

기능성 어육단백질의 젤화 특성과 산업적 응용-1. 가열변성 중 화학결합에 미치는 pH의 영향

정춘희¹ · 김진수¹ · 진상근² · 김일석² · 정규진³ · 최영준^{1*}

¹경상대학교 해양생물이용학부/해양산업연구소

²국립진주산업대학교 동물소재공학과

³남도대학 식품공학과

Gelation Properties and Industrial Application of Functional Protein from Fish Muscle-1. Effect of pH on Chemical Bonds during Thermal Denaturation

Chun Hee Jung¹, Jin-Soo Kim¹, Sang-Keun Jin², Il Suk Kim², Kyoo-Jin Jung³ and Yeung Joon Choi^{1*}

¹Division of Marine Bioscience and Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

²Dept. of Animal Resources Technology, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea

³Dept. of Marine Food Industry, Provincial College of Namdo, Jeonnam 529-851, Korea

Abstract

The effect of pH on surface hydrophobicity, sulfhydryl group, infrared spectrum, SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) pattern and enthalpy was investigated in recovered protein from mackerel and frozen blackspotted croaker by alkaline processing. Hydrophobic residue in myofibrillar protein exposed to the surface of protein, and hydrophobic interaction were the highest around 60°C. The surface hydrophobicity was different between myofibrillar protein and myofibrillar protein including sarcoplasmic protein (recovered protein). The peak at 1636 cm⁻¹ was increased with pH, and the recovered protein was unfolded in alkali pH. Difference of surface and total sulfhydryl group at pH 7.0 and 10 was comparative high, and decrease of surface sulfhydryl group indicated formation of S-S bonds. Mackerel and frozen blackspotted croaker in alkaline pH showed bands of polymerized myosin heavy chain on SDS-PAGE pattern. The transition temperatures of recovered protein were 33.1, 44.3 and 65.5°C. Gelation of recovered protein from alkali processing was estimated by increase of β -sheet structure by pH treatment, S-S bonds by oxidation of surface sulfhydryl group in heating, polymerization of myosin heavy chain in order.

Key words: recovered fish protein, alkaline processing, thermal denaturation

서 론

어육 단백질은 중요한 식품 자원이며 보수력, 지방 결합능, 젤화능, 유화 및 거품 특성과 같은 식품학적 기능성 때문에 식품 제조 시에 주요 구성분으로 사용할 수 있다(1). 그러나 일시 다확성 어류는 크기가 작고 다량의 지질과 비근육 단백질을 함유하고 있으며, 원양에서 어획한 백색육 어류는 장거리 수송을 위하여 냉동하기 때문에, 일시 다확성 어류의 작은 어체는 공정의 자동화에 걸림돌이 되고, 다량의 혈합육과 비근육 단백질 및 백색육 어류의 냉동변성은 어육 단백질의 식품학적 기능성을 저하시킨다(2-4). 최근 이 같은 문제를 해결하기 위해 저 이온 강도의 용액을 사용하거나(5,6), 저 이온 강도의 산과 알칼리 용액에서 단백질을 용해시킨 후 등전점 침전시켜 회수하는 방법(7-10)이 제시되었다. pH

2.5와 10.5 부근에서 어육 단백질을 용해시키고, pH 5.0 부근에서 침전시켜 단백질을 회수하는 방법은 수리미 제조과정에서 수세로 인해 소실되는 근육단백질의 약 25~30%에 해당하는 근형질 단백질을 회수할 수 있기 때문에 수율을 획기적으로 증대시킬 뿐만 아니라 수세수로 인한 수질 오염을 방지할 수 있다(9). 그러나 이 같은 극단적인 pH 처리를 통해 회수한 어육 단백질은 제조 과정에서 pH 변성이 예상되며 가열 젤을 형성할 때 수세법으로 근원섬유 단백질을 농축한 수리미와는 다른 변성 기구를 보일 것으로 예상된다. 한편 수리미는 탄력있는 가열 젤을 형성시킬 목적으로 근원섬유 단백질의 용해와 망상구조 형성을 위해 1.5~2.0%의 염을 첨가하지만(11), pH 처리를 통해 회수한 어육 단백질에 대한 염의 첨가는 오히려 가열 젤의 파괴강도와 변형 값을 감소시키는 것으로 나타나(10) 가열 젤 형성 기구에 차이가

*Corresponding author. E-mail: yjchoi@nongae.gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-640-3115, Fax: 82-55-640-3111

있음을 보여주고 있다. 그러나 pH 처리를 통해 회수한 단백질의 가열 변성 및 젤 형성 기구에 관한 연구는 거의 이루어져 있지 않다.

본 연구에서는 알칼리 용액으로 처리하여 회수한 어육 단백질의 가열 중 ANS 소수성의 변화, SH기의 변화, 전기영동상의 변화, IR 스펙트럼의 변화 및 엔탈피의 변화를 측정하여 pH 전이로 회수한 어육 단백질의 가열 변성기구와 식염 무첨가 가열 젤 형성 기구를 구명하고자 시도하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 신선한 갈고등어(*Decapterus muroadsi*; 체장, 21.2 ± 0.5 cm, 체중, 137 ± 10 g)는 경남 통영시 소재의 어시장에서 구입하였으며, 원양산 냉동 꼬마민어(*Protonibea diacanthus*; 체장, 21.2 ± 1.6 cm, 체중 146 ± 12 g)는 경남 통영시 소재 할인 매장에서 구입하였다. 냉동 꼬마 민어는 실온에서 해동한 후, 선어는 그대로 두부와 내장을 제거하고 육만을 절취하여 chopper(M-12S, Hankok Fujee Industries Co., Suwon, Korea)로 2회 마쇄하였다. 마쇄한 어육 중량에 대하여 냉동변성방지제로서 10%의 sorbitol을 첨가한 후 동결저장하면서 단백질 추출 시료로 사용하였다.

