 : 1을 제외하고 미꾸라지, 광어 및 조피볼락은 1.0 : 1이었다. 이상의 조건에서 조리한 추출물은 지방과 잔사를 제거하기 위해 여과(Toyo No. 2)한 후 동결건조하였다.

가수분해도 측정

가수분해도(DH, degree of hydrolysis)의 측정(7)은 어육추출물 1ml를 취하여 시험관에 옮긴 후 0.3M trichloroacetic acid(TCA) 2ml를 첨가하고, 실온에서 20분간 방치한 후 여과(Whatman No. 40)하였다. 여과액 중 25μl를 취하고 여기에 증류수 225μl, 0.5N NaOH 1.25 ml, 1N Folin and Ciocalteu's phenol reagent 250μl를 가한 후 혼합하여 30°C에서 15분간 방치한 다음 여과

(Toyo No. 2)하였다. 여과액은 750nm에서 흡광도를 측정 후 다음의 식으로 가수분해도를 계산하였다.

$$DH = \frac{D_t - D_0}{D_{max} - D_0} \times 100$$

D_0 : 가수분해되지 않은 용액의 흡광도

D_t : t시간 추출한 용액의 흡광도

D_{max} : 시료 0.1g에 6N HCl 4ml를 첨가하여 110°C에서 24시간 가수분해한 후의 흡광도

유리아미노산 함량 측정

유리아미노산 함량은 OPDA(o-phthalaldehyde spectrometric assay)법(8)에 의하여 측정하였다. 즉, 추출물 중 10ml를 취하여 단백질 제거를 위해 95% ethanol을 가하여 혼합한 후 7°C에서 하룻밤 정지하였다. 침전된 단백질을 여과한 후 여과액 1ml를 취하여 OPDA 시약 1ml와 혼합하고 10분 후 340nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량선은 DL-leucine과 DL-lysine의 농도에 따른 흡광도로 작성하여 이로부터 유리아미노산 함량을 구하였다.

Plastein 반응

Motecalvo 등(6)의 방법에 따라 동결건조한 어육추출물 4g에 증류수 10ml를 가하여 기질농도가 40%(w/v)가 되게 하였다. 1N HCl과 1N NaOH를 사용하여 기질의 pH를 조절한 후 단백질 가수분해효소(papain, trypsin, chymotrypsin)를 기질에 대한 효소의 비(substrate : enzyme)가 100 : 1이 되도록 가하여 혼합하였다. 각 시료는 37±1°C로 조절된 incubator에서 24시간 동안 반응시켰다. 다음에 실온으로 냉각한 후 반응물에 20% TCA 10ml를 가하여 교반하고 원심분리(160G, 15min)하였다. 이때 생성된 침전물을 동결건조하여 plastein을 얻었다. 각 어종별 plastein 반응이 최대로 일어날 수 있는 최적 효소 및 pH는 미꾸라지 chymotrypsin pH 9.0, 붕어 chymotrypsin pH 9.0, 광어 papain pH 9.0, 조피볼락 trypsin pH 11.0이었다.

UV spectrum 및 전기영동 분석

어육추출물과 plastein 0.05% 용액의 흡광도를 UV/VIS 분광광도계(Model Spectronic 1201, Milton Roy Co., USA)를 사용하여 파장을 500~200nm 영역에서 연속적으로 변화시키면서 측정하였다.

전기영동은 Laemmli buffer system(9)에 의하여 각각 분리, 농축 겔을 조제하고 SDS-polyacrylamide slab

gel(두께 0.75mm) 상에서 시료와 표준 용액(Color markers, Sigma Chemical Co.) 20 μ l씩을 각각 주입한 다음, 전원공급장치(Bio-Rad Model No. 165-5065, Power/Pac 3000)를 사용하여 200V, 100mA 하에서 45분간 행하였다. 전개 후 겔은 0.1% coomassie blue R-250 염색 시약으로 염색하고 40% methanol/10% acetic acid 탈색용액으로 3시간 탈색시켰다.

