최 종
연구보고서

GA0598-

닭의 폐기부산물로부터 mucoprotein의 정제 및 활용

Studies on Isolation and Utilization of Mucoprotein
from Wasted Residual Product of Chicken.

연 구 기 관
한국식품개발연구원

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “닭의 폐기부산물로부터 mucoprotein의 정제 및 활용”에 관한 연구 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2006년 5월 24일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

총괄연구책임자 : 이 남 혁

연 구 원 : 홍 상 필

연 구 원 : 노 정 해

연 구 원 : 양 승 용

연 구 원 : 김 영 호

연 구 원 : 김 영 붕

연 구 원 : 김 윤 지

연 구 원 : 오 세 욱

연 구 원 : 정 영 미

요 약 문

I. 제 목

닭의 폐기부산물로부터 mucoprotein의 정제 및 활용

II. 연구개발의 목적 및 필요성

■ Mucoprotein의 생산기술 확립

■ 기능특성을 갖는 새로운 연제품 개발

III. 연구개발 내용 및 범위

■ 1차년도 : Mucoprotein의 분리 정제 및 이종 단백질과의 상호작용

1) 일반성분 분석

2) Mucoprotein의 분리 및 정제

- Mucoprotein의 최적 분리조건 설정
- HPLC 및 SDS-PAGE를 이용한 정제도 분석
- 수율조사

3) Mucoprotein과 이종 단백질과의 상호작용

- 축육 단백질과의 상호작용
- 대두 단백질과의 상호작용

(용해도, 점도, 탁도, SDS-PAGE 등)

■ 2차년도 : Mucoprotein의 기능특성 조사 및 대량 생산 검토

1) 축육 paste와의 반응성

- 모델 소시지 제조
- 탄력성 측정
- 보수력 측정
- SDS-PAGE 분석

2) 대두 paste와의 반응성

- 모델 두부 제조
- 탄력성 측정
- 보수력 측정
- SDS-PAGE 분석

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

닭의 폐기부산물인 벼슬의 유효 이용방안에 대하여 검토하였다. 닭벼슬 중의 mucoprotein(MP) 및 돈육의 actomyosin(AM)을 분리한 후, 각각의 MP와 AM의 혼합비율, 방응온도 및 pH에서 반응하였을 때의 상호작용(용해도, 탁도, 점도)에 대하여 검토하였다. 또한, 분리한 MP 및 AM의 분석은 HPLC 및 SDS-PAGE로 분석하였다. 벼슬에서 분리한 MP의 수율은 약 14.5%였으며, 이중 protein은 약 8.8%, mucopolysaccharide는 약 5.7%를 나타내었다. 또한 mucopolysaccharide의 주성분은 HPLC 결과 대부분 hyaluromic acid였다. 한편, MP와 AM의 상호작용에 대하여 검토한 결과, MP와 AM의 혼합비율이 1:10에서 용해도가 크게 저하하였으며, 탁도 및 점도는 증가하는 추세를 나타내었다. 이를 SDS-PAGE로 분석한 결과, actomyosin의 주요 단백질인 myosin과 actin의 상당부분이 침전으로 이전된 것을 볼 수 있었다. 또한, pH 의존성에서는 pH 7.0에서 가장 낮은 용해도를 나타내었으며, 상대적으로 점도 및 탁도는 증가하였다. 온도의존성에 있어서는 30℃ 이상에서 용해도가 급격히 감소하였으며, 탁도는 상승한 반면 점도는 감소하는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터 AM과 MP는 강한 결합력을 갖고 있는 것으로 판단되었다. 또한, 돈육에 MP를 첨가하여 제조한 모델 소시지의 물성을 검토한 결과 gel strength는 약해지는 반면 탄력성 및 보수

력은 증가하는 추세를 나타내었다. 한편, 대두 단백질의 경우도 기본적으로는 축육과 같은 반응성을 나타내었으며, 모델 두부의 물성에 있어서도 소시지의 경우와 같은 경향을 나타내었다. 이상의 결과로부터 MP는 보수력 및 탄력성을 부여하는 새로운 물성개량제로서 활용할 수 있을 것으로 사료되었다.

SUMMARY

I. Title

Studies on Isolation and Utilization of Mucoprotein from Wasted Residual Product of Chicken.

II. Objective and Significance of Research

■ Establishment of manufacturing technology of mucoprotein from chicken comb

■ Development of meat and soybean based-product (as sausage, soybean curd) have functional properties

III. Scope

■ First year : Isolation of mucoprotein from chicken comb, reaction between protein of different species and mucoprotein

1) Component analysis

2) Isolation of mucoprotein

- Optimum condition of isolation on mucoprotein
- Refining of mucoprotein by HPLC and SDS-PAGE
- Yield of mucoprotein

3) Reaction between protein of different species and mucoprotein

- Reaction between meat protein and mucoprotein
- Reaction between soybean protein and mucoprotein

■ Secund year : Investigation for functional properties and scale

up manufacturing process of mucoprotein

1) Reaction between meat protein and mucoprotein

- Preparation of model sausage
- Measurement of elasticity
- Measurement of water holding capacity
- SDS-PAGE

2) Reaction between soybean protein and mucoprotein

- Preparation of model soybean curd
- Measurement of elasticity
- Measurement of water holding capacity
- SDS-PAGE

IV. Results and Recommendation

For availability of chicken comb, mucoprotein(MP) in chicken comb was isolated, and then functional properties of MP was investigated to using interaction between MP and actomyosin(AM) isolated from pork muscle. Functional properties of MP such as solubility, turbidity and viscosity at various conditions (varied mixing ratio of MP and AM, reaction temperature and pH) were examined. The yield of MP from comb was about 14.5% (w/w). The major components of MP were hyaluronic acid (about 5.7%) and protein (8.8%). When MP and AM were mixed at ratio of 1:10, the lowest solubility (%) showed, but viscosity and turbidity was increased. The lowest solubility, and the highest viscosity and turbidity were showed at 30℃ and pH 7.0.

On the other hand, Rheological properties of model sausage

prepared from pork lean meat and mucoprotein mixed at various ratio, elastic and water holding capacity increased, but gel strength decreased. In the case of soy protein, it was appeared same tendency with meat protein.

From above results, binding between MP and AM by interaction and MP was observed, so this indicated that there is possibility of MP as conditioner for rheological properties of meat and soybean product(as sausage, ham and soybean curd).

CONTENTS

SUMMARY.....

Chapter 1. Outline of the research.....

Chapter 2. State-of-the-art

Chapter 3. Scopes and results of the research.....

Section 1. Scopes of the research.....

1. material
2. Component analysis .....
3. Isolation of mucoprotein from chicken comb.....
4. Analysis of mucoprotein using SDS-PAGE.....
5. Analysis of hyaluronic acid using HPLC.....
6. Preparation of actomyosin.....
7. Measurement solubility.....
8. Measurement of viscosity
9. Measurement of turbidity
10. Materials of model sausage
11. Preparation of model sausage
12. Rheological properties
13. Water holding capacity(WHC) of model sausage
14. Analysis of model sausage using SDS-PAGE
15. Scanning electron microscopy of model sausage
16. statistical analysis
17. Materials of model soybean curd

18. Preparation of model soybean curd
19. Addition of mucoprotein and carrageenan
20. Yield and texture of model soybean curd
21. Analysis of model soybean curd using SDS-PAGE
22. Scanning electron microscopy of model soybean curd
23. Sensory evaluate

Section 2. Result and discussion.....

1. Component analysis and isolation of mucoprotein from chicken comb
1) Component analysis of chicken comb
2) Preparation of mucoprotein
3) Component analysis of mucoprotein using HPLC and SDS-PAGE
4) Protein and hyaluronic acid contents in mucoprotein

2. Interaction between mucoprotein and protein of different species
1) Interaction between mucoprotein and actomyosin
2) Interaction between mucoprotein and soybean protein

3. Functional(rheological) properties by reaction of mucoprotein and materials
1) Effect of mucoprotein on the rheological properties of model sausage
2) Change rate of rheological properties of model sausage prepared by addition of mucoprotein

3) Water holding capacity of model sausage prepared by addition of mucoprotein
4) Effects of mucoprotein and carrageenan on yield and texture of soybean curd

Section 4. Manufacturing of experimental mucoprotein from chicken comb
1. Flow chart of manufacturing process
2. Manufacturing of experimental mucoprotein

Chapter 4. Achievement and contribution to related field

Chapter 5. Application plan of the results

Chapter 6. Technical oversea information collected during research

Chapter 7. Reference.....

목 차

요 약 문.....

제 1 장 연구개발과제의 개요.....

제 2 장 국내외 기술개발 현황.....

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발수행 내용

1. 시료
2. 일반성분 분석
3. 닭벼슬로부터 mucoprotein의 분리
4. SDS-PAGE를 이용한 mucoprotein의 분석
5. HPLC를 이용한 hyaluronic acid의 정량
6. Actomyosin의 추출
7. 용해도 측정
8. 점도 측정
9. 탁도 측정
10. 모델 소시지 원료
11. 모델 소시지 제조
12. Rheological properties
13. 모델 소시지의 Water holding capacity(WHC)
14. 모델 소시지의 SDS-PAGE 분석
15. 모델 소시지의 Scanning electron microscopy
16. 통계분석
17. 모델 두부의 원료

18. 모델 두부의 제조
19. Mucoprotein과 Carrageenan의 첨가
20. 모델 두부의 수율 및 texture 측정
21. 모델 두부의 SDS-PAGE 분석
22. 모델 두부의 Scanning electron microscopy(SEM)
23. 관능검사

제 2 절 결과 및 고찰

1. 닭벼슬의 일반성분 및 mucoprotein의 분리

1) 닭벼슬의 일반 성분
2) mucoprptein의 분리 및 조제
3) HPLC 및 SDS-PAGE에 의한 mucoprotein의 성분 분석
4) mucoprotein 중의 protein 함량 및 hyaluronic acid 함량

2. Mucoprotein과 이종 단백질과의 상호작용

1) 축육 단백질(돈육의 actomyosin)과 mucoprotein의 상호작용
2) 대두 단백질과 mucoprotein의 상호작용

3. Mucoprotein과 각종 원료와의 반응에 의한 기능 특성

1) 돈육 모델 소시지의 물성에 미치는 mucoprotein의 영향
2) mucoprotein의 첨가에 따른 모델 소시지의 물성의 변화율
3) mucoprotein의 첨가에 따른 모델 소시지의 보수력
4) mucoprotein 및 carrageenan의 첨가가 두부의 수율 및 물성에 미치는 영향

4. 닭벼슬로부터 mucoprotein의 추출 및 시제품 제조

1) 공장규모의 시제품 제조 공정도
2) 시제품 제조

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

제 7 장 참고문헌

제 1 장 연구개발과제의 개요

연제품의 보수성, 결착성은 제품의 품질을 좌우하는 중요한 인자이며, 그 특성은 근육 중의 근원섬유를 구성하는 주요 단백질 myosin의 가열에 의한 겔형성능에 유래한다. myosin의 분자는 2개의 head와 helix 100%의 봉상의 rod로 형성되어 있으며, 이와 같은 특수한 분자형태가 myosin의 가열겔 반응에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있다. 이와 같이 가열겔 반응에 있어서 근원섬유 중의 myosin이 중요한 인자임에는 틀림없으나, 최근에는 각종 첨가제를 이용하여 가열겔 식품의 물성을 개량하거나 생리기능성을 고려한 고품질의 제품을 개발하려고 하는 노력이 이루어지고 있다. 이와 관련하여 최근에 이용되고 있는 물성개량 및 생리기능성을 높이기 위한 첨가제로서 칼슘제, 각종 당류 및 transglutaminase 등이 이용되고 있지만 한쪽에만 치우치는 경우가 대부분이어서 물성개량 및 생리기능성을 종합적으로 고려한 첨가제는 아직 전무한 상태이다.

한편, 우리나라의 1일 도계 생산량은 약 70만수에 달하고 있으며, 그중 식용으로 쓰이고 있는 것은 대부분 몸통 부분이며 머리 및 내장 등의 부산물은 거의 폐기처분되고 있는 실정이다. 머리 부분의 벼슬에는 점질성 다당이 다량 포함되어 있으며, 대부분이 mucoprotein인 것으로 나타났다. mucoprotein 중에는 hyaluronic acid 및 chondroitin 등이 다량 존재하며, 생리기능적으로 생체면역, 시력회복, 항장력, 탄력증진 효과 등이 알려지고 있다. 또한 단백질과의 친화성이 우수하고 물분자와 강하게 결합하는 특성을 지니고 있으므로 화장품의 보습제, 연제품의 물성개량을 위한 첨가제로서의 이용 가능성이 시사되고 있다.

최근의 닭벼슬을 이용한 응용 제품을 살펴보면 hyaluronic acid를 추출하여 화장품의 보습제로 이용하고 있으며, 이외에 검류, 드링크류, 젤

리 제품 등의 건강 보조식품에 일부 첨가하고 있다. hyaluronic acid는 일본의 경우 닭벼슬 및 미생물에서 생산하고 있으며, 닭벼슬에서 추출한 hyaluronic acid는 매우 고가(80-100만엔/kg, 미생물의 경우 60만엔/kg)로 판매되고 있었으며, 따라서 기능성 첨가물 소재로서의 적용범위가 제한적일 수밖에 없다고 판단된다.

따라서 본 연구에서는 경제성 및 적용성을 고려하여 닭벼슬로부터 protein과 mucopolysaccharide의 복합체인 mucoprotein을 분리하여 연제품의 물성개량제로서 활용할 수 있는지에 대하여 검토하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

계관은 대부분 산성 mucopolysaccharide으로 이루어져 있으며, 산성 mucopolysaccharide이 특정의 단백질과 복합체를 구성하고 있으면 mucin 또는 mucoprotein으로 불리워 진다. 이와 같은 당단백질은 다당이 중량의 대부분을 차지하고 있으며 점질성이 강하고 미끈미끈한 특성을 지니고 있다. 가장 풍부한 muco단당은 hyaluronic acid로 척추동물의 결합조직 등에 존재하고 있다. hyaluronic acid의 반복 단위는 D-glucuronic acid과 N-acetyl-D-glucosamine이 β(1→3)결합한 2당체이다. 각 2당 단위는 β(1→4) 결합으로 인접해 있는 단위와 결합하므로 β(1→3) 결합과 β(1→4)결합이 교호(交互)형태로 이루어져 있으며 섬유상의 polymer로 존재하고 있다. mucopolysaccharide의 다른 대표적인 것으로서 chondroitin은 hyaluronic acid과 거의 유사한 구조를 지니고 있으나, 단지 한가지 상이한 점은 N-acetyl-D-glucosamine 잔기 대신에 N-acetyl-D-galactosamine 잔기를 함유하고 있는 것이다. N-acetyl-D-glucosamine은 세포외물질의 소수성분에 지나지 않지만, 그 황산유도체 chondroitin 4-황산(chondroitin A)과 chondroitin 6-황산(chondroitin C)은 척추동물의 결합조직 구조체의 주요 구조성분인 것으로 알려지고 있다. 상기와 같이 계관의 주요 성분은 hyaluronic acid 및 chondroitin으로 구성되어 있으며, 이와 같은 성분들은 생리활성의 기능을 갖는 물질로서 알려지고 있다. 즉, 이와 같은 다당류는 시력회복, 시력보호작용, 항장력, 탄력증진효과 등의 생체면역 및 생리반응에 관여하고 있는 것으로 알려지고 있으므로 건강보조 식품 및 의약품으로서 이용 가능할 것으로 사료된다. 그 외의 다른 연구에 의하면 상기와 같은 다당류는 단백질과의 친화성이 우수하며, 물분자와 강하게 결합하는 특성을

지니고 있어서 화장품의 보습제, 육제품의 보수력 향상을 위한 첨가제로서 이용 가능할 것으로 생각된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 연구개발수행 내용

1. 시료

본 실험에 사용한 닭 벼슬은 (주)정우식품의 협조를 얻어 가공 처리된 닭의 부산물로부터 채취하였다. 드라이아스를 사용하여 -25℃ 이하로 냉동시킨 상태에서 운송하였으며, 실험실에서 해동하여 사용하였다.

2. 일반성분

일반성분조성은 AOAC방법[14]에 따라 수분함량은 0.002g 이하의 유의차를 함량으로하여 105℃ 상압가열건조법으로 측정하였고, 조단백질 함량은 semi micro kjeldahl법으로 측정하여 질소보정계수 6.25를 곱하였으며, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법으로 측정하였으며, 회분 함량은 550℃ 회화법으로 측정 하였다. 수화물은 100에서 조단백질, 조지방, 회분을 뺀 값으로 하였다.

3. 계관으로부터 mucoprotein의 분리

도살 후 계관을 채취하여 80~100℃에서 30분간 가열한 후 세절하여 여기에 4배량의 증류수를 첨가하여 교반하였다. 0.05 N이 되도록 고형수산화나트륨을 첨가하여 50℃에서 1시간 동안 교반한 후 4 N HCl로 pH 7.0이 되도록 조정하였다. 규조토를 첨가하여 교반한 후 여과액을 추출액으로 하였다. 추출액 100 mL에 대하여 황산암모니움 70g을 첨가하여 용해하였으며 이때에 생성된 침전을 원심분리하였다. 침전을 증류수에 용해시킨 후 투석에 의해서 황산암모니움을 제거하였으며, 진공동결건조한 것을 mucoprotein으로 하였다.

4. SDS-PAGE를 이용한 mucoprotein의 분석

계관 추출물을 8M urea, 2% mercaptoethanol, 2% SDS, 20mM Tris-HCl (pH8.0)에 가용화 시켰다. Laemmli 법에 따라서 10% acrylamide gel을 이용한 SDS-PAGE를 행하였으며, Commassie Brilliant R로 염색하였다. 탈색은 50% MeOH, 7% Acetic acid를 이용하여 겔의 배경이 투명화될 때까지 수행하였다.

