

최 종
연구보고서

GA0746-09020

저활용 근육단백질의 수용화 및 근육강화
식품의 소재화
Development of Technique for Water-Soluble Protein
from Low Used Muscle Protein and Functional
Food to Intensify Muscle

연 구 기 관
한국식품연구원

농림수산식품부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “저활용 근육 단백질의 수용화 및 근육강화 식품의 소재화”에 관한 연구 과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2009년 4월 24일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

총괄연구책임자 : 이 남 혁

연 구 원 : 김 영 호

연 구 원 : 김 영 봉

연 구 원 : 양 승 용

연 구 원 : 임 상 동

연 구 원 : 김 윤 지

연 구 원 : 홍 상 필

연 구 원 : 전 기 홍

연 구 원 : 오 세 욱

연 구 원 : 김 현 경

요 약 문

I. 제 목

저활용 근육단백질의 수용화 및 근육강화 식품의 소재화

II. 연구개발의 목적

- 저활용 단백질(닭가공잔여육 및 노계 가슴육)의 생화학적 특성 변환에 의한 수용화 성분의 수거 기술 확립
- 수용화 단백질의 근육강화 식품 소재 개발

III. 연구개발 내용 및 범위

■ 1차년도 : 각종 당류와 저활용 단백질과의 반응성 검토

1. Glucose, Dextran, alginate 등의 당류와 근원섬유와의 반응성 검토
 - 1) 잔여육 및 노계 가슴육의 일반성분 분석
 - 2) Lysine 및 Fructosamine의 함량 측정
 - 3) 근원섬유와 다당류와의 결합율 측정
 - 4) Browning 측정
 - 5) SDS-PAGE에 의한 단백질 조성의 변화 측정
2. 근원섬유 단백질의 Glycosylation에 의한 생화학적 특성 검토
 - 1) Total Ca, Mg-ATPase activity 측정에 의한 단백질 변성 검토
 - 2) 단백질의 용해도 측정
 - 3) 단백질의 탁도 측정
 - 4) Emulsion 형성능 검토
 - 5) 열에 대한 단백질의 안정성 검토

■ 2차년도 : 각종 당류와 근육과의 반응성 및 수용화 성분의 수거기술 확립

1. 각종 당류와 근육과의 반응성 검토
 - 1) 근육과 다당류와의 결합율 측정
 - 2) browning 측정

- 3) SDS-PAGE에 의한 단백질 조성의 변화 측정
- 4) HPLC에 의한 단백질 조성의 변화 측정
- 2. 근육의 glycosylation에 의한 생화학적 특성 검토
 - 1) Total Ca, Mg-ATPase activity 측정에 의한 근육의 변화 검토
 - 2) 용해도 변화 검토
 - 3) 탁도 변화 검토
 - 4) Emulsion 형성능 검토
 - 5) 열에 대한 근육의 안정성 검토
- 3. 근육의 생화학적 변환에 따른 수용화 성분의 수거기술 검토
 - 1) 다당류와 근육의 결합 비율에 따른 단백질의 수거량에 대한 검토
 - 2) pH, 반응온도에 따른 단백질 수거율에 대한 검토
 - 3) 전체 근육에 대한 수용화 단백질의 최적 수거율에 대한 조건 확립

■ 3차년도 : 생화학적 변환에 의한 수용화 단백질의 근육 강화식품에 대한 가공 적성 검토

- 1. 근육강화 공급제에 대한 가공 적성 검토
 - 1) 캡슐
 - 2) 환
 - 3) powder
- 2. 단백질 강화 식품에 대한 가공 적성 검토
 - 1) 젤리
 - 2) 노인 또는 유아식 죽류
 - 3) 젤화 식품
- 3. 단백질 소재의 안전성 검토
 - 1) 저장 중의 총균수 조사
 - 2) 바실러스균 등
 - 3) self-life 설정

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 실험은, 노계 가슴육과 잔여육으로부터 추출한 근원섬유단백질에 당류(glucose, fructose, alginate)를 혼합하여 Maillard 반응을 통해 glycosylation한 후, 이들의 생화학적인 특성을 조사하였다. 근원섬유단백질과 당류의 혼합비율은 1:3과 1:9이었으며, 이는 상대습도 32~67%로 50°C에서 24시간동안 반응하였다.

또한 노계 가슴육과 잔여육에 당류(glucose, dextran)를 비율별(1:3, 1:9 1:18)로 혼합하여 상대습도 32, 67%로 50°C에서 24시간동안 반응하여 이들의 생화학적 특성을 조사하였다.

1. 근원섬유단백질과 당류의 반응성 검토

1) Solubility

근원섬유단백질의 0.1M NaCl solution에서 용해도는 반응시간에 따라 상승하다가 18시간 이후에는 감소하였다. 또한, 동일한 반응시간에서 근원섬유단백질과 glucose의 혼합비율이 1:9, 상대습도 32%에서 반응한 시료의 용해도가 뚜렷하게 증가하였다. 반면, fructose나 alginate와의 혼합물은 glucose에 비해 낮은 용해도를 나타내었다.

2) lysine 잔기 함량, 당류의 결합량 및 갈변도

근원섬유단백질과 당 혼합물의 Available lysine 잔기 함량은 상대습도 32%에서 반응시간에 따라 줄어들었다. 근원섬유단백질과 결합한 당의 함량은 상승하였다. 이상의 결과로, 당과 반응한 근원섬유단백질의 lysine의 감소 및 당의 증가는, 단백질과 당의 Maillard reaction에 의한 glycosylation이 일어났음을 알 수 있다. Glucose와 반응한 근원섬유단백질의 browning intensity는 반응시간에 따라 증가하였다.

3) Ca, Mg-ATPase activity

Ca-ATPase 활성은 당과 단백질의 반응시간이 경과함에 따라 감소하

였고, 근원섬유단백질과 glucose의 혼합비율이 1:9일 때 Ca-ATPase 활성은 느리게 감소하였다. 이 결과는 당과 glucose의 glycosylation에 의해서 단백질의 변성을 억제하는 것으로 사료되었다. Mg-ATPase activity도 Ca-ATPase activity와 유사하였다.

4) Emulsify 형성능 및 안정성.

Emulsion 형성능은 당과 단백질의 반응시간에 따라 증가하였다. 상대습도 32%에서 근원섬유단백질과 glucose를 1:9로 혼합하였을 때 emulsion 형성능이 가장 우수하였다. 또한 emulsion 안정성은 Glycosylation이 가장 활발히 일어났던 조건에서 안정적이었다.

5) Thermal stability

32%의 낮은 상대습도에서 생성된 근원섬유단백질과 glucose의 conjugation은 가열온도가 증가함에 따라 용해도가 크게 변화하지 않았다. 그러나 근원섬유단백질과 fructose conjugation의 용해도는 온도가 높아질수록 빠르게 감소하였다. 따라서 낮은 상대습도에서 glucose와 혼합하였을 때, 단백질의 열안정성은 향상되었다.

6) SDS-PAGE patterns

근원섬유단백질의 SDS-PAGE의 조성은 근원섬유단백질의 고유 pattern인 myosin heavy chain와 actin이 관찰되었다. 그리고 0.1M NaCl solution에 용해된 단백질(수용화 단백질)은 이들이 검출되지 않았다. 반면, 근원섬유단백질과 glucose를 1:9로 혼합하여 상대습도 32%에서 반응시켰을 때 조성을 살펴보면, myosin heavy chain(MHC)의 이동거리가 짧았으며, glycosylation에 의한 고분자화가 확인되었다. 이들 수용화 단백질의 SDS-PAGE 조성에서는, 반응시간이 경과함에 따라 고분자화 된 MHC와 Actin이 늘어났다.

2. 근육과 당류의 반응성 검토

1) Solubility

근육의 0.1M NaCl solution에서의 용해도는 반응시간에 따라 상승하였다. 또한 근육과 당(glucose 또는 dextran)의 혼합비율이 1:18, 상대습도 32%에서 반응한 시료의 용해도가 가장 높았다.

2) lysine 잔기 함량, 당류의 결합량 및 갈변도

근육과 당(glucose 또는 dextran) 혼합물의 lysine 잔기 함량은 상대습도 32%에서 반응시간의 경과와 함께 감소하였으나 근육과 결합한 당의 함량은 상승하였다. 이상의 결과로, 당과 반응한 근육 단백질 중의 lysine 잔기의 감소 및 당의 증가는, 단백질과 당의 Maillard reaction에 의한 glycosylation이 일어났음이 확인되었다. Glucose와 반응한 근육단백질의 browning intensity는 반응시간에 따라 증가하였다.

3) Ca, Mg-ATPase activity

당과 반응시간이 경과함에 따라 Ca-ATPase 활성은 감소하였고, 근육과 당의 혼합비율이 1:18, 상대습도 32%에서 활성의 감소가 느리게 나타났다. 그러나 상대습도 67%에서는 급격히 감소하였다. Mg-ATPase 활성은 Ca-ATPase 활성과 유사하였다.

4) Emulsify 형성능 및 안정성

Emulsion 형성능은 당과 근육 단백질의 반응시간에 따라 증가하였다. 상대습도 32%에서 근육 단백질과 glucose를 1:9로 혼합하였을 때 emulsion 형성능이 가장 우수하였다. 또한 emulsion 안정성은 Glycosylation이 가장 활발히 일어났던 조건에서 안정적이었다.

5) Thermal stability

근육과 당의 혼합비율 1:18, 상대습도 32%에서 반응하여 얻어진 conjugation은 가열온도가 증가하여도 용해도는 크게 감소하지 않았다. 따라서 당과 근육 단백질의 반응에 의한 glycosylation은 당의 결합에 의한 단백질의 보호작용이 있는 것으로 사료되었다.

6) SDS-PAGE patterns

근육 단백질의 SDS-PAGE 조성은 근육 단백질의 고유 pattern인 myosin heavy chain과 actin이 관찰되었다. 그리고 0.1M NaCl solution에 용해된 단백질(수용화 단백질)은 이들이 검출되지 않았다. 반면, 근육 단백질과 당을 1:18로 혼합하여 상대습도 32%에서 반응시켰을 때의 조성을 살펴보면, myosin heavy chain(MHC)의 이동거리가 짧았으며, glycosylation에 의한 고분자화가 확인되었다. 이들 수용화 단백질의 SDS-PAGE 조성에서는, 반응시간이 경과함에 따라 고분자화 된 MHC와 Actin이 늘어났다.

7) 수용화 단백질의 최적 수거 조건

이상의 결과를 바탕으로 수용화단백질의 최적 수거 조건은, 1) 근육과 당의 최적 혼합비율은 1:18, 2) 최적 pH 7.0, 3) 최적 상대습도 32%, 4) 반응 온도는 50 및 60°C로 나타났다.

SUMMARY

I. Title

Development of Technique for Water Soluble Protein from Low Used Muscle Protein and Functional Food to Intensify Muscle

II. Objective and Significance of Research

- Establishment of isolated technique of water soluble protein obtained by conversion of biochemical properties in low used muscle.
- Development of functional food material for intensify muscle from water soluble protein.

III. Scope

- First year : Investigation for reaction properties between sugars and low used proteins from spent chicken.
 1. Study on reaction properties between sugars (glucose, dextran, fructose, alginate) and myofibril from low used chicken muscle.
 - 1) Component of breast and leftover muscle after processing from spent chicken.
 - 2) Contents of lysine and fructosamine
 - 3) Binding ratio between myofibrillar protein and sugar.
 - 4) Browning of glycosylated myofibril
 - 5) Analysis of water soluble protein from myofibril using SDS-PAGE
 2. Biochemical properties of myofibrillar protein glycosylated by addition of sugars.
 - 1) Denaturation of glycosylated myofibrillar protein measurement of Ca or Mg-ATPase activity.
 - 2) Water solubility of myofibrillar protein glycosylated by

addition of sugars.

- 3) Turbidity of myofibril conjugated with sugars.
- 4) Emulsion properties of myofibril conjugated with sugars.
- 5) Thermal stability of myofibril conjugated with sugars.

■ Second year : Isolated technique of conjugation obtained by glycosylation of muscle protein and sugars.

1. Study on reaction properties between sugars and chicken muscle protein.
 - 1) Binding ratio between muscle protein and sugars.
 - 2) Browning of muscle protein conjugated with sugars.
 - 3) Analysis of muscle protein conjugated with sugars using SDS-PAGE.
2. Biochemical properties of muscle protein glycosylated with sugars.
 - 1) Changes in muscle protein measured by Ca or Mg-ATPase activity.
 - 2) Water solubility of muscle protein glycosylated by addition of sugars.
 - 3) Turbidity of muscle protein conjugated with sugars.
 - 4) Emulsion properties of muscle protein conjugated with sugars.
 - 5) Thermal stability of muscle protein conjugated with sugars.

■ Third year : Investigations on manufacturing aptitude for intensification muscle food from water soluble protein obtained from muscle by biochemical change.

1. Manufacturing aptitude on reinforcing agent of muscle.
 - 1) Manufacturing of capsule.
 - 2) Manufacturing of powder.
2. Manufacturing aptitude on food intensified protein.
 - 1) Manufacturing of model jelly.

- 2) Manufacturing of elderly and baby foods.
- 3) Manufacturing of gelling food.
3. Safety on protein materials.
 - 1) Total colony count.
 - 2) Bacillus etc.
 - 3) Shelf-life of protein material.

IV. Results and Recommendation

Myofibrillar protein(Mf) prepared from breast meat of spent chicken and leftover meat after processing from chicken were glycosylated with various sugars(glucose, fructose and alginate) during the Maillard reaction, and their biochemical properties were investigated. The mixing ratio of Mf and sugars were 1:3, 1:9, and the lyophilized Mf and sugar mixtures were incubated at 50°C and different relative humidity (32 ~ 67%) for reaction times(0~24hr).

Breast meat of spent chicken and leftover meat after processing from chicken were glycosylated with various sugars(glucose and dextran) and concentration of sugars(at weight ratio of 1:3, 1:9 and 1:18) during the Maillard reaction. The lyophilized muscle(M) and sugars mixtures were incubated at 50°C and different relative humidity(32 and 67%) for reaction times(0~24hr).

1. Reaction between myofibrillar protein and sugars

1) Solubility

Solubility of the glycosylated Mf in 0.1M NaCl solution increased during reaction times and decreased after 18hr. When the mixing ratio of Mf and glucose were 1:9, solubility increased markedly at 32% relative humidity. Mf-fructose mixture and Mf-alginate mixture

were lower than Mf–glucose mixture.

2) Available lysine residues, amount of sugars bound to Mf and browning intensity

The available lysine residues content in Mf–sugars mixture decreased during reaction time at 32% relative humidity. Amount of sugars bound to Mf were increased at same conditions. The results indicate that a decreasing of available lysine residues and increasing of amount of sugars bound to Mf were observed simultaneously by glycosylation through the Maillard reaction. When Mf were glycosylated with glucose, browning intensity increased with reaction time but Mf–fructose mixture was unchanged.

3) Ca, Mg–ATPase activity

Ca–ATPase activity of Mf–sugars decreased during reaction time, and accelerated the loss of Ca–ATPase activity in Mf–fructose mixture than Mf–glucose mixture. When mixing ratio of Mf and glucose were 1:9, the loss of Ca–ATPase activity slowly decreased. These results indicated that the protein denaturation occurring with glycosylation was effectively depressed by glucose. Ca–ATPase activity inactivated markedly at 67% relative humidity. Mg–ATPase activity was similar results to Ca–ATPase activity.

4) Emulsion forming ability and stability

Emulsion forming ability of Mf–sugars increased during reaction time. When mixing ratio of Mf and glucose were 1:9 at 32% relative humidity, showed excellent emulsion forming ability than Mf–fructose mixture. Emulsion stability under same conditions occurred markedly glycosylation showed the highest value.

5) Thermal stability

Solubility of Mf-glucose mixtures reacted at 32% relative humidity by heating from 50°C to 80°C unchanged. In the case of Mf-fructose mixture, solubility decreased rapidly.

6) SDS-PAGE patterns of Mf-sugars conjugation.

In the SDS-PAGE patterns, components of lyophilized Mf were observed myosin heavy chain(MHC) and actin(A) and solubilized Mf in 0.1M NaCl solution were not detected. Conjugation components of Mf-glucose(ratio of 1 : 9) reacted at 32% relative humidity were observed polymer of MHC-glucose and A-glucose by SDS-PAGE.

components of soluble protein in 0.1M NaCl solution of glycosylated Mf increased amount of MHC-glucose and A-glucose polymer.

2. Reaction between muscle(M) and sugars

1) Solubility

Solubility of glycosylated M in 0.1M NaCl solution increased with passage of the reaction time and maximum solubility obtained at 32% relative humidity and ratio of M and sugars(as glucose and dextran) of 1 : 18.