용해도 측정

서로 다른 pH에서 추출물 분산액의 용해도는 다음 방법에 의해 측정하였다(10). 2g의 추출물을 0.2M NaCl 200ml에 가하여 blender로 25°C, 10,000rpm에서 2분간 분산시켰다. 1M HCl과 1M NaOH로써 pH를 조절하고 분산액을 교반기로 25°C에서 45분간 교반하였다. 교반 후 분산액 25ml를 원심분리(100G, 30min)하였다. 원심분리한 상층액(soluble N)과 원심분리 전의 용액(total N)을 Kjeldahl법에 의해 질소함량을 분석한 후 아래의 식에 의해 용해도를 계산하였다.

$$\text{Nitrogen solubility} = \frac{\% \text{ soluble N}}{\% \text{ total N}}$$

유화능 측정

유화능은 Wang과 Kinsella(11)의 방법을 수정하여 측정하였다. 각 시료 0.5g에 증류수 10ml씩을 가하여 균질기(Ace homogenizer, AM-8, Japan)로 1분간 균질화한 후, 대두유(동방유량) 10ml씩을 가하여 25°C에서 5분간 균질화하였다. 생성된 유화액을 각각 두 원심관(12mm×110mm)에 나누어 넣고, 원심분리(100G, 5min, 25°C)하였다. 원심분리한 원심관 내의 유화층을 측정하여 아래의 식으로 유화능을 계산하였다.

$$\text{유화능} = \frac{\text{유화된 층의 높이}}{\text{시험관내 총 내용물의 높이}} \times 100$$

점도 측정

점도는 원추평판형 회전점도계(Brookfield LVTDV-II+C/P, Cone angle 0.8°, USA)를 사용하여 시료용액 2ml, 25°C에서 회전속도를 0.3rpm에서 100rpm까지 바꾸어 가면서 측정하였다.

Osmolality 측정

시료용액 2ml를 취하여 osmometer(Model 5002, Fisher Co., USA)를 사용하여 osmolality를 측정하였다.

과산화물가 측정

Hayase와 Kato(12)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 250ml용 삼각 flask에 linoleic acid(Sigma Chemical Co., Free Acid Approx. 60%) 1g과 ethanol 20ml 및 일정량의 어육추출물을 첨가한 후 증류수 10ml를 주입하고 교반하여 45°C에서 일정기간 동안 저장한 후, 이 반응용액을 분액깔대기에 옮겨 chloroform 25ml를 넣어 linoleic acid가 포함되어 있는 지질층과 수층으로 나눈다. 이렇게 추출된 지질층은 acetic acid 25ml를 가한 후 포화 KI 1ml를 첨가하여 암소에서 5분 동안 방치시킨 후 0.01N Na₂S₂O₃용액으로 적정하여 아래 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{POV(mg/kg)} = \frac{S \times f \times N \times 1000}{\text{linoleic acid 채취량(g)}}$$

S: 1/100N Na₂S₂O₃ 용액의 소비량(ml)

f: 1/100N Na₂S₂O₃ 용액의 factor

N: Na₂S₂O₃ 용액의 normal 농도

결과 및 고찰

유리아미노산 함량

어육추출물과 원료어의 유리아미노산 함량은 Table 1에 나타내었다. 반응표면분석법으로 설정된 가수분해도 60%에 이르는 고온조리 조건으로 제조한 각 어육추출물과 원료어의 유리아미노산 함량은 표에서와 같이 추출전의 시료에 비해 추출물에서 모두 높게 나타났으며, 이것으로 보아 본 실험에서 설정한 고온 조리 조건에서 원료 단백질의 가수분해가 일어나며 이들 유리아미노산에 대한 plastein 반응의 도입이 가능할 것으로 판단되었다.

Table 1. Free amino acid content¹⁾ of various fishes and their hydrothermal extracts

Sample	Free amino acid(g/100g solid)	
	DL-Leucine	DL-Lysine
Raw loach	2.06±0.01	1.78±0.01
Raw crucian carp	3.18±0.05	2.73±0.04
Raw bastard halibut	1.63±0.03	1.40±0.02
Raw jacopeer	2.25±0.03	1.94±0.02
Loach extract	4.76±0.02	4.09±0.01
Crucian carp extract	4.74±0.03	4.07±0.03
Bastard halibut extract	4.83±0.01	4.15±0.01
Jacopeer extract	4.78±0.01	4.10±0.01

¹⁾Determined by OPDA method and described as equivalent of DL-leucine and DL-lysine

UV Spectrum 및 전기영동 분석

어육추출물과 plastein 0.05% 용액의 흡수 spectrum 을 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. 그림에서와 같이 plastein의 경우 270~290nm 영역에서 어육추출물과 다른 흡광도 변화 곡선이 관찰되었다. 이 영역에서의 흡광도 변화 곡선의 차이는 tryptophan, tyrosine, phenylalanine과 같은 방향족 아미노산에 의한 것으로(13) plastein 반응에 의해 plastein 내에 소수성 아미노산의 함량이 증가되었기 때문이라 생각된다. Yamashita 등(3)은 각종 아미노산을 plastein 반응에 적용해 보았을 때 아미노산 잔기의 소수성이 높을수록 peptide내에 도입이 잘 된다고 하였으며, Aso 등(14) 역시 아미노산의 구조와 소수성이 peptide내 도입에 있어서 중요한 요소라고 보고하였다.

