

프락토, 이소말토 및 갈락토 올리고당들의 쇠고기단백질 냉동변성방지효과 연구

- 연구노트 -

이경숙 · 이현규[†] · 양차범 · 박관화*

한양대학교 식품영양학과

*서울대학교 식품공학부 & 농업생물신소재센터

Cryoprotectant Effects of Fructo-, Isomalto-, and Galacto- Oligosaccharides on Beef Protein

Kyoung Sook Lee, Hyeon Gyu Lee[†], Cha-Bum Yang and Kwan Hwa Park*

Dept. of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

*Dept. of Food Science and Technology & Research Center for New Bio-Materials in Agriculture,
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

Abstract

A study was conducted to investigate cryoprotectant effect of commercially produced oligosaccharides (IMO: isomalto-oligosaccharides, FO: fructo-oligosaccharides and GO: galacto-oligosaccharides) on beef protein and to compare their effectiveness to sucrose or a mixture of sucrose and sorbitol on freezing. The optimal addition level of cryoprotectants was determined by measuring Ca^{2+} -ATPase activity of sample treated with different concentration (0 to 12%) after freeze-thaw cycle. Since the stabilization effect was not dramatically increased above 8% sugar concentrations, the 8% was determined as an usage level. During frozen storage (at $-18^{\circ}C$ for 12 week), commercially produced oligosaccharides showed lower cryoprotection ability than sucrose but higher than sucrose+sorbitol as measured by protein solubilities and Ca^{2+} -ATPase activities.

Key words: isomalto-oligosaccharides, fructo-oligosaccharides, galacto-oligosaccharides, beef protein, cryoprotectant

서 론

육류의 섭취가 증가함에 따라 육 가공품의 소비도 함께 증가하는 추세이다. 그러나 육류의 가공 및 저장 시 가장 문제가 되는 요소로 단백질의 변성을 들 수 있다. 단백질의 저장 방법 중 냉동 저장이 가장 안전하며 일반적으로 이용되는 방법이나 냉동에 의해서도 단백질의 변성이 발생한다. Miller 등(1)은 신선육에 비하여 냉동육에서 50%의 단백질을 추출하였으며, 젤 형성능, 보습력 및 단백질 용해도가 크게 변화되었고 마쇄한 육에서는 변성 정도가 더욱 크다고 보고하였다. 육 제품의 저장 중에는 영양소의 감소, 지방의 산패, 단백질의 변성 등 여러 가지의 품질저하 원인이 있으며 냉동 시에는 수분의 결정화에 의한 품질저하가 크며 이 수분 결정의 크기와 위치 등에 따라 단백질 변성이 크게 좌우된다고 한다(2). 따라서 수분 결정의 크기와 위치 등에 의한 단백질 변성을 줄이고자 첨가제의 사용이 보편화되어 왔다. 냉동변성 방지제로는 아미노산이나 glucose, sucrose, lactose, sorbitol과 같은 당당류, 이당류 및 저분자량의 polyols 등이 일반적이며

(3-5), 그밖에 polydextrose(6)와 maltodextrin(7)과 같은 고분자물질도 냉동변성 방지효과가 있는 것으로 보고되었다. 또한 Tamoto 등(8)은 어육의 냉동 저장 시 polyphosphate를 첨가하여 변성 방지효과를 확인하였으며 Ohnishi 등(9)은 잉어의 actomyosin 변성방지에 sodium glutamate가 효과적임을 보고한 바 있다. 적색육에 대한 연구로는 Park 등(10,11)이 냉동변성 방지제를 이용하여 단백질의 물리-화학적 변화를 최소화하였으며, Yang 등(12)은 돼지고기에 대하여 일반적으로 적용되는 냉동변성 방지제를 이용한 보고가 있다. 이와 같이 첨가제는 적색육 및 가금육 보다는 주로 어육을 이용한 고기풀 제조(surimi)에 많이 응용되어 왔다. 일반적으로 surimi 산업에 사용되는 냉동변성 방지제는 sucrose 8%나 sucrose와 sorbitol의 1:1 혼합물(8%)이 쓰여지고 있다(6). 이들 첨가제는 경제적인 면과 gel의 형성 시 품질 기준이 되는 갈색화반응의 발생률이 낮기 때문에 사용되었으나 sucrose의 단맛, 높은 열량과 소비자들의 거부감 등에 따라 이들을 대체할 새로운 첨가제의 개발이 요구되어지고 있다. 최근 당류(sugars)의 대체물질로 탄수화물을 소재로 만들어진 올리고당들의