5. HPLC를 이용한 Hyaluronic acid의 정량

Hyaluronic acid의 정량 분석은 HPLC를 이용하여 분석하였다.

o 분석기기

HPLC는 pump는 PU-980 (JASCO사),Detector는 RI-930(JASCO사)를 사용했으며,807-IT integrator를 사용하였다.

o 표준 원액 및 표준용액의 조제

hyaluronic acid (sigma사) 표준품을 distilled water에 녹여 1,000ppm 정도의 표준원액을 만들었다. 표준 원액을 acetonitrill water (83:17)로 희석하여 1～100ppm의 표준용액을 만들었다.

o 시료의 전처리

mucoprotein power를 증류수에 현탁시킨 후 hyaluronidase (type Ⅱ,sigma사)를 사용하여 30℃의 수조에서 30분간 소화 시킨 후 원심분리 (5,000 × g, 20min) 하여 상등액을 취하여 그대로 사용하였다.

o 분석 조건

- colum : carbohydrate colum ,60Å 4㎛
- Detector : RI
- Mobile phase : acetonitril : water = 83 : 17

- Flow rate : 1ml/min
- injection Volume : 20㎛
- running time : 20 min

위의 상기 조건으로 분석한 후, 표준용액의 검량선을 작성하고, 검량에 따라 hyaluronic acid의 함량을 정량하였다.

6. Actomyosin의 추출

돈육 분쇄육 10배량의 0.1M NaCl-20mM sodium phosphate(pH 7.0) 용액에 교반한 후 원심분리(10,000 × g, 30min)하여 침전물을 얻었다. 침전물에 상기와 같은 용액으로 같은 조작을 3회 반복한 후 거즈로 여과시킨 용액을 원심분리(10,000 × g, 30min)하여 침전물을 취하였다. 침전물에 10배량의 0.6M NaCl-20mM sodium phosphate(pH 7.0) 용액을 첨가하여 12시간 동안 용해시킨 후 원심분리 하여 얻어진 상등액을 취하였다. 증류수로 희석침전 시킨 후, 원심분리(10,000 x g, 30분)하여 얻어진 침전물을 Actomyosin으로 하였다. 한편, 실험에 사용 시에는 0.6M NaCl-20mM sodium phosphate(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 이 모든 과정은 4℃에서 실시하였다.

7. 용해도 측정

Actomyosin (5 또는 10mg/ml) 또는 대두단백질(5mg/ml)에 0.1 또는 0.6M NaCl, 20mM sodium phosphate (pH 6.0, 7.0) 또는 20mM Tris-HCl (pH 8.0)용액을 첨가하여 용해시킨 후 Mucoprotein(0~2mg/ml)을 첨가하여 4℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 20,000 x g에서 30분간 원심분리한 후 상등액 중의 단백질의 함량을 측정하였다. 용해도는 전체 단백질 함량에 대한 백분율(%)로 나타내었으며, 단백

질 함량은 뷰렛법으로 측정하였다.

한편, pH 변화에 따른 용해도는 pH 6, 7, 8에서 수행하였으며, 온도 변화에 따른 용해도는 0~70℃의 범위에서 반응시간과의 관계로 측정하였다.

$$\text{용해도}(\%) = \frac{\text{상등액의 단백질 농도(mg/ml}}{\text{전체 단백질 농도(mg/ml)}} \times 100$$

8. 점도 측정

Actomyosin (1, 2mg/ml)에 0.6M NaCl, 20mM sodium phosphate (pH7.0)용액을 첨가하여 용해시킨 후 Mucoprotein(0~0.1mg/ml)을 첨가하여 25~50℃의 범위에서 1시간 동안 반응시켰다. 점도는 Ostwald 점도계를 사용하였으며, Portzehl 등이 제안한 방법에 따라서 viscosity number ($Z\eta$)로 나타내었으며, 다음 식에 의해서 산출하였다.

$$Z\eta = \ln \eta r / C, \quad \eta r = \eta / \eta o$$

ηo : 용매의 류출 시간

η : 단백질의 류출 시간

9. 탁도 측정

Actomyosin 1mg/ml가 되도록 0.6M NaCl, 20mM sodium phosphate (pH7.0)용액을 첨가하여 용해시킨 후 Mucoprotein(0~0.1mg/ml)을 첨가하여 25~50℃의 범위에서 15분간 반응시켰다. 그런 다음 spectrophotometer (UVIDEC-610 JASCO Co.)를 이용하여 340nm에서

흡광도를 측정하였다.

10. 모델 소시지의 원료

본 실험에 사용된 돈육은 목살 부위으로서 가락동 농수산물센터에서 구입하여 지방을 제거한 후 이용하였으며 NaCl(Junsei Chemical Co), Sodium phosphate(Shinyo chemical Co.)와 potato starch(Duksan Co.)를 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 mucoprotein은 (주)정우식품에서 공급받은 닭벼슬에서 추출하여 사용하였다. 또한 보조 물성 개량제로서 사용된 carrageenan은 Korea Carraghen Co.에서 공급받아서 사용하였다.

11. 모델 소시지 제조

돈육에 2.5% NaCl을 첨가하여 Speed cutter(National Co. serial No. MK-K57-W)에 넣고 소금갈이를 한 후 물성 개량제를 첨가, 전분 5%와 ice water 40%를 첨가하여 혼합하여 유화시켰다. 완성된 유화물은 케이싱(48 x 400mm)에 충전 후 4℃에서 30분간 냉장보관한 후 80℃에서 25분간 가열처리하였다. 가열 후 냉수로 급냉하고 4℃의 냉장온도에서 저장하면서 실험하였다. 시료 제조 과정을 Fig. 1에 나타내었다.

한편, mucoprotein의 특성을 비교하기 위하여 carrageenan 사용하였으며, mucoprotein과 carrageenan을 10:0, 7:3, 5:5, 3:7, 0:10의 비율에 따라 혼합한 후 첨가하여 소시지를 제조하였다 혼합 비율은 아래의 Table 1과 같다.

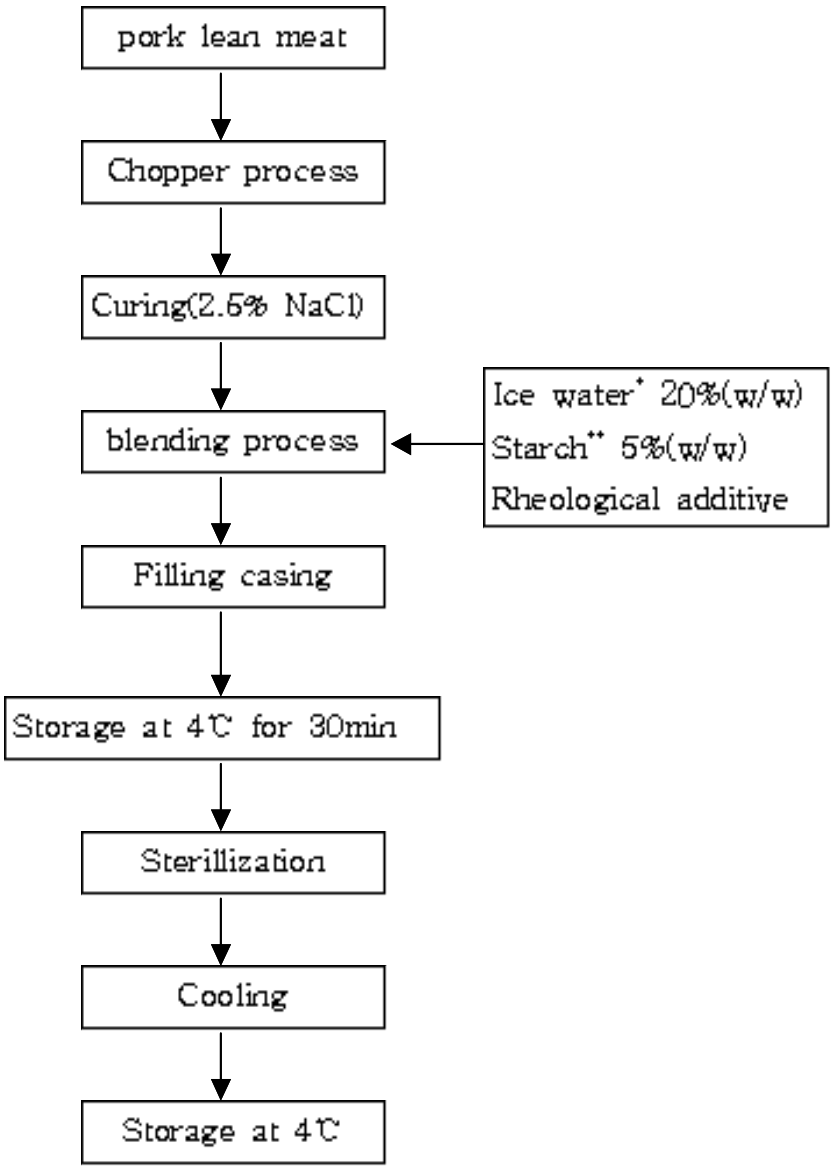


Fig. 1. The manufacturing process for experimental sausage.

*: ice water added 20% concentration about pork lean meat weight(g)

** : Starch added 5% concentration about total weight(g) of pork lean meat and ice water

12. 모델 소시지의 Rheological properties

성형된 소시지의 처리구별 물성 변화를 보기 위하여 소시지 제조 후 12시간 이상 4℃로 저장한 소시지를 37℃에서 4시간 처리한 후 일정한 높이(20mm)로 절단한 다음 rheometer (COMPAC-100,SunScientific Co., Tokyo, Japan)로 texture를 측정하였다. 이때 측정 조건으로는 clearance 18mm(90% compression ratio), full scale force 10Kg, Table speed 60mm/min이었으며 측정에 이용한 probe는 구형이며 지름이 20mm인 NO.2를 사용하였다. 처리구당 10회 이상 측정하였으며 항목은 Breaking strength(g), Breaking strain(mm), Yield point(g)을 측정하였다. 또한 측정항목을 이용하여 Gel strength, Breaking strain / Breaking strength을 측정하였다. 계산식은 아래와 같다.

Gel strength(g*cm) = Breaking strength * Breaking strain

Table 1. Mixture ratio of mucoprotein and carrageenan(%)

	Carrageenan	Mucoprotein	Total*
Control	0	0	0
10:0	1.0	0	1
7:3	0.7	0.3	1
5:5	0.5	0.5	1
3:7	0.3	0.7	1
0:10	0	1.0	1

13. 모델 소시지의 Water holding capacity(WHC)

돈육에 2.5% NaCl을 첨가하여 Speed cutter(National Co. serial No. MK-K57-W)를 이용하여 소금갈이를 한 후 80%의 ice water를 첨가하여 혼합하여 유화시켰다. 완성된 유화물에 mucoprotein과 carrageenan을 농도별로 첨가하여 잘 혼합한 후 80℃에서 15분간 가열처리하였다. 가열 후 냉수로 급냉한 후 10,000rpm에서 20분간 원심 분리를 한 후 생성된 수분을 제거하여 수분 제거 전, 후의 소시지 무게를 측정 비교하였다. Water holding capacity(%)는 아래의 식과 같이 계산하였다.

$$\text{WHC}(\%) = \frac{\text{전체시료무게} - \text{원심분리 후 시료무게(g)}}{\text{전체시료 무게(g)}} \times 100$$

14. 모델 소시지의 SDS-PAGE 분석

조제된 각각의 소시지 0.4g을 8M urea, 2% mercaptoethanol, 2% SDS, 20mM Tris-HCl(pH 8.0) 7.5ml를 첨가한 후 100℃에서 2분간 가열하였다. 6시간 동안 교반하면서 가용화 시킨 후 Laemmli법에 따라서 10% polyacrylamide gel을 이용한 SDS-PAGE를 행하였으며, commassie brilliant blue R로 염색하였다. 탈색은 50% MeOH, 7% Acetic acid를 이용하여 15분간, 9.2% Acetic acid로 겔의 배경이 투명화 될 때까지 수행하였다.

15. 모델 소시지의 Scanning electron microscopy(SEM)

제조된 소시지를 5*5*1mm의 크기로 절단한 다음 동결기(Ilsin Co.)로 동결시킨 후 동결건조기(Ilsin Co.)로 건조시켰다. 다음에 Carbon Coater(Hitachi co.)를 사용하여 도금한 후 Scanning electron microscopy(Hitachi Co.)를 이용하여 300배로 관찰하였다.

16. 통계 분석

실험 결과는 통계 패키지 SAS를 이용하여 2원 분산분석 법(two-two ANOVA)에 의해 유의성을 검토하고 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 각 조건에 따른 유의적 차이를 비교하였다.

17. 모델 두부의 원료

본 실험에 사용된 콩은 국내산 대두콩으로서 가락동 농수산물센터에서 구입하여 이용하였으며 두부 응고제로 이용된 황산마그네슘(Junsei Chemical Co)과 염화마그네슘(Junsei Chemical Co)으로 1:1 비율로 혼합

하여 사용하였다. 실험에 사용된 mucoprotein은 (주)정우식품에서 공급받은 닭벼슬에서 추출하여 사용하였다. 또한 보조 물성 개량제로써 사용된 carrageenan은 Korea Carraghen co에서 공급받아서 사용하였다.

18. 모델 두부의 제조

콩 100g을 깨끗이 수세하여 두유제조기(이온맥 Co, serial No. IOM-201B)를 이용하여 두유 1700ml을 제조하였다. 제조된 두유를 80℃로 유지하면서 응고제를 생대두량의 6%를 첨가하여 30분간 응고한 후 성형틀(크기 100*80*65mm)로 응고물을 옮기고 30분간 압착성형하여 두부를 제조하였다.

19. Mucoprotein와 carrageenan 첨가

Mucoprotein와 carrageenan을 농도별로 혼합한 후 100ml의 증류수에 현탁시켜 80℃에서 5분간 반응을 시킨 후 두부제조 시 두유에 응고제를 첨가할 때 동시에 첨가하였다. 첨가농도는 아래의 표와 같다(Table 2).

20. 모델 두부의 수율 및 texture 측정

두부의 수율은 압착 성형 후 무게를 측정하여 사용한 대두 무게를 기준으로 계산하였다. 성형된 두부의 열처리 전후의 물성 변화를 보기 위하여 두부 제조 후 12시간 이상 4℃로 저장한 두부를 일정한 크기(35*35*5mm)로 절단한 다음 90℃에서 30분간 열처리 하였다. 열처리 후 시료의 온도가 떨어지지 않게 하기 위하여 60℃에서 보관하며 rheometer(COMPAC-100,SunScientific Co., Tokyo, Japan)로 열처리 전후의 texture를 측정하였다. 이때 측정 조건으로는 clearance 3mm(60% compression ratio), full scale force 2Kg, Table speed 60mm/min이었으

며 측정에 이용한 원통형 probe NO.11은 지름이 30mm를 사용하였다. 한 시료당 2회 이상 측정하여 Hardness, Brittleness, Cohesiveness, springiness의 값으로 나타내었다. 또한 모든 처리구는 10회 이상 측정하였다.

21. 모델 두부의 SDS-PAGE 분석

각각의 두부 0.4g을 8M urea, 2% mercaptoethanol, 2% SDS, 20mM Tris-HCl(pH 8.0) 7.5ml를 첨가한 후 100℃에서 2분간 가열하였다. 6시간 동안 교반하면서 가용화 시킨 후 Laemmli법에 따라서 10% polyacrylamide gel을 이용한 SDS-PAGE를 행하였으며, commassie brilliant blue R로 염색하였다. 탈색은 50% MeOH, 7% Acetic acid를 이용하여 15분간, 9.2% Acetic acid로 겔의 배경이 투명화 될 때까지 수행하였다.

22. 모델 두부의 Scanning electron microscopy(SEM)

제조된 두부를 5*5*1mm의 크기로 절단한 다음 동결기(Ilsin Co.)로 동결시킨 후 동결건조기(Ilsin Co.)로 건조시켰다. 다음에 Carbon Coater(Hitachi Co.)를 사용하여 도금한 후 주사전자현미경(Hitachi Co.)를 이용하여 300배로 관찰하였다.

Table 2. Mixture ratio of mucoprotein and carrageenan(%)

	Carrageenan	Mucoprotein	Total*
Control	0	0	0
10:0	2	0	2
7:3	1.4	0.6	2
5:5	1	1	2
3:7	0.6	1.4	2
0:10	0	2	2

23. 관능평가

관능검사에 기초적인 지식과 관심을 가지고 있는 10명의 관능요원에 의해 두부의 풍미, 부드러움, 탄력성, 견고성, 종합적 기호도를 9점 척도법으로 대조구와 비교를 하여 측정하였다. 즉 풍미와 종합적 기호도는 매우 나쁘다(1)에서 매우 좋다(9)로 하였으며, 탄력성과 견고성, 부드러움은 매우 약하다(1)에서 매우 강하다(9)으로 평가하였다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. 닭벼슬의 일반성분 및 mucoprotein의 분리

1) 닭벼슬의 일반성분

닭벼슬의 일반성분을 분석하여 Table 3에 결과를 제시하였다. 닭벼슬 중의 수분은 약 32.3%였으며, 조단백질 45.1%, 조지방 2.8%, 회분 11.1%, 탄수화물 8.7%을 나타내었다. 즉, 일반성분 중 조단백질이 상대적으로 가장 높은 비중을 차지하고 있었으며, 조지방이 가장 낮은 비중을 차지하고 있었다.

Table 3. Approximate composition of cockscomb

Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate
32.3	45.1	2.8	11.1	8.7

[1)]Calculation of protein content = N(%) x 6.25(nitrogen factor)

2) Mucoprotein의 분리 및 조제

닭벼슬의 특성상 mucoprotein의 용출을 용이하게 하기 위하여 80~100 ℃에서 30분간 가열 하였다. 닭벼슬 중량의 4배량의 증류수를 첨가하여 교반하면서 0.05N이 되도록 고형 NaOH를 첨가한다. 약 50℃에서 1시간 동안 교반을 하여 Mucoprotein을 추출하는데 여기에서 온도관리가 Mucoprotein의 수율에 영향을 미친다. 충분히 추출한 후 4N HCl로 pH를 7.0으로 조절한 다음 규조토 여과를 이용하여 불순물을 제거한 후 여과액 100ml에 대하여 황산암모늄 70g을 첨가하여 약 30분간 방치하면 침전이 생성되기 시작하며, 이것을 원심분리(10,000 × g、30min) 하여 침전물을 얻는다. 침전물 중량에 10배량의 증류수를 첨가한 현탁액을 투석막에 투석하여 황산암모늄을 제거하고, 동결건조 하여 mucoprotein powder를 취하였다. 즉 mucoprotein powder의 조제 공정은 Fig. 2와 같

다.