2) Available lysine residues, amount of sugars bound to M and browning intensity.

The available lysine residues content in M-sugars mixture decreased with passage of the reaction time at 32% relative humidity. Amount of sugars bound to M were increased under same conditions. Browning intensity of M-glucose mixture was higher than M-dextran mixture with passage of the reaction time.

3) Ca, Mg-ATPase activity

Ca-ATPase activity of Mf-sugars conjugations decreased with passage of the reaction time. When mixing ratio of M and sugars were 1 : 18, Ca-ATPase activity slowly decreased at 32% relative humidity. Ca-ATPase activity was inactivated markedly at 67% relative humidity. Mg-ATPase activity of conjugation was similar as result of Ca-ATPase activity.

4) Emulsion forming ability and stability

Emulsion forming ability increased with passage of the reaction time at 32% relative humidity. When the mixing ratio of M and sugars were 1 : 18, showed excellent emulsion forming ability. Emulsion of conjugation formed at conditions was occurred markedly glycosylation was stable after heating treatment at 80°C.

5) Thermal stability

Solubility of M-sugars mixtures decreased slightly to compare with lyophilized M during heating treatment(50~80°C).

6) SDS-PAGE patterns of M-sugars conjugation.

Components of lyophilized M were observed myosin heavy chain(MHC) and actin(A) and solubilized M in 0.1M NaCl solution were not detected. Conjugation components of M-sugars(ratio of 1 : 18) reacted at 32% relative humidity were observed polymer of MHC-glucose and A-glucose by SDS-PAGE.

Components of soluble protein in 0.1M NaCl solution of glycosylated M were increased also amount of MHC-glucose and A-glucose polymer.

7) Optimum recovery conditions of soluble protein

To the based above results, the optimum recovery conditions of

soluble protein showed as follows; 1)mixing ratio of M and sugars were 1:18, 2)pH level was 7.0, 3)relative humidity was 32%, 4)temperature were 50 and 60°C.

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. General component of low materials
2. Preparation of myofibril
3. Muscle treatment
4. Glycosylation of myofibril.....
5. Solubility.....
6. Available lysine content
7. Amount of sugars bound to myofibril
8. Browning intensity
8. Determination total Ca and Mg-ATPase activity
10. Turbidity
11. Emulsion forming ability and emulsion stability
12. Thermal stability
13. Analysis of protein subunit using SDS-PAGE
14. Optimum recovery rate by protein-sugars mixing ratio
15. Optimum recovery conditions of protein by pH and reaction temperature.

Section 2. Result and discussion.....

1. General component of breast and left meat after processing from chicken.....
2. Reaction of between myofibril with sugars
 - 1) Solubility of myofibril reacted sugars.....
 - 2) Determination of available lysine.....
 - 3) Amount of sugars bound to myofibril
 - 4) Browning intensity.....
 - 5) Myofibril denaturation by Ca and Mg-ATPase activity.....
 - 6) Emulsifying properties.....
 - 7) Thermal stability.....
 - 8) Analysis of myofibril submit using SDS-PAGE
3. Reaction of between muscle with sugars.....
 - 1) Solubility of muscle reacted sugars.....
 - 2) Amount of sugars bound to muscle.....
 - 3) Browning intensity
 - 4) Muscle denaturation by Ca and Mg-ATPase activity.....
 - 5) Emulsifying properties.....
 - 6) Thermal stability.....
 - 7) Analysis of muscle submit using SDS-PAGE.....
 - 8) Turbidity.....
4. Optimum recovery technique from soluble protein obtained from muscle by biochemical change.....
5. Manufacturing aptitude on food intensified protein from soluble protein obtained from muscle by biochemical change.
 - 1) Manufacturing aptitude on reinforcing agent of muscle.....
 - (1) Manufacturing of capsule and powder.....
 - 2) Manufacturing aptitude on food intensified protein.....

- (1) Manufacturing of model jelly.....
- (2) Manufacturing of aged and baby foods.....
- (3) Manufacturing of drink.....
- 3) Safety on protein materials.....

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. 노계 가슴육 및 가공 후 잔여육의 일반성분 분석	
2. 근원섬유단백질의 추출	
3. 근육의 처리	
4. 단백질의 glycosylation	
5. 용해도 측정	
6. Lysine 함량 측정	
7. 단백질과 당류의 결합율 측정	
8. Browning 측정	
9. Total Ca 및 Mg-ATPase activity 측정	
10. 탁도 측정	
11. Emulsion forming ability 및 emulsion stability 측정	
12. 열처리에 의한 수용화 단백질의 용해도 측정	
13. SDS-PAGE에 의한 단백질 조성의 변화 측정	
14. 당류와 단백질 결합비율에 따른 단백질의 수거량에 대한 검토	
15. pH, 반응온도에 따른 단백질 수거율에 대한 검토	

제 2 절 결과 및 고찰

1. 노계 가슴육과 가공 후 잔여육의 일반성분 분석
2. 근원섬유단백질과 당류의 반응성 검토
 - 1) 단백질의 용해도 측정
 - 2) Lysine 함량 측정
 - 3) 근원섬유단백질과 당류의 결합율 측정
 - 4) Browning 측정
 - 5) Ca, Mg-ATPase activity 측정에 의한 단백질 변성 검토
 - 6) Emulsion 특성 검토
 - 7) 열에 대한 단백질의 안정성 검토
 - 8) SDS-PAGE에 의한 단백질 조성의 변화 측정
3. 근육과 당류의 반응성 검토
 - 1) 근육 단백질의 용해도
 - 2) 근육과 당류의 결합율 측정
 - 3) Browning 측정
 - 4) Ca, Mg-ATPase activity 측정
 - 5) Emulsion 형성능 검토
 - 6) 열에 대한 근육 단백질의 안정성 검토
 - 7) SDS-PAGE에 의한 근육 단백질 조성의 변화 측정
 - 8) 근육과 당류의 결합에 의한 탁도 변화
4. 근육의 생화학적 변환에 따른 수용화 성분의 수거기술검토
5. 생화학적 변화에 의한 수용화 단백질의 근육강화식품의 가공적성 검토
 - 1) 근육강화 공급제에 대한 가공적성 검토
 - (1) 단백질 캡슐 및 powder 제조
 - 2) 단백질 강화식품에 대한 가공적성 검토
 - (1) 젤리제조
 - (2) 죽류제조

(3) 음료제조

3) 단백질 소재의 안전성 검토

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

노약자 및 스포츠맨과 같은 운동량이 많은 사람일수록 영양섭취의 중요성은 충분히 인식되어 있지만 이를 서포트할 만큼의 충분한 과학적 정보는 아직 부족한 상태이다. 그러나, 그 정보는 최근 서서히 축적되고 있으며, 실제로 응용할 수 있는 정보도 늘고 있다. 특히 최근 밝혀지기 시작하고 있는 아미노산의 supplement의 효용에 대해서는 유용한 정보가 많으며, 운동선수에서부터 일반의 운동애호자에 이르기 까지 이용할 수 있는 단계에 이르고 있다.

운동에 의하여 골격근의 에너지 대사는 현저하게 증가하므로 주요 에너지원인 당질 및 지방의 대사가 빨리 진행되며 단백질 및 아미노산의 대사도 촉진된다. 또한 근조직은 운동에 의하여 손상을 입게 되며, 운동 후의 그 회복에 있어서 단백질 합성과 에너지 대사가 빠르게 진행되기 때문에 아미노산의 이용은 높아진다. 따라서, 운동은 단백질, 아미노산 대사에 큰 영향을 부여하는 생체활동이라 할 수 있다. 신체에 있어서 단백질, 아미노산을 가장 많이 포함하고 있는 곳은 근육이며, 일반적으로 체중의 약 40%를 차지하고 있는 것으로 알려지고 있다. 더욱이 근육은 3~4g / 1kg의 유리아미노산을 포함하고 있으며, 이 유리아미노산이 단백질의 합성과 분해에 있어서 중요한 역할을 하고 있는 것으로 생각되고 있다.

운동은 근조직 및 근세포에 손상을 입히지만 그 손상은 골격근 세포에 많이 포함되어 있는 creatine kinase를 혈중으로 누출하므로 혈중에서는 그 효소활성을 상승시키는 것으로 알려지고 있다. 이 운동에 의한 근세포의 손상은 weight training과 같은 eccentric한 운동에서 강하게 일어나며, 특히 보통 때 운동을 즐겨하지 않는 사람에게서 운동 시 강하게 일어난다. 근세포의 손상은 근단백질의 분해를 동반하며, 운동 후에

는 단백질의 합성도 촉진되는 것으로 생각하고 있다. 따라서, 운동 후에는 충분한 영양공급이 필요하며 이러한 것이 보다 최상의 신체를 유지할 수 있는 필수 조건이라고 사료된다.

인간이 필요로 하는 아미노산을 가장 적합하게 포함되어 있는 식품으로서 유단백질을 들 수 있다. 이 유단백질을 기준으로 하여 동물성 단백질과 식물성 단백질의 아미노산을 비교하면 동물성 단백질이 유단백질의 아미노산 조성보다 유사한 것으로 알려지고 있다. 따라서 근육의 합성에는 동물성 단백질의 섭취가 유리하다고 할 수 있다.

일반적으로 사람이 필요로 하는 1일 단백질의 소요량은 1.08g / kg (체중)인 것으로 알려지고 있다. 예를 들어 60kg의 체중을 지닌 사람의 1일 단백질 요구량은 약 65g이 필요하게 되는 것이다. 운동에 의해서 단백질, 아미노산의 분해가 빠르게 진행되며, 또한 운동 종료 후에는 단백질의 합성도 높아진다는 것이 이미 밝혀져 있으므로 단백질의 필요량은 운동 후 당연히 높아질 것으로 사료된다. 지금까지의 연구보고에서도 운동을 심하게 한 경우 단백질의 섭취량을 높이는 것이 신체를 유지하는데 유리한 것으로 되어있으며, 따라서 심하게 운동을 한 경우 1일 단백질 섭취량을 1.5~2.0g / kg(체중)을 권하고 있다.

운동 종료 후에 근단백질 합성이 증대하므로 그 시점에서 단백질, 아미노산을 섭취할 필요성이 있다. 운동 후 단백질을 섭취할 시점을 정확히 판단할 수는 없지만, 개를 통한 동물실험에 의하면 운동 종료 약 2시간 후가 가장 적합한 것으로 보고되고 있다.

운동 전, 후에 단백질, 아미노산을 적절히 섭취하여 운동 후의 체 단백질 합성을 촉진하면, 운동에 의하여 일어난 신체의 손상이 효과적으로 회복됨으로서 운동에 의한 피로회복에도 도움이 되는 것으로 보고되고 있다. 또한 이외에도 피로예방에도 도움이 되며, 노약자의 회복기에 단

백질, 아미노산을 공급함으로써 건강회복의 촉진을 가져올 것으로 사료된다.

한편, 현재 우리나라의 도계수는 1일 70만두에 이르고 있으며, 이중 1차가공(도계 후 대포장 및 소포장)이 대부분을 차지하고 있으나, 2차가공품도 상당부분 차지하고 있는 것으로 알려지고 있다. 2차가공의 공정을 검토하면 육과 뼈를 분리하는 공정이 있으며, 또한 다리부분과 가슴육 등으로 분리하고 있다. 뼈에는 가공 후 잔여육이 상당부분 남아있으며, 동물 사료나 스프용 정도로 이용될 뿐 상당부분 폐기처분되고 있다. 또한 가슴육의 경우(특히 노계의 가슴육) 물성이 매우 백백한 느낌을 주어 선호도에 있어서 떨어지는 경향이 있으며 햄이나 소시지의 원료로 사용되고 있을뿐 노계 가슴육의 경제성 향상을 위해서는 사용용도의 다양화가 필요한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 폐기처분되고 있는 닭 가공 잔여육 및 노계 가슴육의 경제성 향상을 위하여 근육 단백질의 생화학적 특성의 변환(변성과 다름)기술을 이용하여 새로운 근육 강화형 식품소재를 개발하고자 한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

생체내에서의 단백질 및 아미노산의 대사관련 연구는 많이 수행되었다. 즉, M Rennine(1996) 등은 단백질 및 아미노산 신진대사에 관한 운동의 영향에 대하여 보고하였으며, 근육 중에 존재하는 유리아미노산이 단백질의 분해 및 합성에 있어서 중요한 역할을 한다고 하였다. 또한 WJ Evans(1986) 등은 일상적으로 격한 운동을 하는 사람과 그렇지 않은 사람과의 신진대사의 변화에 대하여 조사한 결과, 운동은 근조직 및 근세포에 손상을 입히며 그 손상은 골격근 세포에 다량 함유하고 있는 Creatine kinase를 혈중에 누출하여 혈중에서의 효소활성을 상승시키기 때문에 항상 운동을 격하게 하는 사람에게서 근조직의 손상이 쉽게 일어나며, 갑자기 격한 운동을 하였을 때 근조직의 손상이 빠르게 일어났다고 하였다. 또한, 운동에 의한 근조직의 손상을 알아보기 위하여 소변 중의 요소 함량을 측정한 결과 운동 시간이 길어질 수록 요소의 농도가 증가되는 것으로 나타났으며, 운동에 의한 단백질의 분해량은 운동시간에 비례하는 것으로 나타났다. 또한 소변 중의 요소 농도가 상승하지 않는 1시간 이내의 단시간의 운동에서도 leucine의 분해가 촉진되었으며, 이는 일부의 아미노산은 상당히 빠른 시점에서 분해가 일어나는 것으로 추정되었다(RR Wolfe 등 1982).

한편, 운동 후 단백질 또는 아미노산을 섭취하면 근육의 합성이 일어나는 것으로 판명되었으며, 어느 시점에서 섭취하는 것이 가장 효율적인가에 대하여 개를 대상으로 하여 실험한 결과 운동 후 2시간 후에 섭취하는 것이 가장 효율적인 것으로 나타났다(K. Okamura 등 1997). 또한, 그 후 사람을 대상으로 한 실험결과에서는 운동직후 와 2시간 후에 공급한 비교연구에서 운동직후 바로 섭취하였을 때 근단백질의 합성이 보다

효율적이었다(B. Esmarck 등 2001). 실험 대상자에게 40~50분간 레지스탕스 운동시 운동 직전 또는 운동 직후에 아미노산을 공급하여 비교하면 운동 직전에 공급하는 것이 단백질 합성율이 높은 것으로 나타났다(KD. Tipton 2001). 이외에 섭취한 단백질의 체내 축적율에 대하여 조사한 결과 다른 영양소와 동시에 섭취하는 것이 단백질 합성에 더욱 효과적이라는 보고도 있다. 즉, 단백질 단독의 섭취, 단백질과 설탕의 동시 섭취, 단백질과 지방의 동시섭취의 조건으로 섭취 후 8시간까지의 섭취 단백질의 체내 축적율을 검토한 결과 단백질과 설탕을 동시에 섭취하였을 경우 가장 높은 축적율을 나타내었다(C. Gaudichon 등 1999).

이상과 같이 운동 후에 근육의 손상이 일어나는 것으로 알려지고 있으며, 또한 병약자 및 성장기의 유아에게는 충분한 단백질의 공급이 필요하며 이를 보충하기 위해서는 적당량의 단백질 및 아미노산 등의 영양을 공급하여야 한다. 따라서 최근에는 손쉽게 섭취할 수 있는 아미노산의 supplement에 대한 연구 예가 많이 있으며, 아미노산 보강음료 등으로 산업화가 이루어져 판매되고 있다. 그러나, 아미노산 supplement의 경우 대부분 chemical을 이용한 예가 많아 그 안전성에 있어서 완전히 확보되었다고는 할 수 없다.

한편, 근육으로부터 순수 단백질만을 분리한 supplement에 대한 연구에는 매우 적은편이며, 이는 단백질의 안정성이 매우 불안정하므로 취급하기 어려운 것이 하나의 원인일 것으로 사료된다. 또한, 아미노산과 단백질을 공급하였을 때 단백질이 아미노산 보다 단백질 합성율에서 우수하다는 보고도 있어 단백질 supplement에 대한 연구는 계속적으로 발전시켜야 할 분야로 사료된다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 연구개발수행 내용

1. 재료

실험에 사용한 노계 가슴육(Breast meat of spent chicken, BM)과 가공 후 잔여육(Leftover meat after processing from chicken, LM)은 참여업체인 정우식품(주)에서 제공받아 사용하였으며, 잔여육은 껍질, 지방, 내장 및 뼈를 제거하여 시료를 채취하였다.

