

민태(*Johnius belengeri*) frame 단백질 가수분해물의 인산화에 의한 기능성 개선

전유진 · 이병조¹ · 박표잠 · 변희국 · 김세권*

부경대학교 화학과, '동원산업(주)

초 록 : 참치내장 중 유문수 조직에 내재되어 있는 단백질 분해효소를 부분정제하여 추출한 후 민태 frame 단백질의 효소적 가수분해에 이용하였으며, 제조된 가수분해물을 한외여과막을 이용하여 분자량 크기에 따라 분획한 후 기능성을 개선시킬 목적으로 cyclic sodium trimetaphosphate를 이용하여 인산화 민태 frame 단백질 가수분해물을 제조하고, 용해도, 유화성 및 포말성 등과 같은 기능성을 검토하였다. 1. 가수분해물의 기능성 개선을 목적으로 가수분해물에 STMP를 처리하여 인산화된 가수분해물을 제조하였으며, IR 스펙트럼으로 인산화를 확인한 결과, 1300 cm⁻¹에서 P=O의 흡수띠를, 1000~1100 cm⁻¹에서 P-O-C 와 alkyl group에 결합된 P-O-C의 흡수띠를 확인하였다. 2. 민태 frame 단백질 가수분해물을 인산화시킴으로써 용해도는 물론 유화성 및 유화 안정성 그리고 포말 안정성 등 기능성의 개선에 크게 효과를 나타내었다. 특히 분자량이 가장 큰 획분인 P-30K 가수분해물은 모든 기능성 부분에서 좋은 결과를 나타내어 미이용자원으로부터 기능성이 부여된 새로운 가치의 물질로서 활용이 기대된다.(1998년 12월 17일 접수, 1999년 2월 26일 수리)

서 론

최근 기능 특성을 갖는 단백질의 수요가 늘어남에 따라 단백질의 기능성을 개선하려는 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 이러한 기능성의 개선에는 화학적 수식과 효소적 수식으로 크게 대별 되고 있다.

효소에 의한 수식은 주로 특정한 protease를 선택하여 단백질로부터 특정의 펩티드로 가수분해한다든지^{1,2)} 혹은 plastein반응을 하는 것이 널리 이용되고 있으며,^{3,4)} 이러한 수식에 의하여 용해도나 유화성과 같은 물성 혹은 기능성을 향상시킬 수 있다. 또한 효소적 수식방법으로 효소에 의한 단백질의 인산화는 우유, 계란 및 대두의 영양성분인 casein, phosvitin 및 soybean protein에 adenosine phosphate의존성 protein kinase를 사용하여 단백질-결합성 serine이나 threonine잔기의 인산화를 시도하였다.⁵⁾

화학적 수식은 과거에는 숙시닐화(succinylation)나 아실화(acylation)에 의하여 몇몇 기능성을 변화시켰지만,⁶⁾ 최근에는 인산화에 의한 단백질의 기능성 변화⁸⁻¹⁰⁾이 활발하게 진행되고 있으며 이러한 인산화는 단백질의 용해도, 보수력과 칼슘결합을 증가시키는 것으로 보고되었다. 인산화에 의한 대표적인 연구를 보면, Sung 등¹¹⁾은 cyclic sodium trimetaphosphate(STMP)를 이용하여 soybean protein을 인산화시켜 용해도, 유화특성과 포말특성 등의 기능성을 증가시켰고, Hirotzuka 등¹²⁾은 soybean protein을 POCl₃로 인산화시켜서 용해도와 유화성의 개선을 보고하였다.

이와 같이 일련의 연구들에 의해서 화학적 수식 중 인산

화가 기능성 개선에 많은 효과가 있다는 사실이 보고됨으로써 앞으로 효소적 및 화학적 방법에 의한 인산화가 더욱 더 다양하게 시도될 것으로 전망된다.

수산물공공장에서 어육을 채취할 목적으로 수행하는 filleting 작업으로 인하여 부산물로 생산되고 있는 어류 frame에 대하여 미이용자원을 개발하고 또한 이용가치를 증진시킬 목적으로 전보¹³⁾에서 효소적 가수분해를 수행하였다.¹³⁾ 그리고 효소적 단백질 가수분해물은 다양한 크기를 가진 펩티드를 함유하고 있기 때문에 분자량의 차이에 의해 서로 다른 기능성을 나타내고 있다.¹⁴⁾ 따라서 한외여과막을 이용하여 민태 frame 단백질 가수분해물을 분자량 크기에 따라 분획한 후 전보¹³⁾에서 그 기능성을 검토한 바 있다. 본 연구에서는 한외여과막을 이용하여 분획한 민태 frame 단백질 가수분해물에 대하여 기능성을 개선시킬 목적으로 가수분해물을 인산화하였으며, 이에 대한 기능성을 검토하였다.