[†]Corresponding author, E-mail: hyeonlee@hanyang.ac.kr
Phone: 82-2-2290-1202, Fax: 82-2-2281-8285

개발이 활발하다. 이러한 올리고당은 체내에서의 여러 가지 이점과 sucrose와는 달리 낮은 당도 및 낮은 칼로리로 인해 제과, 제빵 및 식품 산업 여러 분야에서 이용되고 있다. 최근 Auh 등(13,14)은 시판올리고당들(IMO: isomalto-oligosaccharides, FO: fructo-oligosaccharides or GO: galacto-oligosaccharides)을 어육 단백질에 첨가하여 냉동변성 방지효과를 확인하였으며, 고순도 분지올리고당을 생산하여 어육 단백질의 냉동변성 방지효과를 확인한 바 있다. 따라서 본 실험에서는 이미 어육에서 연구된 바 있는 시판올리고당들(IMO, FO or GO)을 쇠고기 단백질에 혼합 후 냉동-해동 및 냉동저장하여 sucrose 혹은 sucrose+sorbitol과 효과를 비교하여 쇠고기(적색육)에서의 이용가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

본 실험에서 사용된 올리고당(IMO: isomaltooligosaccharides, FO: fructooligo-saccharides 및 GO: galactooligo-saccharides)은 삼양 제넥스(Samyang Genex, Korea)로부터 공급받았다. 쇠고기는 한국 축협 중앙회에서 기름기가 적은 등심부위를 구입하여 바로 사용하였다. Sucrose, sorbitol 및 시약들은 실험용 시약 등급(grade)으로 구입된 것을 사용하였다.

액토마이오신의 추출

신선한 쇠고기육 일정량을 10배의 차가운 0.6 M KCl(pH 7.0) 용액에 넣어 tissue 마쇄기로 추출하였다. 마쇄 시 변성을 억제하기 위하여 비이커 밑에 얼음상자를 놓고 실행하였다. 마쇄는 총 2분 동안(20초 마쇄 후 20초 방치 반복) 수행 후 원심분리(5,000×g, 4°C, 30분간)하였다. 원심분리 후 얻은 침전물에 3배의 차가운 증류수를 넣어 희석하여 다시 원심분리 하였다. 다시 얻은 침전물에 같은 부피의 차가운 1.2 M KCl(pH 7.0)을 넣어 천천히 녹인 후 원심분리하여 상등액을 액토마이오신(AM: actomyosin)으로 하였다(15,16).

단백질 용해도 측정

단백질의 용해도는 Biorad DC protein assay kit(Biorad, USA)를 사용하여 측정하였으며 bovine serum albumin(Sigma Co., USA)을 기준으로 하였다.

Ca²⁺-ATPase 효소 역가 측정

Ca²⁺-ATPase 효소 역가는 Arai의 방법(16)을 사용하여 측정하였다. 이 방법은 효소의 반응으로 생성된 무기인산의 양으로 효소의 역가를 알아내는 것으로 방법은 다음과 같다. 1 mL의 액토마이오신 용액(1.5~3 mg/mL, 0.6 M KCl, pH 7.0)에 0.5 M Tris-maleate buffer(pH 7.0)를 0.5 mL를 넣은 후 0.1 M CaCl₂ 0.5 mL, 증류수 7.5 mL 그리고 20 mM ATP 용액(pH 7.0) 0.5 mL를 가한 후, 25°C에서 5분간 반응시킨다. 반응중지를 위하여 차가운 15% trichloroacetic acid 15 mL를

가하였다. 반응 중지시킨 액 1 mL에 증류수 2.5 mL, ammonium molybdate 용액 1 mL과 Elon reagent 0.5 mL를 차례로 가한 후, 25°C에서 45분간 반응시키고 640 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 냉동하기 전의 흡광도를 100%의 기준으로 하여 비율로 나타내었다.

냉동-해동에 의한 액토마이오신의 변성

냉동-해동 후 액토마이오신 용액의 변성 정도를 Ca²⁺-ATPase의 역가로 측정하였다(15,17). 액토마이오신 용액(2.5 mg/mL, pH 7.0)에 냉동변성 방지제를 농도별로 처리한 후, 액체 질소(-196°C)에 넣어서 3분간 얼리고, -5°C bath에 60분간 방치한 후 25°C 수조에서 5분간 해동시켰다 냉동-해동과정은 총 7회 반복하였다.