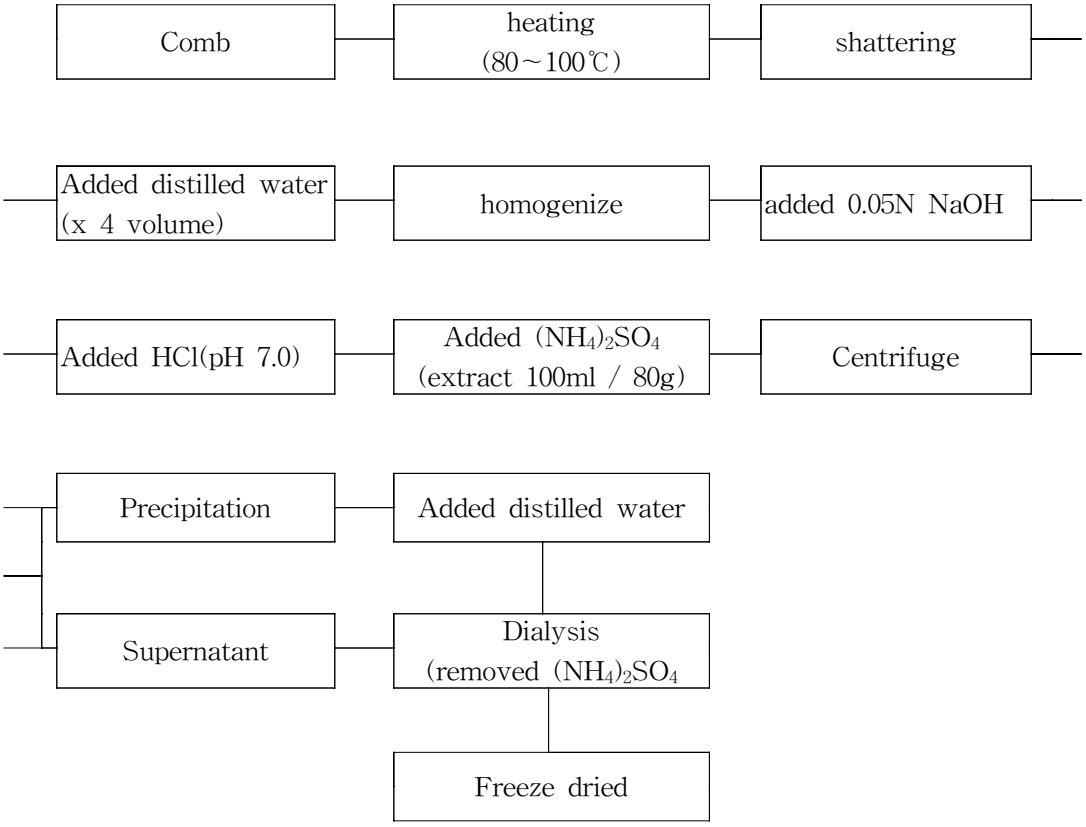


Fig. 2. Preparation of mucoprotein from chicken comb.

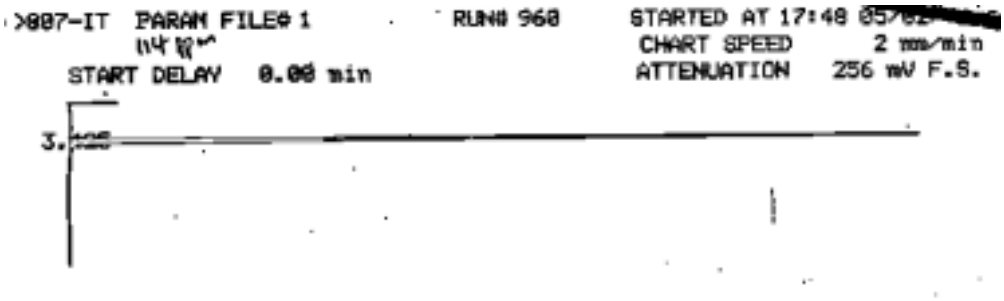
3) HPLC 및 SDS-PAGE에 의한 mucooprotein의 성분 분석

mucoprotein에 protease(papain)를 첨가하여 단백질을 제거한 후 HPLC를 이용하여 mucoprotein 중의 주요성분에 대하여 분석하여 Fig. 3에 그 결과를 제시하였다. mucoprotein 중에는 대부분 단백질과

hyaluronic acid로 이루어져 있는 것으로 알려져 있으므로 hyaluronic acid 표품을 대조구로 하여 비교하였다. Fig. 3(a)에 제시한 hyaluronic acid 표품의 패턴을 살펴보면 약 3.45분 후에 단일 peck가 검출되었다. 한편, Fig. 3(b)에 제시한 단백질을 제거한 샘플의 경우를 살펴보면 3.45분 후에 주요 peck 및 5.642분 후에 작은 peck가 검출되었다. 3.45분 후에 검출된 peck는 hyaluronic acid 표품과 검출되는 시간이 일치하므로 mucoprotein 중의 다당류는 hyaluronic acid가 주성분인 것으로 판단되었다. 또한, 5.642분 후에 검출된 작은 peck는 전체의 약 0.59%에 불과하였으며 제거되지 않은 소량의 미량 성분으로서 무시하여도 좋을 것으로 사료되었다.

다음은 mucoprotein에 hyaluronidase를 첨가하여 hyaluronic acid를 제거한 후 SDS-PAGE에 의한 단백질의 sununit 조성을 검토하여 Fig. 4에 제시하였다. 이 결과에 의하면 약 45kDa~205kDa의 범위에서 다수의 protein band가 검출되었다. 따라서, 이상의 결과로부터 mucoprotein은 분자량이 다양한 protein과 hyaluronic acid의 복합체로 존재하는 것으로 사료되었다.

(a)



(b)

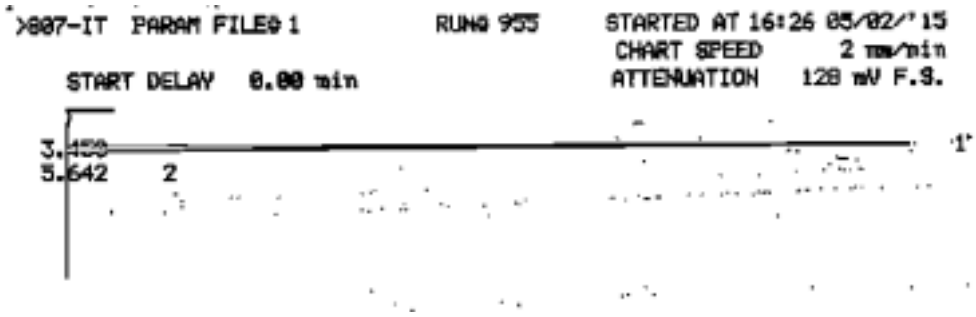


Fig. 3. Analysis of mucoprotein by HPLC

(a) Standard of hyaluronic acid

(b) Mucopolysaccharide after removed protein

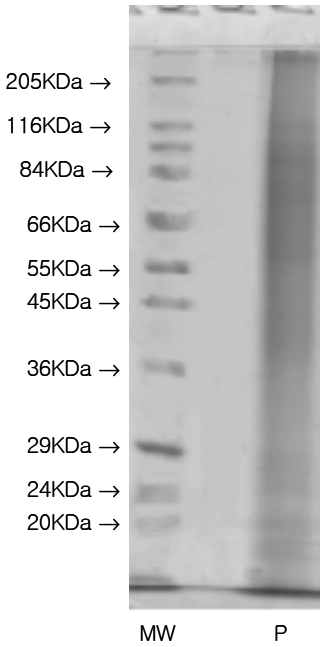


Fig 4. SDS-PAGE patterns of protein in mucoprotein

MW : molecular weight P : protein

4) Mucoprotein 중의 Protein 및 Hyaluronic acid 함량

Fig. 2의 제조법으로 제조한 닭벼슬 중의 mucoprotein의 함량은 14.53%였다. 이중 hyaluronic acid 및 protein의 함량을 구하기 위하여 hyaluronic acid 표품의 HPLC 정량 분석에 의한 검량선(Fig. 5)을 작성하여 mucoprotein 중의 hyaluronic acid의 함량을 산출하였다. 또한 mucoprotein 중의 단백질 함량은 mucoprotein 중의 hyaluronic acid 함량을 뺀 값으로 하였고 그 결과를 Table 4에 제시하였다. 이 결과에 의하면 protein과 hyaluronic acid의 함량은 각각 8.83 및 5.7%였다.

Table 4. Contents of protein and hyaluronic acid in mucoprotein.

Mucoprotein(%)	Protein(%)	Hyaluronic acid(%)
14.53	8.83	5.7

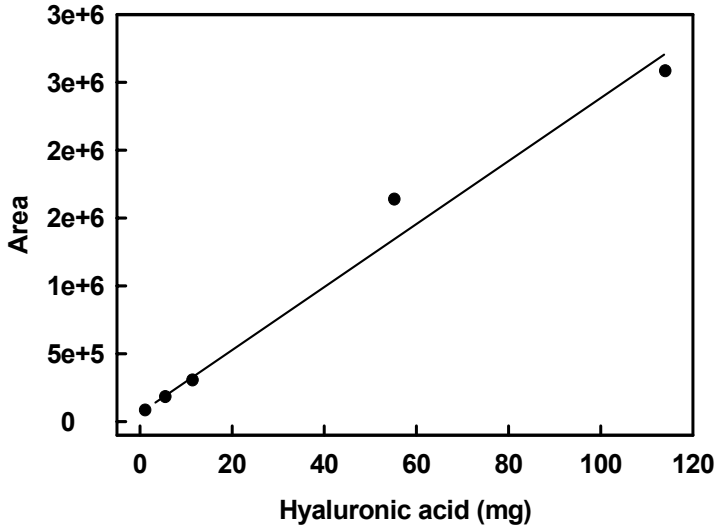


Fig. 5. Standard curve of hyaluronic acid by HPLC analysis.

2. Mucoprotein과 이종 단백질과의 상호작용

1) 축육 단백질(돈육의 actomyosin)과 mucoprotein의 상호작용

mucoprotein과 이종의 단백질과의 친화력에 대한 검토를 위하여 돈육의 주요 단백질인 actomyosin을 분리한 후 0.6M NaCl 조건하에서 actomyosin 농도 5mg～10mg/ml에 대한 mucoprotein 0～2mg/ml를 첨가하여 반응(4℃, 1시간)시켰을 때의 용해도를 측정하였다(Fig. 6). 우선 actomyosin 농도 5mg/ml의 경우를 살펴보면 mucoprotein의 첨가량이 0.5mg/ml 까지는 농도가 증가할수록 급격히 용해도가 저하하는 것으로 나타났다. 그러나 mucoprotein의 첨가량이 0.5mg/ml 이상에서는 농도 증가와 함께 서서히 용해도가 증가하였다. actomyosin의 농도를 10mg/ml로 하였을 때의 용해도를 검토하면 mucoprotein의 농도가 1.0mg 까지는 급격히 저하하는 경향이었지만 그 이상에서는 최저점에 달한 후 그다지 큰 변화는 인정되지 않았다. 이상의 결과는 actomyosin이 mucoprotein과 친화력이 매우 우수한 것으로 사료되었다. 즉, actomyosin에 mucoprotein을 첨가하여 반응시키면 상호작용에 의한 고분자화가 일어나 침전으로 이동되어 actomyosin의 용해도를 저하시키는 것으로 사료되었다. 또한 actomyosin의 단백질 농도 차이에 따른 변화를 살펴본 결과 단백질 농도와는 관계없이 actomyosin : mucoprotein의 비율이 10 : 1일때 용해도가 최저점에 달하는 것으로 나타나고 있어, 일정비율 이상에서는 더 이상 상호반응이 일어나지 않는 것으로 판단되었다.

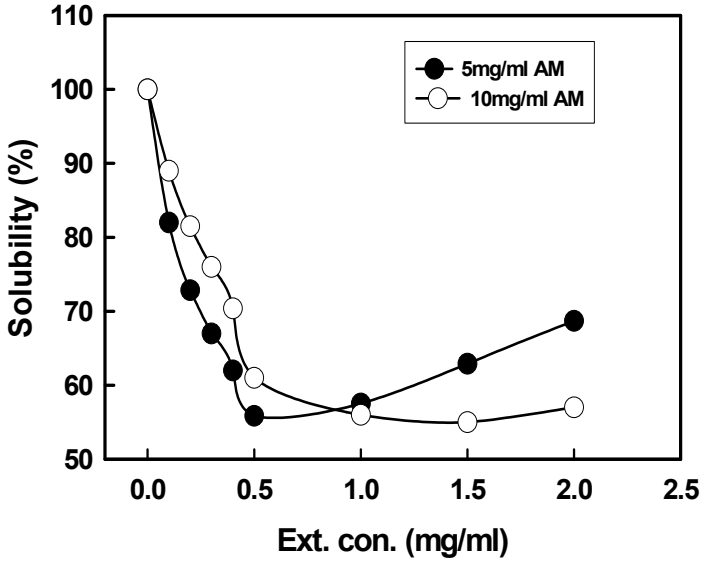


Fig. 6. Changes in solubility of actomyosin centrifuged after reaction between actomyosin and mucoprotein at various concentrations.

다음은 Fig. 6에서 제시한바와 같이 용해도가 저하할 때 상등액의 단백질 조성의 변화를 SDS-PAGE로 분석한 후 Fig. 7에 결과를 제시하였다. 대조구(mucoprotein 무첨가)의 경우 actomyosin의 전형적인 패턴인 주요 단백질인 myosin과 actin이 관찰되었다. 그러나 mucoprotein의 첨가량이 증가하면서 myosin과 actin band가 감소하기 시작하였으며, mucoprotein의 첨가량이 높을수록 myosin과 actin의 감소량이 많아지는 것으로 관찰되었다. 이상의 결과는 앞서 제시한 Fig. 6의 용해도의 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 즉, actomyosin에 mucoprotein을 첨가하면 actomyosin과 mucoprotein의 상호작용에 의한 일부 actomyosin의 고분자화가 발생하며, 원심분리에 의하여 침전으로 이전하므로 원래의 상등액 중의 actomyosin의 함량보다 actomyosin의 함량이 줄어들어 SDS-PAGE 상에서 myosin과 actin이 적게 관찰되는 것으로 사료되었다. 이와 같은 현상은 mucoprotein의 첨가량이 높을수록 현저히 나타났다.

Fig. 8에는 0.6M NaCl의 조건하에서 actomyosin과 mucoprotein과의 상호작용에 의한 용해도의 변화를 pH를 달리하여 검토하였다. actomyosin의 농도는 10mg/ml로 하였으며 mucoprotein의 첨가량은 1 또는 2mg/ml로 하였다. actomyosin 단독의 경우는 pH가 높아질수록 용해도가 증가하였으며 pH 7.0 이상에서 최대값을 나타내었다. 그러나 actomyosin에 mucoprotein을 첨가하였을 때 pH 6 및 8에서는 actomyosin의 단독과 비교하여 용해도의 큰 차이가 인정되지 않았으나, pH 7에서는 actomyosin 단독과 비교하여 mucoprotein 첨가구의 용해도가 현격히 저하되었다. 이와 같은 결과로부터 actomyosin과 mucoprotein과의 상호작용의 최적 pH는 7.0인 것으로 사료되었다.

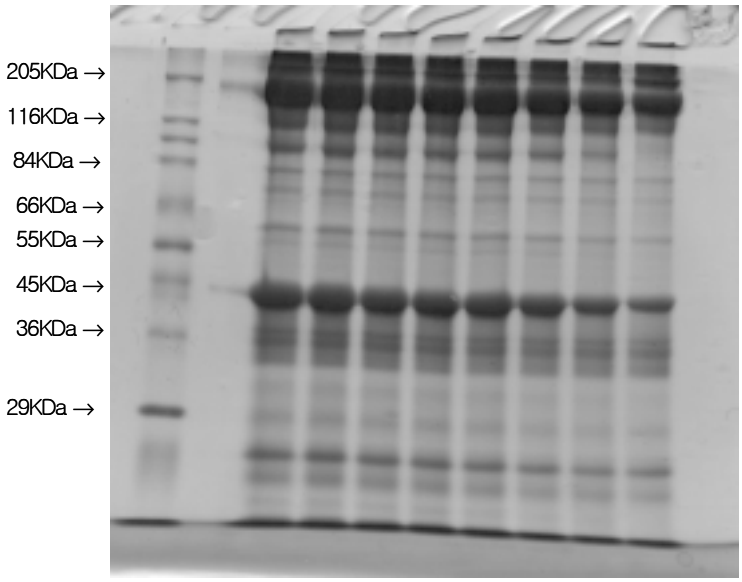


Fig. 7. SDS-PAGE patterns of supernatant obtained by centrifugation after reaction between actomyosin and mucoprotein at various concentrations.

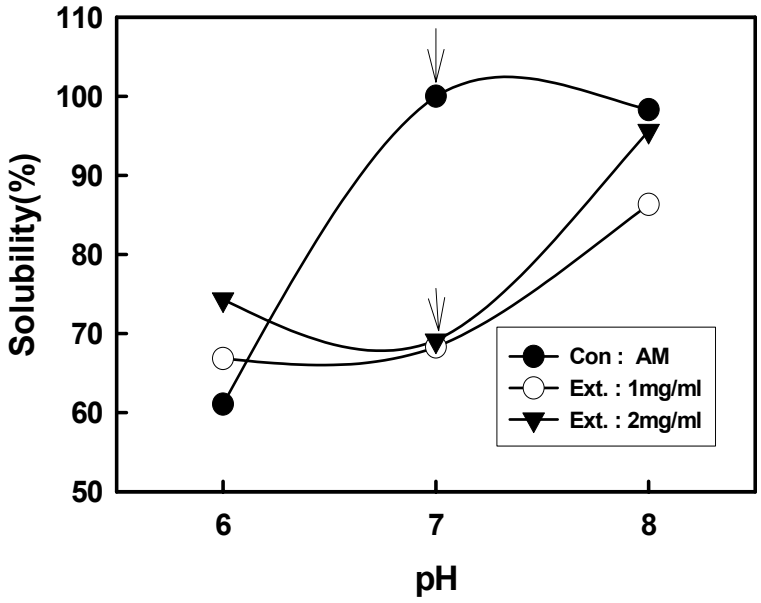


Fig. 8. Changes in solubility of actomyosin centrifuged after reaction between actomyosin and mucoprotein at various pH.