재료 및 방법

원료로 사용된 민태(Hoki, *Johnius belengeri*) frame은 동원산업(주) 가공공장에서부터 filleting한 후 남은 잔사인 frame(수분 76.27%, 뼈 3.94%, 육 19.79%)을 제공받아 -20°C에서 냉동 보관하여 두고 실험에 사용하였다. 참치 유문수(tuna pyloric caeca)유래의 proteinase를 추출하기 위한 참치 유문수도 동원산업(주)으로부터 제공받아 -60°C에 저장하여 두고 proteinase를 추출하였다.

참치 유문수 유래의 조효소 추출

참치 유문수(2 kg, 수분함량 82.66%)로부터 유래되는 prot-

찾는말 : hoki frame, hydrolysate, functional property, phosphorylation

*연락처

einase 조효소의 추출은 Kim 등¹⁹⁾의 방법에 따라 추출한 후 동결건조하여 -20°C에 저장하여 두고 참치 유문수 유래의 조효소로 사용하였다.

민태 frame 가수분해물의 제조

민태 frame으로부터 가수분해물의 제조는 전보¹⁵⁾의 방법에 따라 민태 frame 2 kg(건조물 기준)에 기질농도가 1%되도록 증류수를 가하고 pH 10 및 50°C로 조절한 후 기질농도의 1%가 되도록 tuna pyloric caeca crude enzyme(TPCCE)를 첨가하여 24시간반응을 진행시켰다. 반응종료 후 100°C에서 20분간 효소를 불활성화시킨 다음 그 추출액을 여과(Whatmann No. 41) 및 원심분리(4,650×g, 20 min)로 어뼈 잔사 및 미반응 근육 단백질을 제거하였다. 이것을 한 외여과막 장치를 이용하여 분자량 한계범위가 각각 30, 10, 5 및 1 kDa인 한외여과막(Millipore Co., Bedford, USA)을 차례로 통과시켜 각각을 분자량 크기에 따라 대량 분획하여 농축 후 동결건조하여 민태 frame 단백질 가수분해물(30, 10, 5 및 1 K 가수분해물)의 시료로서 사용하였다.

민태 frame 가수분해물의 인산화

한외여과막으로 분획한 30, 10, 5 및 1 K 가수분해물의 인산화는 Sung 등¹¹⁾의 방법에 따라 아미노산의 serine과 lysine에 특이적으로 인산화되는 메카니즘으로 진행시켰다. 즉 각 시료 4% 단백질용액을 제조하여 40% NaOH용액을 이용하여 pH 11.5로 조절한 후 인산화 시약으로는 STMP를 반응용액에 1%가 되도록 첨가하여 35°C에서 3시간동안 반응시켰다. 반응종료 후 원심분리(4,650×g, 20 min)하여 침전물을 증류수로 중화시키고 동결건조하여 인산화된 가수분해물(P-30K, P-10K, P-5K 및 P-1K)을 얻었으며, IR (Shimadzu IR-408) 스펙트럼으로 가수분해물의 인산화를 확인하였다.

용해도 측정

인산화된 민태 frame 단백질 가수분해물들에 대한 용해도를 pH변화에 따라 측정하였으며, 이때 인산화되지 않은 민태 frame 단백질 가수분해물도 함께 사용하여 비교하였다. 즉, 각 1% (w/v)의 시료용액 20 ml를 pH 자동조절기(pH/ORP controller, Cole-Parmer Co., USA)를 사용하여 0.1 N HCl 및 0.1 N NaOH로 pH 2에서 11까지 조절하여 20°C에서 30분간 교반한 후 원심분리(23,000×g, 20 min)하여 상층액의 가용성 질소량을 Lowry법¹⁶⁾으로 측정하였다. 용해도는 시료 중에 함유되어 있는 총질소량에 대한 상층액 중에 녹아 있는 질소량의 비로써 계산하였다.

유화성 및 유화 안정성

유화성과 유화 안정성은 Pearce와 Kinsella¹⁷⁾의 방법을 이용하여 pH의 변화에 따라 탁도법(spectroturbidity)으로 측정하였다. 즉, pH를 2~11까지 조절한 각 시료 1% (w/v) 분산액 3 ml에 대두유 1 ml를 혼합하여 균질기(AM-7, Nihonseiki Kaisha Ltd., Japan)로 12,000 rpm에서 1분간 균질화시켰다.