냉동저장 중 액토마이오신의 변성

쇠고기 액토마이오신 용액에 냉동변성 방지제로 IMO, FO, GO, sucrose 및 sucrose+sorbitol를 각각 첨가하여 -18°C에 저장(12주)하였다. 기간별로 Ca²⁺-ATPase의 역가와 단백질의 용해도를 측정하여 쇠고기 액토마이오신의 변성정도를 알아봄으로써 올리고당의 단백질 냉동변성 방지제의 효과를 확인하였다.

결과처리

본 실험의 결과는 모두 3회 이상 측정된 값의 평균으로 Excel program을 이용하였으며, 그래프는 Jandel Scientific의 Sigmaplot for Windows, version 3.0(1993, Jandel Corporation, CA, USA)을 이용하여 작성하였다.

결과 및 고찰

냉동-해동 안정성에 대한 영향

액토마이오신의 냉동변성 방지제로의 최적 농도를 알아보기 위하여, IMO, FO, GO 및 sucrose를 농도별(0~12%)로 처리한 액토마이오신 용액을 총 7회 냉동-해동 과정 반복 후 Ca²⁺-ATPase의 역가를 측정하여 변성정도를 알아보았다. 냉동-해동을 3회 반복한 후 Ca²⁺-ATPase의 역가는 일관된 변화를 보이지 않았으며 7회 반복 후부터 뚜렷한 변화를 볼 수 있었다(Table 1) 이는 기존에 행해졌던 surimi 연구에서

Table 1. Effect of sugar concentration on the Ca²⁺-ATPase activity of beef actomyosin after 7 freeze-thaw cycle

Conc. (%)	Sucrose	IMO ¹⁾	FO ²⁾	GO ³⁾
0	51.87±12.47	51.87±12.47	51.87±12.47	51.87±12.47
4	83.52±11.25	90.04± 8.53	94.31± 5.63	90.35± 5.84
6	93.77± 1.68	97.16± 3.22	97.09± 1.21	94.09± 2.70
8	96.32± 2.60	97.52± 0.37	91.41± 9.14	97.96± 2.23
12	92.48± 0.55	97.39± 1.49	85.87± 7.83	98.63± 0.47

¹⁾IMO: isomalto-oligosaccharides.

²⁾FO: fructo-oligosaccharides

³⁾GO: galacto-oligosaccharides.

1. 2회의 냉동-해동에 비교하면 쇠고기육 단백질의 안정성이 어육보다 크다는 것을 알 수 있다(13,14). 어육과 쇠고기육을 비교한 실험에서도 어육이 쇠고기육에 비해 물성 및 화학적 성질이 pH와 저장온도 등에 민감하며, 등급의 변화도 큰 것으로 보고되었다(16). 냉동-해동을 하기 전의 신선한 쇠고기 AM을 100%로 하였을 때 무첨가군(0%)은 7회 냉동-해동을 한 후의 역가는 51.87%로 많은 역가 감소를 나타냈다. Sucrose를 첨가한 쇠고기 AM은 sucrose의 농도가 높아질수록 높은 역가를 나타내었으나 12% 당농도에서는 8% 당농도에 비해 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 어육을 이용한 Aub 등(13)의 연구에서는 1회 냉동-해동한 결과 12%에서 더 이상 역가가 증가하지 않음을 보였으며 2회 냉동-해동 결과 sucrose의 농도가 높아질수록 높은 역가가 나타나 다소 상이하나 이는 적색육과 어육의 시료 차이로 인한 것으로 사료된다. IMO를 첨가한 AM은 6%부터 계속적으로 높은 역가를 나타내었고 더 이상 역가가 증가하지 않았다. GO의 경우는 당농도가 높아질수록 역가도 높게 나타났으나 8%와 12%는 거의 비슷하였다. 그러나 FO는 6% 당농도에서 제일 역가가 높았다 하지만 전체적으로 약 8%의 당농도에서 안정된 경향을 나타내었으며 이상의 농도에서는 역가의 증가가 크게 보이지 않아 8%를 적정의 당농도로 추정하였다. 이는 기존의 surimi 산업에서 경제적 및 감미도의 문제로 인해 적정수준으로 상용되는 냉동변성 방지제의 농도와 같은 수준이었다. 따라서 이후의 저장실험에서는 8% 농도를 설정하여 실험을 수행하였다.