2. 노계 가슴육 및 가공 후 잔여육의 일반성분 분석

노계 가슴육과 가공 후 잔여육의 일반 성분을 분석하였다. 수분은 상압가열법에 의해 함량이 0.01이 될 때 까지 건조하여 실시하였고, 조지방은 Soxhlet법에 의해 측정하였다. 조회분과 조단백은 각각 직접 회화법과 Semi-micro kjeldahl법으로 정량하였다.

3. 근원섬유단백질의 추출

노계 가슴육을 일정한 크기로 세절한 후, 시료 무게의 10배량의 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH7.0)를 가하고 homogenizer (Ultra turrax T20, IKA, Germany)를 이용하여 20,000 rpm으로 1분 동안 균질화 한후 30초간 정지하였다. 이와 같은 조작을 3회 반복하였다. 균질화 된 시료를 거즈로 여과하여 닭 뼈와 connective tissue를 제거한 후, 15,000 x g에서 10분간 원심 분리하여 침전물을 얻었다. 침전물에 상기 buffer를 가하여 현탁시킨 후 원심분리(15,000 x g)를 하여 침전물을 얻는 조작을 3회 반복하여 근원섬유단백질로 하

였다. 근원섬유 단백질의 최종 농도는 상기의 buffer를 가하여 6mg/ml가 되도록 조절하였다. 한편 단백질 농도의 측정은 Biuret법 (Gornall et al., 1949)을 이용하였다. 닭 가공 후 잔여육은 cutter를 이용하여 일정한 크기로 세절한 후, 분쇄기(Wonder blender, 30,000 rpm, Sanplatec corp.)를 이용하여 닭 뼈를 분쇄하여 잔여육을 분리한 후, 노계 가슴육과 같은 방법으로 근원섬유단백질을 추출하였다.

4. 근육의 처리

근육에 직접 당류를 첨가하여 glycosylation이 일어나는 지를 검토하기 위해 근육을 하기와 같이 처리하였다. 즉, 노계 가슴육을 일정한 크기로 세절한 후, 시료 무게의 10배량의 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH 7.0)를 가한 후 homogenizer(Ultra turrax T20, IKA, Germany)를 이용하여 20,000 rpm으로 2분 동안 ice bath 상태에서 균질화 하였다. 균질화 된 시료의 단백질농도를 측정하여 최종 농도가 6mg/ml가 되도록 상기의 buffer를 가하여 조절하였다.

5. 단백질의 Glycosylation

근원섬유단백질의 glycosylation에는 D-glucose(Yakuri pure chem. co. LTD., Japan), fructose(Fluka-garantie, Switzerland) 및 alginic acid(Sigma, USA)를 사용하였으며, 근육 현탁액에는 D-glucose(Yakuri pure chem. co. LTD., Japan), dextran(Wako pure chem. Ind. LTD., Japan))을 사용하였다. 당첨가는 근원섬유단백질과 근육 현탁액의 최종 단백질 농도(6mg/mL)에 대해 각각 1:3, 1:9, 1:18의 비율로 첨가하였고, alginic acid는 근원섬유 단백질의 최종 농도에 대해 1.0~3.0%의 농도로 첨가하여 실험하였다. 당과 근육이 혼합된 시료는 각각 5mL씩 test tube

에 분주한 후, -45°C 에서 24시간 동결한 후, 동결건조기(FD5512, Ilshin. Lab. Co., LTD., Korea)를 사용하여 동결 건조하였다. 이렇게 동결 건조된 시료를 50°C 에서 32%와 67%로 조절된 항온항습조에서 0~24시간동안 반응시킨 후, -25°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

6. 용해도 측정

동결 건조된 시료를 50°C 에서 32~67%로 조절된 항온항습조에서 0~24시간동안 반응시키면서 용해도를 측정하였다. 온도와 각각의 상대습도에서 반응시킨 시료를 최종농도가 1mg/mL가 되도록 조절한 후, homogenizer를 이용하여 13,500 rpm에서 1분 동안 균질화 하였다. 균질화된 시료를 $15,000 \times g$ 에서 30분 동안 원심분리 하여 상등액을 취하여 용해도를 측정하였다. 용해도는 총 단백질 함량에 대한 원심분리 후 상등액의 단백질 함량 비의 백분율로 계산하였다. 단백질 농도는 Bradford 법(Bradford, M.M. 1976)을 이용하여 측정하였다.

7. Lysine함량 측정

단백질과 당의 결합물(2mg/ml : 단백질 농도를 기준으로 하여)을 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH 7.0)에 용해시키고, 여기에 최종 농도 7.5%가 되도록 Trichloroacetic acid(TCA)를 첨가하여 15분간 정치한 후 $15,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리 하였다. 침전물에 2% SDS를 포함한 20mM phosphate buffer(pH 9.5)를 첨가하여 상온에서 용해하였다. 용해된 시료에 *o*-phthalaldehyde와 N-acetyl-l-cystein을 첨가하여 335nm에서 spectrophotometric 분석법에 의해 Lysine 함량을 측정하였다(Hernandez and Alvarez-Coque, 1992). 이는 단백질을 glycosylation 화 된 후 48시간 이내에 측정하였다.

8. 단백질과 당류의 결합을 측정

단백질과 당류의 결합물(2mg/ml : 단백질 농도를 기준으로 하여)에 ammonium sulfate를 첨가하고, 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH 7.0)를 가한 후 2°C에서 용해하였다. 용해한 시료를 원심분리 하여 침전물을 얻는 조작을 3회 이상 반복하여 반응하지 않은 당류를 제거하였다. 단백질에 결합한 당의 양은 phenol-sulfuric acid 법(Dubois, M., 1956)에 의해 측정하였다.

9. Browning 측정

단백질과 당류의 결합물에 대하여 10% sodium dodecyl sulfate(SDS)가 포함된, 0.1M NaCl, 20mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)를 첨가하여 1mg/ml로 조절한 후, 420nm에서 측정하였다.

11. Total Ca 및 Mg-ATPase activity 측정

단백질과 당의 결합에 의하여 얻어진 수용화 단백질의 Ca 및 Mg-ATPase activity를 측정하였다. 시료를 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH 7.0)를 첨가하여 현탁한 후 현탁액을 투석튜브에 충전하여 투석(외액 : 증류수)에 의해서 염을 제거하였으며, 염이 제거된 시료의 단백질 농도를 1mg/mL로 맞추어 후 실험에 사용하였다. 0.1M KCl, 5mM CaCl₂(또는 MgCl₂), 1mM ATP 및 25mM Tris-maleate(pH 7.0)의 반응용액에 시료를 가하여 10분간 반응시켰다. 반응 후 15% HClO₄를 첨가하여 반응을 정지시킨 다음, 반응이 정지된 시료에 발색시약(Elon solution)을 첨가하여 20분 동안 반응한 후 640nm에서 측정하였다.

12. 탁도 측정

단백질과 당의 결합에 의하여 얻어진 수용화 단백질의 농도 1mg/ml가 되도록 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH 7.0)로 조절한 후 330nm에서 탁도를 측정하였다.

13. Emulsion forming ability 및 Emulsion stability

Emulsion 형성능은 Pearce and Kinsella (1978)의 방법에 의해 측정하였다. 시료를 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 1mg/ml로 조절한 후 2.1ml 취하여 corn oil 0.7ml을 첨가하였다. 이렇게 만든 oil in water 형태를 ice-bath 상태에서 Homogenizer를 이용하여 13,500 rpm에서 1분 동안 균질화 하고, 시험관내 분리된 하층부에서 시료 0.15ml을 취하여 0.1% SDS 2.85ml을 첨가하여 25℃에서 반응하고 1분간 정치한 후, 500nm에서 emulsion forming ability를 측정하였다. Emulsion stability는, emulsion 상태의 시료를 2℃에 보관하면서 5분 간격으로 탁도를 측정하였으며, 이 때, 탁도의 흡광도가 50%이하로 감소할 때까지 측정하였다. 또한 emulsion 상태의 시료를 80℃에서 1시간동안 가열하여 열에 의한 emulsion stability를 측정하여 비교하였다.

14. 열처리에 의한 수용화 단백질의 용해도

시료에 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer(pH 7.0)를 첨가하여 단백질 농도를 2.0 mg/mL로 조절하였다. 이렇게 조절한 각각의 시료를 50~80℃의 범위에서 2시간 동안 water bath에서 열처리 후 ice bath에서 냉각하였다. 냉각된 시료를 15,000 × g에서 30min동안 원심 분리하여 총 단백질 함량에 대한 원심분리 후의 단백질 함량의 비를 100분율로 하여 용해도로 하였다.

15. SDS-PAGE에 의한 단백질 조성의 변화 측정

시료에 8M urea, 2% mercaptoethanol, 2% SDS, 20mM Tris-HCl(pH 8.0)의 용액을 첨가한 후, 100℃에서 2분간 가열하였다. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)는 Laemmli 법에 의해 10% polyacrylamide gel을 이용하여 실시하였으며, 염색은 Coomassie Brilliant Blue R-250을 이용하였다.

16. 당류와 단백질의 결합비율에 따른 단백질의 수거량에 대한 검토

단백질을 2mg/mL로 조절하고 일정 무게를 측정하여 건조한 후 건조분의 함량을 백분율로 계산하였다.

17. pH, 반응온도에 따른 단백질 수거율에 대한 검토

pH에 따른 단백질 수거율에 관한 검토는, 단백질과 당을 결합하여 50℃에서 상대습도 32%와 67%로 조절한 시료를, pH 6.0, 7.0 및 8.0으로 조절한 0.1M NaCl, 20mM phosphate buffer에 각각 현탁하여 용해도를 측정하였다. 반응온도에 대한 단백질 수거율에 관한 검토는, 시료를 30℃, 50℃ 및 60℃의 각각의 온도에서 32%와 67%로 조절된 항온항습조를 이용하여 0~24시간동안 반응시킨 후, 용해도를 측정하였다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. 노계가슴육 및 잔여육의 일반성분

실험에 사용한 노계 가슴육과 닭의 가공 후 잔여육의 일반 성분은 Table 1과 같다. 노계 가슴육의 일반성분은 수분 75.7%, 조단백 22.1%, 조지방 1.1% 및 조회분 0.9% 였으며, 잔여육의 경우는 수분 57.5%, 조단백 15.6%, 조회분 9.5% 였다. 닭 잔여육의 경우 뼈와 뼈에 붙어 있는 잔존육이 혼재하여 있기 때문에 상대적으로 수분과 단백질은 적으며, 회분 및 지방이 높게 나타난 것으로 사료되었다.

Table 1. Approximate composition of breast and leftover meat after processing from chicken.

	Breast meat(%)	Leftover meat(%)
Moisture	75.7±1.85	57.5±1.76
Ash	0.9±0.01	9.5±0.80
Protein	22.1±0.45	15.6±0.45
Fat	1.1±0.26	15.6±1.57
Total	99.9	98.2

2. 근원섬유단백질과 당류의 반응성 검토

1) 단백질의 용해도 측정

노계 가슴육과 가공 후 잔여육으로부터 추출한 근원섬유단백질에 당류의 첨가비율, 반응 상대습도, 온도 및 반응시간을 달리하여 Maillard 반응시킨 후, 0.1M NaCl solution(pH 7.0)에서의 용해도 변화를 측정하였다.

Fig. 1에는 가슴육의 근원섬유 단백질에 glucose를 각각 1 : 3(w/w)

및 1 : 9가 되도록 첨가하여 상대습도 32% 및 온도 50°C에서 반응시킨 결과를 제시하였다. 근원섬유와 glucose를 반응시키면 반응시간의 경과와 함께 급격히 용해도는 증가하였으며 반응 18시간 후에 약 70%의 높은 용해도를 나타내었다. 그 후 18시간이 경과하면 용해도는 저하하는 경향을 나타내었다. 또한, 근원섬유 단백질과 glucose의 배합비가 1 : 9의 경우가 약간 높게 나타났다.

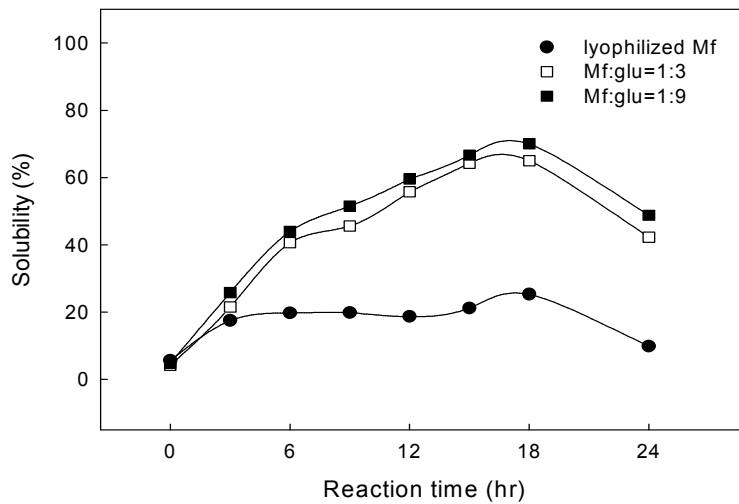


Fig. 1. Changes in solubility of myofibrillar protein prepared from breast meat(BM) of spent chicken during reaction with glucose. Solubility was measured in 0.1M NaCl solution and reaction temperature and humidity were 50°C and 32% respectively.

Fig. 2에는 fructose의 경우를 glucose와 같은 조건하에서 반응시킨 결과를 제시하였다. fructose 첨가의 경우에 있어서도 glucose와 마찬가지로 반응시간의 경과와 함께 용해도가 증가하는 경향을 보였으며, 약 18시간 후에 가장 높은 용해도를 나타내었다. 그러나 glucose의 경우와는 달리 fructose의 첨가에 따른 용해도는 근원섬유 단백질과 fructose의 첨

가비율이 1 : 3일 때 약간 높은 용해도를 나타내었으며, glucose와의 첨가에 의한 근원섬유 단백질의 용해도(약 30%)와 비교하면 매우 낮은 수준이었다.

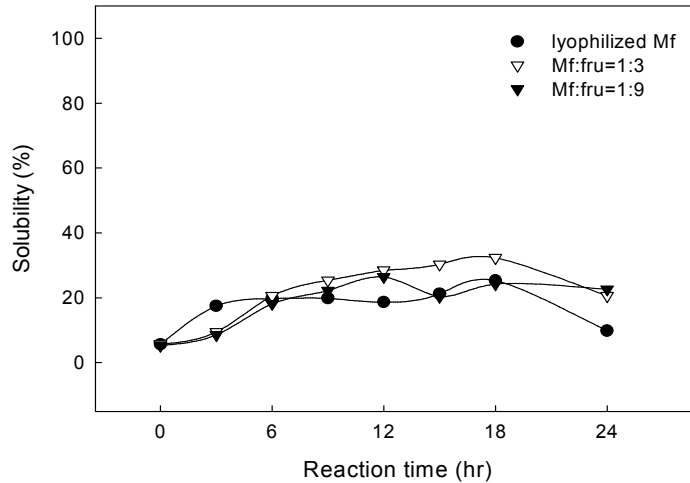


Fig. 2. Changes in solubility of myofibrillar protein prepared from BM of spent chicken during reaction with fructose.

Conditions were the same as in Fig. 1.

Fig. 3에는 alginate를 근원섬유 단백질에 대하여 각각 1~3배의 비율로 첨가하여 glycosilation에 의한 근원섬유 단백질의 용해도를 나타내었다. Fig. 1과 같은 조건하에서 반응시킨 결과 전체적으로 fructose와 유사한 경향을 나타내었으며, 최대 용해도는 근원섬유 단백질과 alginate의 구성비가 1 : 3의에서 반응 6시간 동안 반응하였을 때 나타났다.

이상의 결과로부터 노계 가슴육의 근원섬유 단백질과 각종 당류의 Maillard reaction에 의한 단백질의 glycosylation은 당류에 따라서 그 반응성이 매우 상이함을 확인하였다. 즉, glucose는 단백질과의 Maillard reaction에 의한 glycosylation이 강하게 일어나고 있음이 추측되었으며, fructose 및 alginate의 경우는 glycosylation이 잘 일어나지 않아 이러한

결과가 근원섬유 단백질의 용해도에 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

한편, 닭의 가공 후 잔여육에 대해서도 동일한 실험을 한 결과 가슴육의 근원섬유 단백질과 같은 결과를 나타내었다(data 생략).