다음은 Fig. 8의 용해도의 pH 의존성 결과를 SDS-PAGE를 이용하여 분석하여 Fig. 9에 결과를 제시하였다. pH 6 및 8의 경우에 있어서는 actomyosin의 단독 처리구와 mucoprotein 첨가구간의 차이는 거의 인정되지 않았다. 그러나 pH 7의 경우 actomyosin 단독 처리구와 비교하여 mucoprotein 첨가구는 주요 단백질인 myosin과 actin의 감소가 관찰되었으며, Fig. 7의 결과를 뒷받침 해주는 결과였다.

Fig. 10에는 0.6M NaCl의 조건하에서 actomyosin과 mucoprotein과의 상호작용에 의한 용해도의 변화를 온도를 달리하여 검토하였다. 온도처리는 15분간으로 하였다. actomyosin의 농도는 10mg/ml로 하였으며 mucoprotein의 첨가량은 1mg/ml로 하였다. actomyosin 단독 처리구(대조구)의 경우는 온도가 높아질수록 용해도가 저하하였으며 30℃ 이상에서 급격히 저하하였다. 또한 actomyosin + mucoprotein의 첨가구의 경우에 있어서도 대조구와 거의 같은 경향을 나타내었다. 이상의 결과는 비열처리 또는 열처리를 하여도 actomyosin과 mucoprotein 간의 친화력이 우수한 것으로 판단되었으며, 이는 단백질 식품의 물성개량제 및 새로운 제품개발의 소재로서 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

한편, 이와 같은 현상을 재차 확인하기 위하여 SDS-PAGE에 의한 상등액 중의 단백질 조성을 검토하여 Fig. 11에 제시하였다. 대조구 또는 actomyosin + mucoprotein의 첨가구와 관계없이 온도 상승과 함께 actomyosin의 주요 단백질인 myosin과 actin의 감소를 뚜렷하게 관찰할 수 있었으며, Fig. 10의 결과를 지지하였다.

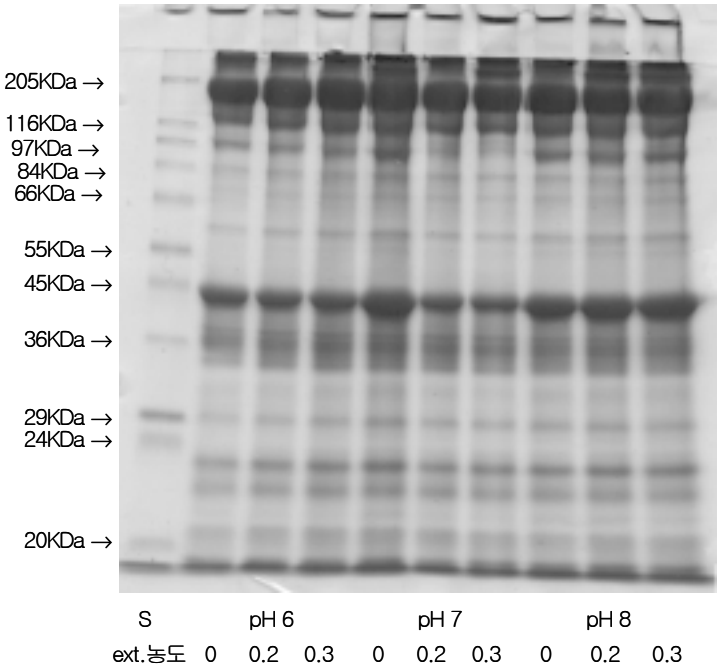


Fig. 9. SDS-PAGE patterns of supernatant obtained by centrifugation after reaction between actomyosin and mucoprotein at various pH.

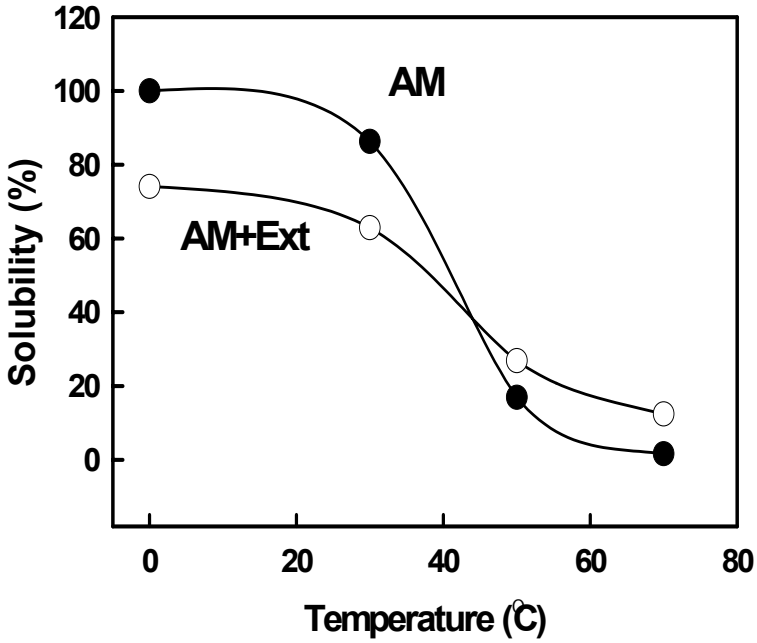


Fig. 10. Changes in solubility of actomyosin centrifuged after reaction between actomyosin and mucoprotein at various temperatures.

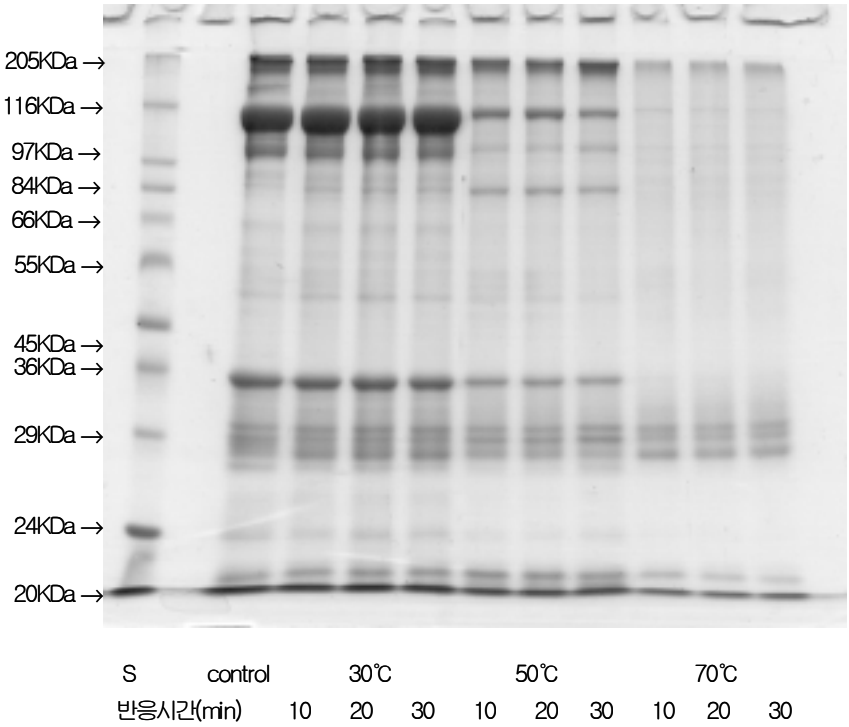


Fig. 11. SDS-PAGE patterns of supernatant obtained by centrifugation after reaction between actomyosin and mucoprotein at various temperatures.

Fig. 12에는 actomyosin과 mucoprotein을 각각의 농도 비율로 혼합한 후 열처리에 의한 탁도의 변화를 제시하였다. 온도 상승 및 mucoprotein의 농도 비율이 증가할수록 탁도는 증가하였다. 특히 actomyosin 단독으로 열처리 하였을 경우 25℃에서 30℃로 불과 5℃의 상승으로 급격한 탁도의 증가가 나타났으며, 그 이상의 온도에서는 약간의 탁도 증가만이 인정되었다. 이와 같은 결과는 25℃부터 30℃에 걸쳐서 열에 의한 actomyosin의 구조변화가 일어났기 때문인 것으로 사료되었다. 한편 actomyosin에 대하여 mucoprotein을 첨가하면 25℃에서도 첨가량이 증가할수록 급격한 탁도의 증가를 나타내었으며, actomyosin : mucoprotein의 비율이 10 : 1인 경우 actomyosin을 50℃에서 열처리한 것과 같은 탁도를 나타내었다. 이는 mucoprotein을 첨가함으로서 역시 actomyosin의 구조변화가 일어나는 것으로 판단되었다. 그러나 actomyosin의 열에 의한 구조변화와 mucoprotein 첨가에 의한 actomyosin의 구조변화는 그 양식에 있어서 다를 것으로 사료되며 이에 관한 연구는 앞으로 좀더 자세하게 이루어져야할 것으로 생각된다.

Fig. 13에는 actomyosin과 mucoprotein을 각각의 농도 비율로 혼합한 후 열처리에 의한 점도의 변화를 제시하였다. mucoprotein의 농도 비율이 증가할수록 점도는 증가하였으나, 온도는 상승할수록 오히려 점도는 저하하였다. 이와 같은 결과는 actomyosin의 경우 온도가 30℃ 이상에서 구조변화(수축)에 의한 점도의 저하가 이미 보고 되고 있어 구조변화에 의한 점도의 저하로 생각된다. 그러나 온도와는 관계없이 mucoprotein의 첨가량이 증가할수록 약간의 점도 상승이 인정되었는데 이는 actomyosin과 mucoprotein과의 상호작용에 의한 고분자화가 추측되고 있다.

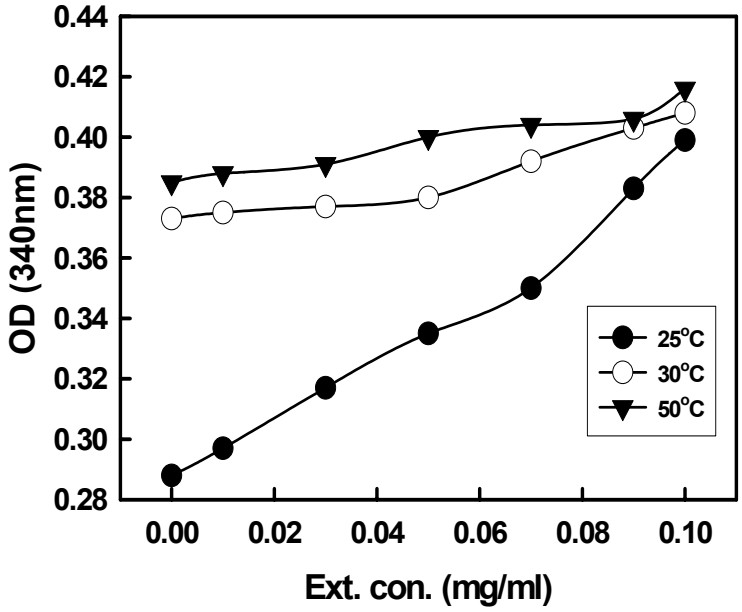


Fig 12. Changes in turbidity of complex actomyosin by reaction between actomyosin and mucoprotein at various temperatures and concentrations.

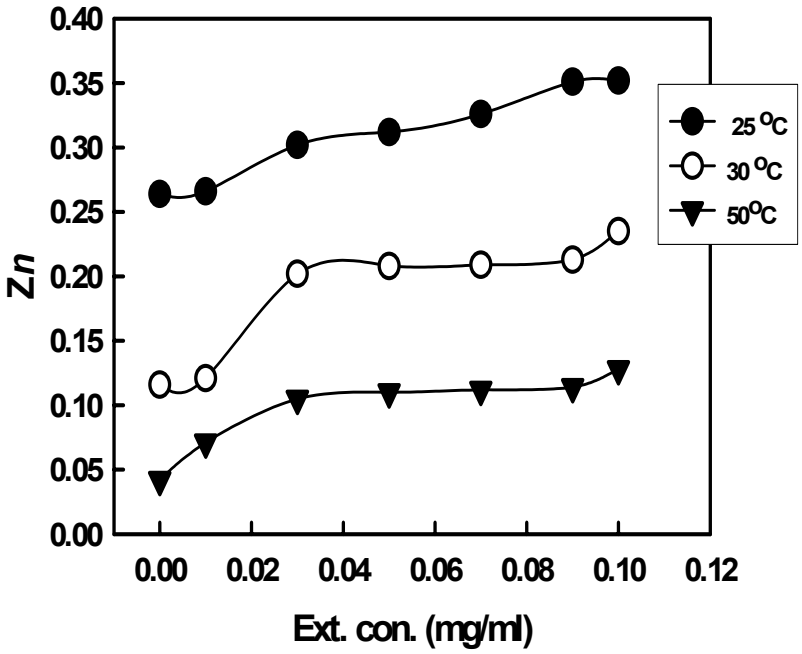


Fig 13. Changes in viscosity of complex actomyosin by reaction between actomyosin and mucoprotein at various temperatures and concentrations.

2) 대두 단백질과 mucoprotein의 상호작용

대두 단백질과 mucoprotein과의 상호작용을 검토하기 위하여 용해도를 측정하였다. 대두 단백질은 알카리 가용성 이므로 pH 8에서 가용화한 대두 단백질 5mg/ml에 mucoprotein 첨가량을 0~0.5mg/ml를 첨가하여 용해도를 측정한 결과(Fig. 14) 0.2~0.3mg/ml 첨가구에서 가장 낮은 용해도를 나타내었다. 용해도가 최저점에 도달하였을 때의 대두 단백질 : mucoprotein의 비율을 보면 25 : 1~50 : 3이었으며 이는 앞서 제시한 actomyosin의 경우와 상이한 점이었다.

한편, 이와 같은 현상을 재차 확인하기 위하여 SDS-PAGE에 의한 상등액중의 단백질 조성을 검토하여 Fig. 15에 결과를 제시하였다. 이 결과에 의하면 대두 단백질과 mucoprotein의 상호작용에 의한 용해도가 저하되었던 0.2 및 0.3mg/ml의 첨가구에서 80kDa, 50kDa, 32kDa에 상당하는 단백질의 감소가 관찰되었으며, 용해도의 결과와 일치하고 있다.

다음은 대두 단백질과 mucoprotein과의 반응시 pH 변화가 용해도에 미치는 영향에 대하여 검토하고 Fig. 16에 결과를 제시하였다. 대두 단백질 단독의 용해도는 pH의 상승과 함께 다소 증가하는 추세를 보였으며, pH에 크게 좌우되지 않는 mucoprotein을 첨가함으로서 용해도는 감소하는 추세였다. 한편, 용해도 감소시 상등액의 SDS-PAGE에 의한 단백질의 subunit 조성을 검토하면, Fig. 17에 제시한 것과 같이 80kDa, 50kDa, 32kDa에 상당하는 단백질의 감소가 관찰되었다.

이상의 결과로부터 대두 단백질의 경우도 mucoprotein과의 친화성이 우수한 것으로 사료되었으며, mucoprotein은 동물성 뿐만이 아니라 식물성 단백질과의 친화성도 우수한 것으로 인정되었다.

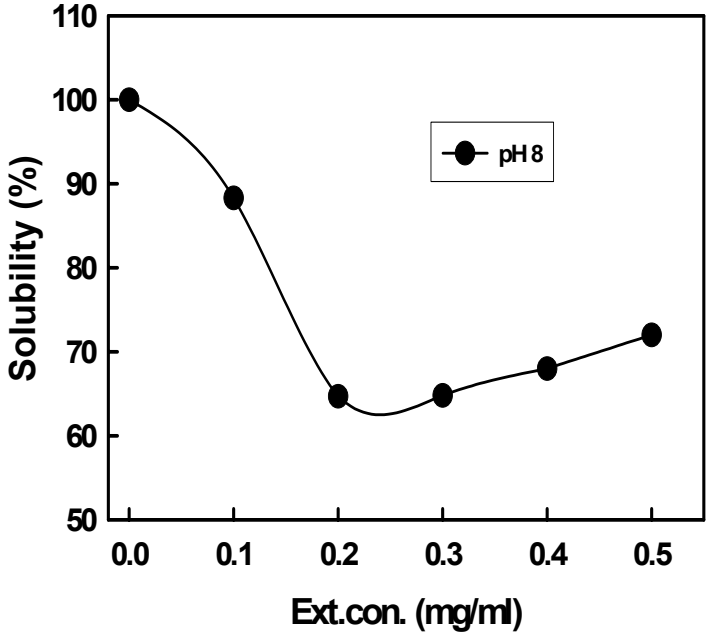
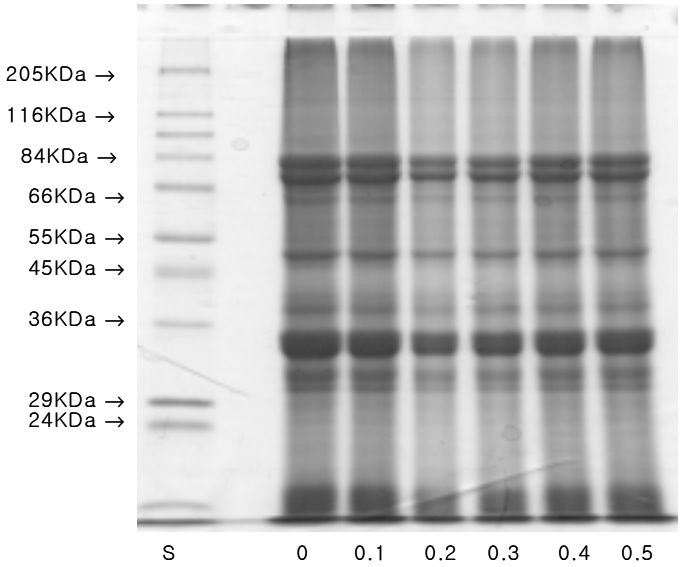


Fig. 14. Changes in solubility of complex soy protein by reaction between soy protein and mucoprotein at various concentrations.