근원섬유 및 회수 단백질의 제조

10%의 sorbitol을 함유한 마쇄육에 6배량의 찬 증류수를 첨가하여 8,000 rpm에서 1분 동안 호모게나이저(IKA-25 basic homogenizer, IKA Works, Wilmington, NC, USA)로 균질화하고 근기질 단백질을 제거하기 위해 2겹의 거즈를 사용하여 2회 여과하였다. 여과액은 근형질 단백질을 제거하기 위해 원심분리(SUPRA 22K, Hanil Science Industrial, Dajeon, Korea; $10,000 \times g$, 25분)하였다. 원심분리하여 얻은 침전물에 6배량의 찬 증류수를 가하여 8000 rpm에서 1분 동안 호모게나이저하였다. 균질물에 1 N NaOH를 첨가하여 pH 7, 8, 9, 10, 10.5 및 11로 조절하여 어육 단백질을 용해시킨 후 원심분리하고($10,000 \times g$, 25분), 원심분리 후 가용성 단백질과 수화 단백질을 포함하는 중간층을 회수하여 근원섬유 단백질로 사용하였다. 근형질 단백질을 포함하는 회수 단백질은 다음과 같이 조제하였다. 즉 10% sorbitol을 포함하는 마쇄육에 6배량의 찬 증류수를 첨가하여 8000 rpm에서 1분 동안 호모게나이저하였다. 균질물에 1 N NaOH를 첨가하여 pH 7, 8, 9, 10, 10.5 및 11로 조절하고 원심분리($10,000 \times g$, 25분)하여 중간층만을 취하여 회수 단백질로 사용하였다.

ANS 소수성 측정

ANS 소수성은 Roura 등의 방법(12)에 따라 측정하였다. 동일한 pH 용액으로 0.125, 0.25, 0.5 및 1 mg/mL가 되도록 4단계로 희석한 어육 단백질 용액 3 mL를 가열 순환수조(Model PCC-7000, EYELA, Tokyo, Japan)에서 분당 1°C

의 속도로 25°C에서 80°C까지 가열하면서 5°C 간격으로 시료를 꺼내 즉시 얼음물에 냉각시키고 20°C에서 5분 동안 단백질을 안정시킨 다음 10 μ L의 1-anilino-8-naphthalene sulfonate(ANS) 용액을 첨가하여 excitation 파장 374 nm, emission 파장 485 nm에서 형광광도계(LS-50B, Perkin Elmer, USA)로 형광의 강도를 측정하였다. 표면 소수성의 크기는 단계별로 희석한 단백질 용액의 농도에 대한 형광강도의 크기를 선형회귀로 분석하고 선형 방정식의 기울기로 표시하였다.

FT-IR 스펙트럼의 측정

KBr 분말을 균일하게 혼합하여 성형기에서 3~5분 동안 press로 압착하여 투명한 disk를 성형하였다. 성형한 KBr disk를 cell에 넣고, pH 변성시킨 단백질 용액과 같은 pH 용액을 사용하여 단백질의 농도를 5 mg/mL로 조절한 각 시료 용액 10 μ L를 loading한 후 500~4000 cm^{-1} 의 범위에서 FT-IR(IFS 66, Bruker, Germany)로 흡수 스펙트럼을 분석하였다.

SH기의 측정

반응성 SH기와 total SH기는 Ellman의 방법(13)을 다소 변형하여 측정하였다. 단백질 용액(1 mg/mL)을 가열 순환수조(Model PCC-7000, EYELA, Tokyo, Japan)에서 분당 1°C의 속도로 25°C에서 80°C까지 가열하면서 5°C 간격으로 시료를 취하여 즉시 얼음물에서 냉각시키고 시료 용액 250 μ L에 total SH기의 측정인 경우는 8 M urea, 2% SDS, 10 mM EDTA를 포함하는 0.1 M sodium phosphate(pH 8.0) 용액 2.5 mL를 첨가하였고, 반응성 SH기의 측정인 경우는 시료 용액 250 μ L에 2% SDS와 10 mM EDTA를 포함하는 0.1 M sodium phosphate(pH 8.0) 용액 2.5 mL를 첨가하였다. 각각의 반응 용액에 50 μ L의 10 mM 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)용액을 첨가하여 total SH기는 40°C에서 25분 동안 항온한 후, 반응성 SH기는 5°C에서 25분 저장한 후 412 nm에서 각각의 흡광도를 분광광도계(UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 측정하였다.

SDS-polyacrylamide 전기영동(SDS-PAGE)

동일한 pH 용액을 사용하여 각 시료 단백질의 농도를 1.25 mg/mL로 조절한 후, 시료 용액 1 mL에 0.25 mL의 SDS-PAGE 시료 완충액(0.1% bromophenol blue, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 2% SDS, 50% glycerol을 포함하는 60 mM Tris-HCl(pH 6.8))을 첨가하고, 90°C에서 3분 동안 가열하여 전기영동용 시료를 조제하였다.

SDS-PAGE는 5%의 농축 겔과 10%의 분리 겔에서 Laemmli의 방법(14)에 따라 실시하였다. 전기영동이 끝난 겔은 Coomassie brilliant blue R-250에서 하룻밤 염색한 후 methanol:acetic acid:증류수(1:1:8, v/v/v)의 탈색액으로 배경이 깨끗해질 때까지 탈색하였다. 분자량 측정을 위해 광범위 표준 단백질 혼합물(M 4038, Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo, USA)를 사용하였다.

시차주사열량계(DSC) 분석

DSC 분석은 micro DSC II(SETARAM Scientific and Industrial Equipment, France)로 실시하였다. 정확하게 무게를 단 650~700 mg의 시료단백질(수분함량 80%)을 실린더형 cell에 넣고 뚜껑을 닫아 밀봉한 다음 10~90°C의 온도 범위에 걸쳐 분당 1°K의 속도로 온도를 상승시키면서 분석하였다. 이때 reference는 동량의 증류수를 사용하였으며, 시료분석을 행하기 전에 reference와 시료 cell의 heat flow를 측정하였다.