균질화된 유화액을 100 µl 분취하여 0.1% SDS용액(0.1 M NaCl, pH 7.0) 5 ml에 첨가시켜 희석한 후 즉시 그 희석된 유화액을 분광광도계(Hitachi, Japan)를 사용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 유화성으로 나타내었다. 유화 안정성은 시간별(30 sec~60 min)로 측정된 흡광도의 반감기를 이용하여 표현하였다.

포말성 및 포말 안정성

포말성 및 포말 안정성은 Johnson과 Brakke¹⁸⁾과 Watanabe 등¹⁹⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 각 시료 1%(w/v)의 분산액 20 ml를 만들어 0.1 N HCl 및 0.1 N NaOH로 pH 2에서 11까지 조절하여 그 용액을 균질기로 3분간 10,000 rpm에서 포립시킨 후, 즉시 100 ml 메스실린더에 옮긴 다음 30초 후에 전체량, 거품량 및 물층의 부피를 각각 측정하여 계산하였다.

$$\text{포말성} = \frac{\text{전체부피(ml)} - \text{물층부피(ml)}}{\text{전체부피(ml)}}$$

포말 안정성은 포립된 각 시료를 100 ml 메스실린더에 옮긴 후, 20°C에서 30분간 정치시킨 후 남아 있는 물층을 측정하여 계산하였다.

$$\text{포말 안정성} = \frac{\text{일정시간 후의 전체부피(ml)} - \text{일정시간 후의 물층부피(ml)}}{\text{최초부피(ml)}}$$

결과 및 고찰

민태 frame 가수분해물의 회수

가수분해물은 2 kg의 민태 frame으로부터 약 1540 g이 생성되었으며(수율 77%), 그 나머지는 민태 frame의 뼈 부분이었다. 즉, 반응종료 후 뼈 부위에 붙어 있었던 단백질은 거의 분해되어 회수되었다.

인산화시킨 가수분해물의 IR 스펙트럼

인산화시킨 가수분해물의 IR 스펙트럼은 분자량에 관계없이 거의 일정한 피크들이 나타났다. Fig. 1은 인산화된 30 K 가수분해물(P-30K)과 인산화되지 않은 가수분해물(30 K)에 대한 IR 스펙트럼이다. P-30K는 30 K에 비해 phosphate group의 존재가 1,000~1,300 cm⁻¹에서 명확하게 나타났다. 즉, P=O 결합은 1,300 cm⁻¹에서, P-O-P 결합은 1,100~1,200 cm⁻¹에서, alkyl group과 결합된 -O-P는 1,000 cm⁻¹에서 각각 흡수피크가 나타났다.

용해도

한외여과막을 이용하여 각 분자량의 크기에 따라 분획된 민태 frame 가수분해물들로부터 기능성의 개선을 목적으로 인산화시킨 인산화 가수분해물들의 용해도를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 인산화 가수분해물은 분자량의 크기에 관계없이 대부분의 pH 영역에서 90~100%의 용해도를 보였으며, 그들의 등전점 영역으로 추정되는 pH 4~5 부근에서도 거의 90% 이상의 용해도를 보였다. 이는 인산화되지 않은 가수분해물 중 가장 용해도가 높은 1 K 가수분해

물에 비하여 상당히 높은 용해도를 보였다. 특히 1 K 가수분해물이 등전점 영역의 pH에서 약 60% 정도의 용해도를

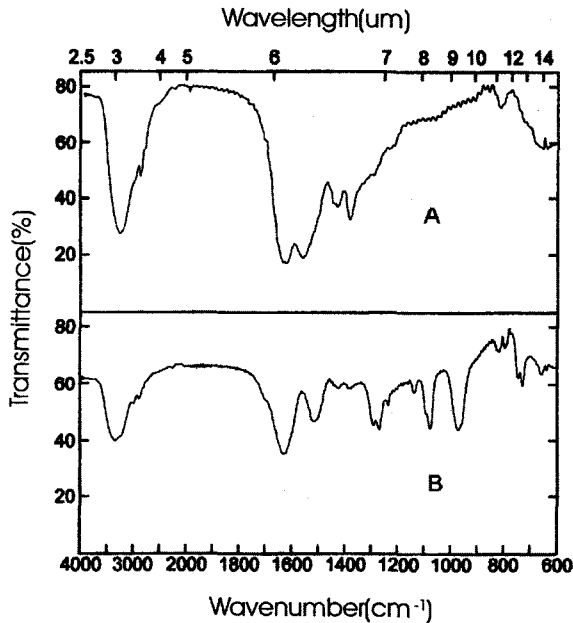


Fig. 1. The infrared spectra of 30K and phosphorylated-30K (P-30K) hydrolysates. A: Hydrolysate, B: Phosphorylated-hydrolysate.