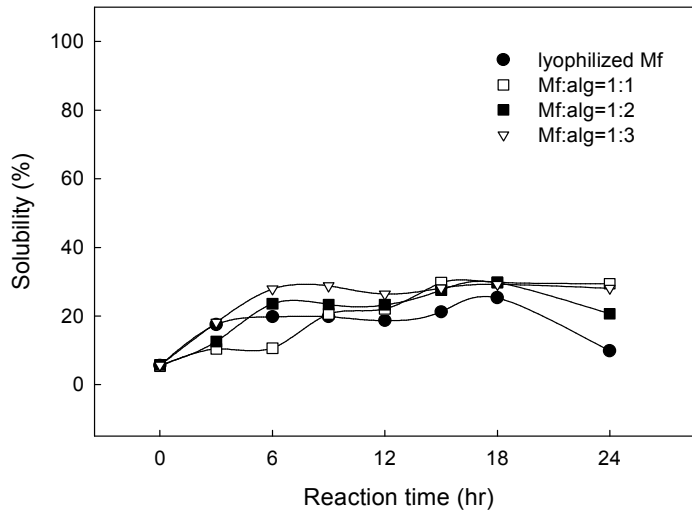


Fig. 3. Changes in solubility of myofibrillar protein prepared from BM of spent chicken during reaction with alginate.

Conditions were same as in Fig. 1.

다음은 Fig. 1~3의 결과로부터 용해도의 최대 값을 산출하여 당류의 첨가가 용해도에 미치는 영향을 좀 더 상세히 조사하기 위하여 Table 2에 그 결과를 제시하였다. 근원섬유 단백질을 동결건조 하여 0.1M NaCl(pH 7.0) solution에서의 용해도를 대조구로 하여 검토한 결과 대조구의 최대 용해도는 약 25.3%를 나타내었다. 그러나 glucose를 첨가하여 반응한 근원섬유 단백질의 저 이온강도에 대한 용해도는 약 70%였으며, fructose가 약 23.3%, alginate는 29.2%에 불과하였다. 이들 간의 결과를 서로 비교하면 glucose는 대조구와 비교하여 약 2.8배, fructose는 약 1.3배, alginate는 약 1.2배 용해도가 높게 나타났다. 즉 이와 같은 결과는

노계 가슴육의 근원섬유 단백질과 당류의 첨가에 따른 glycosilation에는 fructose와 alginate는 크게 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났으며, 단백질과 당류 첨가에 따른 glycosilation에는 glucose가 가장 유용하게 활용할 수 있을 것으로 사료되었다.

Table 2. Maximum solubility of myofibrillar protein of BM in 0.1M NaCl by glycosilation.

Conditions		Maximum solubility(%)
Sugars	Mixing ratio of Mf and sugars	
Lyophilized Mf		25.3
Glucose	1:9	70.1
Fructose	1:9	32.4
Alginate	1:3	29.2

* Myofibrillar protein reacted with sugars at 50°C and 32% relative humidity.

* The maximum solubilities were calculated from Fig. 1~4.

지금까지는 상대습도 및 반응온도를 고정 하여 glycosylation에 의한 노계 가슴육의 근원섬유 단백질의 저 이온강도에서의 용해도를 검토하였다. 다음은 근원섬유 단백질과 당류의 glycosylation에 대한 상대습도의 영향을 알아보기로 glucose와 fructose의 경우를 검토하였다. alginate는 glycosylation에 대한 큰 효과가 없었으므로 본 실험에서는 제외하였다.

Fig. 4에는 근원섬유 단백질에 glucose 및 fructose를 1 : 9의 비율로 첨가하여 동결건조한 후 상대습도를 32~67%의 범위의 50°C에서 반응시켰을 때 glycosylation에 의한 근원섬유 단백질의 용해도를 나타내었다. 대조구로서 근원섬유 단백질을 단독으로 동결건조 한 것은 저 이온강도

(0.1M NaCl)에서 약 25%의 용해도를 나타내었는데 비하여 glucose를 첨가하여 반응시킨 것은 상대습도 32%에서 가장 높은 약 70%의 용해도를 나타내었다. 그 후 상대습도가 높아질수록 용해도는 서서히 저하하였으며, 상대습도가 67% 이상이 되면 급격히 용해도가 저하되는 현상을 보였다. 한편 fructose를 첨가한 경우에 있어서는 상대습도와 관계없이 대조구와 같은 수준의 용해도를 나타내어 fructose 첨가에 의한 glycosylation은 거의 일어나지 않는 것으로 판단되었다.

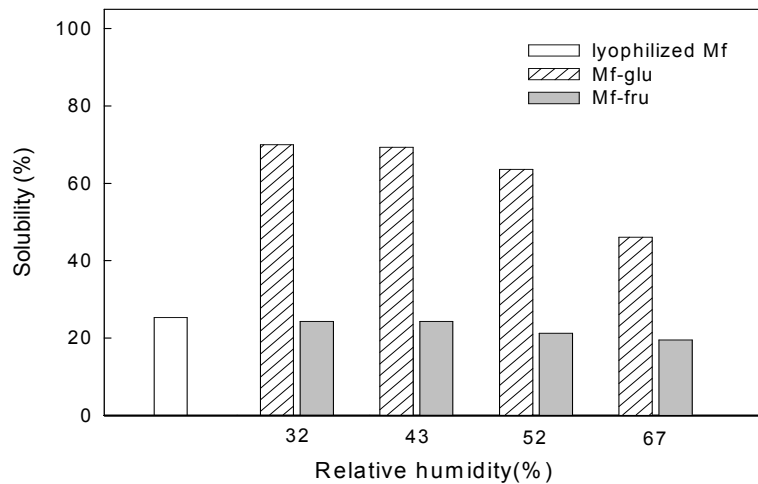


Fig. 4. Effect of relative humidity on solubility of myofibrillar protein from BM in 0.1M NaCl solution by Maillard reaction.

Mixing ratio of myofibrillar protein and sugars was 1 : 9 and reacted at 50°C for 18 hours.

이상의 결과로부터 근원섬유단백질과 당류와의 Maillard reaction에 의한 glycosylation은 당의 종류, 상대습도 및 당의 첨가 비율 등에 영향을 받았으며, 이러한 조건들을 적절하게 조합하여 반응시키는 것이 근원섬유단백질의 용해도를 향상시키는 중요한 요인인 것으로 사료되었다. 그러나 본 연구에서는 온도 및 pH에 대한 의존성은 검토되지 않았는데 온

도 및 pH도 용해도의 변화에 중요한 인자가 될 것으로 사료되며, 이에 대한 연구는 제 2항에서의 근육단백질의 glycosylation에 의한 용해도의 변화에서 기술하고자 한다.

2) lysine 함량 측정

노계 가슴육과 가공 후 잔여육으로부터 추출한 근원섬유단백질에 당류를 첨가하여 온도, 습도 등 일정 조건하에서 반응시키면 lysine 잔기와 당류가 결합하게 되는데 이것을 glycosylation이라 한다. 이때 결합의 정도에 따라서 근원섬유 단백질 중의 잔존 lysine 함량이 줄어들게 되는데 이 함량을 측정함으로써 단백질과 당의 결합 정도를 확인할 수 있다.

Fig. 5 및 6에는 가슴육 및 잔여육의 근원섬유 단백질에 glucose 또는 fructose를 첨가하여 glycosylation에 의한 잔존 lysine의 함량을 측정하여 결과를 제시하였다. Fig. 5에 제시한 가슴육 근원섬유 단백질의 lysine 함량은 상대습도 32%, 온도 50°C에서 24시간 동안 반응시킨 결과, glucose의 경우는 반응시간의 경과와 함께 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 반응 18시간 후에 잔존 lysine 함량은 약 50%에 불과하였다. 그러나 fructose의 경우는 그 감소속도가 glucose와 비교하여 매우 느렸으며, 반응 24시간 후에도 약 70% 이상의 잔존 lysine 함량을 나타내었다.

Fig. 6에는 잔여육의 근원섬유 단백질의 glycosylation에 의한 lysine 함량의 변화를 나타내었다. 이 결과에 있어서도 가슴육에서의 결과와 거의 일치하였다.

glycosylation에 의한 lysine의 잔존량이 가슴육으로부터의 근원섬유 단백질과 잔여육으로부터의 lysine의 잔존량의 결과가 거의 같았기 때문

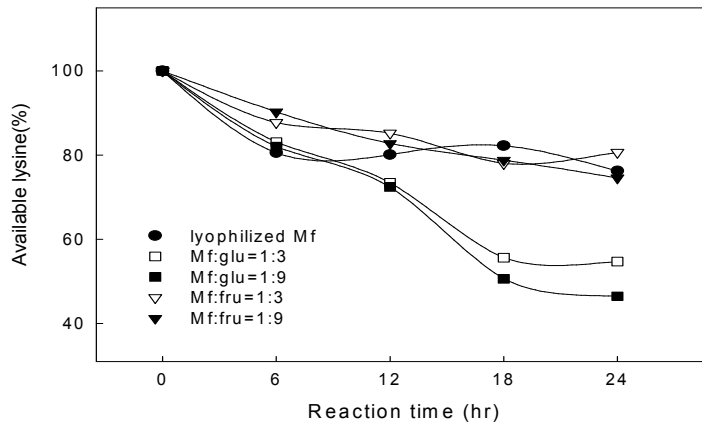


Fig 5. Available lysine content in myofibrillar protein from BM was reacted with glucose or fructose. Myofibrillar proteins reacted with sugars at 50°C and 32% relative humidity.

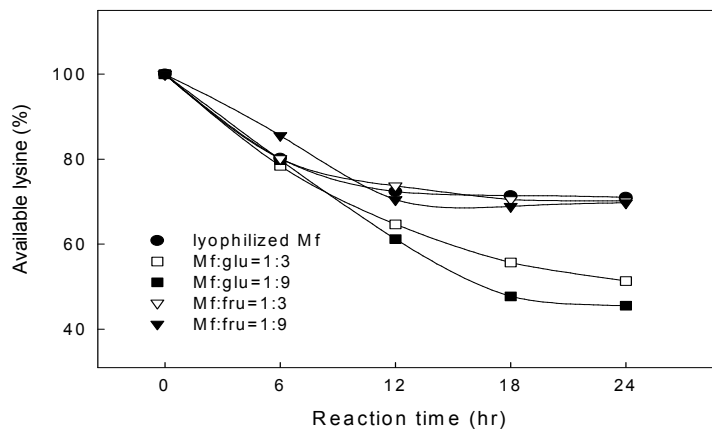


Fig 6. Available lysine content in myofibrillar protein from leftover meat(LM) of spent chicken was reacted with glucose or fructose. Myofibrillar proteins reacted with sugars at 50°C and 32% relative humidity.

에 여기에서는 대표적으로 가슴육의 근원섬유에 가장 효과가 좋았던 glucose를 첨가하여 상대습도의 변화에 따른 lysine 함량의 변화를 검토하였다. Fig. 7에는 근원섬유 단백질에 glucose를 1 : 9의 비율로 첨가하여 동결건조한 후 상대습도를 32~67% 범위의 50°C에서 반응시켰을 때 glycosylation에 의한 근원섬유 단백질 중의 잔존 lysine 함량을 나타내었다. 이 결과에 의하면 상대습도가 낮을수록 근원섬유단백질 중에 잔존하는 lysine 함량이 적었으며 낮은 상대습도에서 lysine과 glucose의 결합이 보다 강력하게 이루어짐을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 용해도 (Fig. 4)에 있어서도 이때에 매우 높은 용해도를 나타내어 glycosylation에 의한 단백질의 수용화와 매우 강한 상관관계가 있는 것으로 사료되었다.

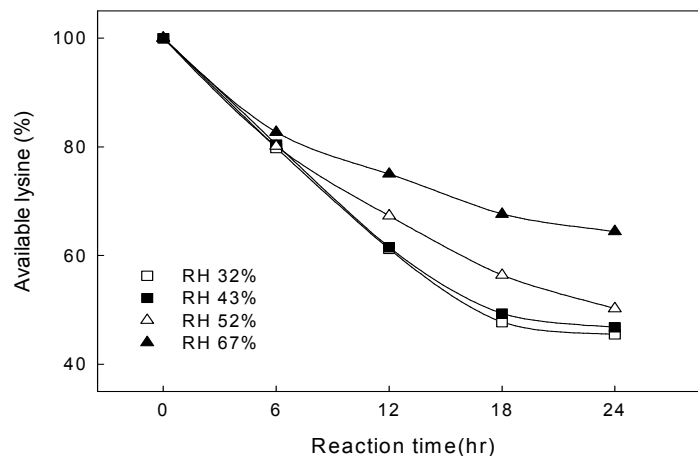


Fig. 7. Effect of relative humidity on available lysine content of myofibrillar protein from BM in 0.1M NaCl solution by Maillard reaction. Mixing ratio of myofibrillar protein and sugars was 1 : 9 and reacted at 50°C for 18 hours.

3) 근원섬유단백질과 당류의 결합을 측정

glycosylation에 의한 근원섬유 단백질과 당류의 결합이 어느 정도 이루어졌는지를 알아보기 위한 방법으로서 근원섬유 단백질에 결합되어 있는 당의 함량을 측정함으로써 판단할 수 있다. 따라서 단백질과 당의 결합물에 ammonium sulfate를 첨가하여 침전시킨 다음 침전물에 0.1M NaCl solution (pH 7.0)을 첨가하여 수차례 수세하여 미 결합된 당류를 충분히 제거한 후 phenol-sulfuric acid법으로 결합된 당의 함량을 측정하였다. 이와 같이 하여 측정한 결과를 Fig. 8~11에 제시하였다.

Fig. 8 및 9에 제시한 가슴육 및 잔여육의 근원섬유 단백질에 결합한 당의 함량을 살펴보면, 근원섬유 단백질과 glucose의 혼합비를 1 : 9로 하여 상대습도 32%, 온도 50°C에서 반응시켰을 때 가장 높은 당의 함량을 나타내었다. 그러나 fructose의 경우는 같은 조건하에서 결합된 당의 함량이 매우 낮게 나타나 단백질과의 결합이 거의 일어나지 않았음을 시사하였다.

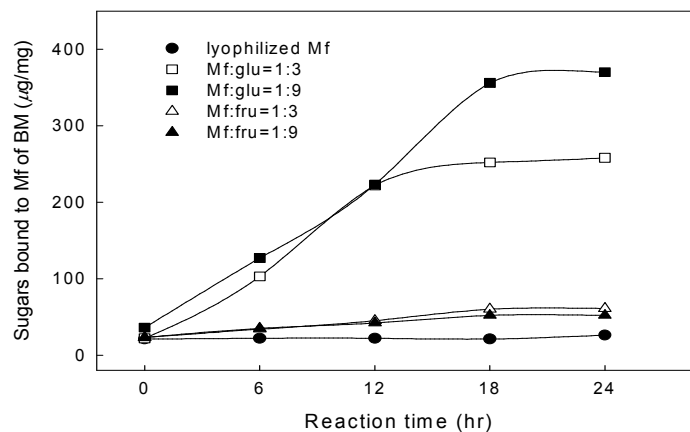


Fig. 8. Amount of sugars bound to myofibrillar protein of BM by Maillard reaction.

Myofibrillar proteins reacted with sugars at 50°C and 32% relative humidity.

한편, 가슴육 및 잔여육의 근원섬유 단백질과 glucose 또는 fructose의 혼합비를 1 : 9로 하여 상대습도 67%, 온도 50°C에서 반응시켰을 때의 결과를 Fig. 10 및 11에 제시하였다. 이결과에 의하면 근육의 종류와 관계없이 상대습도 32%의 결과와 비교하여 결합된 당의 함량이 낮게 나타났다. 이와 같은 결과는 상대습도에 따라서 단백질과 당의 결합력이 매우 다르게 나타나며, 상대습도가 낮을수록 단백질과 당의 결합력은 상승하는 것으로 사료되었다.

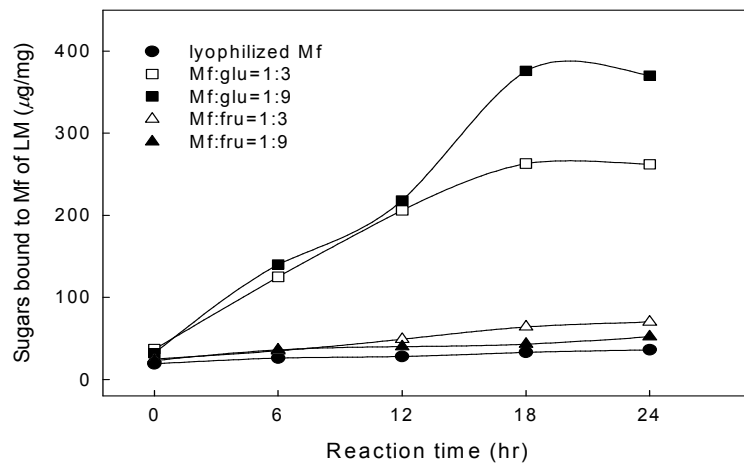


Fig. 9. Amount of sugars bound to myofibrillar protein of LM by Maillard reaction. Myofibrillar proteins reacted with sugars at 50°C and 32% relative humidity.