통계분석

표준편차, 유의성 검정 및 선형회귀분석은 JMP 통계 프로그램(15)으로 실시하였다.

결과 및 고찰

ANS 표면 소수성의 변화

갈고등어와 냉동꼬마민어의 근원섬유 단백질을 분당 1°C로 가열하면서 40, 60 및 80°C에서 ANS 소수성을 측정했을

때(Fig. 1), 갈고등어의 ANS 표면 소수성은 60°C, pH 10.5에서 가장 높은 값을 나타낸 반면(Fig. 1a), 냉동꼬마민어는 60°C, pH 10.0에서 가장 높은 ANS 표면 소수성을 보였다(Fig. 1b). 이 같은 결과는 가열 온도 상승과 더불어 소수성 잔기가 외부로 노출되고 소수성 상호작용은 60°C 부근에서 최대로 일어나지만, 어종과 pH에 따라 소수성이 최대로 노출되는 온도 영역은 다소 차이가 있는 것으로 판단된다. 액토미오신 분자들은 약 30°C에서 풀리기 시작하여 분자 내부에 포함된 소수성 및 SH기들이 외부로 노출되고 이들의 상호작용에 의해 응집되기 시작하며, 40°C 이상에서 미오신 분자의 일부는 액틴 필라멘트에서 해리되어 해리된 미오신 분자와 미오신이 부족한 분자들이 공존하고 60°C 이상에서 액토미오신은 큰 응집물을 형성하여 섬유상 형태는 관측되지 않고 이 응집은 주로 S-S 결합에 의해 일어난다고 하였다(16).

갈고등어와 냉동꼬마민어의 pH별 회수 단백질의 최대 소수성 노출 온도와 pH가 미치는 영향은 근원섬유 단백질의 경우와 큰 차이를 보이고 있었다(Fig. 2). 40°C에서 소수성은 pH 7.0에서 가장 높았고, 60°C에서는 pH 9.0, 80°C에서는 pH 8.0과 10.5에서 비슷한 값을 보였다(Fig. 2a). 그리고 냉동꼬

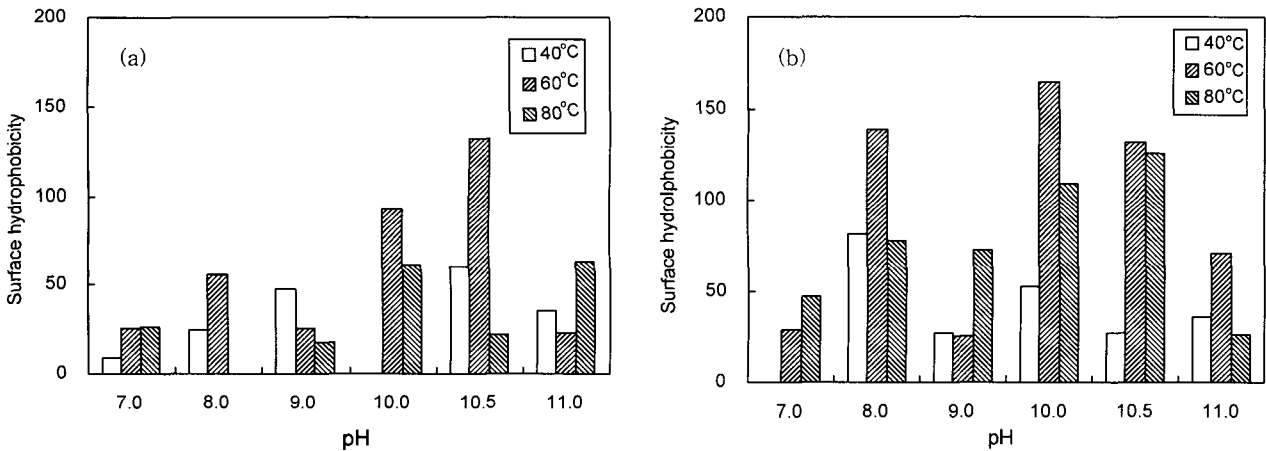


Fig. 1. Surface hydrophobicity of myofibrillar protein from mackerel (a) and frozen blackspotted croaker (b).

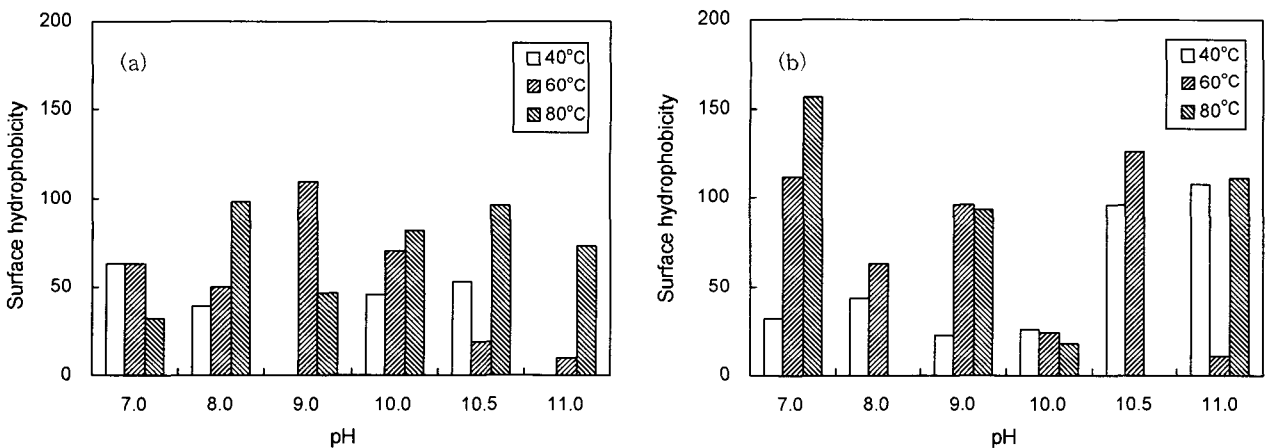


Fig. 2. Surface hydrophobicity of recovered protein from mackerel (a) and frozen blackspotted croaker (b).