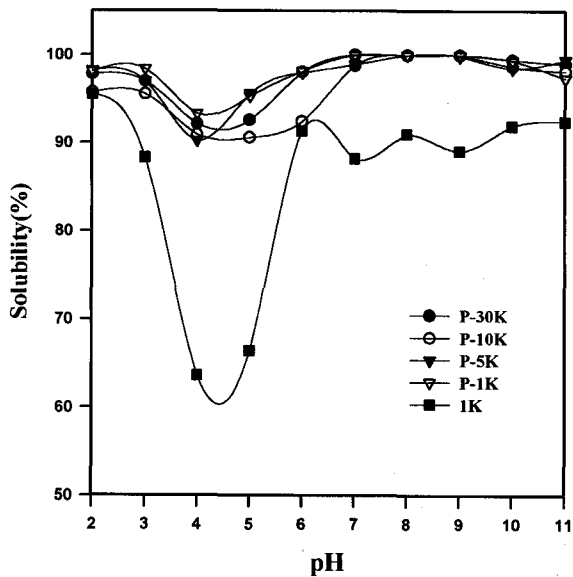


Fig. 2. Solubility of phosphorylated hydrolysates as function of pH. Solubility was measured after 30 min equilibration period at room temperature (25°C). The solubility is expressed as percent total protein in supernatant solution. P-30K is a hydrolysate permeated through a 30,000 (30K) molecular weight cut-off (MWCO) membrane and then phosphorylated with STMP, P-10K is a hydrolysate permeated through a 10,000 (10K) MWCO membrane and then phosphorylated with STMP, P-5K is the hydrolysate permeated through a 5,000 (5K) MWCO membrane and then phosphorylated with STMP, P-1K is the hydrolysate permeated through a 1,000 (1K) MWCO membrane and then phosphorylated with STMP, and 1K is the hydrolysate permeated through a 1,000 (1K) MWCO membrane.

보인 것에 비교하면 거의 30% 이상 높은 값을 나타내었다. 이와 같이 인산화에 의한 용해도의 증가 원인은 phosphate 잔기의 강한 음전하에 의해서 전체 단백질의 전하가 더욱 음성이 되기 때문이다.¹²⁾ Sung 등¹¹⁾도 화학적 인산화 시약인 STMP를 이용하여 대두단백질을 인산화시킴으로써 산성영역과 등전점 영역에서의 용해도가 증가되었다고 보고한 바 있다. 단백질의 용해도 증가는 보다 넓은 범위의 pH 영역에서 사용될 수 있으며, 그들의 응용은 스포츠 영양 음료, 체중조절용 다이어트, 과알레르기성 식품 및 의약품 다이어트 식품 등 잠재적인 기능성 소재 분야에서의 이용이 가능하다.²⁰⁻²³⁾

유화성과 유화 안정성에 대한 pH 효과

인산화된 민태 frame 단백질 가수분해물들의 pH의 변화에 따른 유화성은 탁도를 측정하여 Fig. 3에 나타내었다. 산화 가수분해물들의 pH에 따른 유화성의 변화양상을 살펴보면 주로 산성영역과 중성~알칼리성영역에서 높은 유화성을 나타낸 반면 그들의 등전점 영역으로 추정되는 pH 4~5에서는 비교적 낮게 나타났다. 또한 인산화 가수분해물들의 유화성은 분자량 의존성을 나타내었는데, 분자량이 클수록 높은 유화성을 나타내었다. 이것은 이전에 보고¹⁹⁾한 인산화되지 않은 가수분해물들의 유화성과 분자량과의 관계에 있어서의 경향과 일치하는 결과를 보였다. 그리고 가수분해물을 인산화시킴으로써 유화성의 증가를 볼 수 있었다. 즉 인산화되지 않은 가수분해물 중 가장 유화성이 높은 30