이상의 결과들을 증명하기 위하여 Maillard reaction에 의한 단백질 중의 lysine 함량과 단백질과 결합한 glucose의 함량과의 관계를 분석하여 Fig. 12에 제시하였다. 이결과에 의하면 반응시간의 경과와 함께 단백질 중의 잔존 lysine 함량은 급격히 감소하였으며, 이에 따른 단백질과 결합된 glucose의 함량이 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. lysine의 감소

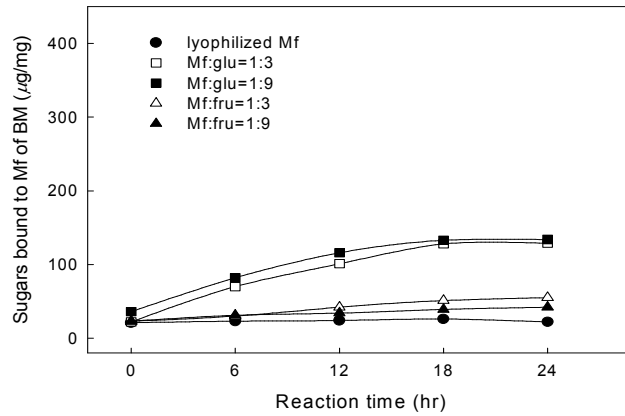


Fig. 10. Amount of sugars bound to myofibrillar protein of BM by Maillard reaction. Myofibrillar proteins reacted with sugars at 50°C and 67% relative humidity.

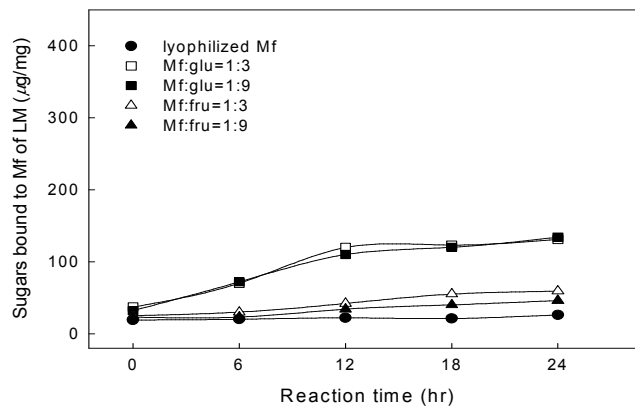


Fig. 11. Amount of sugars bound to myofibrillar protein of LM by Maillard reaction.

Myofibrillar proteins reacted with sugars at 50°C and 67% relative humidity.

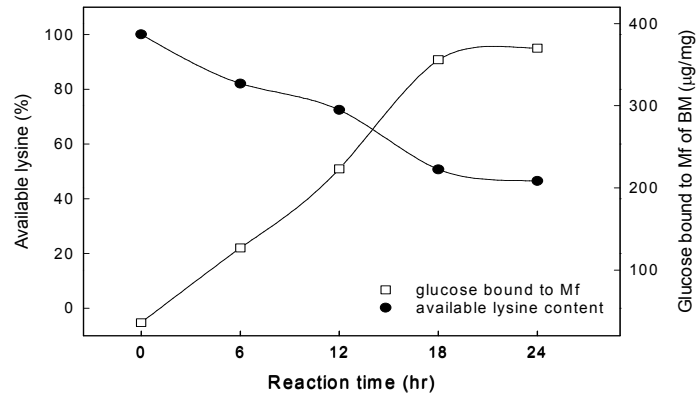


Fig. 12. Relationship between available lysine content and amount of glucose bound to myofibrillar protein of BM by Maillard reaction.

Mixing ratio of myofibrillar protein and glucose was 1:9 and reacted at 50°C and 32% relative humidity for 24hr.

속도와 glucose의 증가속도가 거의 일치하는 것으로 보아 단백질과 당의 Maillard reaction에 의한 glycosilation이 급격히 일어남을 알 수 있었다.

이상의 결과들을 토대로 분석하면 glycosilation에 의한 단백질의 수용화는 대부분 lysine과 당과의 결합에 의해서 이루어지는 것으로 사료되었으며 glycosilation은 당의 종류, 온도, 습도, 시간 등의 영향을 받는 것으로 확인되었다.

4) Browning 측정

근원섬유 단백질과 당류사이에서 Maillard reaction이 진행되면 갈변현상이 일어나는데 이와 같은 현상은 당의 종류, 온도, 습도 등의 조건에 따라서 갈변 현상의 정도에 영향을 미친다. 또한, 이러한 갈변현상이 일어날 때에 당의 구조적인 변화가 일어나는데 이러한 것들이 단백질과 당

의 결합이 진행되고 있는지를 간접적으로 판단할 수 있는 근거가 된다. 따라서, 제 4)항에서는 노계 가슴육과 가공 후 잔여육에서 추출한 근원섬유단백질에 당류를 혼합하여, 각각의 조건하에서 Maillard reaction에 의한 browning intensity를 검토하였다 (Fig. 13, 14, 15 및 16).

Fig. 13 및 14에는 가슴육의 근원섬유 단백질과 glucose 또는 Fructose를 1 : 3 또는 1 : 9의 비율로 혼합하여 50°C에서 상대습도 32% 또는 67%로 조절하여 반응시켰을 때의 갈변도를 측정하여 그 결과를 나

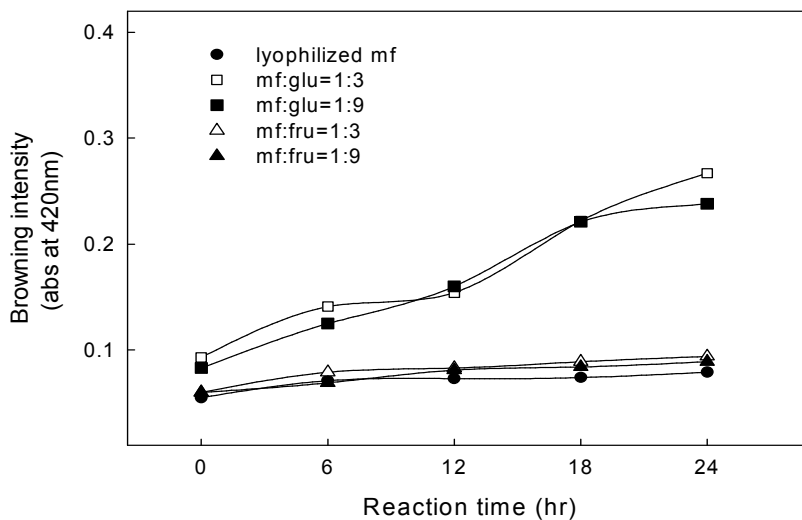


Fig. 13. Change in browning intensity of myofibrillar protein (Mf) from BM during reaction with sugars. Glycosylated Mf-Sugar mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

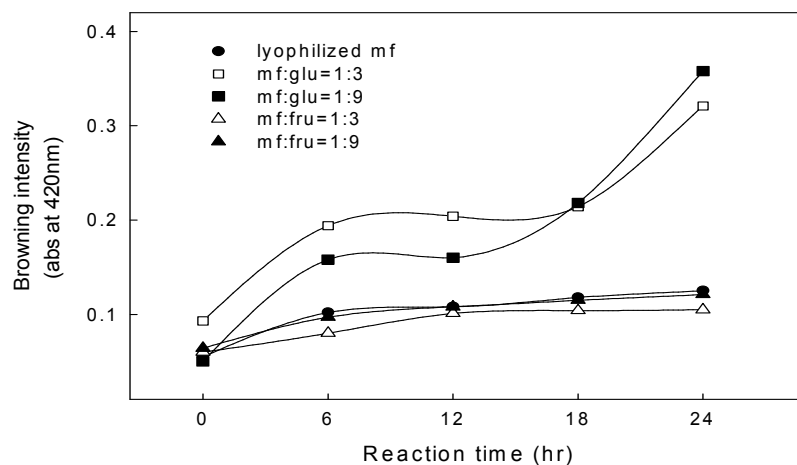


Fig. 14. Change in browning intensity of Mf from BM during reaction with sugars.

Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

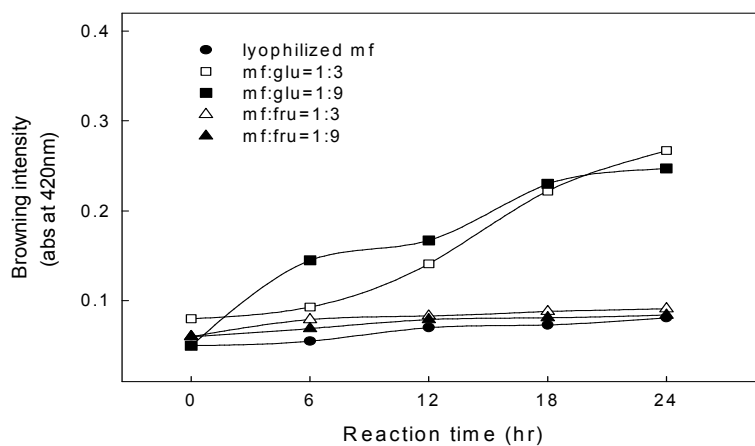


Fig. 15. Change in browning intensity of Mf from LM during reaction with sugars.

Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

타내었다. 이 결과에 의하면 glucose의 경우 반응시간이 경과함에 따라서 갈변도가 증가하는 경향을 나타내었는데, fructose를 첨가한 것은 반응시간에 따른 갈변도에는 큰 변화가 인정되지 않았다. 또한 상대습도에 따른 갈변화의 변화에 있어서도 거의 유사한 결과를 나타내었다. 이와 같은 경향은 Fig. 15 및 16의 잔여육의 경우에 있어서도 거의 유사한 경향을 나타내었다. 이상의 결과는 근원섬유 단백질에 당을 첨가하면 반응 온도, 습도 당의 종류에 따라서 Maillard reaction이 일어나기 시작하는데 glucose와 같은 단당류는 Maillard reaction이 급격히 일어나 단백질의 glycosilation이 급격히 진행되는 것으로 사료되었다. 그러나, fructose의 경우는 단백질의 glycosylation가 매우 느린 속도로 진행되어 이에 따른 갈변도 그다지 일어나지 않았다. 이와 같은 반응이 근원섬유 단백질의 수용화에 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

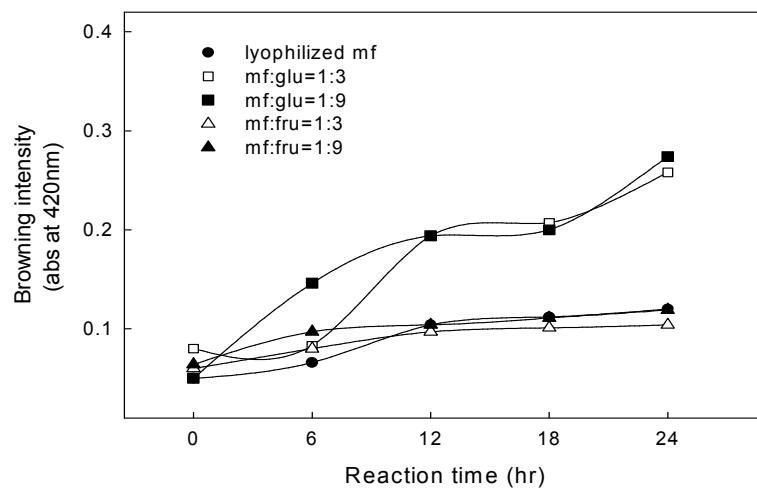


Fig. 16. Change in browning intensity of Mf from LM during reaction with sugars. Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

5) Ca, Mg-ATPase activity 측정에 의한 단백질 변성 검토

근원섬유 단백질 중의 주요단백질은 myosin 및 actin이다. myosin은 ATPase activity를 발현시키는 단백질이며, 여기에는 Ca, Mg, K의 이온이 필요하다. 이온의 종류에 따라서 Ca-ATPase 등으로 불리고 있다. Ca-ATPase는 myosin 단독으로 그 활성을 발현시키지만, Mg-ATPase는 myosin 단독으로는 매우 낮은 활성을 발현시키며, actin이 myosin에 관여함으로써 myosin의 ATPase 활성화에 크게 영향을 미친다. K-ATPase는 Mg-ATPase와는 반대로 myosin의 ATPase 활성화에 actin이 저해하는 작용을 한다. 이와 같은 원리를 이용하여 제 5)항에서는 근원섬유 단백질의 당 첨가에 의해서 glycosilation이 일어날 때 근원섬유 단백질의 내부에서 어떠한 생화학적 변화가 일어나는지를 알아보기 위하여 검토하였다.

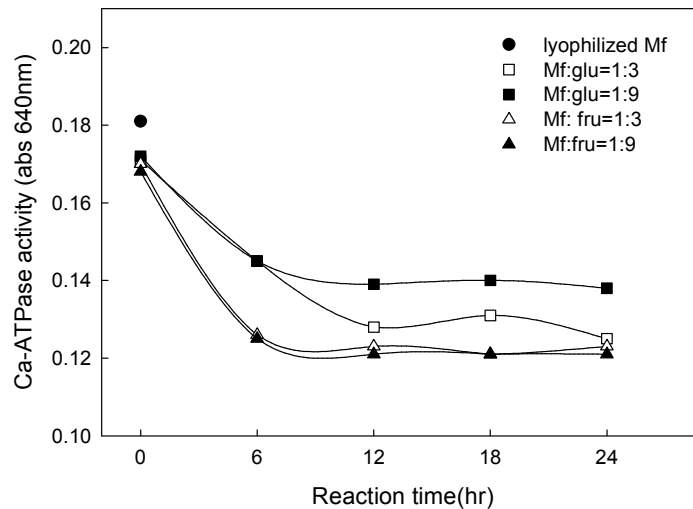


Fig. 17. Change in Ca-ATPase activity of Mf from BM during reaction with sugars. Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

Fig. 17에는 가슴육의 근원섬유 단백질에 glucose 및 fructose를 각각 1 : 3 또는 1 : 9로 혼합하여 상대습도 32%, 반응온도 50°C에서 반응시켰을 때의 Ca-ATPase 활성을 나타내었다. 반응시간의 경과와 함께 Ca-ATPase 활성은 감소하는 경향을 보였으며, glucose 보다 fructose 첨가구가 Ca-ATPase 활성의 감소 속도가 빠른 것으로 나타났다. 또한 glucose의 경우 근원섬유 단백질과 1 : 9의 비율에서 반응시킨 것이 Ca-ATPase 활성의 감소속도가 느리게 나타났으나, fructose는 첨가비율에 따른 차이는 인정되지 않았다. 이와 같은 결과로부터 단백질은 열에 의해서 서서히 변성이 일어나는데 glucose에 의한 glycosylation이 단백질(myosin)과 당과의 결합을 촉진시켜 당에 의한 myosin의 변성을 억제하였기 때문인 것으로 사료되었다. 즉, fructose의 경우는 첨가비율과 상

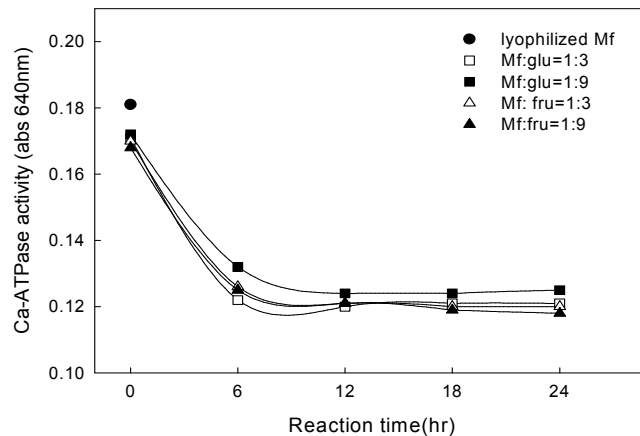


Fig. 18. Change in Ca-ATPase activity of mf from BM during reaction with sugars.

Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

관없이 급격히 ATPase 활성이 감소하였는데 fructose는 단백질과의 결합이 잘 이루어지지 않았었으며, 이로 인하여 단백질의 변성이 급격히 일어난 것으로 사료되었다.

Fig. 18에는 상대습도 67%에서 Fig. 17과 같은 조건으로 측정한 Ca-ATPase 활성의 결과를 나타내었다. 이 결과에 의하면 모든 처리구에서 급격히 Ca-ATPase 활성이 감소하였다. 이 결과는 앞서 제시한 Fig. 17의 결과를 확인시켜주었다. 즉, 반응 시 당의 종류, 첨가비율, 온도와 상관없이 상대습도가 높으면 glycosylation은 일어나기 어려운 조건이었으며, 이와 같은 결과가 Ca-ATPase 활성을 급격히 감소시키는 것으로 판단되었다.