마민어는 40°C에서는 pH 11, 60°C와 80°C에서는 pH 10.5와 pH 7.0에서 가장 높은 값을 보였다(Fig. 2b). 회수단백질이 근원섬유 단백질과 다른 결과를 보이는 것은 회수 단백질에 포함된 근형질 단백질이 근원섬유 단백질의 소수성 노출에 영향을 미치기 때문으로 판단된다. 결체조직 단백질을 제거한 민대구 육의 DSC 분석에 의한 전이온도는 46.5°C와 75.3°C로 두개의 peak를 보였으나, 근형질 단백질 희분은 45.2°C, 59.0°C 및 75.5°C에서 3개의 peak를 보였고, 근형질 단백질을 제거한 육은 열에 민감하며 pH는 thick filament, 특히 myosin의 구조에 영향을 미친다고 하였다(17).

FT-IR 스펙트럼의 변화

단백질의 구조 변화에 미치는 pH의 영향을 알아보기 위해 IR 스펙트럼의 변화를 분석하였다. 갈고등어인 경우(Fig. 3), pH 7에서 나타난 2911.0 cm⁻¹, 2845.0 cm⁻¹의 peak는 pH 10.0 이후 사라졌으며, 1636.4 cm⁻¹의 peak는 pH 10과 10.5에서 현저히 증가하였으나 pH 11.0에서 다시 감소하였다. 2360.9 cm⁻¹과 2342.7 cm⁻¹의 peak는 pH 11에서 완전히 사라졌다. 한편 pH 8.0 이상에서 1395~1402 cm⁻¹의 peak가 새로 출현하였다. 한편 냉동꼬마민어의 경우도 pH 7.0에서 나타난 2927 cm⁻¹과 2854 cm⁻¹의 peak는 pH 10.5 이상에서 사라진 반면, 2330 cm⁻¹과 1123 cm⁻¹의 peak는 pH 10.5에서 새로이 출현하였으며 pH 상승과 더불어 1628 cm⁻¹의 peak는 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 4). Li-Chan과 Nakai는 열 및 DTT에 의한 lysozyme의 젤화에서 2880, 2942 cm⁻¹는 지방족 C-H, 1660 cm⁻¹은 amide I, 1447 cm⁻¹은 CH₂, 1080 cm⁻¹과 1107 cm⁻¹은 C-N, 1030 cm⁻¹은 Phe, 543 cm⁻¹은 Trp의 변화에 해당한다고 하였고, 가열 처리는 amide I에 해당하는 1660 cm⁻¹ band의 증가를 초래하고 이는 total β-sheet 구조의 증가에 기인한다고 하였다(18). 본 실험에서 pH 7.0에 비하여 pH 10.5에서 1636 cm⁻¹에 해당하는 peak의 증가는 알칼리 pH에서 어육 단백질의 구조 풀림에 기인한 β-sheet 구조의 증가로 판단된다. 이 같은 결과는 높은 pH 범위에서

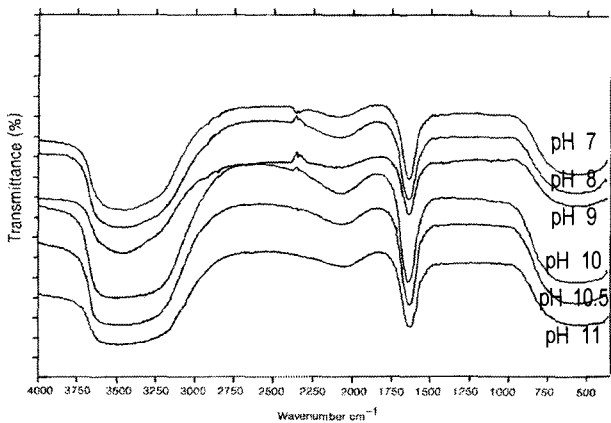


Fig. 3. FT-IR spectra (500~4000 cm⁻¹) of recovered protein from mackerel at pH 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 10.5 and 11.50 μg of protein was loaded in cell.

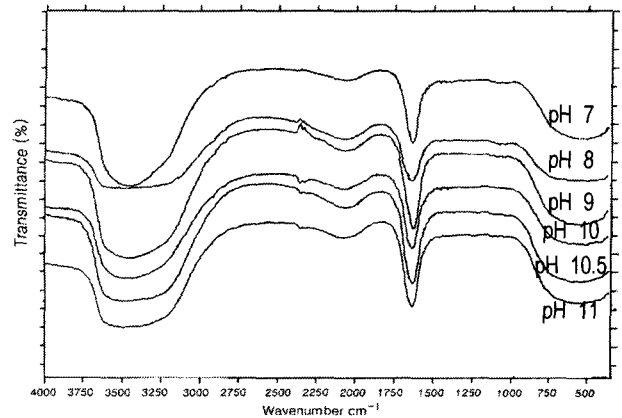


Fig. 4. FT-IR spectra (500~4000 cm⁻¹) of recovered protein from frozen blackspotted croaker at pH 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 10.5 and 11.50 μg of protein was loaded in cell.