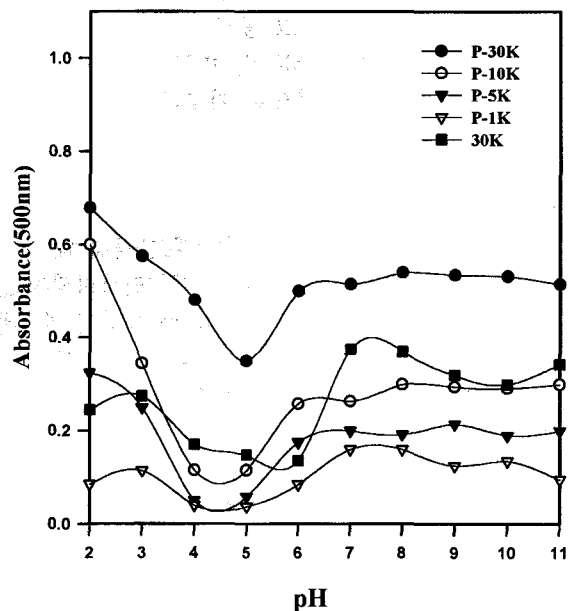


Fig. 3. Emulsifying activity of phosphorylated hydrolysates as the function of pH. Emulsifying activity was evaluated by spectroturbidity method. The mixture of 3 ml of 1% hydrolysate solution and 1 ml of oil was homogenized at 12,000 rpm for 60 sec. Aliquots were immediately pipetted from the emulsion and diluted 50-fold into 0.1% SDS in 0.1 M NaCl, pH 7.0, and then measured absorbance at 500 nm. The emulsifying activity was expressed as absorbance.

K 가수분해물에 비해 인산화 가수분해물 중 P-30K의 유화성은 약 25~50% 정도 증가하였고, 특히 등전점 부근에서는 거의 50% 증가하였다.

유화 안정성에서 인산화 가수분해물들은 유화성과 거의 유사한 경향을 보였다(Fig. 4). 즉, 분자량이 클수록 높은 유화 안정성을 나타내었으며, 특히 P-30K와 P-10K는 저분자량인 P-5K와 P-1K보다 모든 pH 영역에서 큰 차이를 보였다. 또한 인산화되지 않은 가수분해물인 30 K와의 유화 안정성 비교에서도 모든 인산화 가수분해물들이 높은 값을 보여 가수분해물이 인산화됨으로써 유화 안정성이 크게 개선됨을 알 수 있었다.

일반적으로 단백질의 가수분해물에 있어서 유화성과 유화 안정성은 분자량의 크기, 소수성도의 정도 및 분자구조 중에서의 노출 정도에 따라 크게 의존하는 것으로 보고되어 왔다.²⁴⁻²⁶⁾ 그리고 가수분해에 사용되는 효소의 특이성에 따

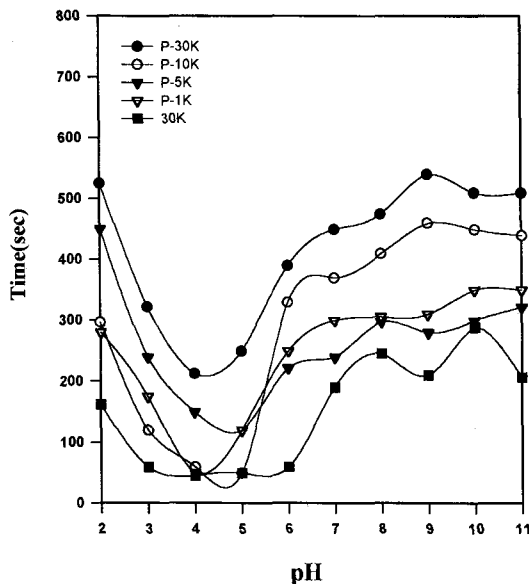


Fig. 4. Emulsion stability of phosphorylated hydrolysates as function of pH. Emulsion stability was evaluated by a half-time (30 sec to 60 min) of absorbance from the stock emulsions prepared for the measurement of emulsifying activity.