Fig. 19 및 20은 가슴육으로부터의 근원섬유 단백질의 경우를 Fig. 17 및 18과 같은 조건하에서 측정한 Mg-ATPase 활성을 측정한 결과이다. Mg-ATPase 활성에 있어서도 Ca-ATPase 활성의 경우와 매우 유사한 경향을 나타내었다. 즉, 반응시간의 경과와 함께 Mg-ATPase 활성은 감소하는 경향을 보였으며, glucose 보다 fructose 첨가구가 Mg-ATPase 활성의 감소 속도가 빠른 것으로 나타났다. 또한 glucose의 경우 근원섬유 단백질과 1 : 9의 비율에서 반응시킨 것이 Mg-ATPase 활성의 감소 속도가 느리게 나타났으나, fructose는 첨가비율에 따른 차이는 인정되지 않았다. Mg-ATPase는 근원섬유 중의 myosin의 ATPase 활성을 actin에 의해서 활성화 시키는 역할을 하고 있는데 본 결과에서는 actin에 의한 myosin의 ATPase의 활성화에는 기여하지 않는 것으로 사료되었다. 즉, 이와 같은 결과는 myosin에 당이 결합되어 활성화를 차단시키는 것은 예상되나 actin의 성장에는 어떠한 것이 일어났는지에 대해서는 좀 더 심도 있는 연구를 필요로 하였다.

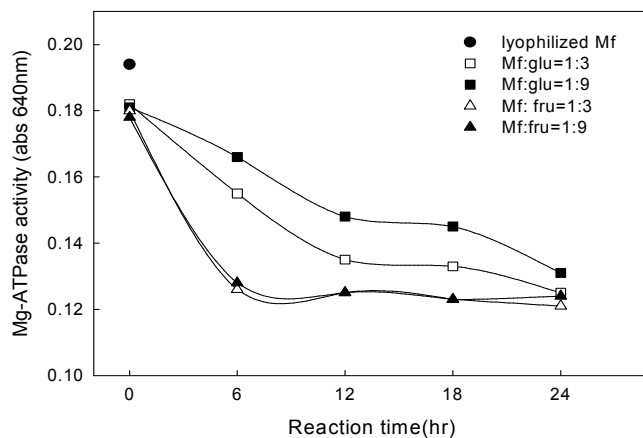


Fig. 19. Change in Mg-ATPase activity of Mf from BM during reaction with sugars. Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

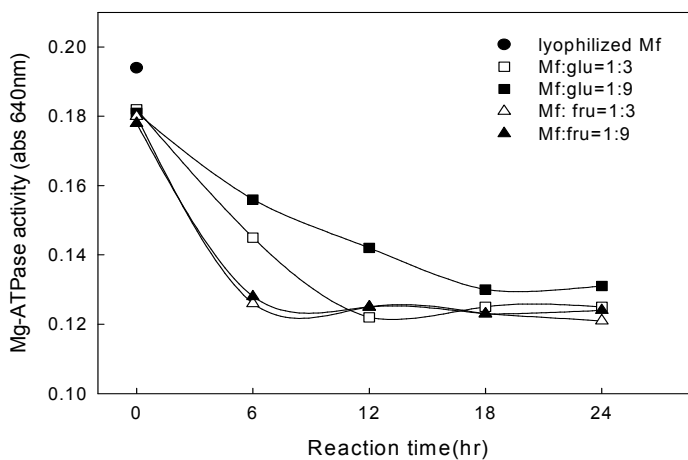


Fig. 20. Change in Mg-ATPase activity of Mf from BM during reaction with sugars. Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

6) Emulsion 특성 검토

Glycosylation에 의해서 결합된 당-단백질의 emulsion 특성을 검토하였다. 우선 당-단백질에 corn oil을 첨가하여 1분간 mixing한 후 emulsion 형성능을 검토하였다.

Fig. 21에는 가슴육의 Mf-glucose 및 Mf-fructose의 1:9 또는 1:3의 비율에서 상대습도 32%, 반응온도 50°C에서 결합시킨 후 emulsion의 turbidity를 측정하여 emulsion 형성능을 관찰하였다. 이 결과에 의하면 반응시간의 경과와 함께 전체적으로 증가하는 경향을 나타내었으나, glycosylation이 가장 잘 일어났던 Mf-glucose(1 : 9)가 가장 높은 emulsion 형성능을 나타내었다. 그러나 glycosylation이 잘 일어나지 않았던 Mf-fructose의 경우는 emulsion 형성능에 있어서도 낮게 나타났

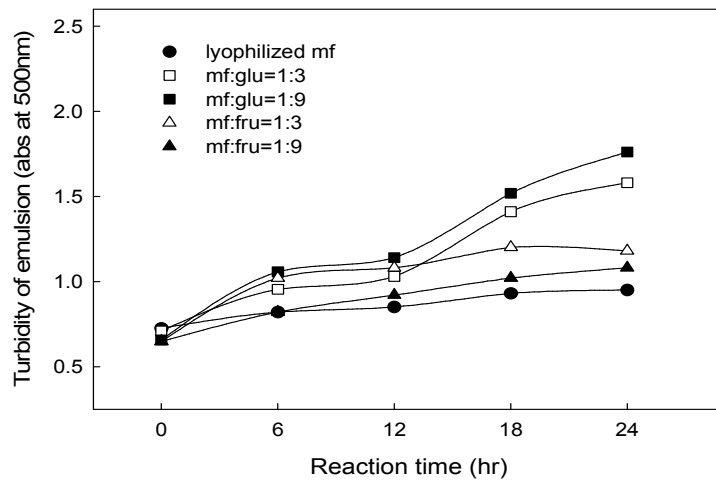


Fig. 21 Change in emulsifying turbidity of Mf from BM during reaction with sugars. Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

Fig. 22에는 상대습도를 67%로 달리하여 Fig. 21과 같은 조건하에서 측정된 emulsion 형성능을 제시하였다. 이 결과에 있어서도 전체적으로는 glycosylation이 잘 일어날수록 높은 emulsion 형성능을 나타내었으나 상대습도 32%와 비교하면 매우 낮은 수준이었다. 즉 emulsion 형성능은 glycosulation의 상태에 비례하는 것으로 사료되었다.

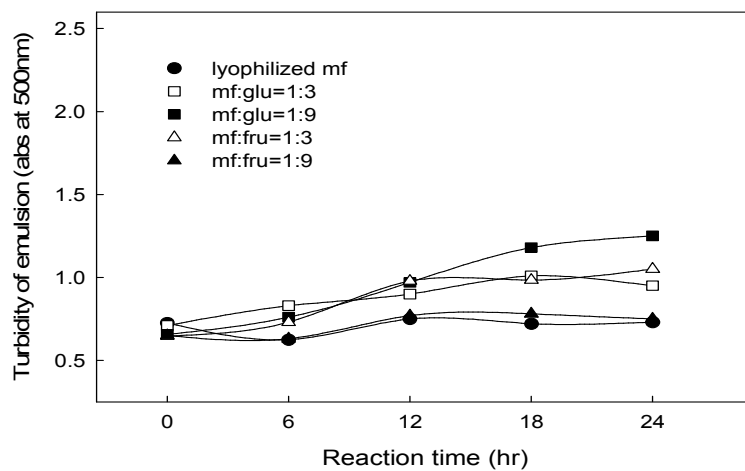


Fig. 22. Change in emulsifying turbidity of Mf from BM during reaction with sugars.

Glycosylated Mf-sugar mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

한편, 잔여육의 경우를 Fig. 21 및 22와 같은 조건하에서 emulsion 형성능을 측정하였는데(Fig. 23 및 24) 여기에서도 가슴육의 경우와 일치하는 결과를 나타내었다.

이상의 결과로부터 glycosylation에 의한 단백질의 emulsion 형성능은 glycosylation이 잘 일어날수록 비례하여 높게 나타났는데 이는 당의 결합에 의해서 단백질의 변성을 억제시키는 작용을 하여 단백질의 emulsion 형성능을 높이는 것으로 사료되었다.

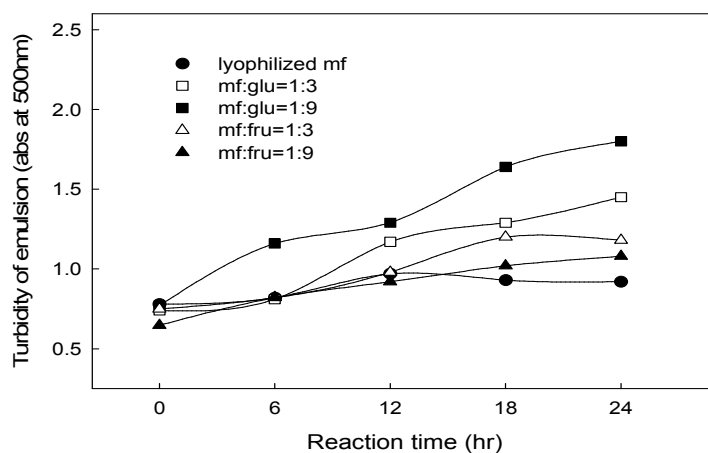


Fig. 23 Change in emulsifying turbidity of Mf from LM during reaction with sugars.

Glycosylated Mf–sugar mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

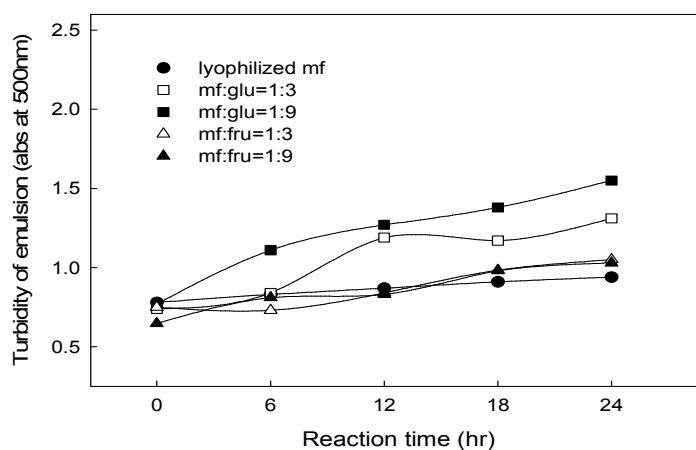


Fig. 24 Change in emulsifying turbidity of Mf from LM during reaction with sugars.

Glycosylated Mf–sugar mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

다음은 glycosylation에 의해서 결합된 당-단백질의 emulsion 특성을 좀더 자세히 알아보기 위하여 80°C에서 가열에 의한 emulsion stability를 측정하여 Fig. 25에 제시하였다. 여기에서는 glycosylation이 가장 활발하게 일어났던 상대습도 32%에서의 Mf-glucose(1:9)의 경우를 대표적으로 제시하였다. 이결과에 의하면 가장 반응성이 좋았던 Mf-glucose의 18시간 동안 반응시킨 것이 가장 높은 emulsion stability를 나타내었으며, 역시 반응성의 정도에 따라서 emulsion stability는 다르게 나타났다. 즉, 단백질과 당 사이에서의 glycosylation에 의해 상호간의 결합력이 증대되면 당이 단백질을 보호하는 역할을 하여 단백질 변성을 유발하는 과도한 조건에서도 단백질의 변성을 억제하기 때문에 본래의 기능을 유지하는 것으로 사료되었다.

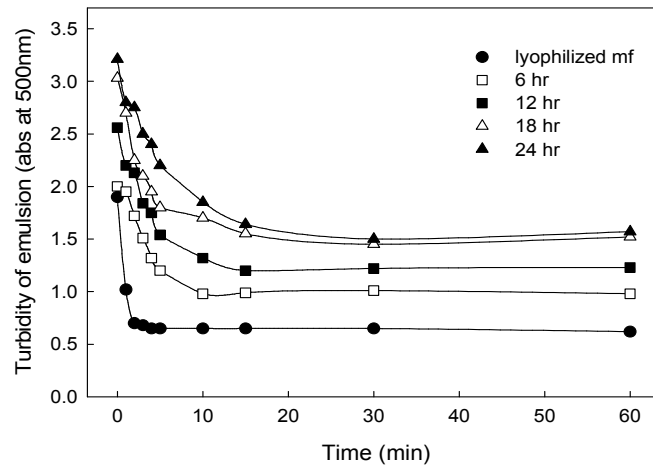


Fig. 25. Changes in emulsifying stabilities of Mf from BM during reaction with glucose by heated at 80°C.

Glycosylated Mf-glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity. Mixing ratio of Mf and glucose were 1 : 9.

7) 열에 대한 단백질의 안정성 검토

염용성인 근원섬유 단백질에 당을 혼합하면 glycosylation에 의한 단백질과 당의 결합이 일어나는데 이때에 결합된 당-단백질은 0.1M NaCl(생리적인 염농도) 이하의 저 이온강도에서도 용해된다(수용화). 이와 같이 당과 단백질이 결합할 때는 단백질 내부에서 생화학적인 변화를 동반하게 되는데 생화학적으로 어떠한 변화가 일어났는지를 확인하기 위하여 glycosylation에 의해서 얻어진 단백질-당의 결합물을 열처리를 하였다. 이와 같이 열처리를 하여 용해도를 측정하면 단백질-당 결합물의 열에 대한 안정성을 예상할 수 있으며, 단백질 식품소재로 활용 시 열에 대한 안정성에 따라 그 활용도의 범위가 달라진다. 즉 용해도가 감소하면 열에 대한 안정성이 저하되었다고 볼 수 있으며 용해도가 유지되면 열에 대한 안정성이 높다고 할 수 있다.

Fig. 26에는 가슴육의 근원섬유 단백질에 glucose 또는 fructose를 각각 1 : 3 또는 1 : 9의 비율로 혼합한 후 glycosylation에 의해서 생성된 단백질-당의 결합물을 50°C~80°C에서 2시간 동안 열처리하여 이들의 용해도를 측정하였다. glycosylation이 잘 일어났던 glucose의 경우 80°C에 이르기까지 용해도에는 거의 변화가 인정되지 않았으며, 1 : 9의 비율에서 반응한 것이 다소 높은 용해도를 나타내었다. glycosylation이 잘 일어나지 않았던 fructose는 온도가 높아질수록 용해도의 감소가 빠르게 일어났다. 이상의 결과는 단백질과 당의 glycosylation의 정도에 따라서 단백질의 변성을 억제하는 것으로 사료되었다. 즉 glycosylation이 잘 일어났던 glucose의 경우 용해도의 감소가 거의 일어나지 않았는데, 이 결과는 단백질에 당이 결합함으로써 외부로부터의 단백질의 변성을 유발시키는 요인을 막아주는 역할을 하기 때문인 것으로 사료되었다. Hashimoto 등은 어류 단백질의 변성을 방지하는 인자로서 각종 당류에 대한 영향을 보고한 바가 있으며, 당류의 OH기수에 따라서 단백질의 변성을 억제한다는 보고를 하고 있다. 따라서 본 연구의 결과에서도 같은

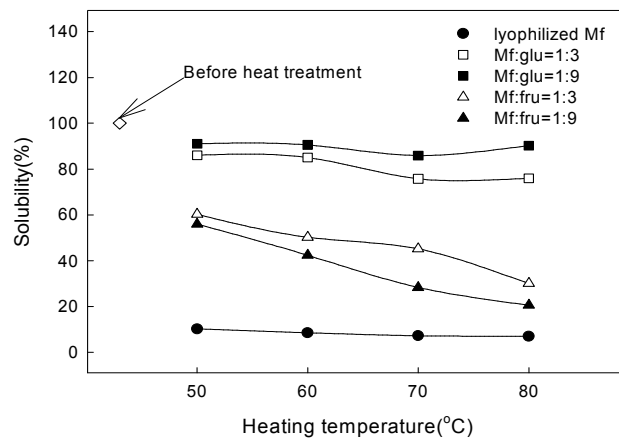


Fig. 26. Change in solubility of Mf from BM conjugated with sugars by heating.

Conjugation of Mf-sugars heated at various temperatures.
Mf glycosylated with sugars at 32% relative humidity.