한편 plastein 반응의 확인을 위하여 어육추출물과 plastein의 전기영동 분석을 행한 결과는 Fig. 2와 3에 나타내었다. 어육추출물의 경우 분자량 14,200 이상의 분자량을 가진 peptides가 존재하지 않음이 확인되었으며, plastein의 경우에는 plastein 반응에 의한 아미노산의 도입으로 분자량이 늘어난 것으로 생각되는 20,100 근처의 peptides에 의한 밴드가 확인되었다.

용해도

어육추출물의 pH에 따른 질소 용해도를 측정 한 결

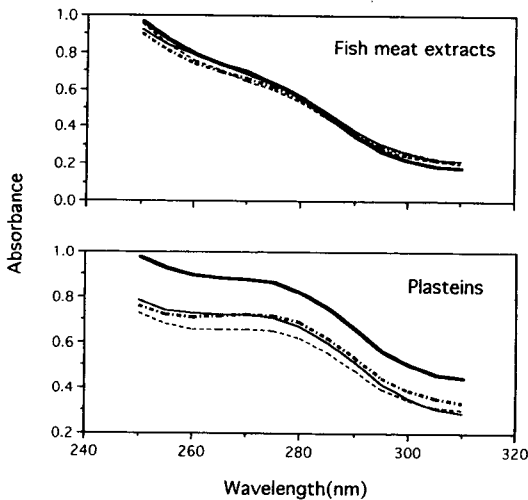


Fig. 1. Absorption spectra of fish meat extracts and plasteins. The concentrations of each extract were 0.05%. Absorbance of extracts and plasteins were measured against distilled water.
 — Loach — Crucian carp
 ---- Bastard halibut - - - - - Jacopever

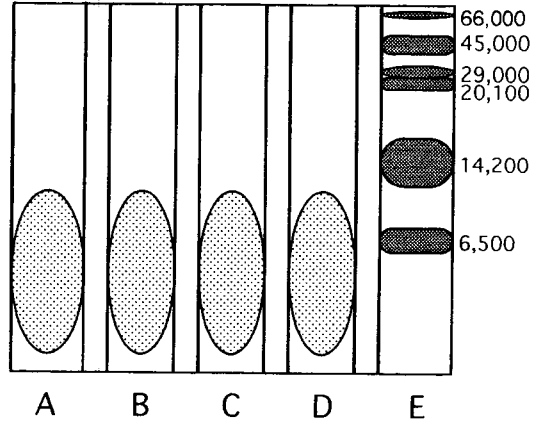


Fig. 2. Electrophoretic patterns of fish meat extracts determined by SDS-PAGE with 21% separation gel and 6% stacking gel.
 A: Jacopever extract
 B: Bastard halibut extract
 C: Crucian carp extract
 D: Loach extract
 E: Mark protein

과, 대체적으로 모든 어육추출물이 전체 pH영역에서 높은 용해도를 나타내었다(Fig. 4). 고온조리에 의해 단백질의 용해도가 증가되는 것은 단백질 분자의 저분자화와 이로 인한 아미노산내의 이온화의 영향으로 추측된다. Jost와 Monti(15), Monti와 Jost(16), Kester와 Richardson(17), Chobert 등(18-20)의 효소적 가수분해에 따른 단백질의 용해도 증가에 대한 조사 결과에 의하면 부분적 가수분해는 가수분해물의 용해도를 충분히 증가시킬 수 있다고 하였으며, 특히 단백질의 등전점에서 높은 용해도를 나타낸다고 보고하였다. 단백질 가수분해물의 용해도 증가를 Turgeon 등(21)은 단백질 분자의 크기 감소에 기인한다고 하였으며, Phillips(22)는 가수분해물의 친수성을 증가시켜 주는 이온화된 amino기 또는 carboxyl기가 새로이 드러났기 때문이라고 하였다.