라서도 크게 의존하고 있다. 즉, 매우 특이적인 endopeptidase 인 trypsin은 염기성 아미노산인 arginine과 lysine의 카르복실기를 절단함으로써 단백질 구조내부의 소수성기를 외부로 노출시켜 유화성을 향상시키는 반면에 chymotrypsin은 aromatic형 아미노산인 tryptophan, tyrosine 및 phenylalanine의 펩티드 결합을 절단함으로써 분자구조내의 소수성 구조를 붕괴시켜 소수성도가 낮은 아미노산들로 구성된 펩티드를 형성시킴으로써 유화성이 낮은 결과를 보이는 것이라 하였다.²⁷⁻³⁰⁾ 단백질 가수분해물을 인산화시킴으로써 유화성이 증가되었다는 결과는 Sung 등¹¹⁾에 의한 soy protein isolate의 화학적 인산화와 Seguro와 Motoki⁶⁾가 보고한 soybean protein 중 11S acidic subunits의 효소적 인산화에 의해서 보고된 바 있다. 이러한 결과는, 일반적으로 단백질을 인산화시키면 단백질의 전체적인 전하가 인산의 강한 음전하에 의하여 더욱 음성으로 되고, 정전기적 반발력의 증가에 의하여 유화성과 유화 안정성이 증가^{11,12)}되는 것으로 보고되어 있으며, 유화성의 증가는 구조적 형태에서 소수성 영역이 인산화에 의하여 노출되기 때문에, 그리고 정전기적 반발력의 증가는 유화상태를 안정화시키며 인산의 polyanion의 반발력이 유화 안정성에 중요하게 작용하기 때문인 것으로 보고된 바 있다.³¹⁾ 본 연구에서도 민태 frame 단백질 가수분해물이 인산화됨으로써 분자내의 음이온성 전하를 증가시키게 되고 따라서 소수성 아미노산에 대한 친수성 부분의 상호작용에 의해 유화성 및 유화 안정성이 증가되는 결과를 나타내었다.

포말성과 포말 안정성

인산화 민태 frame 가수분해물들의 포말성과 포말 안정성은 Table 1에 나타내었다. 포말성은 분자량이 가장 작은 P-1K 가수분해물을 제외하고는 대부분의 인산화 가수분해물들이 pH의 변화에 관계없이 0.9 이상의 포말성값을 나타내었다. P-1K는 pH에 따른 포말성이 약간 변화가 일어나는 양상을 보였는데, 주로 산성영역보다는 중성~알칼리성 영역에서 포말성이 증가하였다. 그리고 인산화되지 않은 30K 가수분해물도 대부분의 pH 영역에서 인산화 가수분해물과 유사한 포말성을 나타내었다.

Table 1. Whippability and foam stability of phosphorylated hydrolysates as function of pH

| pH | Whippability* ¹ | | | | | Foam stability* ² | | | | |
|----|----------------------------|-------|------|------|------|------------------------------|-------|------|------|------|
| | P-30K | P-10K | P-5K | P-1K | 30K | P-30K | P-10K | P-5K | P-1K | 30K |
| 2 | 0.98 | 1.00 | 0.94 | 0.31 | 0.97 | 0.12 | 0.08 | 0.12 | 0.04 | 0.05 |
| 3 | 1.00 | 0.96 | 0.97 | 0.52 | 0.98 | 0.11 | 0.14 | 0.15 | 0.04 | 0.03 |
| 4 | 1.00 | 0.96 | 0.95 | 0.64 | 0.96 | 0.20 | 0.17 | 0.14 | 0.08 | 0.09 |
| 5 | 1.00 | 0.97 | 0.98 | 0.76 | 0.94 | 0.29 | 0.26 | 0.18 | 0.10 | 0.14 |
| 6 | 1.00 | 0.99 | 0.96 | 0.81 | 0.96 | 0.33 | 0.38 | 0.27 | 0.11 | 0.16 |
| 7 | 1.00 | 1.00 | 0.93 | 0.78 | 0.94 | 0.42 | 0.35 | 0.26 | 0.10 | 0.21 |
| 8 | 1.00 | 1.00 | 0.93 | 0.75 | 0.93 | 0.44 | 0.41 | 0.30 | 0.12 | 0.21 |
| 9 | 1.00 | 1.00 | 0.94 | 0.73 | 0.91 | 0.56 | 0.46 | 0.36 | 0.14 | 0.27 |
| 10 | 1.00 | 1.00 | 0.93 | 0.73 | 0.89 | 0.54 | 0.40 | 0.37 | 0.17 | 0.21 |
| 11 | 1.00 | 1.00 | 0.93 | 0.74 | 0.87 | 0.51 | 0.41 | 0.36 | 0.19 | 0.16 |

*¹Whippability was expressed by the following equation: (Total volume-Drainage volume)/Initial volume.

*²Foam stability was expressed by the following equation: (Total volume-Drainage volume)×100/Initial volume.