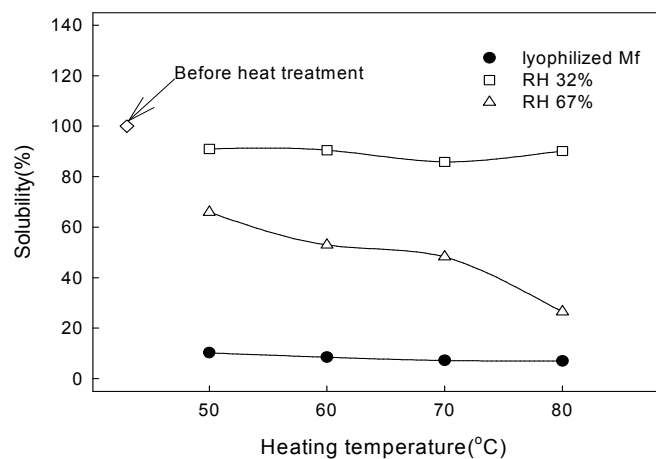


Fig. 27. Solubility of Mf-glucose(1:9) from BM conjugation by heating treatment at various temperatures.

경향을 나타내고 있으며, glucose는 단백질의 열안정성을 획기적으로 높여주는 것으로 확인되었다.

Fig. 27에는 glucose의 경우를 Fig. 26과 같은 조건하에서 상대습도의 변화에 따라서 형성된 단백질-당의 결합체를 가열처리하였을 때의 용해도를 나타내었다. 이 결과에 있어서도 단백질과 당의 결합력이 우수하였던 상대습도 32%의 것이 단백질의 열안정성이 매우 우수하게 나타났다.

Fig. 28에는 잔여육의 근원섬유 단백질에 glucose 또는 fructose를 각각 1 : 3 또는 1 : 9의 비율로 혼합한 후 glycosylation에 의해서 생성된 단백질-당의 결합물을 50°C ~ 80°C에서 2시간 동안 열처리하여 이들의 용해도를 측정하였다. glycosylation이 잘 일어났던 glucose의 경우 80°C에 이르기까지 용해도에는 거의 변화가 인정되지 않았으며, 1 : 9의 비율에서 반응한 것이 다소 높은 용해도를 나타내었다. glycosylation이 잘 일어나지 않았던 fructose는 온도가 높아질수록 용해도의 감소가 빠르게 일어났다. 이상은 Fig. 26과 같은 결과였다.

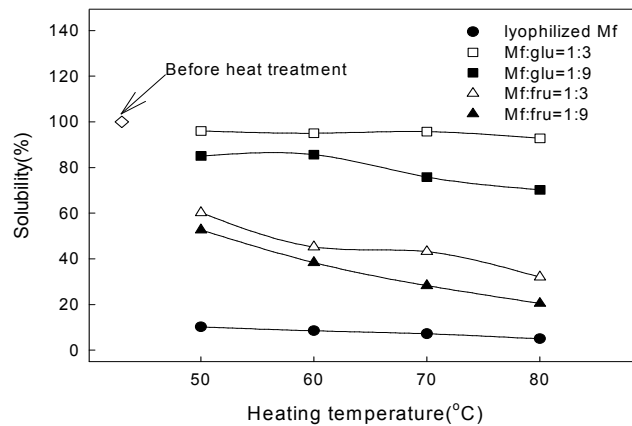


Fig. 28. Change in solubility of Mf from LM conjugated with sugars by heating.

Conjugation of Mf-sugars heated at various temperatures.

Mf glycosylated with sugars at 32% relative humidity.

Fig. 29에는 glucose의 경우를 Fig. 28과 같은 조건하에서 상대습도의 변화에 따라서 형성된 단백질-당의 결합체를 가열처리하였을 때의 용해도를 나타내었다. 이 결과에 있어서도 단백질과 당의 결합력이 우수하였던 상대습도 32%의 것이 단백질의 열안정성이 매우 우수하게 나타났다.

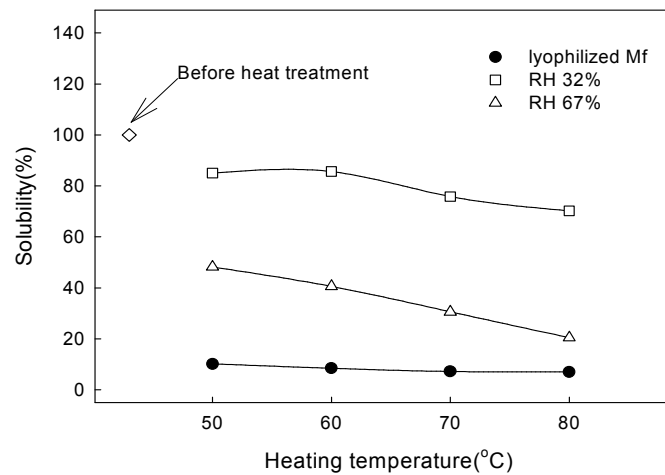


Fig. 29. Solubility of Mf-glucose(1:9) from LM conjugation by heating treatment at various temperatures.

Fig. 30에는 alginate의 경우를 Fig. 29와 같은 조건하에서 측정한 용해도를 나타내었다. alginate는 거의 glycosylation이 일어나지 않았으며 단백질과 당 사이에서의 결합은 거의 일어나지 않았었다. 이와 같은 경우는 역시 가열에 의한 단백질의 변성이 매우 빠르게 일어났으며 상대적으로 열에 대한 안정성이 매우 불안정한 것으로 나타났다.

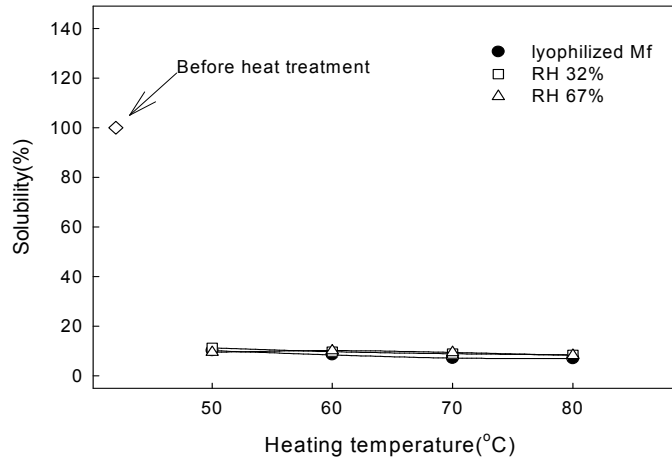


Fig. 30. Change in solubility of Mf from LM conjugated with alginate by heating. Myofibrillar protein mixed with alginate at ratio of 1 : 9.

8) SDS-PAGE에 의한 단백질 조성의 변화 측정

단백질에 당류를 첨가하면 Maillard reaction에 의한 glycosylation이 일어나며 단백질과 당 사이에서의 강한 결합이 일어난다. 즉 온도, pH, 상대습도를 조절하여 반응시키면, carbohydrates의 carbonyl group과 단백질의 *N*-terminal amino group 또는 lysine residues의 ϵ -amino group이 결합하여 carbohydrate-protein의 결합체가 생성되는 것이다. 이와 같은 결합이 본 연구에 있어서도 조건의 변화에 따라서 어떻게 변화되는지를 알아보기 위하여 SDS-PAGE에 의한 단백질의 subunit 변화를 검토하였다.

그림 31에는 가슴근육으로부터 분리한 근원섬유 단백질을 동결건조 시킨 후의 근원섬유 단백질과 동결건조 시킨 근원섬유 단백질에 0.1M NaCl solution(pH 7.0)을 첨가하여 용해시킨 단백질(이하 수용화 성분으로 칭함)의 SDS-PAGE 패턴을 나타내었다. 동결건조 시킨 근원섬유 단

백질의 조성은 근원섬유 단백질 고유의 패턴인 myosin heavy chain 및 Actin이 관찰되었다. 그러나 0.1M NaCl solution에 용해시킨 단백질의 SDS-PAGE 패턴에서는 이를 구성하고 있는 주요 단백질인 myosin heavy chain 및 actin은 거의 검출되지 않았으며, 본래 수용성 단백질인 마이너 단백질들이 약간 검출되었다.

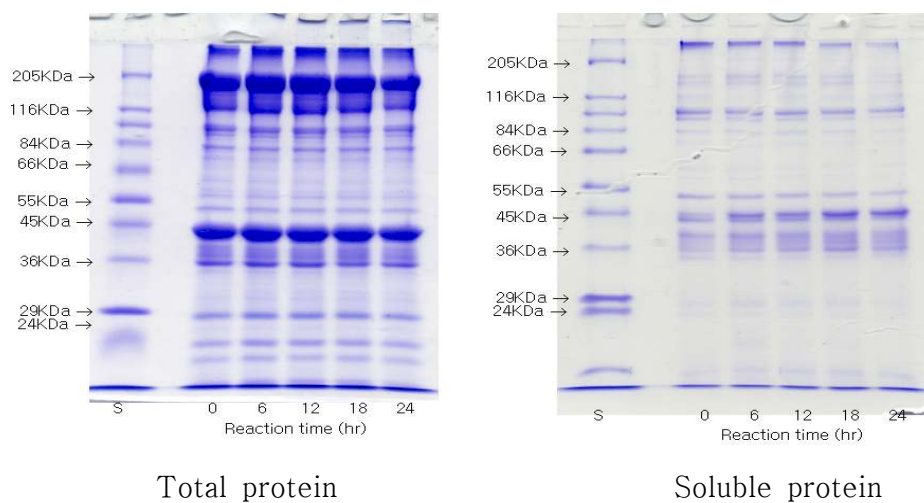


Fig. 31. SDS-PAGE patterns of lyophilized Mf from BM incubated at 50°C.

다음은 근원섬유 단백질과 glucose의 첨가비율을 1 : 9로 하여 상대습도 32% 및 50°C의 반응온도에서 반응시켜 획득한 근원섬유 단백질과 이들로부터 분리한 수용화 성분의 SDS-PAGE패턴의 결과를 Fig. 32에 나타내었다. 우선 근원섬유단백질의 조성을 살펴보면 myosin과 actin에 해당하는 성분이 관찰되었는데 Fig. 3에서 보여준 당을 첨가하지 않은 근원섬유 단백질의 패턴과는 다르게 나타났다. 즉 glucose를 첨가하여 반응시킨 근원섬유의 구성 단백질은 전체적으로 반응시간의 경과와 함께 이동거리가 짧아졌으며, 단백질과 glucose의 결합에 의해 고분자화가 일

어난 것으로 사료되었다. 한편 이들로부터 수용화된 단백질을 분석하면 반응시간의 경과와 함께 myosin heavy chain 및 actin에 해당되는 성분이 늘어났으며, glucose의 결합에 의한 근원섬유 단백질의 수용화가 일어나고 있음을 반영하였다. 이와 같은 결과는 앞서 제시한 제 1)항의 결과와 일치하고 있다.

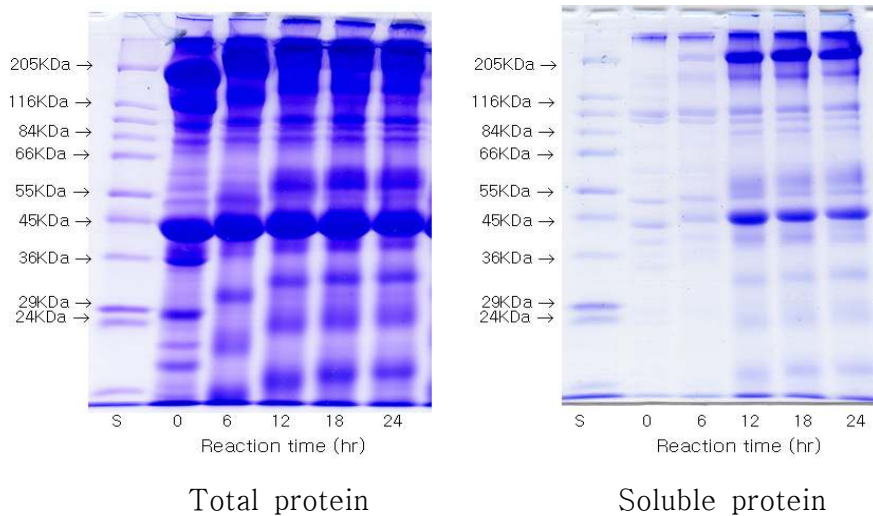


Fig. 32. SDS-PAGE patterns of Mf from BM conjugated with glucose.

Mixing ratio of Mf and glucose were 1:9 and reacted at 50°C and 32% relative humidity.

Fig. 33에는 alginate의 경우를 Fig. 32와 같은 조건하에서 처리한 근원섬유 단백질의 SDS-PAGE 패턴을 나타내었다. alginate는 단백질과의 glycosylation이 거의 일어나지 않았던 경우였으며, 따라서 근원섬유 구성 단백질의 분자량적인 변화 및 수용화 성분의 분리는 관찰되지 않았다.

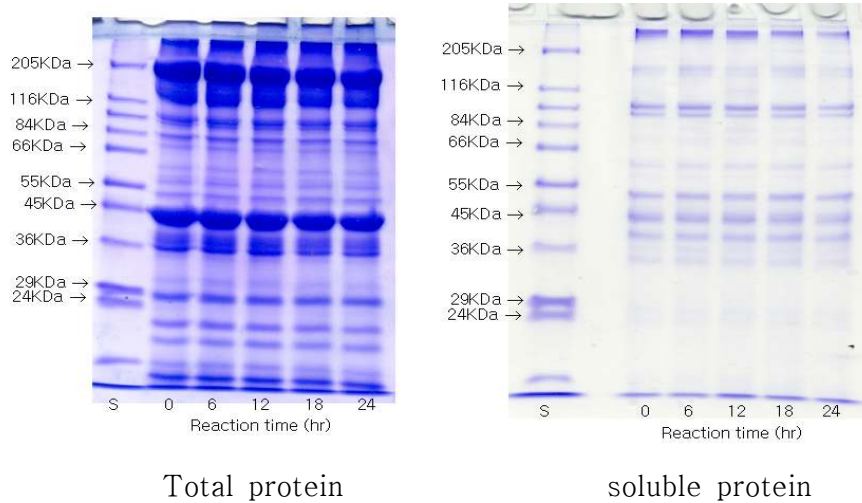


Fig. 33. SDS-PAGE patterns of Mf from BM conjugated with glucose.

Conditions were the same as in Fig. 32.

이상의 결과를 종합적으로 정리하면 다음과 같은 결론을 내릴 수 있다. 노계 가슴육 또는 잔여육으로부터 근원섬유를 분리하여, 근원섬유에 glucose, fructose 및 alginate를 1 : 3 또는 1 : 9로 혼합하여 동결건조시킨 후 상대습도 32%~67%로 조절하여 반응시키면 Maillard reaction에 의한 glycosylation가 일어나 단백질과 당의 결합이 일어난다. 이때의 glycosylation은 상대습도, 반응온도, pH, 당의 종류 및 당의 첨가 비율 등에 영향을 받는데 본 연구에서는 이와 같은 근원섬유 단백질과 당 사이에서 일어나는 glycosylation에 대해서 연구를 하였다. 그 결과 본 실험에서 이용한 당류 중에서는 glucose가 가장 좋았으며, 상대습도는 낮으면 낮을수록 반응이 잘 이루어졌으며, 반응온도는 50℃부근이 적당한 것으로 나타났다. 이러한 반응이 일어날 때 근원섬유 단백질에서도 많은 변화가 일어났는데 염용성 단백질인 근원섬유 단백질의 수용화, 근원섬유 구성 단백질과 당의 결합에 의한 고분자화, 열에 대한 근원섬유 단백

질의 안정화, emulsion 형성능의 향상 등의 많은 변화가 있었다. 이러한 변화들은 단백질을 식품소재로 활용할 때 매우 유리한 조건을 갖추게 된 것으로 생각되며, 염용성 단백질을 수용화 시킴으로서 지금까지 단백질 보조제로서 활용되었던 amino acid나 저분자 peptide와는 달리 근육에 가까운 단백질을 누구나 쉽게 섭취할 수 있다는 잇점이 있으며, 열에 대한 단백질의 안정화는 가열식품 제조 시 취급하기에 매우 유리한 조건이 될 것으로 생각된다. 또한 emulsion 형성능의 향상은 단백질 강화 유화 제품에도 응용이 가능하며, 이러한 특성을 종합적으로 유용하게 적용하면 다양한 단백질 강화식품을 제조할 수 있을 것으로 사료되었으며, 본 연구를 통하여 얻은 근원섬유 단백질로부터의 수용화 단백질은 그 활용 범위가 매우 넓을 것으로 사료되었다.