Ext. conc.(mg/ml)

Fig. 15 SDS-PAGE patterns of supernatant obtained by centrifugation after reaction between soy protein and mucoprotein at various concentration.

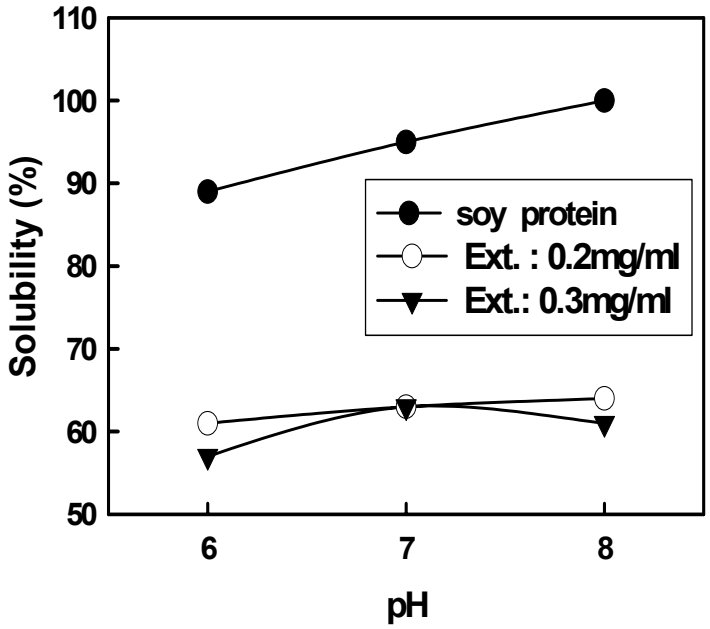


Fig. 16. Effects of pH on the solubility of soy protein by addition of mucoprotein.

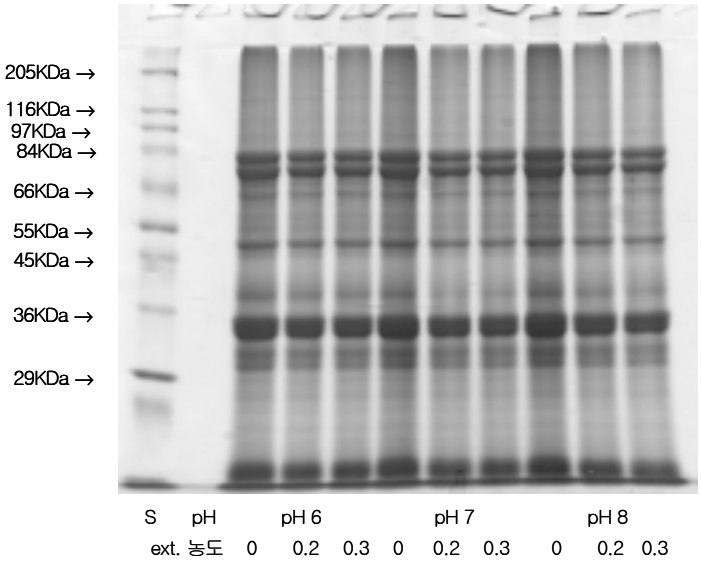


Fig. 17. SDS-PAGE patterns of supernatant isolated by centrifiged after reaction between soy protein and mucoprotein.

3. mucoprotein(MP)과 각종 원료와의 반응에 의한 기능 특성

제 1항에서는 mucoprotein과 이종의 단백질과의 상호작용에 의한 기능적 특성에 대하여 검토하였다. 그 결과 축육 단백질과 대두단백질을 대상으로 검토한 결과 상호작용에 의한 각각의 단백질의 고분자화가 일어나고 있음을 시사하였다. 또한 mucoprotein은 이미 알려져 있는 것과 같이 생리 기능성을 지니고 있는 성분으로서 mucoprotein 중의 hyaluronic acid는 생체 면역증강, 시력회복, 항장력 등의 효과가 있는 것으로 알려지고 있다. 따라서 제 2항에서는 이미 제 1항에서 언급한바와 같이 단백질과의 상호작용에 의한 고분자화의 특성을 살린 물성개량제로서의 이용가능성 뿐만이 아니라 생리 기능적 특성을 동시에 강조할 수 있는 제품개발의 발판을 마련하고자 축육과 대두에 직접 mucoprotein을 첨가하여 모델 연제품을 제조하여 이들에 대한 물성의 변화를 검토하였다. 한편 mucoprotein의 특성과 비교하기 위하여 탄력 증진효과가 있다고 알려져 있는 카라기난을 일부 사용하여 비교 검토하였다.

1) 돈육 모델 소시지의 물성에 미치는 mucoprotein의 영향

Mucoprotein(MP)과 이것에 대한 비교구로서 물성개량제로 알려져 있는 Carrageenan(CA)을 돈육에 대하여 0~1.0%의 범위에서 첨가하여 제조한 모델 소시지의 물성을 검토한 결과를 Table 5에 제시하였다. 각각의 물성은 Breaking strength(g), Breaking strain(mm), Yield point(g) 그리고 Gel strength(g · cm)를 측정하였다. 모델 소시지의 Breaking strength의 결과를 살펴보면 MP 및 CA를 첨가함에 따라서 대조구보다 낮은 값을 나타내었으며, 이와 같은 결과는 MP 및 CA의 첨가가 gel의 강도를 낮추어 주는 것으로 사료되었다. 다음으로 Breaking strain의 경우를 살펴보면 모델 소시지에 MP를 첨가하였을 경우 대조구와 비교하

여 큰 변화는 인정되지 않았다. 그러나 CA를 첨가하였을 경우 첨가량이 증가할수록 Breaking strain이 증가하는 추세를 나타냈었다. 즉, 이상의 결과로부터 MP의 첨가는 Breaking strength의 감소에 비하여 Breaking strain이 감소하지 않는 점으로 보아 gel의 강도에는 저해하지만 탄력성에는 크게 영향을 미치지 않는 인자로 사료되었다. 그러나 CA의 경우는 MP와는 달리 겔의 강도에는 저해하는 요소로 작용하지만 오히려 탄력성에는 크게 상승시키는 작용을 하는 것으로 사료되었다. 이와 같은 결과는 순수한 다당(CA)과 단백질-다당의 복합체(MP)와의 차이점으로 사료되었다.

한편, Gel strength의 경우를 살펴보면 Gel strength는 강도와 탄력성을 동시에 관찰할 수 있는 물성으로서, 우선 MP 첨가구의 경우를 살펴보면 Gel strength는 감소하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 앞서 언급한바와 같이 MP 첨가 시 Breaking strength는 감소하는 반면 Breaking strain은 대조구와 비교하여 거의 변화가 없었으므로 Gel strength의 감소는 Breaking strength의 영향을 크게 받은 것으로 사료되었다. 즉, 이결과에 있어서도 MP는 Gel의 강도만을 저해시키는 작용이 있는 것으로 판단되었다. CA의 경우는 전체적으로 Gel strength가 대조구와 비교하여 점차 증가하는 추세를 나타내었으며, 이는 앞서 언급한바와 같이 CA의 경우도 Gel의 Breaking strength는 감소시키나, Breaking strain은 크게 증가시키는 추세였으므로 Gel strength의 증가는 Breaking strain의 영향을 크게 받은 것으로 사료되었다. 즉, CA는 Gel의 강도에는 저해하는 작용을 하지만, 탄력성에는 상승작용을 하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 MP와 CA의 큰 차이점이었다.

또한 Yield point에 대하여 검토한 결과 MP 및 CA를 첨가함에 따라서 대조구와 비교하여 감소하는 경향을 나타내었다. Yield point는 Gel의

붕괴점을 나타내므로 대조구보다 적은 힘으로 gel을 붕괴시킬 수 있는 것으로 나타나 Gel의 부드러움을 반영한 것으로 사료되었다.

Table 5. Rheological properties of model sausage prepared from pork lean meat at various concentration of carrageenan and mucoprotein.*

(%)		Breaking strength (g)	Breaking strain (mm)	Yield point (g)	Gel strength (g · cm)
0		3327.67±204.22^{a**}	6.83±0.53^{c}	3196.90±241.95^{a}	2299.44±228.24^{c}
MP	0.3	2608.09±170.68^{c}	6.64±0.97^{cd}	2563.73±171.98^{b}	1725.45±220.40^{d}
	0.5	2133.00±71.39^{e}	6.15±0.85^{d}	2107.08±54.24^{c}	1303.29±169.05^{fg}
	0.7	1487.25±66.78^{g}	6.00±0.70^{cd}	1470.08±72.37^{e}	893.70±124.91^{h}
	1.0	2207.08±138.98^{d}	6.63±0.98^{c}	2170.58±130.58^{c}	1463.12±234.32^{e}
CA	0.3	1718.50±67.89^{f}	6.51±0.73^{cd}	1678.42±81.28^{d}	1113.31±101.02^{g}
	0.5	2068.45±164.15^{ed}	6.30±0.44^{cd}	2053.50±176.55^{c}	1306.18±151.87^{ef}
	0.7	2209.00±65.90^{d}	11.03±0.57^{b}	2157.00±95.85^{c}	2439.67±174.32^{b}
	1.0	2817.10±140.08^{b}	12.69±0.45^{a}	2720.00±223.05^{b}	3586.57±218.09^{a}

** Different superscripts within a column indicate significant differences at $P<0.05$ level using Duncan's multiple range test.

2) MP의 첨가에 따른 모델 소시지 물성의 변화율

제 1)에서는 MP 및 CA를 첨가하여 모델 소시지를 제조하였을 때 물성의 변화 특성을 살펴보았다. 다음은 이와 같은 물성의 변화를 자세히 검토하기 위하여 각각의 Gel의 물성에 대한 변화율을 측정하였다.

Fig. 18에는 MP 및 CA를 첨가하여 제조한 Gel의 Breaking strength의 변화율(%)을 측정하여 결과를 제시하였다. 우선 MP 첨가구의 결과를 살펴보면 첨가량에 따라서 최대 약 50%의 감소율을 나타내었다. 또한 CA의 경우에 있어서도 농도의존성에서 MP와 비교하여 약간 경향이 상이한 최대 약 50% 까지 감소하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 Table 5에서 이미 결과를 제시한 것과 같이 MP 및 CA의 첨가가 강한 겔을 약하게 형성시키는 작용이 있는 것으로 사료되었으며, 물성개량제로서의 가능성을 시사한 것이다. 지금까지의 물성개량제는 Gel의 탄력성을 증강시키거나, 더욱 강하게 만드는데 역점을 두었는데 최근에는 강한 Gel 보다 부드럽거나 약하지만 탄력이 있는 등의 식감을 갖는 물성개량제를 개발하고 있다. 이와 같은 물성개량제는 첨가에 의하여 Gel의 보습력이 강조되는 특징을 지니고 있으며, MP 및 CA의 경우도 강한 보습효과가 있을 것으로 예상된다.

Fig. 19에는 Fig. 18의 같은 방법으로 제조한 Gel의 Breaking strain의 변화율(%)을 나타내었다. MP를 첨가하여 제조한 Gel의 breaking strain의 변화율은 대조구와 비교하여 큰 변화는 인정되지 않았다. 그러나, CA를 첨가하였을 경우 약 0.5% 이상에서 급격한 변화율을 나타내었으며, 최대 180%의 변화율을 나타내었다.

일반적으로 Breaking strength가 감소하면 strain도 감소하는 현상이 일어나는데 MP를 첨가한 경우 strength가 감소한데 비하여 strain의 경우는 전혀 감소하지 않았다. 이는 MP를 첨가함에 따라서 gel의 강도를

저해하는 요소로 작용하지만, 탄력성에는 오히려 효과적인 작용을 하는 것으로 사료되었다. CA의 경우에 있어서는 Strength의 감소에 비하여 Strain은 오히려 증가하는 추세를 보였는데, CA는 확실한 gel의 탄력성에 기여하는 것으로 생각되었다.

이와 같은 결과를 재차 확인하기 위하여 strength가 변화할 때 strain에 어떠한 영향을 미치는 지(strain/strength)를 Fig. 22에 결과를 제시하였다. MP 및 CA 모두 첨가량에 의존하여 증가하는 추세를 나타내었으며, CA의 증가폭이 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 강도보다 오히려 탄력성을 강조하는 것으로 나타나 앞서 제시한 Fig. 18(strength) 및 Fig.19(strain)의 결과를 지지하였다.

다음은 Gel strength의 변화율을 측정하여 결과를 Fig. 21에 제시하였다. 우선 MP 첨가구의 경우를 살펴보면 Gel strength의 변화율은 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 CA의 경우는 초기에 약 50% 정도 감소 추세를 보이다가 점차 첨가 농도가 높아질수록 증가하는 추세를 나타내었으며, 최대 150%의 증가율을 나타내었다. 이상의 결과로부터 MP 및 CA의 첨가는 앞서 언급한 바와 같이 Gel의 강도를 저해 시키는 작용과 탄력성을 증진시키는 2가지의 작용이 있는 것으로 판단되었다. 여기에서 Gel strength 변화율이 증가하는 것은 strain의 변화율에 영향을 받았기 때문으로 사료되었다.

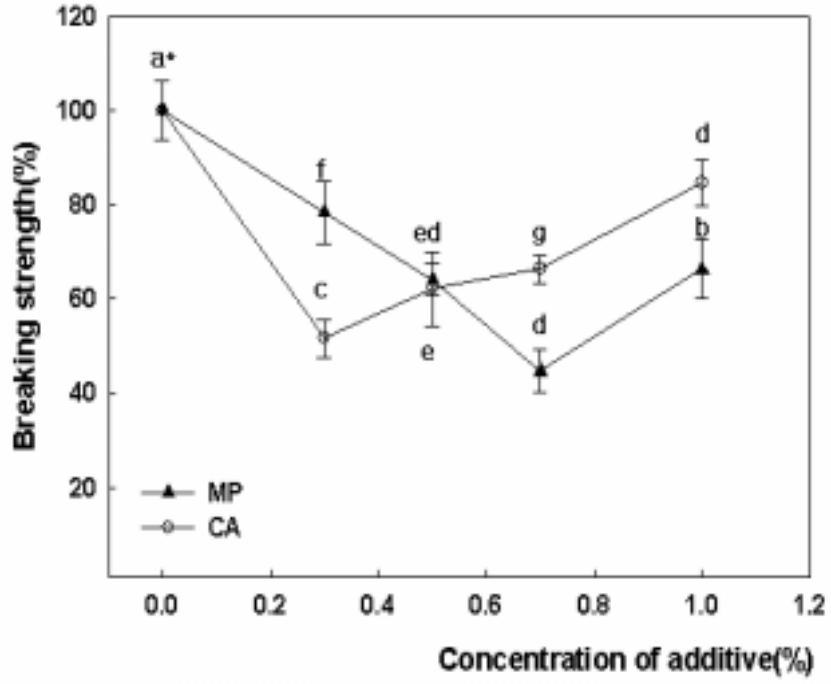


Fig. 18. Change rate(%) in breaking strength of model sausage prepared from pork lean meat at various concentration of carrageenan(CA) and mucoprotein(MP).

*Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

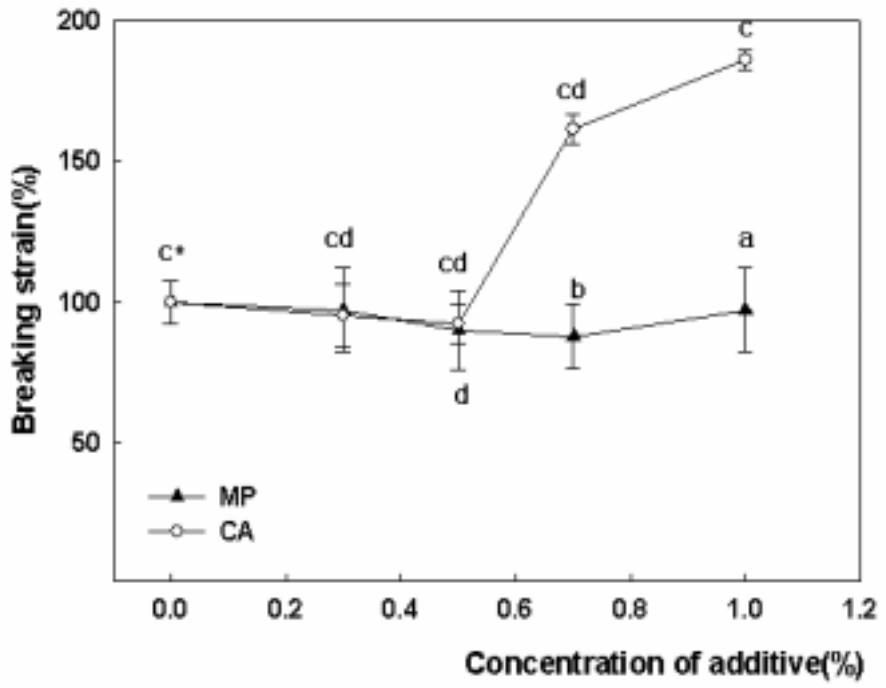


Fig. 19. Change rate(%) in breaking strength (%) of model sausage prepared from pork lean meat at various concentration of carrageenan(CA) and mucoprotein(MP).

*Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

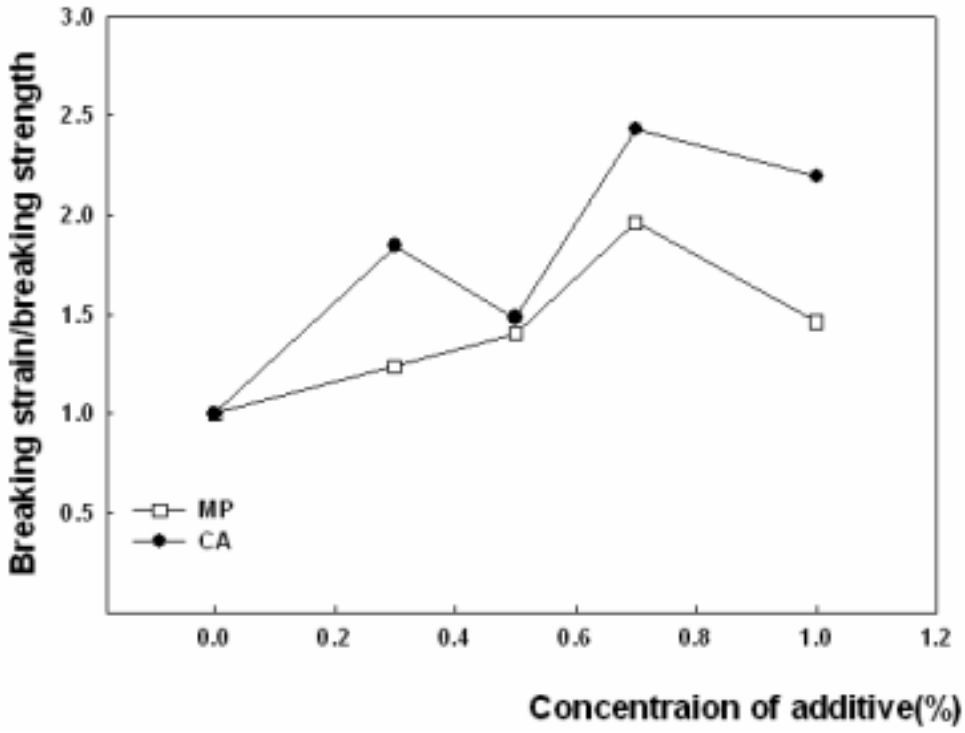


Fig. 20. Change rate(%) in breaking strain/breaking strength of model sausage prepared from pork lean meat at various concentration of carrageenan(CA) and mucoprotein(MP).

Fig. 22에는 Yield point의 변화율에 대하여 검토하였다. MP 또는 CA를 첨가함에 따라서 대조구와 비교하여 변화율이 감소하는 경향을 나타내었다. Yield point의 변화율은 Gel의 붕괴점을 나타내므로 대조구보다 적은 힘으로 gel을 붕괴시킬 수 있는 것으로 나타나 Gel이 부드러워진 것으로 나타났다.

다음은 MP 및 CA를 첨가하여 조제한 모델소시지의 subunit 조성의 변화를 검토하기 위하여 2% SDS, 2% 2-mercaptoethanol, 8M Urea, 40mM Tris-HCl(pH 8.0) 용액(가용화액으로 칭함)에 모델 소시지를 가용화 시켜 SDS-PAGE로 분석하였다(Fig.23). 이 결과에 의하면 MP 또는 CA의 모든 처리구에서 대조구와 비교하여 큰 변화는 인정되지 않았다. 즉, 대조구의 경우 소시지내 단백질 중의 주요 성분인 myosin(분자량 20만)과 Actin(분자량 4.3만)이 관찰되는 전형적인 pattern을 나타내고 있다. 이에 대하여 MP 및 CA 첨가구에 있어서도 대조구와 비교하여 전혀 변화가 없었으며, MP 및 CA는 적어도 단백질과의 강한 결합은 일어나지 않는 것으로 판단되었다. 이를 반영하듯이 앞서 제시한 소시지의 물성에서 strength는 대조구와 비교하여 감소하는 추세를 보였으며, strain은 같거나 증가하는 경향을 나타내었다. 따라서 이와 같은 단백질과의 결합은 약하게 형성된 결합이라고 사료되지만, 수분을 보유할 수 있는 능력은 strain의 결과로부터 오히려 우수한 것으로 예측되었다.

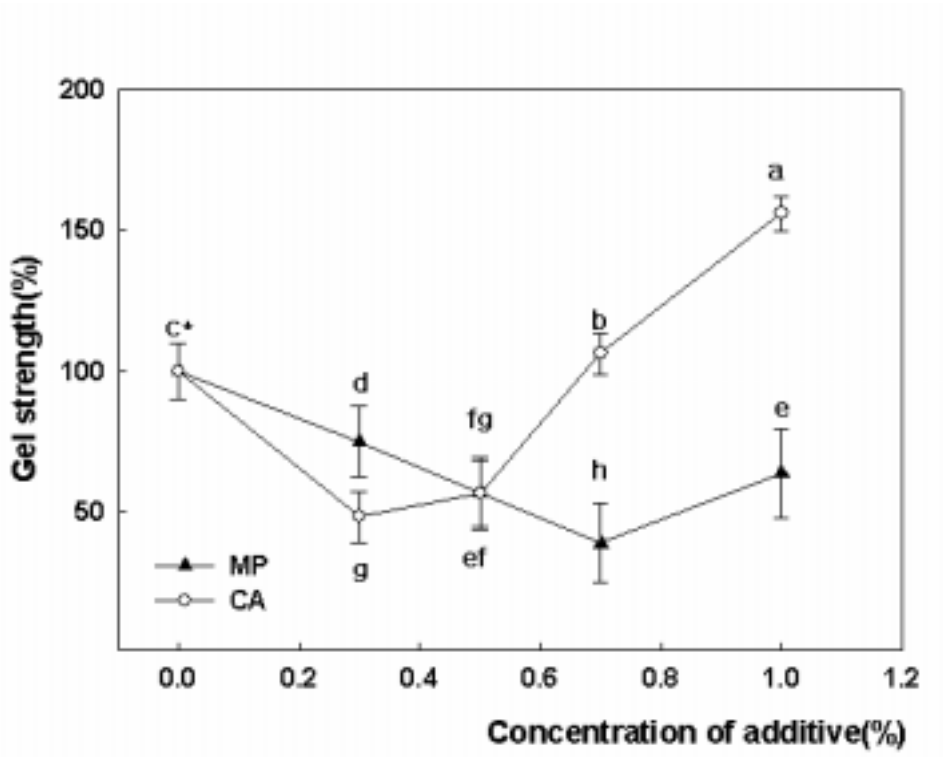


Fig. 21. Change rate(%) in gel strength of model sausage prepared from pork lean meat at various concentration of carrageenan(CA) and mucoprotein(MP).

*Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

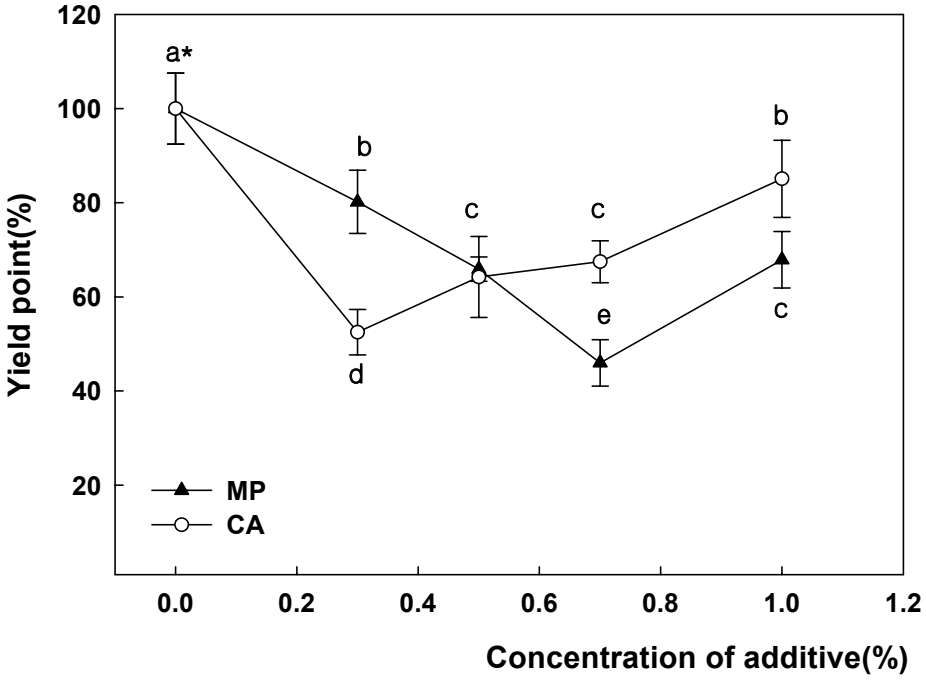


Fig. 22. Change rate(%) in yield point of model sausage prepared from pork lean meat at various concentration of carrageenan(CA) and mucoprotein(MP).

*Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

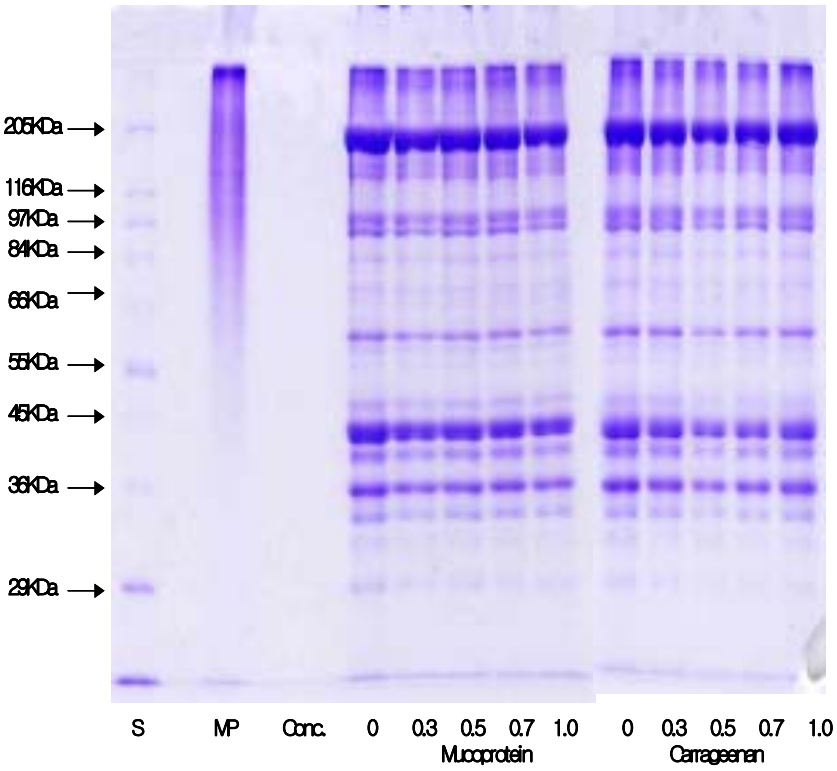


Fig. 23. SDS-PAGE patterns of model sausage prepared from pork lean meat at various concentration of carrageenan(CA) and mucoprotein(MP).

3) MP의 첨가에 따른 모델 소시지의 보수력

제 1) 및 2)에서는 MP 및 CA를 첨가하여 모델 소시지를 제조하였을 때 물성의 변화 특성 및 변화율을 살펴보았다. 이 결과에서 겔의 강도를 저해하는 요소로서 MP 및 CA가 같은 특성을 지니고 있었으며, 탄력성의 증진을 강조하는 요소로서 CA가 MP보다 강한 것으로 나타났다.

다음은 이와 같은 MP 및 CA를 첨가하였을 때 모델 소시지의 보수력의 변화는 어떻게 일어나는지를 검토하였다.

Table 6에는 MP와 CA를 첨가하여 제조한 모델 소시지의 보수력을 측정하여 결과를 제시하였다. 이 결과에 의하면 MP를 첨가함에 따라서 대조구와 비교하여 보수력이 상승하는 효과를 나타내었으며, 첨가 농도가 높을수록 상승폭도 높았다. CA의 경우에 있어서도 MP와 유사한 경향을 나타내었으나 MP와 비교하여 그 정도가 높았으며, MP 및 CA의 첨가가 모델 소시지의 보수력 향상에 일조하는 것으로 나타났다.

이상의 결과는 이미 Table 5 및 Fig. 23의 결과에서 언급한 바와 같이 이들 첨가물은 단백질과의 결합력에서 그다지 강하게 일어나지는 않지만, 약한 결합이 다수 일어나 수분을 matrix안에 갇아놓을 수 있는 힘이 있는 것으로 판단되었다. 이것이 모델 소시지의 보수력에 영향을 주는 것으로 사료되었다.

다음은 MP를 첨가한 모델 소시지의 주사전자현미경에 의한 구조를 관찰하여 Fig. 24에 나타내었다. 이결과에 의하면 MP의 첨가량이 많아질수록 다공질의 모양이 많이 형성되어 있었으며 수분이 갇혀있었던 부분으로 생각되는 다공질의 모양이 관찰되었다. 즉, 대조구의 경우 조직이 보다 큰 구조로 이루어져 있었으나, MP 첨가구에서는 조직이 치밀하면서 다공질의 구조가 관찰되었다. 이와 같은 구조가 gel의 강도 및 탄력성에 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

Table 6. Water holding capacity(%) of model sausage prepared from pork lean meat with 0.3~1.0% of carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) respectively.

Additive	Concentration(%)	Water holding capacity(%)
	Control	80.77±0.90
Mucoprotein	0.3	81.07±10.00
	0.5	86.29±3.89
	0.7	88.10±6.27
	1.0	88.74±7.02
Carrageenan	0.3	84.27±8.21
	0.5	84.46±2.95
	0.7	95.65±0.41
	1.0	98.89±0.31

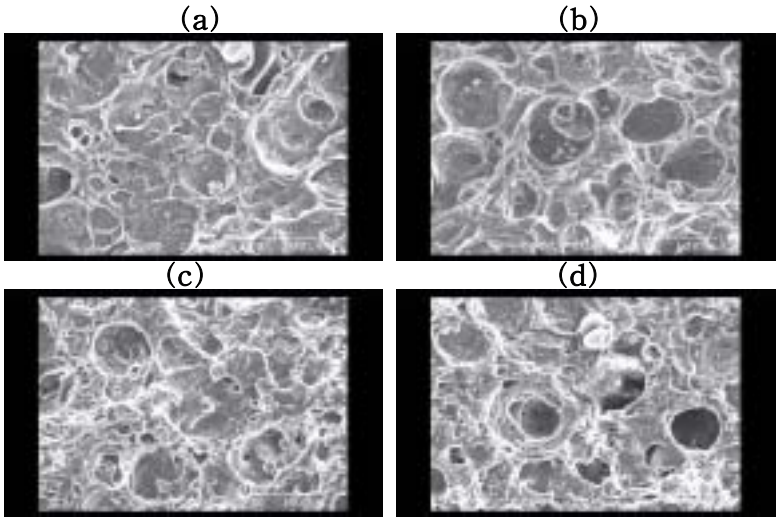


Fig. 24. Scanning electron microscopy(SEM) of model sausage(x 300) structure prepared from pork lean meat with mucoprotein.

Mucoprotein added 0%(a), 0.3%(b), 0.7%(c) and 1%(d), respectively.

4) MP 및 Carrageenan(CA)의 첨가가 두부의 수율 및 물성에 미치는 영향

지금까지는 돈육에 MP 및 CA를 첨가하여 모델 소시지를 제조하여 소시지의 물성을 비교검토 하였다. 그 결과 MP 및 CA는 모델 소시지의 강도를 저해하는 한편 탄력성에는 긍정적인 효과가 있는 것으로 나타났다. 다음은 돈육과는 전혀 특성이 다른 대두를 이용하여 MP 및 CA를 첨가하여 두부를 제조하였을 때 두부의 수율과 물성에 미치는 영향을 검토하였다.

우선 두부의 수율에 대하여 검토한 결과를 Table 7에 제시하였다. 대조구를 100%의 수율로 보았을 때 MP를 첨가함으로서 약 110%의 수율을 나타냈으며, CA는 112%의 수율을 나타내었다. 한편, CA와 MP를 각각의 비율로 혼합하여 두부에 첨가한 결과 CA : MP의 비율이 3 : 7의 경우가 116%로 가장 높은 수율을 나타내었다. 이와 같은 결과는 CA와 MP를 첨가함으로서 수분을 보유하려는 힘이 크기 때문에 이것이 수율에 영향을 미친 것으로 사료되었다. 한편, 두부제조 시 열처리 후 대두단백질에 압력을 가하는 공정이 있으며, 본 연구에서는 같은 힘의 압력으로 제조하였다.

Table 7. Yield(%) of soybean curd prepared from soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.

	Carrageenan : Mucoprotein					
	Control	10 : 0	7 : 3	5 : 5	3 : 7	0 : 10
Yield(%)	100	112.7	113.5	114.7	115.9	109.8

다음은 Table 7과 같은 방법으로 제조한 모델 두부의 hardness를 측정하여 결과를 Fig. 25에 제시하였다. 또한 여기에서는 두부의 특성상 열처리를 하면서 섭취를 하는 경우가 많이 있으므로 열처리 전과 열처리 후의 물성을 측정하였다. 이 결과에 의하면 MP 또는 CA를 첨가함으로서 hardness는 감소하는 경향을 나타내었으며, 이는 소시지의 경우와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 가열 전과 가열 후의 경향을 살펴보면 거의 그 차이가 인정되지 않았다. 이상의 결과로부터 MP 및 CA는 두부의 강도에는 오히려 저해하는 요소로 작용하는 것으로 사료되었다.

Fig. 26에는 모델 두부의 Cohesiveness에 대하여 검토하여 결과를 나타내었다. 가열 전과 후의 Cohesiveness는 대조구와 비교하여 전체적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, MP 및 CA의 첨가가 단백질과의 상호작용에 의한 응집력을 향상시키는 것으로 사료되었다. 또한 이 결과에 의하면 가열 후의 응집력이 가영전보다 월등한 응집력을 나타내고 있었으며, 이는 가열 중에 대두단백질의 소수성 잔기의 결합에 의한 것으로 추측하고 있다. 이미 두부는 제조공정 중 열처리를 하므로 충분히 소수

성 결합은 이루어졌다고 사료되나, 본 연구에서 응집성이 증가하는 결과로부터 그 요인에 대해서는 자세히 검토할 필요가 있다고 생각된다.