포말 안정성은 대부분의 인산화 가수분해물들이 pH와 분자량에 크게 의존하는 것으로 나타났다. 즉, pH가 산성영역에서 중성~알칼리성 영역으로 갈수록 포말 안정성은 크게 향상되었으며, 또한 분자량이 클수록 포말 안정성은 증가하는 양상을 보였다. 인산화되지 않은 30K 가수분해물과의 비교에서 P-30K는 모든 pH 영역에서 포말 안정성이 거의 2배 증가하였다. 따라서 민태 frame 단백질 가수분해물을 인산화시킴으로써 포말성보다는 포말 안정성에서 크게 향상되는 효과를 얻었다.

포말성과 포말 안정성은 점도, 소수성도 및 용해도와 깊은 관계가 있다는 것이 알려져 있다.³⁹⁾ Hung과 Kinsella⁴⁰⁾는 효모 단백질을 인산화시킴으로써 인접하고 있는 거품의 정전기적인 반발력의 증가에 의해 포말 안정성이 증가되었다고 보고하였다. 이러한 결과는 단백질의 인산화는 이웃하는 거품들의 표면 필름 사이의 정전기적인 반발력이 포말 안정성에 중요한 요인으로서 작용한다는 것을 알 수 있다. 민태 frame 단백질 가수분해물들의 인산화는 포말성의 증가보다는 오히려 포말 안정성의 증가에서 크게 기여한 것으로 나타났는데, 이들 인산화 가수분해물들의 포말 안정성 개선은 가수분해물의 분자내 용해도의 증가와 더불어 이웃하는 거품들의 정전기적인 반발력으로 인하여 개선된 결과라 판단된다.

감사의 글

본 연구는 1995년도 해양수산부에서 시행한 수산특정연구개발사업과제 수행에 의한 연구결과이며, 연구비를 지원해 준 해양수산부에 감사드립니다.

참고문헌

1. Alder-Nissen, J. (1986) *Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins*, Elsevier Applied Science Publishers, New York.
2. Fox, P. F. (1991) *Food Enzymology*, Elsevier Applied Science, London, UK.
3. Arai, S. and Fujimaki, M. (1991) Enzymatic modification of proteins with special difference to improving their functional properties. In 'Food Enzymology-2,' Fox, P. F. pp. 83, Elsevier Applied Science, London, UK.
4. Lakkis, J. and Villota, R. (1992) Comparative performance of chemically and enzymatically modified proteins. *Food Chem.* **43**, 93-105.
5. Saito, M., Chikuni, K. and Shimizu, M. (1993) Emulsifying and oil-binding properties of bovine serum albumin and its enzymatic hydrolyzate. *Biosci. Biotech. Biochem.* **57**, 952-956.
6. Seguro, K. and Motoki, M. (1990) Functional properties of enzymatically phosphorylated soybean proteins. *Agric. Biol. Chem.* **53**, 3263-3268.
7. Chen, L. F., Richardson, T. and Amundson, C. H. (1975) Some functional properties of succinylated proteins from fish protein concentrate. *J. Milk Food Technol.* **38**, 89-94.
8. Huang, Y. T. and Kinsella, J. E. (1987) Effects of phosphorylation on emulsifying and foaming properties and digestibility of yeast protein. *J. Food Sci.* **52**, 1684-1688.
9. Damodaran, S. and Kinsella, F. E. (1984) Dissociation of yeast nucleoprotein complex by chemical phosphorylation. *J. Agric. Food Chem.* **32**, 1030-1032.
10. Matheis, G., Penner, M. H., Feeney, R. E. and Whitaker, J. R. (1983) Phosphorylation of casein and lysozyme by phosphorus oxychloride. *J. Agric. Food Chem.* **31**, 379-387.
11. Sung, H. Y., Chen, H. J., Liu, T. Y. and Su, J. D. (1983) Improvement of the functionalities of soy protein isolate through chemical phosphorylation. *J. Food Sci.* **48**, 716-721.
12. Hirotsuka, M., Taniguchi, H., Narita, H. and Kito, M. (1984) Functionality and digestibility of a highly phosphorylated soybean protein. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 93-100.
13. Jeon, Y. J., Lee, B. J., Byun, H. G., Kim, J. B. and Kim, S. K. (1999) Recovery of protein hydrolysate from Hoki(*Johnius belengeri*) frame with tuna pyloric caeca crude enzyme and its functionalities. *Argric. Chem. Biotech.* **42**, 49-57.
14. Mahmoud, M. I., Malone, W. T. and Cordle, C. T. (1992) Enzymatic hydrolysis of casein: Effect of degree of hydrolysis on antigenicity and physical properties. *J. Food Sci.* **57**, 1223-1229.
15. Kim, S. K., Jeon, Y. J., Byun, H. G., Kim, Y. T. and Lee, C. K. (1997) Enzymatic recovery of cod frame proteins with crude proteinase from tuna pyloric caeca. *Fish. Sci.* **63**, 421-427.
16. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
17. Pearce, K. N. and Kinsella, J. E. (1978) Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.* **26**, 716-720.
18. Johnson, E. A. and Brekke, C. R. (1983) Functional properties of acylated pea protein isolates. *J. Food Sci.* **48**, 722-728.
19. Watanabe, M., Shimada, A. and Arai, S. (1981) Enzymatic modification of protein functionality: Implantation of potent amphiphilicity to succinylated proteins by covalent attachment of leucine alkyl esters. *Agric. Biol. Chem.* **45**, 1621-1625.
20. Frokjaer, S. (1994) Use of hydrolysates for protein supplementation. *Food Technol.* **48**(10), 68-71.
21. Cordle, C. T. (1994) Control of food allergies using protein hydrolysates. *Food Technol.* **48**(10), 72-75.
22. Mahmoud, M. I. (1994) Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. *Food Technol.* **48**(10), 89-95.
23. Schmidl, M. K., Taylor, S. L. and Nordlee, J. A. (1994) Use of hydrolysate-based products in special medical diets. *Food Technol.* **48**(10), 77-80.
24. Mahmoud, M. I., Malone, W. T. and Cordle, C. T. (1992) Enzymatic hydrolysis of casein: effect of degree of hydrolysis on antigenicity and physical properties. *J. Food Sci.* **57**, 1223-1229.
25. Chaplin, L. C. and Andrews, A. T. (1989) Functional properties fo caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *J. Agric. Food Chem.* **36**, 883-892.
26. Nakai, S., Ho, L., Helbig, N., Kato, A. and Tung, M. A. (1980) Relationship between hydrophobicity and emulsifying