냉동저장 중 변성에 대한 영향

단백질 냉동변성 방지효과를 측정하는 방법은 냉동과 해동에 따른 온도변화의 변성방지와 냉동저장에 따른 시간의 변성방지로 두 가지는 각각 다르게 작용될 수 있다. 냉동저장에 따른 변성방지 효과를 측정하기 위해 쇠고기 액토마이오신 용액에 sucrose, sucrose+sorbitol, IMO, FO 또는 GO를 각각 8% 혼합 처리하여 냉동온도(-18°C)에서 12주 저장 중 단백질의 용해도와 Ca²⁺-ATPase의 역가를 측정하였다. 냉동저장 시 단백질의 변성과 물성의 변화가 있음은 이미 오래 전부터 보고되어 왔다(17-24). 단백질의 용해도는 단백질 변성의 일차적인 평가 기준으로서, 공유결합이나 비공유결합이 일어나 단백질이 변성된 것으로 용해도의 저하가 일어난다. 냉동저장 중에는 공유결합뿐 아니라 비공유결합이 함께 일어나기 때문에 용해도의 저하가 크게 발생된다고 한다(25,26).

단백질 용해도(Fig. 1A)의 경우, 무첨가군은 저장 1주에 약 50%를 나타내며 저장기간이 길어질수록 계속적으로 완만한 감소를 보여 12주에는 약 44%까지 떨어졌다. Sucrose는 저장 4주에 72% 정도의 단백질 용해도를 보이다가 거의 일정하게 유지가 되었고 마지막 12주에는 약간 감소하여 64%의 용해도를 보였다. Sucrose+sorbitol은 저장 4주에 약 55%의 단백질 용해도를 보여 sucrose보다 낮은 변성 방지효과를 나타냈으며 12주에 61%의 용해도를 나타냈다. IMO, FO 및

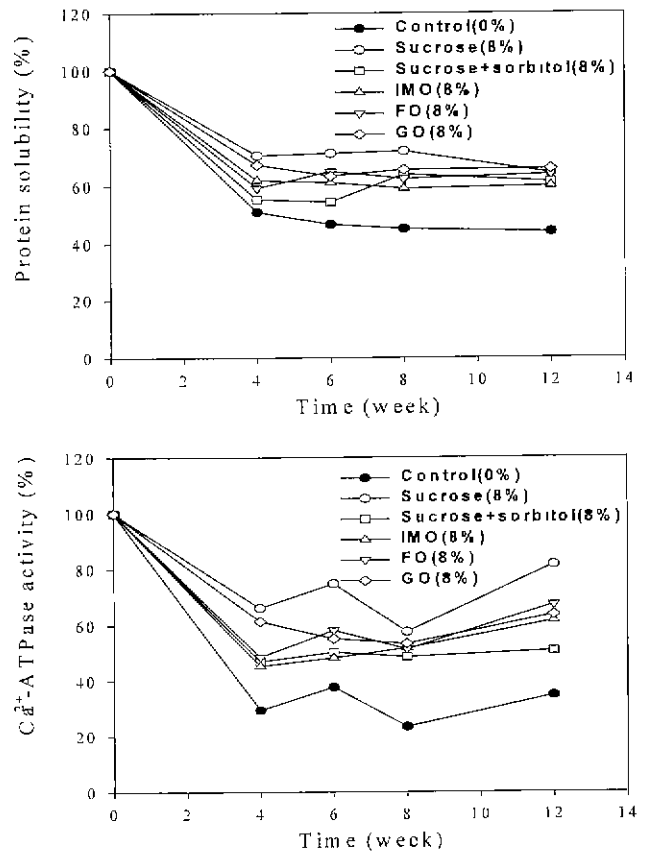


Fig. 1. Changes of protein solubility (A) and Ca²⁺-ATPase activity (B) in beef actomyosin during frozen storage at -18°C.

GO는 저장 4주에는 sucrose보다 낮은 용해도를 보였으나 저장 12주에는 FO와 GO가 64%, 66%의 단백질 용해도를 나타내 sucrose보다 높거나 유사한 수준이었다. 그러나 모든 올리고당이 sucrose+sorbitol보다 높고 sucrose와 유사한 수준의 용해도를 보여 장기간 저장 시 sucrose와 유사한 변성 방지 효과를 나타낼 것으로 기대되었다.