Fig. 27에는 두부의 Brittleness에 대하여 검토하여 결과를 제시하였다. 가열전의 Brittleness는 대조구와 비교하여 CA 및 MP를 첨가하여도 큰 변화는 인정되지 않았다. 그러나, 가열 후의 Brittleness는 전체적으로 크게 증가하는 경향을 보였으며, 대조구의 경우 그 정도가 MP 및 CA 첨가구 보다도 큰 폭으로 증가하였다. 또한 가열 후의 Brittleness는 MP 및 CA 첨가구가 대조구와 비교하여 낮은 값을 나타내고 있었으며, MP 및 CA의 첨가가 무첨가구 보다도 열에 의하여 깨지기 쉬운 구조를 지니고 있는 것으로 사료되었다. 그 이유에 대해서는 추후 검토할 필요성이 있는 것으로 사료되었다.

다음은 두부의 Springiness에 대하여 검토하여 결과를 Fig. 28에 제시하였다. 가열전의 두부의 Springiness는 대조구와 비교하여 전체적으로 약간 증가하는 경향을 나타내었지만, 큰 변화는 인정되지 않았다. 가열 후의 Springiness에 있어서도 거의 변화가 인정되지 않았다. 한편, 가열 전과 후를 비교하면 가열 전의 springiness가 약간 높게 나타나는 경향이었으나 큰 차이는 없었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 모델 두부의 경우도 기본적으로는 모델 소시지의 경우와 유사한 결과를 나타내었다. 즉, MP 및 CA를 첨가하면 두부 Gel의 강도에는 저해하는 요소로서 작용하였으며 상대적으로 탄성에는 기여하는 결과를 나타내었다. 이 뿐만이 아니라 MP 및 CA는 겔의 보습력을 향상시켜주는 역할을 하고 있었으며, 이것이 탄성 증대에 지대한 역할을 하고 있는 것으로 사료되었다. 즉, MP 또는 CA가 이종의 단백질과 상호작용이 일어나지만 그다지 강한 결합을 형성한 것은 아닐 것으로 사료되며, 그러나 이와 같은 새로운 형태의 결합이 수분을 보유할

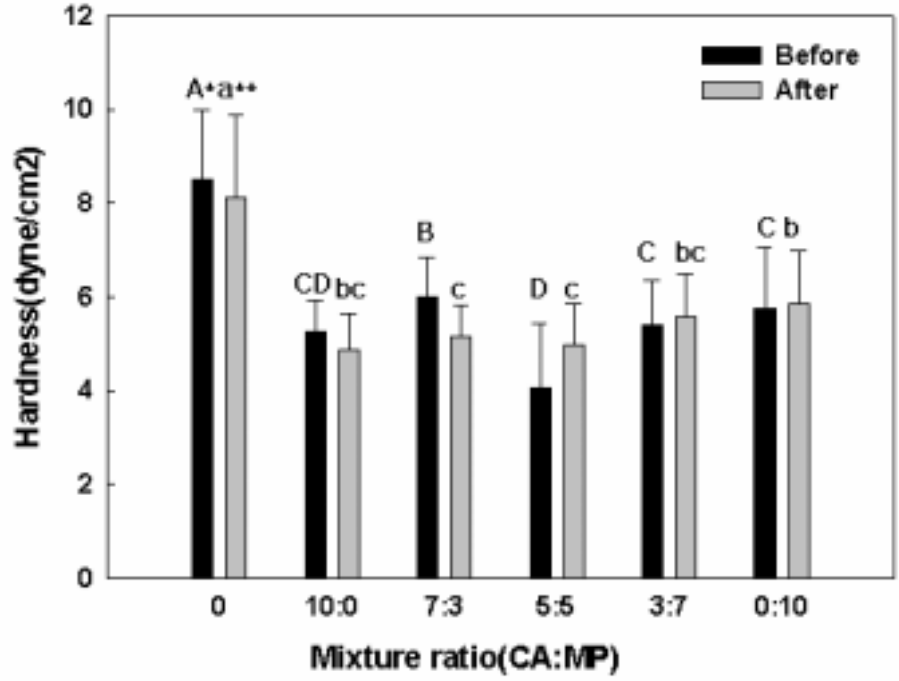


Fig. 25. Changes in hardness(x10^3) of soybean curd prepared soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.

After prepared soybean curd, it was boiled at 90℃ for 30min. and then measured rheology of soybean curd of before and after boiling.

*Means followed by the same letter are not significantly different at the 5%(P<0.05) level using Duncan's multiple range test.

**Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

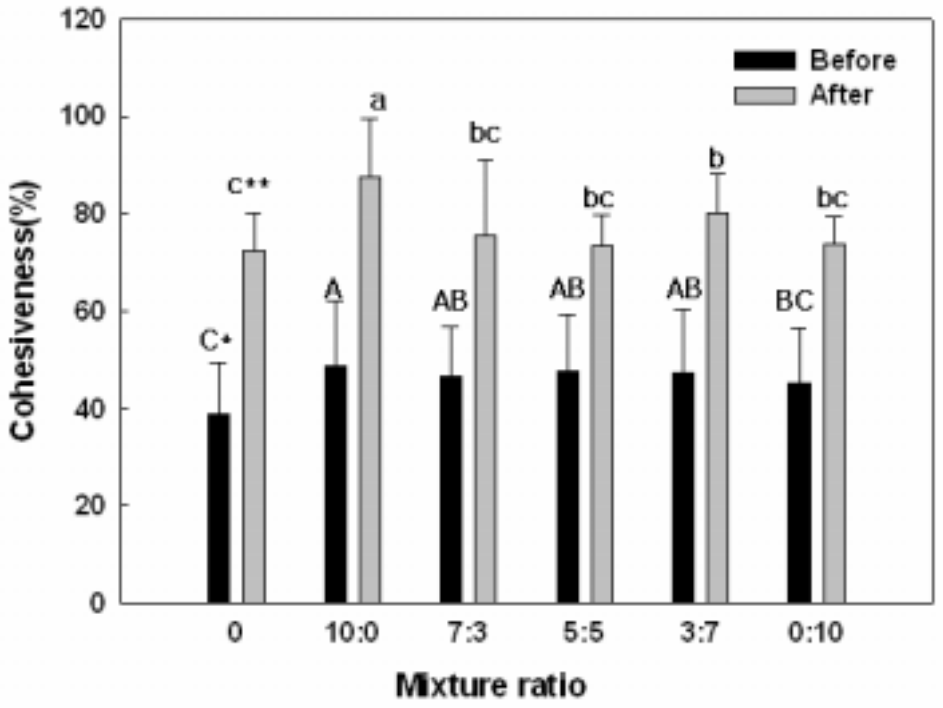


Fig. 26. Changes in cohesiveness of soybean curd prepared from soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.

Conditions and symbols were same as in Fig. 25.

* Means followed by the same letter are not significantly different at the 5%(P<0.05) level using Duncan's multiple range test.

** Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

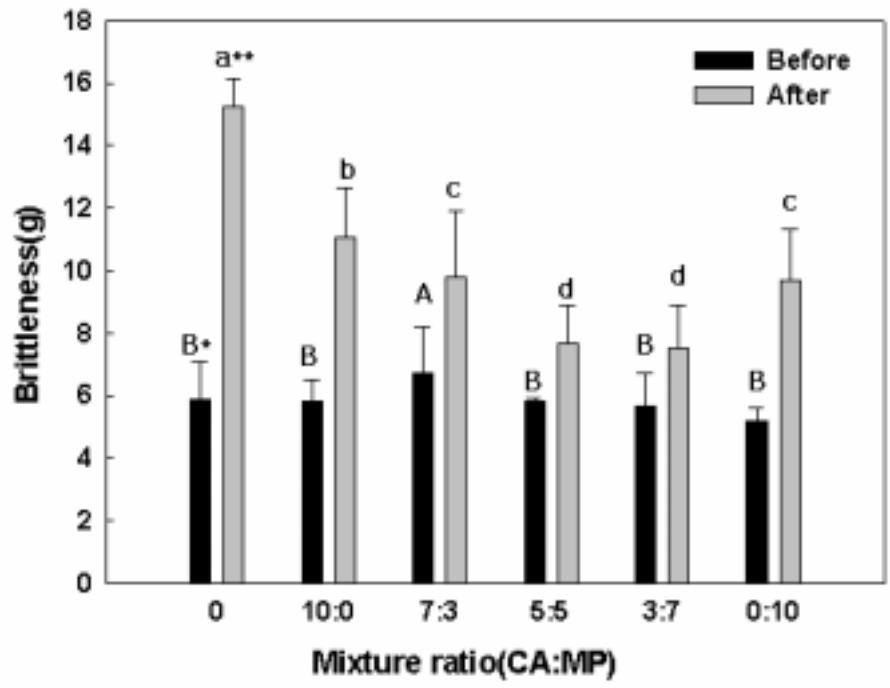


Fig. 27. Changes in brittleness of soybean curd prepared from soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.

Conditions and symbols were same as in Fig. 25.

*Means followed by the same letter are not significantly different at the 5%(P<0.05) level usin Duncan's multiple range test.

**:Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

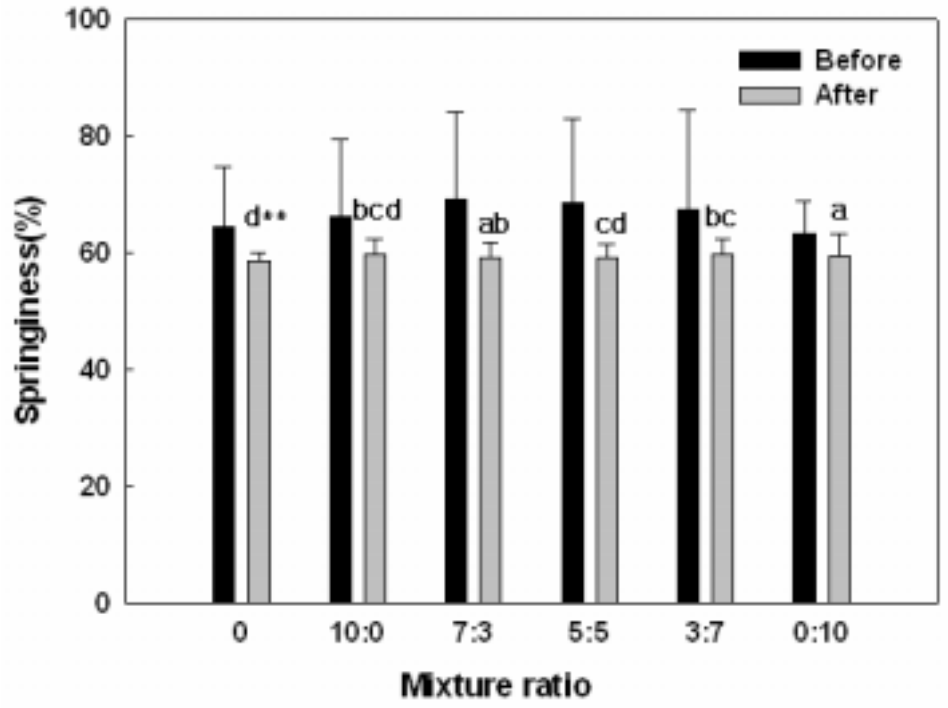


Fig. 28. Changes in springiness of soybean curd prepared soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.

Conditions and symbols were same as in Fig. 25.

** Means followed by the same letter are not significantly different at the 0.1%(P<0.001) level using Duncan's multiple range test.

수 있는 힘을 향상 시키는 데에는 일조하는 것으로 사료되었다. 이것이 탄력성에 영향을 미치었으며, 물성개량제로서의 새로운 방향성을 제시한 것으로 생각된다.

Fig. 29에는 MP 및 CA를 첨가하여 제조한 모델 두부를 SDS 가용화액에 가용화 하여 SDS-PAGE에 의한 대두 단백질의 subunit 조성을 검토하였다. 이 결과에 의하면 대조구의 경우 약 84K, 80K 및 35K 등의 주요 성분이 관찰되었다. 여기에 MP 및 CA를 첨가한 대두 단백질의 subunit 조성은 대조구와 비교하여 큰 변화가 인정되지 않았다. 이상의 결과로부터 MP 및 CA는 SDS 가용화액에 각각의 subunit로 분리되는 현상을 보였으며, MP 및 CA의 첨가에 의해 제조된 두부는 강한 결합에 의해서 형성된 gel이 아님을 시사하였다. 이러한 것이 상기의 물성에 영향을 미치는 것으로 사료되었다. 즉, 이미 보고된 바에 의하면 transglutaminase와 같은 효소는 단백질 간의 가교를 형성해 주는 역할을 하며, 이때에 형성되는 결합은 공유결합과 같은 매우 강한 결합을 나타내고 있다. 또한 이때에 형성된 겔의 특성으로서 매우 강한 겔은 형성하나 탄력성 및 보수력은 오히려 떨어지는 결과를 보고하고 있어 오히려 강한 결합력에 의해서 형성된 겔은 상기와 같은 마이너스 요인으로서 작용하는 경우도 있다. 그러나 MP 및 CA와 같은 경우는 단백질과의 약한 결합에 의해서 형성된 겔이라는 것이 지금까지의 결과였으며, 이렇게 형성된 것이 오히려 보수력 및 탄력성에는 우수하게 작용하는 것으로 사료되었다.

다음은 SEM을 이용하여 MP 및 CA를 첨가하여 제조한 모델 두부의 조직을 관찰하여 Fig. 30에 결과를 제시하였다. 이결과에 의하면 대조구의 경우 조직의 전체적으로 응집되어 있는 것이 관찰되었으나, CA와 MP를 혼합하여 첨가한 경우는 다공질의 구조를 형성하고 있었으며, 수

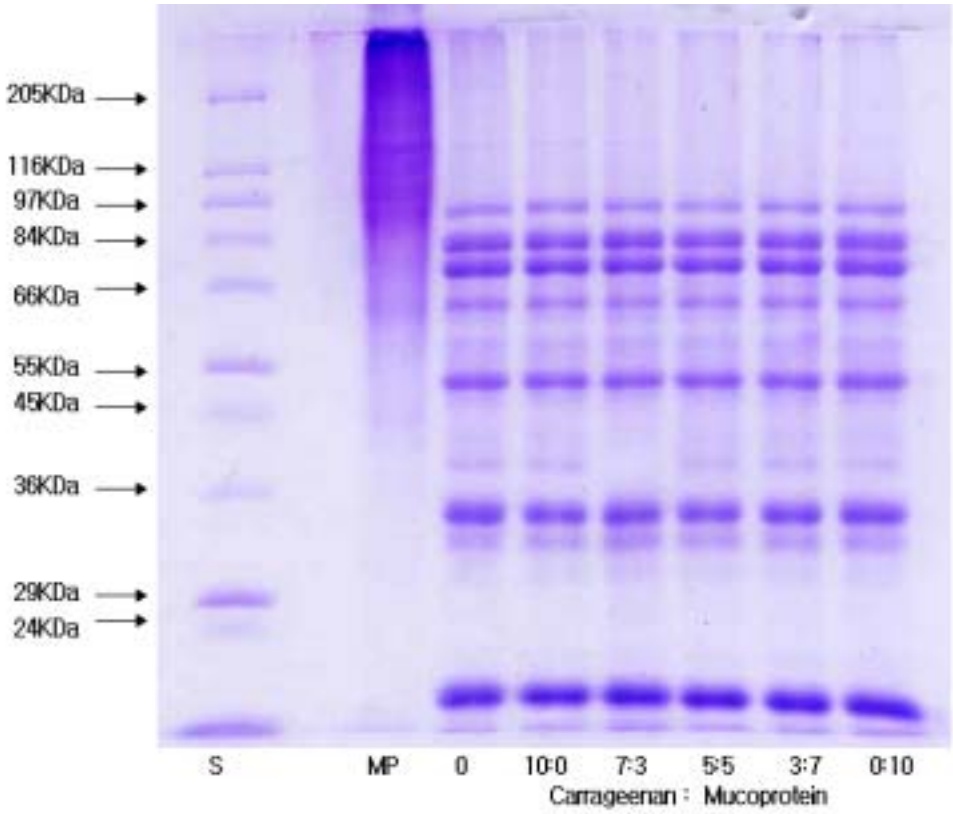


Fig. 29. SDS-PAGE patterns of soybean curd prepared from soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.

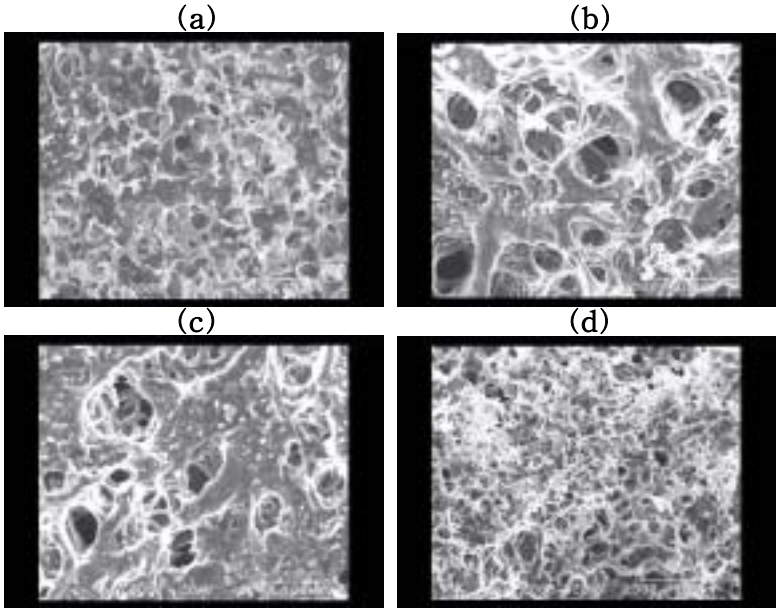


Fig. 30. Scanning electron microscopy(SEM) of soybean curd structure(x300) prepared from soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.
(a) : Control, Mixture ratio of CA and MP are 5:5(b), 3:7(c) and 0:10(d) respectively.

분이 갇혀있었던 곳으로 사료되는 공간을 다수 관찰할 수 있었다. 또한 MP 만을 첨가한 경우는 그물과 같은 3차원의 matrix 구조를 형성하고 있었다. 이상과 같이 MP 및 CA를 첨가함에 따라서 두부의 구조는 크게 다른 형상을 지니고 있었으며 MP 및 CA를 첨가하여 제조한 두부는 근본적으로 형성되는 겔이 다름을 알 수 있었다. 이렇게 각각 MP 및 CA의 첨가에 따라서 다르게 형성된 겔이 탄력성, 응집성, 강도 등에 크게 영향을 미쳤던 것으로 사료된다. 이에 대한 자세한 메카니즘적인 연구는 추후 자세히 이루어져야할 것으로 사료된다.