변성에 의해 어육 단백질의 α-helix 구조가 풀리는 것을 의미한다. 열에 대한 α-helix의 저항은 어육 액토미오신의 젤화를 방지하기 때문에 α-helix 구조의 풀림은 자연응고하는 동안 액토미오신의 젤화를 위해 필수적이라고 하였다(19). 근원섬유(pH 9.0)의 IR 스펙트럼에서는 2366 cm⁻¹과 2330 cm⁻¹의 과장 영역에서 peak가 뚜렷하게 나타난 반면(Fig. 5) 회수 단백질에서는 이들의 peak가 상대적으로 매우 작았다. 이 같은 결과는 회수 단백질에 포함된 근형질 단백질이 이들 peak의 발현을 억제하는 것으로 추정된다. Pacific whiting surimi의 Raman spectrum에서 염석, 자연응고 및 가열 시 지방족 사슬의 소수성 상호작용의 포함은 C-H stretching 진동에 해당하는 2930 cm⁻¹ 근처의 강도 감소로 추정할 수 있다고 하였으며(20), 3070 cm⁻¹ 근처의 띠는 방향족 C-H stretching에 해당한다고 하였다(18). 그러나 2330~2370 cm⁻¹의 흡수 띠에 관한 의미는 분명치 않다.

반응성 및 총 SH기의 변화

회수 단백질의 반응성 및 총 SH기의 변화에 미치는 pH의

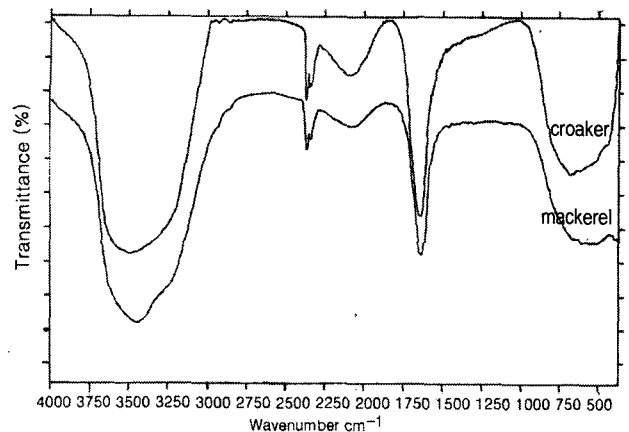


Fig. 5. FT-IR spectra (500~4000 cm⁻¹) of myofibrillar protein from mackerel and frozen blackspotted croaker at pH 9.0, 50 μg of myofibrillar protein was loaded in cell.

영향을 알아보기 위해 pH 7, 8, 9, 10, 10.5 및 11에 용해한 갈고등어 단백질을 20~80°C까지 1°C/min의 속도로 가열하면서 40, 60 및 80°C에서 반응성 SH기(Fig. 6)와 총 SH기(Fig. 7)의 변화를 측정하였다. 반응성 SH기의 수는 40과 60°C에서 pH 상승과 더불어 감소하였고 80°C에서도 pH 상승과 더불어 감소하는 경향을 보였으나, 큰 차이는 없었다. pH 및 온도에 대한 영향은 총 SH기와 반응성 SH기의 변화에 비슷한 경향으로 나타났다. 반응성 SH기와 총 SH기 수의 차이는 pH 7.0과 pH 10에서 비교적 큰 것으로 나타나 반응성 SH기의 환원에 의한 S-S 결합 형성을 시사하였다. S-S 결합은 어육 젤의 탄성 modulus의 증가에 기여하며(21), 가열에 의해 분자 표면에 나타난 반응성 SH는 단백질 분자 사이의 결합을 통해 젤 형성에 기여한다고 하였다(22). 그리고 가열에 의해 형성된 난백의 강도와 단백질 SH기는 높은 상관을 가지고, 반응성 SH기들은 열에 의한 난백의 젤 형성에 중요한 역할을 행사한다고 하였다(23).

냉동 꼬마민어의 반응성 및 총 SH기 수의 변화는 갈고등

어의 경우와 많은 차이를 보이고 있었다. 온도에 따른 반응성 SH기의 수는 거의 차이가 없었으나 pH 10.5에서 가장 높은 반응성 SH기 함량을 나타내는 것에 미루어(Fig. 8), pH 10.5에서 내부의 SH기가 가장 많이 표면으로 노출되는 것으로 판단된다. 그리고 가열 온도에 따른 총 SH기 수는 차이가 없었으나 pH 7, 8, 9에서 가장 높았고 pH 10과 11에서는 1/3이 감소하였다(Fig. 9). 높은 pH에서 총 SH기 수의 감소한 것은 SH기가 다른 화학 반응에 참여한 것으로 판단된다. 초산에 의해 유도된 젤의 강도는 자연응고와 가열 조건에 의해 영향을 받으며 젤화는 SH기의 산화와 연관이 있다고 하였다(24).

SDS-PAGE 전기영동상의 변화

갈고등어와 냉동 꼬마민어의 육 단백질을 pH 별로 용해시킨 후 10% polyacrylamide 젤에서 SDS-PAGE한 결과, 갈고등어는 pH가 상승함에 따라 myosin heavy chain의 양은 다소 감소하면서 205 kDa과 116 kDa 사이에 minor band

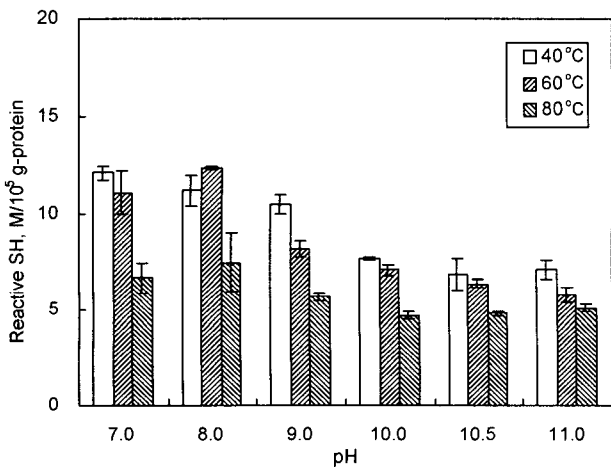


Fig. 6. Reactive sulfhydryl group of recovered protein from mackerel.