Plastein의 pH에 따른 질소 용해도를 측정 한 결과는 Fig. 5와 같이 나타났으며 어육추출물에 비해 낮은 용해도를 나타내었다. 또한 알카리영역에서 산성영역으로 이동할수록 용해도가 낮아짐을 알 수 있었다. 이는 plastein반응에 의해 새로운 아미노산이 도입되므로 어

sugar ester의 25.9%에 비해 유화능이 다소 높았다. 이는 고온조리로 인하여 단백질의 구조적 변화와 peptide의 감소로 내부에 존재하던 소수성 잔기가 노출되었기 때문으로 생각된다. 그리고 광어의 경우를 제외한 나머지 어종은 추출물에 비해 plastein이 전체적으로 높은 유화능을 나타내었는데 이는 plastein반응에 의해 소수성이 높은 아미노산이 plastein 내에 도입되어 유화액 내에서 기름층과 쉽게 안정된 유화층을 형성하기 때문으로 추측된다. 또한 가수분해가 과도하게 되면 단백질 유화능은 소실되지만 plastein의 경우에는 다소의 합성반응에 의해 유화능이 뛰어난 peptides를 다시 생성할 수 있으므로 plastein 반응에 의해 어육추출물의 유화능을 조절할 수 있을 것으로 추측된다. Sathe 등(25)은 친수기와 친유기의 평형, 농도, pH 등이 단백질의 유화능에 영향을 미친다고 하였으며 가수분해된 단백질의 유화특성은 가수분해 정도의 조절에 의하여 개선될 수 있다고 발표하였다. Chobert 등(18-20)과 Haque와 Mozaffar(26)에 의하면 whey 단백질과 casein 단백질을 trypsin으로 부분 가수분해한 경우, 가수분해물의 유화활성은 증가하였으나 유화안정성은 결과적으로 상당히 감소하였다고 하였다. Phillips와 Beuchat(27)은 제한적 가수분해물에서 관찰된 유화 특성의 개선은 단백질 내부의 소수성 단백질의 출현에 의한 것이라고 추측하였으며, Phillips(22)는 가수분해물이 유화특성을 나타내는 것은 유지와 상호반응하는 소수성 잔기와 물과 상호작용을 가지는 친수성 잔기를 동시에 가지고 있기 때문이라고 설명하였다. 비록 작은 크기의 peptide가 쉽게 확산되고 흡수된다 할지라도 접촉면의 장력을 효과적으로 낮추지 못하기 때문이다(21). Mahmoud 등(28)은 채장의 가수분해효소를 사용하여 casein을 가수분해하였을 때의 유화활성 변화에 대해 서술하였다. 가수분해도가 증가함에 따라 가수분해물의 유화활성은 직선적으로 감소하였으며 특히 주로 amino acid, dipeptide, tripeptide로 구성되어 있는 최종의 casein 가수분해물(DH 67%)은 철저히 감소된 유화활성을 나타내었다. Kuehler와 Stine(29)은 좋은 유화특성을 나타내는 peptide chain의 길이 또는 분자량을 제시하였다. 또한 Lee 등(30)은 가수분해물이 좋은 유화특성을 가지기 위해서는 peptide chain의 길이가 최소한 20개의 잔기 이상이어야 한다고 하였다. 단백질의 유화능을 보충 또는 조절하기 위하여 plastein 반응을 이용하려는 시도도 이루어 졌는데, Michiko 등(31,32)은 gelatin에 소수성이 높은 아미노산을 도입을 시켜 ice cream, mayonnaise 제조 등에 사용하였을 때 아주 좋은 유화효과를 나타내었다고 보고하였다.

점도

어육추출물의 농도에 따른 겔보기 점도의 변화는 Fig. 6과 같다. 어육추출물의 농도가 증가할수록 점도는 증가하였으나 어육추출물의 농도가 10%일 경우에도 모두 1.9cP 이하의 매우 낮은 점도를 나타내었다. 어육추출물이 고농도에서도 저점도를 나타내는 것은 고온조리에 의한 저분화의 영향 뿐만 아니라 고온조리에 의해 단백질 내부의 소수성기가 외부로 노출되면서 용매와의 접촉면을 작게하려는 경향으로 상대적 부피가 감소되었기 때문으로 추측된다. Haque 등(33)은 단백질과 peptide가 포함된 분산체에서 peptide는 단백질과 소수성적 상호작용에 의해 단백질 표면의 소수성이 감소하게 되며 동시에 단백질 중합체의 크기가 감소하게 되어 단백질 가수분해물 혼합체의 점도가 감소하게 된다고 하였다. 5% 어육추출물 용액 중 점도가 가장 높은 것은 붕어추출물이었으며 가장 낮은 것은 미꾸라지추출물이었다. 이 차이는 어육추출물의 분자량 차이 때문이라고 생각된다. 즉 미꾸라지가 다른 추출물에 비해 약간 작은 분자량을 가지고 있다고 추측할 수 있다.