Ca²⁺-ATPase 역가(Fig. 1B)는 무첨가군의 경우 저장 1주에 약 29%까지 감소하였으며 6주에는 37%로 다소 증가하는 경향을 보였으며 8주 후 다시 23%로 감소하였다. 그러나 12주에는 34%까지 다시 증가하였다. 이러한 경향은 sucrose, sucrose+sorbitol 및 FO에서 유사하게 나타났다. Sucrose는 저장 4주에 약 66%의 역가를 나타냈으며 6주에 75% 정도의 역가를 보이다가 8주에 약 58%로 낮아졌으나 12주에는 약 80%의 높은 역가를 보였다. IMO는 4주에 약 45%의 낮은 역가를 보였으나 6주에 48%, 8주에 약 50%까지 증가하면서 12주에는 60%까지 역가가 증가하였다. FO는 저장 4주에 50% 정도의 역가를 보이다가 6주에 60%, 8주에는 다소 감소하였으나 12주에는 약 70%의 역가를 나타냈다. GO는 저장 4주에 62%의 역가를 보이며 저장 기간이 길어짐에 따라 서서히 감소하였으나, 12주에는 65%의 역가를 나타냈다. IMO, FO 및 GO는 대체적으로 sucrose보다 낮은 단백질 변성 방지효과

를 보였으나 sucrose + sorbitol 보다는 높은 효과를 나타내었고 저장기간이 길어짐에 따라 GO와 FO가 높은 변성방지 효과를 나타내었다

이상의 실험결과로 시판 올리고당들의 최고기 단백질에서 추출한 액토마이오신 용액에서 대체적으로 모두 높은 냉동 변성 방지효과를 확인하였으며 산업화 가능성을 예측할 수 있었다. 추후 산업화를 위해서는 실제 최고기를 이용한 냉동 변성방지 연구가 필요하다.

요 약

국내에서 생산되는 시판 올리고당들(IMO, FO 또는 GO)이 최고기 단백질에 냉동 및 저장시 변성 방지효과에 대한 실험 결과를 sucrose 및 sorbitol과 비교해보았다. 신선한 최고기 육에서 액토마이오신을 추출하여 시판 올리고당들 및 sucrose를 각각 농도별(0~12%)로 혼합 후 냉동-해동을 반복하여 약 8%가 적정 사용농도임을 확인하였다 냉동저장 중 액토마이오신의 변성 방지효과를 알아본 결과, 대부분의 시판 올리고당들은 무첨가군보다는 높은 변성 방지효과를 보였으며, 올리고당들 중에서는 GO와 FO가 단백질 변성 방지효과가 큰 것으로 나타났다. 기존에 밝혀진 냉동변성 방지효과가 높은 당들과의 비교에서는 sucrose+sorbitol보다 높은 변성 방지효과를 보였으며 sucrose보다 다소 낮거나 유사한 효과를 보였다.