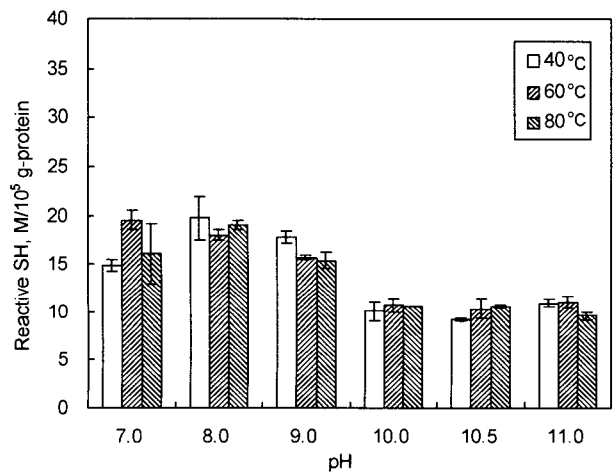


Fig. 8. Reactive sulfhydryl group of recovered protein from frozen blackspotted croaker.

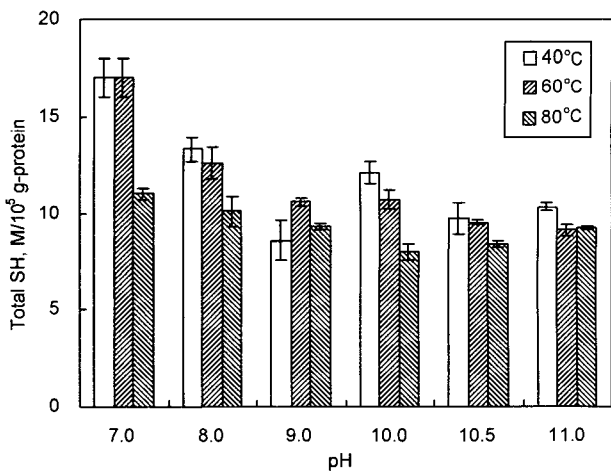


Fig. 7. Total sulfhydryl group of recovered protein from mackerel.

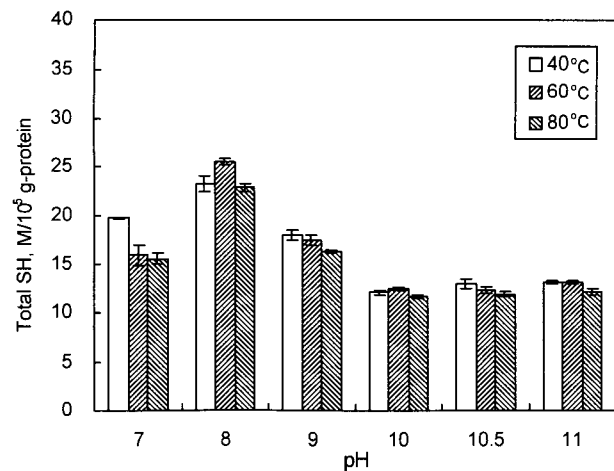


Fig. 9. Total sulfhydryl group of recovered protein from frozen blackspotted croaker.

가 출현하였고, pH 11에서는 약 50 kDa에 해당하는 band가 소실되었다(Fig. 10). 그리고 냉동 꼬마민어는 pH 7.0에서 뚜렷하게 나타난 분자량 약 125 kDa에 해당하는 band의 강도는 pH 상승과 더불어 감소하는 것으로 나타났고 myosin heavy chain에 해당하는 205 kDa 이상에서 몇 개의 특징적인 minor band를 관측할 수 있었다(Fig. 11). 이는 pH 10.5에서 myosin heavy chain의 중합체 형성에 의한 것으로 판단된다. 가열 젤의 강도는 myosin heavy chain의 중합과 분해에 의존한다(25). Acetic acid에 의한 threadfin bream 마쇄육의 젤화는 myosin heavy chain의 분해와 관련이 있고 약 160 kDa의 단백질 분자가 나타난다고 하였다(24). Hoki 수리미 중 수용성 단백질 성분은 myosin heavy chain의 가교결합의 형성 반응을 촉매하고 이 같은 반응과 자연응고 kamaboko 젤의 형성을 위해 Ca 이온이 필수적이며, transglutaminase에 의한 촉매 반응의 가능성을 시사하였다(26).

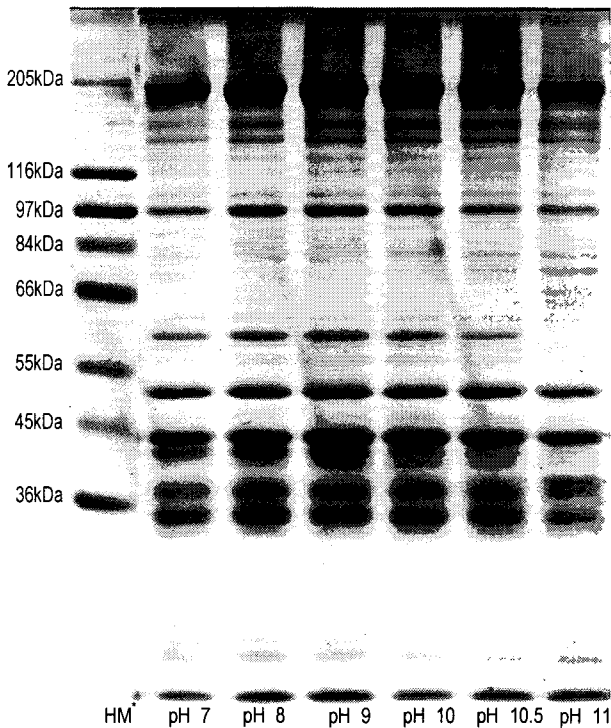


Fig. 10. SDS-PAGE pattern of recovered protein from mackerel. HM*: wide range standard marker.