어육추출물과 plastein의 농도를 모두 1%로 고정된 후 각각의 점도를 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 전체적으로 1cP 정도의 낮은 점도를 나타내고 있으나 plastein의 점도가 어육추출물에 비해 약간 높았다. 그러나 4가지 plastein의 점도가 모두 약 1.17cP로 거의 동일하였으며 더 이상의 점도 증가는 보이지 않았다. 이것은 plastein 반응에 의해 어육추출물 내에 새로운 아미노산이 도입되므로 분자량이 다소 증가되기 때문으로

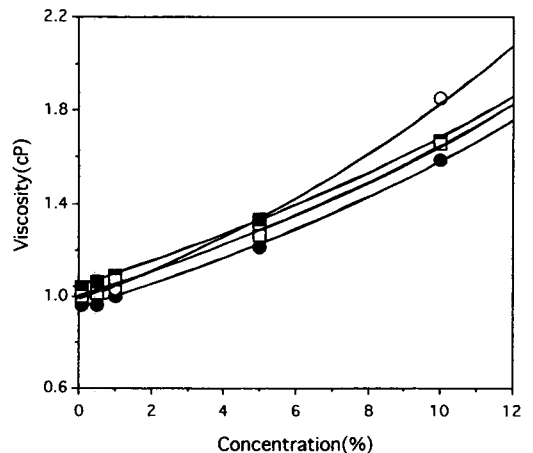


Fig. 6. Changes in apparent viscosity of aqueous solutions of fish meat extracts as a function of protein concentration at 25°C.

●—: Loach □—: Crucian carp
■—: Bastard halibut ○—: Jacopever

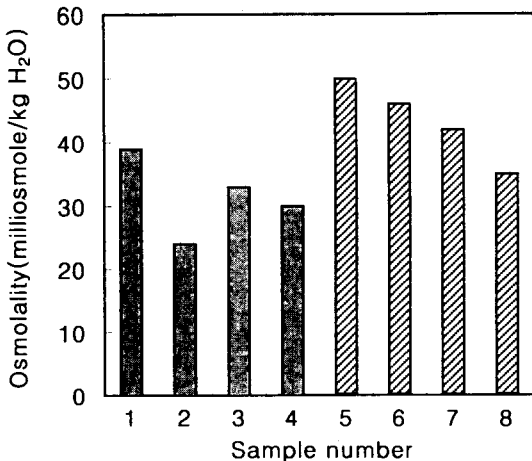
Table 3. Apparent viscosity of 1% solution for fish meat extracts and plasteins

Sample	Viscosity (cP)	Shear stress (Dyne/cm ²)	Shear rate (1/s)
Extract	Loach	1.01	750.0
	Crucian carp	1.07	8.00
	Bastard halibut	1.14	8.55
	Jacopever	1.08	8.09
Plastein	Loach	1.16	8.74
	Crucian carp	1.17	8.78
	Bastard halibut	1.17	8.76
	Jacopever	1.17	8.78

추출된다. 그리고 plastein 반응이 더 진행되어도 더 이상의 분자량 증가는 이루어지지 않는다는 것을 알 수 있었다. 따라서 이와 같은 점도에 따른 분자량의 변화로부터 본 연구에 사용된 기질에 대한 plastein 반응기작을 고찰해 보면 peptide간의 중합이 아니라 amino기의 전이에 의하여 plastein이 생성되었다고 추측된다.

Osmolality

McBurney와 Young(34)에 의하면 osmolality가 높은 용액은 소장 내부로 많은 양의 물을 흡수하게 되어 심각한 설사, 생체내 이온평형의 붕괴, 구역질과 복부의 팽창의 원인이 된다고 하였다. 따라서 osmolality는 유아와 성인의 영양식에 있어서 중요한 물리적 특성 중의 하나이다. Fig. 7은 각 어육추출물과 plastein의 osmolality의 변화를 나타낸 것이다. 어육추출물의 농도가

**Fig. 7. Osmolality of 1% fish meat extract and plastein solutions.**

1: Loach extract, 2: Crucian carp extract, 3: Bastard halibut extract, 4: Jacopever extract, 5: Loach plastein, 6: Crucian carp plastein, 7: Bastard halibut plastein, 8: Jacopever plastein

1%일 때, osmolality가 가장 높은 것은 미꾸라지추출물로서 39milliosmole이었으며, 그 다음은 광어, 조피볼락, 붕어 순으로 각각 33, 30, 24milliosmole이었다. Plastein의 경우는 전체적으로 어육추출물보다 다소 높은 osmolality를 나타내었으나 그 변화의 폭은 크지 않았다. Osmolality는 용매 1kg에 녹아있는 삼투압적인 활성을 가지는 입자들의 양으로 정의한 것이며 이는 용액 내의 이온성의 입자나 분자의 수나 크기에 대해 영향을 받는다. 가수분해에 의해 생성되는 아미노산과 크기가 작은 peptide는 상대적으로 작은 분자량 때문에 단백질 가수분해물의 osmolality 상승에 영향을 미친다. 따라서 단백질의 가수분해가 많이 될수록 이들의 osmolality는 증가하게 된다. 그러나 plastein반응에 의한 osmolality가 증가되는 것은 peptide 구조의 변화에 의해 삼투압 활성을 가지는 형태로 변화하였기 때문으로 추측된다.