감사의 글

이 논문은 1999년도 한양대학교 교내연구비 지원으로 연구되었기에 감사를 드립니다

문 헌

- Miller, A.J., Ackerman, S.A. and Palumbo, S.A. Effects of frozen storage on functionality of meat for processing. *J. Food Sci.*, **45**, 1466-1471 (1980)
- Niki, H., Doi, T., Igarashi, S. and Kanauchi, T.: Method for the production of fish meat powder retaining function properties of fresh fish meat. *Japan Pat*, No. 914555 (1977)
- Noguchi, S. The control of denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. *Ph.D Thesis*, Sophia University, Tokyo (1974)
- Arakawa, T. and Timasheff, S.N.: Stabilization of protein structure by sugars. *Biochemistry*, **21**, 6536-6544 (1982)
- Arakawa, T., Carpenter, J.F., Kita, Y.A. and Crowe, J.H.: Basis for toxicity of certain cryoprotectants. A hypothesis. *Cryobiology*, **27**, 401-415 (1990)
- Park, J.W., Lanier, T.C. and Green, D.P.: Cryoprotective effects of sugar, polyols and/or phosphate on *Alaska pollock* surimi. *J. Food Sci.*, **53**, 1-3 (1988)
- Sych, J., Lacroix, C., Adambounou, L.T. and Castaigne, F.: Cryoprotective effect of some materials on cold surimi proteins during frozen storage *J Food Sci.* **55**, 1222-1227, 1263 (1990)
- Kida, K. and Tamoto, K.: Studies on the muscle of aquatic animals IV. The relation between pH and organic acids of nagazuka muscle. *Hokkaido Central Fisheries. Expt. strn.*, **11**, 41-51 (1969)
- Ohnishi, M., Tsuchiya, T. and Matsumoto, J.J.: Studies on the denaturation of fish muscle proteins III. Electron microscopic study of the cryoprotective effect of amino acids on freeze denaturation of carp actomyosin. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **44**, 755-762 (1978)
- Park, J.W., Lanier, T.C., Swaisgood, H.E., Hamann, D.D. and Keeton, J.T.: Effects of cryoprotectants in minimizing physicochemical changes of bovine natural actomyosin during frozen storage. *J. Food Biochem.*, **11**, 143-146 (1987)
- Park, S., Brewer, M.S., McKeith, F.K., Bechtel, P.J. and Novakofski, J.: Salt, cryoprotectants and preheating temperature effects on surimi-like material from beef or pork *J. of Food Sci.*, **61**, 790-795 (1996)
- Yang, S.Y., Kim, Y.H. and Lee, M.H.: The effect of cryoprotectants on the quality change of pork and beef during frozen storage. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**, 364-369 (1989)
- Auh, J.H., Lee, K.S., Lee, H.G. and Park, K.H.: Cryoprotectancy of branched oligosaccharides in fish actomyosin. *Food Sci. Biotechnol.*, **8**, 103-107 (1999)
- Auh, J.H., Lee, H.G., Kim, J.W., Kim, J.C., Yoon, H.S. and Park, K.H.: Highly concentrated branched oligosaccharides as cryoprotectant for surimi. *J Food Sci.*, **64**, 418-422 (1999)
- Macdonald, G.A. and Lanier, T.C.: Actomyosin stabilization to freeze-thaw and heat denaturation by lactate salts *J. Food Sci.*, **59**, 101-105 (1994)
- Arai, K.: Evaluation of fish quality from muscle protein studies In *Sakanano Hunshitsu (Quality of fish)*. Japanese Society of Scientific Fisheries Education, Kosedha, Tokyo, Japan, p.55-80 (1974)
- Jung, I.C., Kim, M.S. and Kang, S.J.: Changes in actomyosin ATPase activities extracted from beef meat during postmortem storage *Korean J. Food & Nutr.*, **10**, 401-406 (1997)
- Acton, J.C., Ziegler, G.R. and Burge, D.L. Jr.: Functionality of muscle constituents in the processing of comminuted meat products *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **18**, 99-121 (1983)
- Simpson, R., Kolbe, E., Macdonald, G., Lanier, T.C. and Morrissey, M.T.: Surimi production from partially processed and frozen pacific whiting (*Merluccius productus*). *J. Food Sci.*, **59**, 272-276 (1994)
- Matsumoto, J.J.: Denaturation of muscle proteins during frozen storage In *Proteins at low temperature*, Fennema, O. (ed.), ACS Symp. Series 180, American Chemical Society, Washington, D.C. p.205-224 (1979)
- Suzuki, T.: Fish and krill protein. In *Processing Technology*, Applied Sci. Pub. London (1981)
- Wang, B., Xiong, Y.L. and Srinivasan, S.: Chemical stability of antioxidant-washed beef heat surimi during frozen storage. *J. Food Sci.*, **62**, 939-945 (1997)
- Uijtlenboogaart, T.G., Triszka, T.L. and Schreurs, F.J.G.: Cryoprotectant effects during short time frozen storage of chicken myofibrillar protein isolates. *J Food Sci.*, **58**, 274-277 (1993)
- Matsumoto, J.J.: *Chemical deterioration of proteins*. Whitaker, J.R. and Fujimai, M. (eds), ACS symposium series 123, American Chemical Society, Washington, DC, p.95 (1980)
- Akahane, T.: Freeze denaturation of fish muscle proteins *Ph.D Thesis*, Sophia University, Tokyo, Japan (1982)
- Matsumoto, J.J.: Chemical deterioration of muscle proteins during frozen storage. In *Chemical deterioration of proteins*, Whitaker, J.R. and Fujimoto, M. (eds.), ACS Symposium Series 123, Amer. Chem. Soc., Washington, D.C. (1980)