열특성

근원섬유 단백질, 근형질 단백질, 명태 수리미 및 회수 단백질의 전이온도와 엔탈피를 사차주사열량계로 분석하였다(Table 1). 근원섬유 단백질은 42.3, 51.7 및 60.1°C에서 endothermic peak를 보였으며 변성 엔탈피 값은 0.170 cal/g이었다. 잉어의 myosin, light meromyosin 및 actin은 각각 50, 47 및 75°C에서 최대 전이온도를 나타내며, 조 actin은 조절 단백질의 영향으로 인하여 53°C에서 peak를 보이고, 잉어의 천연 액토미오신은 43, 53 및 68°C에서 세 개의 peak를 보인다고 하였다. 그리고 이 같은 변성온도는 동물에 차이가 있으며 서식온도와 밀접한 상관이 있다고 하였다(27). 본 실험의 결과, 근원섬유단백질은 42.3, 51.7 및 60.1°C에서 최대 전이온도를 나타내어 잉어와 다소 차이는 보이는 것은 동물의 종에 따른 차이인 것으로 판단되며, 51.7°C의 peak는 myosin을 변성을 반영하는 것으로 보인다.

근형질 단백질은 33.4와 58.5°C에서 endothermic peak를 나타내고 변성 엔탈피 값은 0.0037 cal/g이었다. DSC로 측정된 결체 조직이 없는 민대구 육의 근형질 단백질 희분은 45.2, 59.0 및 75.5°C의 3개의 전이온도와 3.92 cal/g의 엔탈피

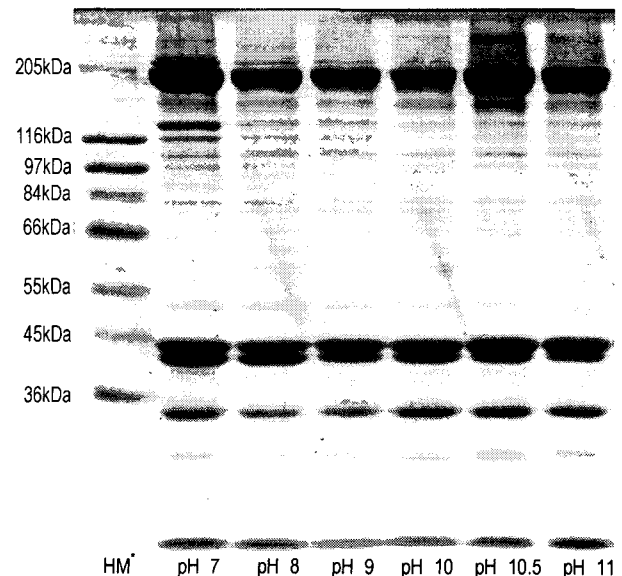


Fig. 11. SDS-PAGE pattern of recovered protein from frozen blackspotted croaker. HM*: wide range standard marker.

Table 1. DSC data¹⁾ of myofibrillar, sarcoplasmic, Alaska pollack surimi, and recovered protein from blackspotted croaker

Protein	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5
Myofibrillar protein		42.3 ²⁾ (0.1184) ³⁾	51.7 (0.0101)	60.1 (0.0416)	
Sarcoplasmic protein	33.4 (0.0024)			58.46 (0.0013)	
Alaska pollack surimi	34.9 (0.0207)	41.1 (0.028)	51.1 (0.0039)	67.8 (0.0691)	80.5 (0.0116)
Recovered protein	33.1 (0.0126)	44.27 (0.0044)		65.53 (0.0018)	

¹⁾Data were mean values by duplicate determination.

²⁾Maximal transition temperature (°C).

³⁾Ethalpy value (cal/g).

값을 가진다는 보고(17)와 비교할 때 본 실험의 결과는 58.5°C를 제외하고는 많은 차이를 보이며, 근형질 단백질의 변성 엔탈피 값이 낮은 것은 근형질 단백질을 회수하는 과정에서 pH 5.5로 침전했을 때 단백질의 변성이 일어났기 때문인 것으로 추정된다.

알칼리 공정으로 제조한 회수단백질은 33.1, 44.3 및 65.5°C에서 전이온도가 나타났으며, 변성 엔탈피 값은 0.0188 cal/g으로 근원섬유단백질에서 myosin의 변성에 해당하는 온도인 51.7°C에 해당하는 peak는 보이지 않았으며 변성 엔탈피도 근원섬유단백질에 비하여 낮은 것에 미루어 극단적인 알칼리 pH가 어육 단백질의 변성에 기여한 것으로 추정하였다. 자연응고 지표와 되풀림이 지표는 엔탈피 변화에 의존하며 엔탈피변화와 젤 강도 사이에는 상관이 없다고 하였다(28).

요 약

근원섬유단백질과 알칼리 용액으로 처리하여 회수한 단백질의 가열 중 ANS 소수성의 변화, IR 스펙트럼의 변화, SH기의 변화, 전기영동 상의 변화 및 엔탈피의 변화로 비교하여 회수 단백질의 가열 변성기구를 조사하였다. 갈고등어와 냉동 꼬마민어의 근원섬유단백질은 가열 온도의 상승과 더불어 소수성 잔기가 외부로 노출되고 소수성 상호작용은 60°C 부근에서 최대로 일어나지만, 근형질 단백질을 포함하는 회수단백질은 근원섬유 단백질과 ANS 소수성에서 차이를 보였다. pH가 증가함에 따라 1636 cm⁻¹에 해당하는 peak가 증가하였다. 반응성 SH기와 총 SH기 수의 차이는 pH 7.0과 pH 10에서 비교적 큰 것으로 나타났다. SDS-PAGE 상에서 pH가 상승함에 따라 myosin heavy chain의 중합체가 확인되었다. 알칼리 공정으로 제조한 회수 단백질을 시차주사열량계로 분석한 결과, 회수 단백질은 33.1, 44.3 및 65.5°C에서 전이온도가 나타나며, myosin의 변성에 해당하는 온도인 51.7°C의 peak는 보이지 않았다. 회수 단백질의 가열 젤은 극단적인 pH 처리에 의한 α -helix 구조의 β -sheet 구조 전환, 가열에 의한 S-S 결합의 형성과, myosin heavy chain 중합체 형성에 의한 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 2003년 한국학술진흥재단 지방대육성 지원사업(과제번호 2003-002-F00043)에 의해 수행되었기에 이에 감사드립니다.