항산화능

최근 유지식품의 산화방지를 위한 목적으로 사용되는 페놀계 합성 항산화제인 BHT나 BHA는 그 자체가 독성을 나타낸다고 알려져 있어(35), 그 사용이 기피되고 있기 때문에 새로운 천연항산화제의 개발이 요구되고 있다. 따라서 단백질 가수분해물과 plastein합성물의 항산화제로서 이용가능성을 조사하기 위하여 어육추출물과 plastein의 항산화능을 살펴본 결과, 전체적으로 tocopherol보다 우수한 항산화능을 나타냈으나 어육추출물의 경우는 plastein에 비해 항산화능이 다소 낮은 것으로 나타났다(Fig. 8). 그리고 각 어육추출물의 가수분해도는 같아도 항산화능은 다르게 나타난 것으로 보아 생성된 peptide의 종류에 따라 이들의 항산화작용이 다르게 나타나는 것으로 생각된다. 즉 이들의 항산화능의 발현에는 peptide의 크기나 길이는 큰 영향을 미치지 못한다는 것을 의미하며, 구성 아미노산의 종류에 영향을 받는 것으로 생각된다. 이에 따라 plastein이 어육추출물에 비해 항산화능이 뛰어난 것은 plastein 반응에 의해 구성 아미노산 및 단백질의 아미노산 배열이 변화하여 항산화능을 나타내는데 적합한 형태가 되었기 때문으로 추측된다. 특히 UV spectrum 결과(Fig. 1)에서도 볼 수 있듯이 어육추출물 내에 소수성 잔기를 가진 아미노산의 양이 증가되었으며 이로서 plastein은 지질과의 친화도가 어육추출물보다 좋아지게 된다. 이와 같은 현상으로 인해 plastein은 지질이 다량 포함된 식품에서 지질 또는 지방산 유래의 활성 radical과 결합한 후 식품 내의 친수성과 접촉을 최소화하기 위해 하나의 미립자를 형성하게 된다. 이러한 과정에 의해 지질산화의 원인이 되는 외부산소 또는 금속이온과의 접

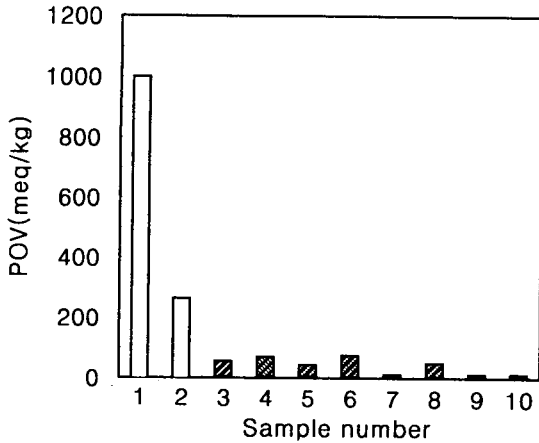


Fig. 8. Antioxidative effect of fish meat extract and plastein solutions on oxidation of linoleic acid. 1g of linoleic acid was incubated at 45°C for 7days. 1: Control, 2: Tocopherol, 3: Loach extract, 4: Crucian carp extract, 5: Bastard halibut extract, 6: Jacopever extract, 7: Loach plastein, 8: Crucian carp plastein, 9: Bastard halibut plastein, 10: Jacopever plastein