Table 8에는 MP와 CA를 혼합하여 제조한 모델 두부의 관능검사 분석하여 결과를 제시하였다. 본 data에서는 대조구를 모든 항목에 있어서 5점으로 하여 비교분석하였다. 이 결과에 의하면 각 항목마다 우수하다는 결과가 각각 다르게 나타났으나, 전체적인 기호도에서는 CA와 MP의 비율이 7 : 3인 경우가 가장 우수한 것으로 나타났다. 이것은 충분히 수분을 보유할 수 있는 보수력이 우수하게 나타나는 CA와 MP의 혼합비였으며, 이때에 겔의 강도는 저하되지만 탄성이 어느 정도 우수한 경향을 나타내었던 곳으로 이 결과는 전체적으로는 앞서 제시한 두부의 물성 특성과도 일치하는 것으로 사료되었다.

Table 8. Sensory evaluation of soybean curd prepared from soybean with 2% of additive mixed carrageenan(CA) and mucoprotein(MP) at various ratio.

Checkpoint	Carrageenan : Mucoprotein				
	10:0	7:3	5:5	3:7	0:10
Color[1)]	**6.36[a*]**	6.29[a]	5.50[a]	6.00[a]	5.00[a]
Flavor[2)]	6.14[a]	5.07[a]	5.42[a]	**6.17[a]**	5.33[a]
Softness[3)]	**6.25[a]**	**6.25[a]**	4.81[a]	5.94[a]	6.00[a]
Elasticity[4)]	6.00[a]	**6.25[a]**	5.36[ab]	5.50[ab]	4.88[b]
Firmness[5)]	4.13[b]	5.00[ab]	3.88[b]	**5.13[a]**	4.44[ab]
Overall taste[6)]	6.14[a]	**6.21[a]**	4.92[b]	6.00[ab]	5.43[ab]

[1),2),6)]The scores of color, flavor, overall taste were evaluated form very poor(1 point) to very good(9 point).

[3),4),5)]The scores of softness, elasticity and firmness were evaluated form very low(1 point) to very strong(9 point).

* Values are mean of 8 panels, different superscripts within a low indicate significant differences at $P<0.001$ level using Duncan's multiple range test.

4. 닭벼슬로부터 Mucoprotein의 시제품 제조 공정도

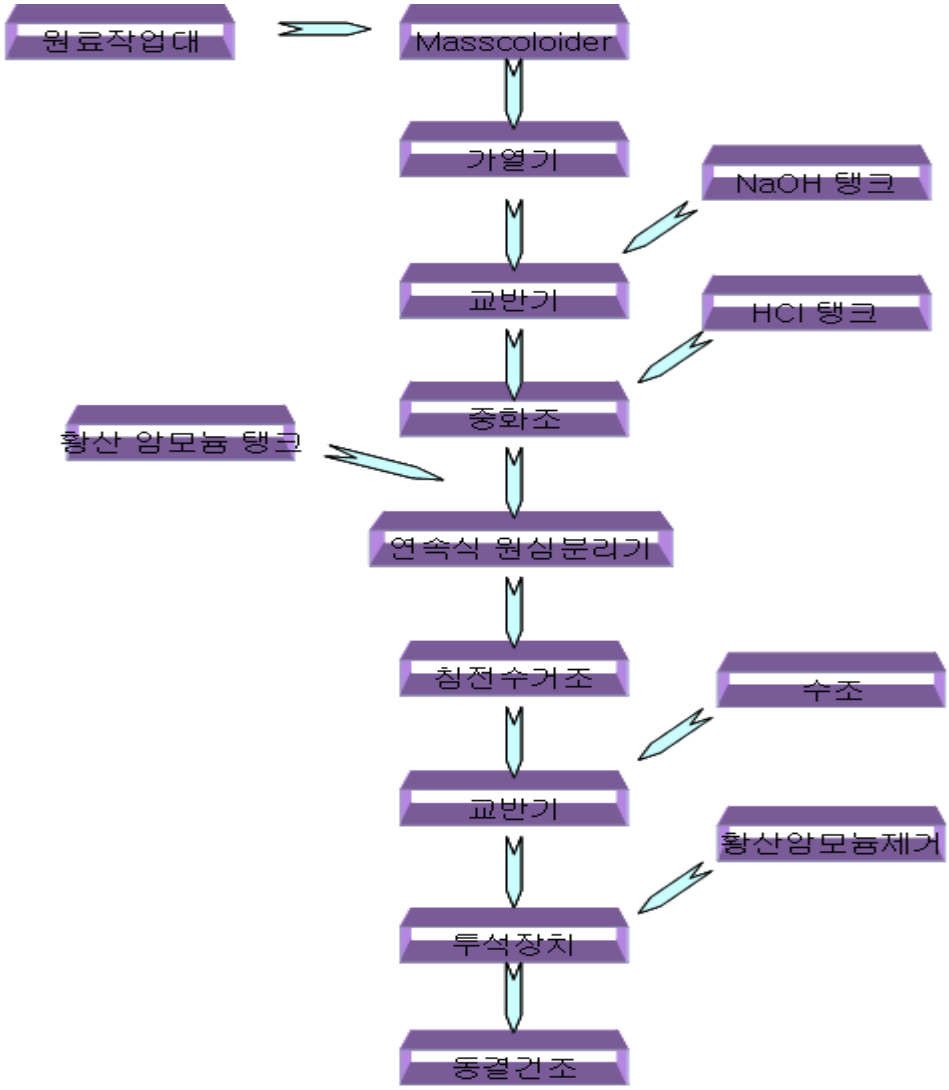


Fig. 31. Manufacturing process of mucoprotein from chicken comb.

Fig. 32. Mucoprotein powder prepared by manufacturing process of Fig 31 from chicken comb.

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	연구목표 및 평가의 착안점	목표 달성도	기여도
1차년도(2004)	○ 닭벼슬의 전처리 공정의 최적화 ○ Mucoprotein의 분리기술의 최적화 ○ Mucoprotein과 이종 단백질간의 친화성에 대한 최적조건 설정	100 100 100	큼
2차년도(2005)	○ Mucoprotein과 원료 paste간의 친화성에 대한 최적조건 설정 ○ Mucoprotein의 대량생산 system에 대한 합리성	100 100	큼
최종평가	○ Mucoprotein의 분리기술의 최적화 ○ Mucoprotein과 이종 단백질간의 친화성에 대한 최적조건 설정 O 각종 원료로부터 제조한 새로운 연제품의 우수성	100 100 100	큼

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구를 통하여 개발된 생산공정 및 제품은 참여업체 및 관련업체에 기술을 전수할 계획이며, 또한, 본 연구를 통하여 획득한 기초 및 응용 자료는 학회 발표 및 학회지에 투고할 예정임.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

닭벼슬 중의 mucoprotein 및 응용 연구에 대한 정보는 국내외를 통하여 그다지 많지 않다. 닭벼슬의 주요 성분은 mucoprotein으로서 muco 다당류 중에는 Hyaluronic acid가 주요 성분인 것으로 알려져 있다. Hyaluronic acid는 생체내에서의 역할은 연골 같은 조직세포를 채워주고 있어 접착제의 역할을 하고 있는 것으로 생각되며, 또한 박테리아의 침입, 독의 확산을 막는 역할을 하고 있을 것으로 추측하고 있다. 또한 최근의 연구 결과에서는 Hyaluronic acid는 보습력이 강하여 화장품 등에 이용되고 있으며, 그 외에 의료용으로서 일부 이용되고 있다. 즉, 의료용으로서는 안과 수술용, 관절염 치료용 등으로 이용되고 있다. 앞으로 이용 가능성이 있는 분야로서는 의료부분으로 인공혈관, 인공장기에 흡착시킴으로서 거부반응을 줄일 수 있는 연구가 진행 중에 있으며 이것이 완성되면, 앞으로 장기 및 혈관 등의 이식수술에 널리 사용될 것으로 기대된다.

일본의 (주)큐피에서는 닭벼슬에서 히아루론산을 추출하여 제품에 활용하고 있었으며 그 특성은 다음과 같다. 즉, 닭벼슬을 약 90℃에서 열처리한 후 10배량의 Water를 첨가하여 약 60~70℃에서 homogenized 한 다음, 1% NaOH를 첨가하여 하루 동안 교반한다. 그런 다음 1N HCl로 pH 7.0 으로 중화한다. 연속식 원심분리기를 이용하여 가용화 부분과 불용성 성분으로 분리한 후 가용화 성분의 불순물을 제거하기 위하여 여과(*본 과제에서는 규조토로 함)를 한다. 여과액에 protease를 첨가하여 단백질을 제거 한 다음, 열처리를 하여 히아루론산의 분자량을 조절

한다. 열처리를 하여 분자량을 조절한 히아루론산은 각종 식품 또는 화장품 등에 활용 한다. 또한, 최근에는 유산균 분비물 중의 히아루론산을 분리하는 기술이 개발되어 이용되고 있다. 현재 닭벼슬 유래의 히아루론산은 100~60만엔/kg, 유산균 유래의 히아루론산은 40만엔/kg에 판매되고 있었으며, 상당한 고부가가치 제품인 것으로 나타났다. (주)큐피에서는 닭벼슬 및 유산균 유래의 히아루론산을 총 9종으로 나뉘고 있 었으며 그 내용은 다음과 같다.

종 류	분 자 량	용 도	기 타
HA-Q	53만-133만	화장품	닭벼슬 유래
HA-QSS	200만-350만	화장품	닭벼슬 유래
HA-M5070	50만-70만	화장품	닭벼슬 유래
HA-L510	5만-10만	화장품	닭벼슬 유래
HA-LQ	85만-160만	화장품	닭벼슬 유래
HA-LQH	120만-220만	화장품	닭벼슬 유래
HA-Q1	-	화장품	HA-Q 1% 포함된 용액
HA-Q1P	-	화장품	0.8% phenoxyethanol, 1% HA-Q 포함된 용액
HA-F	-	식 품	유산균 유래

■ 히아루론산을 이용한 제품

유산균 유래 히아루론산을 이용한 식품은 껌, 캔디, 음료, 죽 등 다양하였으며 샘플로 구입한 식품 및 화장품은 다음과 같다.

껌

캔디

젤리

캡슐

음료

화장품 (고보습용)

화장품(저보습용)

(주)큐피에서는 95% 이상의 고순도 히아루론산을 분리한 후 열처리에 의한 여러 분자량의 히아루론산을 생산하여 상기의 그림과 같은 제품개발에 응용하고 있었다. 그 이유는 히아루론산은 생체면역증강, 시력회복, 탄력증진 등의 생리활성이 뛰어난 것으로 알려져 있어서 이와 같은 생리활성 특성을 이용한 식품, 의약품 또는 화장품 등에 이용할 수 있기 때문이다. 그러나 본 연구에서 수행 중인 닭벼슬 중의 Mucoprotein(단백질과 다당의 복합체, 다당 중에는 히아루론산의 형태가 가장 많음)은 아직 일본에서는 이용되고 있지 않으며, 히아루론산과는 그 특성이 다른 것으로 본 연구의 결과에서 나타났다. 즉, 히아루론산은 이종의 단백질과의 친화력이 Mucoprotein의 경우보다도 약한 것으로 확인되었다. 따라서, 본 연구에서는 이미 개발된 히아루론산에 대한 연구는 수행하고 있지는 않으나 mucoprotein 중의 구성성분인 히아루론산의 특성에 대해서 어느 정도 자료를 얻을 수 있었으다.

한편, 본 연구에서는 닭벼슬으로부터 추출한 mucoprotein은 이종의 protein과도 친화성이 강하다는 것을 시사하였으며, 실지로 소시지나 두부 등의 겔화 식품에 첨가하였을 때 탄력성과 보수성이 우수하다는 결과를 얻고 있어 겔화 식품의 물성 개량제로서의 가능성을 충분히 보여주고 있다.

제 7 장 참 고 문 헌

1) A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990).

2) Umemoto, S. A modification method for estimation of muscle protein by biuret method. Bull. J. Soc. Sci. Fish. 32, 427-435 (1996)

3) Laemmli, J.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680 (1970)

4) 박종일. Hyaluronic acid를 이용한 腎機能硏究. 全北醫大 論文集 2(1): 115-118 (1978)

5) 오덕근. 생합성 히아루론산의 의료용을 위한 정제. 한국생물공학회지 11(1): 15-21 (1996)

6) 유대식. *Streptococcus zooepidemicus* 에 의한 히아루론산의 생산. 한국생물공학회지 7(2): 112-117 (1992)

7) R.Manna, M.Dentini, P.Desideri, O. Depita, E.Mortilla, B.Maras. Comparative chemical evaluation of two commercially available derivatives of hyaluronic acid(Hylaform® from rooster combs and Restylane® from streptococcus) used for soft tissue augmentation. Journal of the European Academy of dermatology and venerology 13:

183-192 (1999)

8) Toshio Kitano, Gerard A Ateshian, Van C Mow, Yoshinori Kadoya. Constituents and pH changes in protein rich hyaluronan solution affect the biotribological properities of artifical articular joints. Journal of Biomechanics. 34: 1031-1037 (2001)

9) Pierre Andre. Hyaluronic acid and its use as a "Rejuvenation" agent in cosmetic dermatology. Seminars in cutaneous medicine and surgery. 23: 218-222 (2004)

10) Arthur L. Devries, Jackie Vandenheede, Robert E. Feeney. Primary structure of freezing point-depressing glycoproteins the journal of biological chemistry 246(2): 305-308 (1971)

11) RE.Mancini, O.Vilar, E.Stein, H.Fiorini, A histrochemical and radioautographic study of the participapation of fibroblasts in the production of mucopolysaccharides in connective tissue. The journal of histochemistry and cytochemistry. May(9): 278-291 (1961)

12) Kazuaki Kakehi, Mitsuhiro Kinoshita, Shinichi Yasueda. Hyaluronic acid: separatio and biological implications. Journal of chromatography B. 797: 348-355 (2003)

13) 서영수. Hyaluronic acid의 특성과 응용. Polymer Korea. 12(6):

484-488 (1988)

14) Burton M. Pogell, Donald F. Koenig, Studies on mucopolysaccharide biosynthesis in the cornea. The journal of biological chemistry. 234(10): 2504-2509 (1959)

15) J.H.Fessler. A structural function of mucopolysaccharide in connective tissue. Biochemistry J. 76: 124-132 (1960)

16) Alfred Jay Bollet, Douglas V. Anderson, William F. Simpson. The measurement of tissue acid mucopolysaccharides. J Clin. Invest 37(6): 858-863 (1958)

17) Maria Terbojevich, Alessandro Cosani,Manlo Palumbo. Structural properties of hyaluronic acid in moderately concentrated solutions. Cobohydrate Research 149: 363-377(1986)

18) Samuel J. Falcone, David M. Palmeri, Richard A.Berg. Fheological and cohesive properties of hyaluronic acid J. Biomed Master Res A. 76(4): 721-728(2006)

19) Wendy E. Krause, Enrico G. Bellomo, Ralph H. Colby. Rheology of sodium hyaluronate under physiological conditions. Biomacromolecules.2: 65-69(2001)

20) Luliana Gatej, Marcel Popa Marguerite Rinaudo. Role of the on hyaluronan behavior in aqueous solution. Biomacromolecules.6: 61-67(2005)

21) David A. Swann. Hyaluronic acid: Structure of the macromolecule in the connective tissue matrix. Biochemical and biophysical research communications. 35(4): 571-576 (1969)

22) Krister Hellsing. Immune reactions in polysaccharide media: The effect of hyaluronate, chondroitin sulphate and chondroitin sulphate-protein complex on the precipitin reaction. Biochem.J. 112: 475-481(1969)

23) Norman F. Boast. Isolation of hyaluronic acid from the cock's comb. J. Biological Chemistry 181:573-575(1949)

24) Jinwen Zhang, Long Jiang, Linyong Zhu. Morphology and properties of soy protein and polylactide blends. Biomacromolecules 7: 1551-1561(2006)

25) Anna M. Castle, J. David Castle. Enhanced glycosylation and sulfation of secretory proteoglycans is coupled to the expression of a basic secretory protein. Molecular Biology of the Cell. 9: 575-583(1998)

26) ER. Berman, G. Bach. The acid mucopolysaccharides of cattle retina. Biochem J. 108: 75-88(1968)

27) TJ. itzgerald RC. Johnson. Mucopolysaccharidase of *Treponema pallidum.* Infection and immunity. 24(1): 261-268(1979)

28) Gitte V.Eriksen, Ingemar Carlstedt, Matthias Morgelin, Niels Uldbjerg, Anders Malmstrom. Isolation and characterization of proteoglycans from human folliculare fluid. Biochem J. 340: 613-620(1999)

29) Mark Bathe, Gregory C. Futledge, Alan J. Grodzinsky, bruce Tidor. A coarse-grained molecular model for glycosaminoglycans: Application to chondroitin, chondroitin sulfate, and hyaluronic acid. Biophysical Journal 88: 3870-3887(2005)

30) Toshio Yamoto, Seiji Kusuhara, Kazuo Ishida, Motoji Yamaguchi. Histochemical observations of alkaline phosphatase in comb fibroblasts. 일본 논문집

31) Robert G. Spiro. Glycoproteins: Their biochemistry, bioligy and role in guman diseas. The new england journal of medicine. 30: 991-1001 (1969)

32) FR. Johnson RMH. Mcminn. The associatio of alkaline

phosphatase with fibrogenesis. Journal of anatomy92(4): 544-550()

33) DA.Deporter AR. Tencate. Fine structural iocalization of acid and alkaline phosphatase in collagen-containing vesicles of fibroblasts. Journal of anatomy 114(3): 457-461 (1973)

34) James Baddiley. Teichoic acids in cell walls and membranes of bacteria. 35-77

35) RD.Marshall. Glycoproteins.673-703(1972)

36) Edward C. Heath. Complex polysaccharides. 29-55(1971)