- properties of some plant proteins. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **13**, 23-27.
27. Turgeon, S. L. and Gauthier, S. F. (1990) Whey peptide fractions obtained with a two-step ultrafiltration process: production and characterization. *J. Food Sci.* **55**, 106-110.
 28. Turgeon, S. L., Gauthier, S. F. and Paquin, P. (1991) Interfacial and emulsifying properties of whey peptide fractions obtained with a two-step ultrafiltration process. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 673-676.
 29. Turgeon, S. L., Gauthier, S. F. and Paquin, P. (1992) Emulsifying properties of whey peptide fractions as a function of pH and ionic strength. *J. Food Sci.* **57**, 601-604.
 30. Turgeon, S. L., Gauthier, S. F., Molle, D. and Leonil, J. (1992) Interfacial properties of tryptic peptides of β -lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 669-675.
 31. Kato, A., Miyazaki, S., Kawamoto, A. and Kobayashi, K. (1987) Effect of phosphate residues on the excellent emulsifying properties of phosphoglycoprotein phosvitin. *Agric. Biol. Chem.* **51**, 2989-2994.
 32. Townsend, A.-A. and Nakai, S. (1983) Relationships between hydrophobicity and foaming characteristics of food proteins. *J. Food Sci.* **48**, 588-594.

Improvement of the Functionalities by Phosphorylation of Hoki(*Johnius belengeri*) Frame Protein Hydrolysates

You-Jin Jeon, Byoung-Jo Lee¹, Pyo-Jam Park, Hee-Guk Byun and Se-Kwon Kim*(*Dept. of Chemistry, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea; ¹Dongwon Industry Co. LTD., Seoul 137-130, Korea*)

Abstract : To enhance functional properties of 4 different hoki frame protein hydrolysates (30K, 10K, 5K and 1K hydrolysate) fractionated through a series of 30, 10, 5 and 1 kDa molecular weight cut-off membranes in order to decrease pore size, all hydrolysates were phosphorylated with sodium trimetaphosphate and altered phosphorylated-30K, 10K, 5K and 1K (P-30K, P-10K, P-5K and P-1K), respectively. The covalent attachment of anionic phosphate groups to polypeptide chains improved the functional properties, such as solubility, emulsifying properties and foaming properties, of hoki frame protein hydrolysates. Especially, P-30K hydrolysate with the highest molecular weight fraction possessed the most excellent functional properties among 4 different phosphorylated hydrolysates.

Key words : Hoki frame, hydrolysate, Phosphorylation, Functionality

* Corresponding author