축을 방지하게 되어 plastein의 항산화능이 증가되는 것으로 추측된다. 山口 등(36)은 구성 peptide의 성상에 따라 항산화능에 다소 차이가 있다고 하면서 dipeptide의 경우 alanine을 N 말단으로 하였을 때, 즉 Ala-His, Ala-Net, Ala-Tyr 및 Ala-Try의 항산화능이 좋은 것으로 나타났으며 이것은 특정 아미노산이 N 말단에 위치하는가 C 말단에 위치하는가에 따라서 항산화능이 크게 영향을 받기 때문에 peptide 중의 아미노산의 위치에 의한 입체배치가 항산화능에 크게 관여한다고 주장하고 있다. 川島 등(37)도 dipeptide의 항산화능은 말단 아미노산의 지방족 측쇄 존재 여부가 항산화능에 크게 영향을 미친다고 하였으며, 이는 지방족 측쇄를 가지는 아미노산의 소수성이 다른 아미노산에 비해 높으며 따라서 지질과의 친화성이 좋기 때문이라고 추정하고 있다. 또한 岩見(38)은 단백질 가수분해물의 항산화능은 단백질이나 peptide의 소수성 영역 내부에 지방산이 들어가 하나의 미립자 구조가 형성되어, 그 결과 외부 산소와의 접촉이 방지됨으로서 항산화 효과를 나타낸다고 하였다.

요 약

고온조리한 어육추출물의 기능성 개선과 새로운 단백질 공급원 개발의 기초단계로서 어육고음추출물과 이로부터 제조한 plastein의 기능특성을 조사하여 plastein 반응을 이용한 가수분해물의 기능성 개선에 대하여 조사하였다.

UV Spectrum의 변화에서 plastein은 방향족 아미노산의 도입의 결과로 추정되는 흡광 변화가 270nm에서 290nm 사이에 관찰되었으며, 전기영동 결과에서도 plastein 반응에 의한 아미노산 도입으로 형성된 분자량 20,100 근처의 peptide 밴드가 확인되었다. 어육추출물의 용해도는 전체 pH 영역에서 80% 이상으로 높게 나타났으나 plastein은 산성영역에서 용해도가 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 유효능을 측정할 결과 모두 30% 이상이었으며 어육추출물에 비해 plastein의 유효능이 다소 높게 나타났다. 그리고 plastein과 어육추출물 1% 용액의 점도는 plastein이 어육추출물보다 약간 높았다. 어육추출물의 농도가 1%일 때 osmolality가 가장 높은 것은 미꾸라지추출물로서 39mOsmole이었으며, 그 다음은 광어, 조피블락, 붕어 순으로 각각 33, 30, 24 mOsmole이었다. Plastein의 경우 전체적으로 어육추출물보다 다소 높은 osmolality를 나타내었으나 그 변화의 폭은 크지 않았다. 항산화능은 tocopherol에 비해 어육추출물과 plastein 모두 높은 산화 억제 효과를 나타내었으며 어육추출물에 비해 plastein의 항산화능이 좋았다.

감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업(1996)에 의하여 수행된 연구결과이며, 연구비를 지원해 준 농림부에 심심한 사의를 표합니다.

문 헌

- Horowitz, J. : Mechanism of plastein formation. *Biochemica. Et. Biophysica. Acta.*, **33**, 231(1959)
- Borsook, H. : Peptide bond formation. *Advan. Protein Chem.*, **8**, 127(1953)
- Yamashita, M., Soichi, A. and Masao, F. : Plastein reaction for food protein improvement. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1100(1976)
- Eriksin, S. and Fageron, I. S. : The plastein reaction and its application; A review. *J. Food Sci.*, **41**, 490(1976)
- 박성현 : 현대실험계획법. 민영사, 서울, p.521(1995)
- Montecalvo, J., Constantinides, S. M. and Yang, C. S. T. : Enzymatic modification of fish frame protein isolate. *J. Food Sci.*, **49**, 1305(1984)
- Boudrant, J. and Cheftel, C. : Continuous proteolysis with a stabilized protease; II Continuous experiments. *Biotechnol. Bioeng.*, **18**, 1735(1976)
- Rowlett, R. and Murphy, J. : A convenient spectrophotometric method for the kinetic analysis of the enzymatic hydrolysis of N-acyl peptides using phthalaldehyde. *Analytical Biochemistry*, **112**, 163(1981)
- Laemmli, U. K. : Cleavage of structural proteins dur-