문 헌

- Xiong YL. 1997. Structure-function relationships of muscle proteins. In *Food Proteins and Their Applications*. Damodaran S, Paraf A, eds. Marcel Dekker, Inc, New York. p 341-392.
- Shenouda SYK. 1980. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. In *Advances in food research*. Chichester CO, Mark EM, Stewart GF, eds. Academic press, New York. Vol 26, p 275-311.
- Lanier TC. 1987. Muscle protein functional properties and protease content of surimi prepared from fatty, dark-fleshed fish species. In *Fatty fish utilization: upgrading from feed to food*. Proceedings of a national technical conference in Raleigh, NC, USA. p 247-262.
- Snow GW. 1992. Development of under-utilized species in Atlantic Canada. In *Seafood science and technology*. Bligh EG, ed. Fishing News Books, Cambridge, MA, USA. p 149-153.
- Krishnamurthy G, Chang H-S, Hultin HO, Feng Y, Srinivasan S, Kelleher SD. 1996. Solubility of chicken breast muscle proteins in solutions of low ionic strength. *J Agric Food Chem* 44: 408-415.
- Chang H-S, Feng Y, Hultin HO. 2001. Role of pH in gel formation of washed chicken muscle at low ionic strength. *J Food Biochemistry* 25: 439-457.
- Choi YJ, Park JW. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J Food Sci* 67: 2962-2967.
- Kristinsson HG, Hultin HO. 2003. Role of pH and ionic strength on water relationships in washed minced chicken-breast muscle gels. *J Food Sci* 68: 917-922.
- Park JD, Jung C-H, Kim J-S, Cho D-M, Cho MS, Choi YJ. 2003. Surimi processing using acid and alkali solubilization of fish muscle protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 400-405.
- Park JD, Yoon S-S, Jung C-H, Cho MS, Choi YJ. 2003. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from fish muscle surimi prepared by acid and alkaline processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 567-573.
- Lanier TC. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties. In *Surimi Technology*. Lanier TC, Lee CM, eds. Marcel Dekker Inc, New York. p 123-163.
- Roura S, Saavedra JP, Truco R, Crupkin M. 1992. Conformational change in actomyosin from post-spawned hake stored on ice. *J Food Sci* 57: 1109-1111.
- Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- JMP. 2002. *Statistics and graphics guide*. SAS Institute, Cary, NC, USA
- Sano T, Ohno T, Otsuka-Fuchino H, Matsumoto JJ, Tsuchiya T. 1994. Carp natural actomyosin: Thermal denaturation mechanism. *J Food Sci* 59: 1002-1008.
- Beas VE, Wagner JR, Crupkin M, Anon MC. 1990. Thermal denaturation of hake (*Merluccius hubbsi*) myofibrillar proteins. A differential scanning calorimetric and electrophoretic study. *J Food Sci* 55: 683-687, 696.
- Li-Chan E, Nakai S. 1991. Raman spectroscopic study of thermally and/or dithiothreitol induced gelation of lysozyme. *J Agric Food Chem* 39: 1238-1245.
- Ogawa M, Nakamura S, Horimoto Y, An H, Tsuchiya T, Nakai S. 1999. Raman spectroscopic study of changes in fish actomyosin during setting. *J Agric Food Chem* 47: 3309-3318.
- Bouraoui M, Nakai S, Li-Chan E. 1997. In situ investigation of protein structure in Pacific whiting surimi and gels using Raman spectroscopy. *Food Research International* 30: 65-72.
- Niwa E, Mori H, Nakayama T, Hamada I. 1986. Contri-

- bution of SS bonding to fish flesh gel. *Nippon Suisan Gakkaishi* 52: 1103.
22. Itoh Y, Yoshinaka R, Ikeda S. 1979. Behavior of the sulfhydryl groups of carp actomyosin by heating. *Nippon Suisan Gakkaishi* 45: 1019-1022.
 23. Margoshes BA. 1990. Correlation of protein sulfhydryls with the strength of heat formed egg white gels. *J Food Sci* 55: 1753-1756.
 24. Chawla SP, Venugopal V, Nair PM. 1996. Gelation of proteins from washed muscle of threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) under mild acidic conditions. *J Food Sci* 61: 362-366, 371.
 25. Hossain MI, Itoh Y, Morioka K, Obtatake A. 2001. Inhibiting effect of polymerization and degradation of myosin heavy chain during preheating at 30°C and 50°C on the gel-forming ability of walleye pollack surimi. *Fisheries Science* 67: 718-725.
 26. Kimura I, Sugimoto M, Toyoda K, Seki N, Arai K, Fujita T. 1991. A study on the cross-linking reaction of myosin in Kamaboko "suwari" gels. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 1389-1396.
 27. Akahane T, Chihara S, Niki TP, Sano T, Tsuchiya T, Noguchi SF. 1985. Differential scanning calorimetric studies on thermal behaviors of myofibrillar proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi* 51: 1841-1846.
 28. Iso N, Mizuno H, Ogawa H, Mochizuki Y, Masuda N. 1991. Differential scanning calorimetry on fish meat paste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 337-340.

(2004년 4월 29일 접수; 2004년 11월 12일 채택)