- ing the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680(1970)
10. Adler-Nissen, J. : Enzymic hydrolysis of food proteins. Elsevier Applied Science Publishing Co., New York (1986)
 11. Wang, J. C. and Kinsella, J. E. : Functional properties of novel protein : Alfalfa leaf protein. *J. Food Sci.*, **41**, 286(1976)
 12. Hayase, F. and Kato, H. : Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 37(1984)
 13. 박만기 : 분광학적 분석입문. 자유아카데미, 서울, p.195 (1993)
 14. Aso, K., Yamashita, M., Arai, S., Suzuki, J. and Fujimaki, M. : Specificity for incorporation of α -amino acid esters during the plastein reaction by papain. *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 1138(1977)
 15. Jost, R. and Monti, J. C. : Partial enzymatic hydrolysis of whey protein by trypsin. *J. Dairy Sci.*, **60**, 1387(1977)
 16. Monti, J. C. and Jost, R. : Enzymatic solubilization of heat-denatured cheese whey protein. *J. Dairy Sci.*, **61**, 1233(1978)
 17. Kester, J. J. and Richardson, T. : Modification of whey proteins to improve functionality. *J. Dairy Sci.*, **67**, 2757(1984)
 18. Chobert, J. M., Bertrand-Harb, C. and Nicolas, M. G. : Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 883(1988a)
 19. Chobert, J. M., Sotohy, M. Z. and Whitaker, J. : Solubility and emulsifying properties of caseins modified enzymatically by *Staphylococcus aureus* V8 protease. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 220(1988b)
 20. Chobert, J. N., Bertrand-Harb, C., Dalgarrando, M. and Nicolas, N. G. : Solubility and emulsifying properties of betacasein modified enzymatically by trypsin. *J. Food Biochem.*, **13**, 335(1989)
 21. Turgeon, S. L., Gauthier, S. F. and Paquin, P. : Interfacial and emulsifying property of whey peptide fractions obtained with a two-step ultrafiltration process. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 673(1991)
 22. Phillips, M. C. : Protein conformation at liquid interfaces and its role in stabilizing emulsions and foam. *Food Technol.*, **35**, 50(1981)
 23. Edward, J. H. and Shipe, W. F. : Characterization of plastein reaction products formed by pepsin, α -chymotrypsin and papain treatment of egg albumin hydrolysates. *J. Food Sci.*, **43**, 1215(1978)
 24. Julio, C. M. and Rolf, J. : Papain-catalyzed synthesis of methionine-enriched soy plasteins. Average chain length of the plastein peptides. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 1281(1979)
 25. Sathe, S. K., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K. : Functional properties of lupin seed proteins and protein concentrates. *J. Food Sci.*, **47**, 491(1982)
 26. Haque, Z. U. and Mozaffar, Z. : Casein hydrolysate. II. Functional properties of peptides. *Food Hydrocolloids*, **5**, 559(1992)
 27. Phillips, R. D. and Beuchat, L. R. : Chap.13. Enzyme modification of proteins. In "Protein functionality in foods" Cherry, J. P.(ed.), American Chemical Society, Symposium Series, 147, Washington, D.C., p.275(1982)
 28. Mahmoud, M. I., Malone, W. T. and Cordle, C. T. : Enzymatic hydrolysis of casein-Effect of degree of hydrolysis on antigenicity and physical properties. *J. Food Sci.*, **57**, 1223(1992)
 29. Kuehler, C. A. and Stine, C. M. : Effect of enzymatic hydrolysis on some functional properties of whey protein. *J. Food Sci.*, **39**, 379(1974)
 30. Lee, S. W., Shimizu, M., Kaminogawa, S. and Yamachi, K. : Emulsifying properties of peptides obtained from the hydrolysates of β -casein. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 161(1987)
 31. Michiko, W., Toyokawa, H., Shimada, A. and Arai, S. : Proteinaceous surfactants produced from gelatin by enzymatic modification-Evaluation for their functionality. *J. Food Sci.*, **46**, 1467(1981a)
 32. Michiko, W., Shimada, A., Yazawa, E., Kato, T. and Arai, S. : Proteinaceous surfactants produced from gelatin by enzymatic modification-Application to preparation of food items. *J. Food Sci.*, **46**, 1738(1981b)
 33. Haque, Z. U., Casay, G. A., Wilsin, W. W., Antila, P. and Antila, V. : Effect of casein hydrolysates on association properties of milk proteins as seen by dynamic light scattering. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 230(1993)
 34. McBurney, M. M. and Young, L. S. : Chap. 10. Formulas. In "Enterol and tube feeding" Rombeau, J. L. and Caldwell, M. D.(eds.), W. B. Saunders Co., Philadelphia, p.171(1984)
 35. 新村壽夫 : 食品添加物の生化学と安全成. 地人書館, 日本, p.192(1979)
 36. 山口直彦, 横尾良夫, 藤卷正生 : 油脂の安定成に及ぼすアミノ化合物の影響.(第2報) ジペプチドの抗酸化力の比較及びトコフェロールとの相乗性. 日食工誌, **22**, 425(1975)
 37. 川島啓助, 伊藤 博, 千畑一郎 : ペプチドの抗酸化能. 化学と生物, **20**, 215(1982)
 38. 岩見工和 : 食品タンパク質抗酸化機能の再発見. 化学と生物, **26**, 217(1988)

(1997년 6월 3일 접수)