3. 근육과 당류의 반응성 검토

제2항에서는 활용도가 낮은 노계 가슴육 또는 잔여육을 유용하게 이용할 수 있는 방법으로서 이들 근육으로부터 근원섬유를 분리하여, 근원섬유에 각종 당류를 혼합하여 동결건조 시킨 후 상대습도 및 온도를 적절히 조절하여 반응시키면 Maillard reaction에 의한 glycosylation가 일어나 단백질과 당의 결합이 일어남을 확인하였다. 그 결과 이러한 반응이 일어날 때 근원섬유 단백질에서도 많은 변화가 일어났는데 염용성 단백질인 근원섬유 단백질의 수용화, 근원섬유 구성 단백질과 당의 결합에 의한 고분자화, 열에 대한 근원섬유 단백질의 안정화, emulsion 형성능의 향상 등의 많은 변화가 있었다. 또한 이러한 변화들은 단백질을 식품소재로 활용할 때 매우 유리하게 이용할 수 있을 것으로 전망하였다. 그러나, 근육으로부터 근원섬유 단백질을 분리하는 데는 많은 시간이 소요되며, 만일 공정상의 간편화를 꾀할 수 있다면 경제성 있는 근육으로부터의 수용화 단백질을 제조할 수 있을 것으로 사료된다. 따라서 제 3항에서는 근원섬유 단백질이 아닌 근육에 직접 당을 첨가하였을 때 같은 반응이 일어나는지를 조사하였으며, 근원섬유 단백질과 비교함으로써 공정상의 간편화가 가능한지를 조사하고자 하였다. 또한 본 연구에 있어서는 제 2항에서 가장 효과가 좋았던 glucose와 추가적으로 dextran에 대한 효과를 조사하여 보다 경제적이며 활용성 높은 단백질 식품 소재를 제조하고자 하였다.

1) 근육 단백질의 용해도

노계 가슴육에 0.1M NaCl solution(pH 7.0)을 첨가하여 homogenizer로 균질화한 후 근육 단백질의 중량에 대한 glucose를 각각 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율로 혼합하여 동결건조 하였다. 동결건조물에 상대습도 32%, 온도 50°C에서 반응시킨 후 0.1M NaCl solution(pH 7.0)을 첨가하여 용해하였다. 이와 같이 하여 측정된 근육단백질의 용해도를 Fig. 34에

제시하였다. 반응시간의 경과와 함께 용해도가 증가하는 경향으로 나타났다. glucose의 첨가비율이 높을수록 용해도는 빠른 속도로 증가하였다. 이미 근원섬유 단백질에서 같은 방법(Fig. 1)으로 측정된 용해도에 있어서는 glucose의 첨가비율이 1 : 3 이상에서 높은 용해도를 나타내었는데 여기(근육)에서는 glucose의 첨가비율이 1 : 9 이상에서 높은 용해도를 나타내었다. 한편 glucose의 첨가비율이 1 : 9 보다는 1 : 18이 약간 높았다.

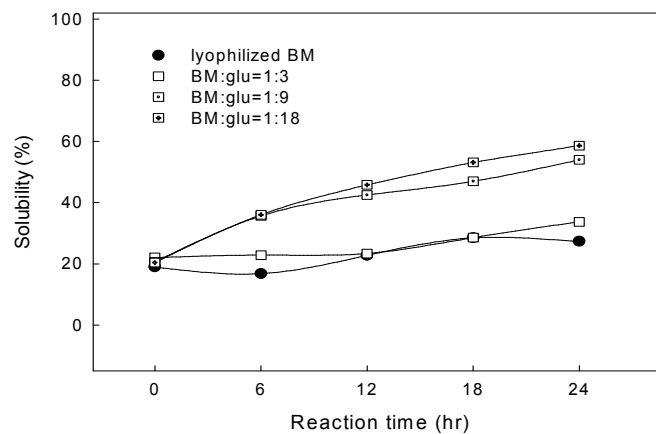


Fig. 34. Solubility of breast muscle from spent chicken (BM) in low ionic strength conjugated with glucose at 50°C and 32% relative humidity.

Fig. 35에는 Fig. 34와 같은 조건하에서 가슴육에 dextran을 첨가하였을 때의 용해도를 나타내었다. dextran의 경우에 있어서는 첨가비율이 높으면 높을수록 용해도가 증가하는 경향을 나타내었으며 가슴육과 dextran의 비율이 1 : 9 이상에서 높은 용해도를 나타내었다.

가공 후 닭 잔여육에 0.1M NaCl solution (pH 7.0)을 첨가하여 homogenizer로 균질화한 후 근육 단백질의 중량에 대한 glucose를 각각

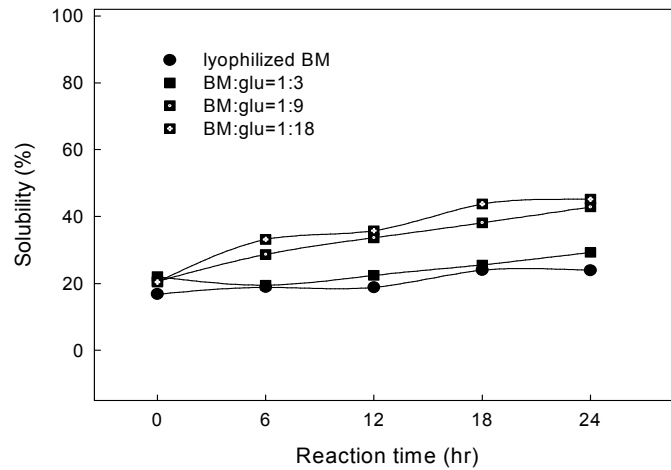


Fig. 35. Solubility of BM in low ionic strength conjugated with dextran at 50°C and 32% relative humidity.

1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율로 혼합하여 동결건조 하였다. 동결건조물에 상대습도 32%, 온도 50°C에서 반응시킨 후 0.1M NaCl solution(pH 7.0)을 첨가하여 용해하였다. 이와 같이 하여 측정한 근육단백질의 용해도를 Fig. 36에 제시하였는데 가슴육과 마찬가지로 반응시간의 경과와 함께 용해도가 증가하는 경향으로 나타났으며 glucose의 첨가비율이 높을수록 용해도는 빠른 속도로 증가하였다. 여기에서도 역시 근육과 glucose의 첨가비율이 1 : 9 이상에서 높은 용해도를 나타내었다.

한편, dextran을 첨가한 결과를 Fig. 37에 나타내었다. 이결과에 있어서도 잔여육과 dextran의 비율이 1 : 9 이상에서 높은 용해도를 나타내었으며, 1 : 18의 비율이 1 : 9의 비율보다 다소 높은 용해도를 나타내었다.

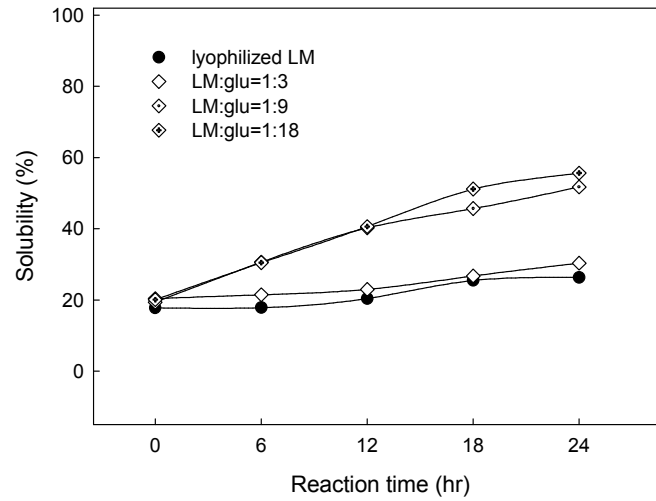


Fig. 36. Solubility of leftover muscle from chicken (LM) in low ionic strength conjugated with glucose at 50°C and 32% relative humidity.

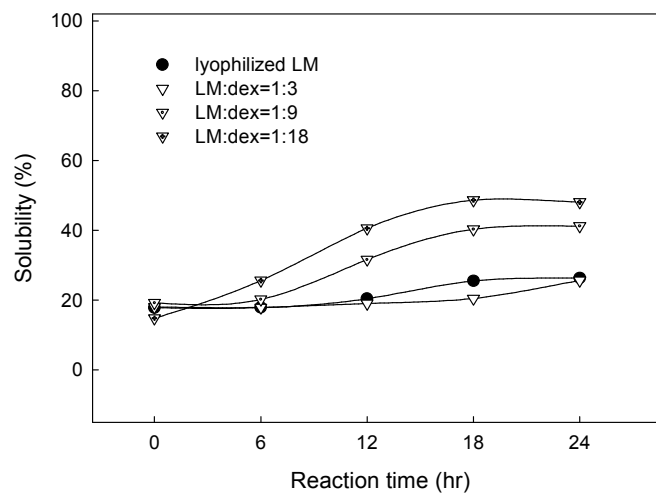


Fig. 37. Solubility of LM in low ionic strength conjugated with dextran at 50°C and 32% relative humidity.

다음은 노계 가슴육에 glucose 및 dextran을 각각 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율로 혼합한 후 상대습도 32% 및 50°C의 온도에서 반응시킨 conjugation의 용해도의 최대값을 Fig. 34 및 35로부터 산출하여 비교분석 하였다. 그 결과를 Fig. 38에 제시하였다. 이 결과에 의하면 혼합비율과 관계없이 glucose가 dextran을 첨가한 conjugation 보다 높은 용해도를 나타내었다. 또한 glucose 및 dextran 모두 첨가비율이 높아짐에 따라서 최대 용해도가 상승하는 것으로 나타났다. 한편, 잔여육에 있어서도 가슴육과 같이 Fig. 36 및 37로부터 당류의 첨가에 따른 conjugation의 최대 용해도를 산출하여 분석한 결과 잔여육의 경우도 같은 결과를 나타내었다(data 생략).

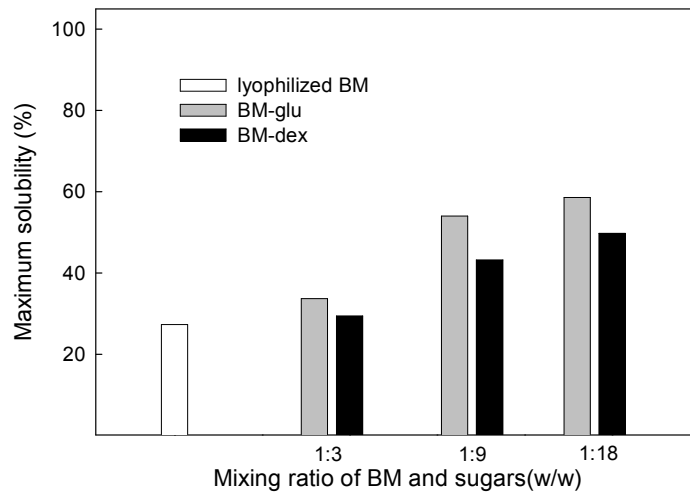


Fig. 38. Maximum solubility of BM in low ionic strength conjugated with sugars during reaction at 50°C and 32% relative humidity.

BM and sugars were mixed at various ratios.

한편, 근원섬유 단백질과 당 사이에서 glycosylation이 일어날 때 상대 습도에 많은 영향을 받는 것으로 제 2항에서 이미 언급한 바 있다. 따라서 근육에 있어서는 이러한 상대습도가 실질적으로 어떠한 영향을 미치는지를 알아보았다. 그림 39에는 가슴근육에 glucose를 각각의 비율로 혼합하한 후 상대습도에 따른 용해도의 최대값을 비교 분석하여 결과를 제시하였다. 이 결과에 의하면 상대습도가 낮은 32%에서 높은 용해도를 나타내어 상대습도가 근육과 당의 glycosylation에 미치는 영향은 매우 큰 것으로 나타났다.

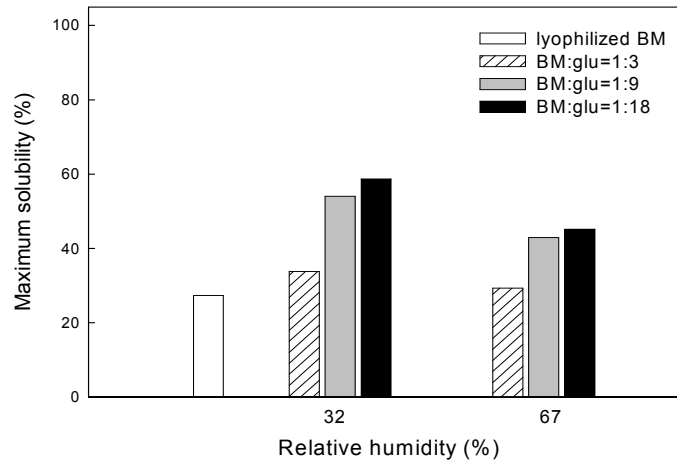


Fig. 39. Effect of relative humidity on maximum solubility of BM during reaction with glucose.

BM was reacted with glucose at 50°C for 24hr.

Fig. 40에는 Fig. 39와 같은 조건하에서 dextran의 경우를 조사하여 그 결과를 나타내었다. 이 결과에 있어서는 상대습도가 낮을수록 최대 용해도가 높았으며 상대습도가 glycosylation에 많은 영향을 부여하였다.

이상의 결과를 정리하면 근육에 glucose 또는 dextran과 같은 당을 혼합하여 상대습도, 온도, 혼합비율을 조절하여 반응시키면 glycosylation에

의한 단백질과 당의 결합이 이루어지는데 이 때 근육내 단백질의 수용화가 일어나는 것을 알 수 있었다. 그런데 이들의 수용화 정도는 상대습도가 낮을수록 반응이 잘 일어났으며, 반응온도는 근원섬유 단백질과 마찬가지로 50°C 부근에서 일어났다. 또한 당의 배합비에 있어서도 배합비가 높을수록 근육내 단백질의 수용화가 잘 일어났는데 이와 같은 결과는 아마도 당의 비율이 근육의 단백질내에서 수용할 수 있는 이상의 포화상태의 공급이 필요하기 때문인 것으로 사료되었다.

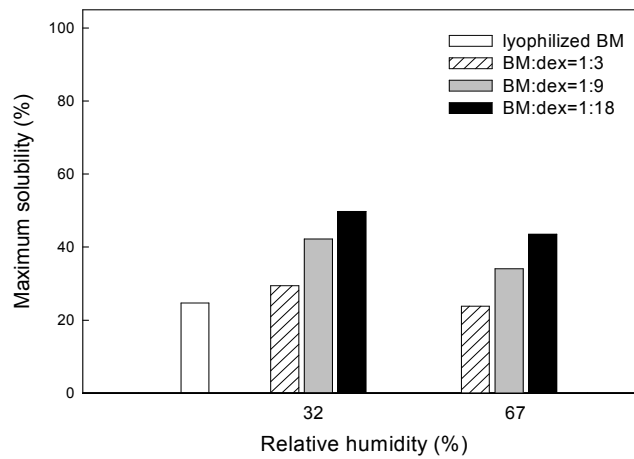


Fig. 40. Effect of relative humidity on maximum solubility of BM during reaction with dextran.

BM was reacted with dextran at 50°C for 24hr.

2) 근육과 당류와의 결합을 측정

glycosylation에 의한 근육 단백질과 당류의 결합이 어느 정도 이루어졌는지를 알아보기 위하여 근육에 결합되어 있는 당의 함량을 측정하였다. 단백질과 당의 결합물에 ammonium sulfate를 첨가하여 침전시킨 다음 침전물에 0.1M NaCl solution (pH 7.0)을 첨가하여 수차례 수세하여 미결합된 당류를 충분히 제거한 후 phenol-sulfuric acid법으로 결합된 당의 함량을 측정하였다. 이와 같이 하여 측정한 결과를 Fig. 41~48에 제시하였다.

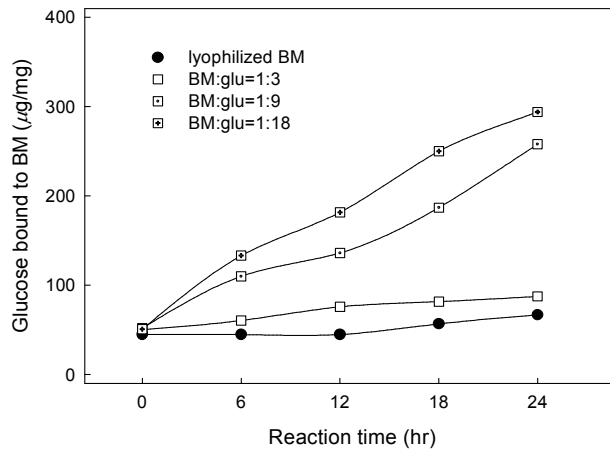


Fig. 41. Amount of glucose bound to BM by Maillard reaction.

BM reacted with glucose at 50°C and 32% relative humidity.

Fig. 41 및 42에는 가슴육 단백질에 결합한 당의 함량을 살펴보고자 근육 단백질과 glucose의 혼합비를 각각 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18로 하여 상대습도 32% 또는 67%, 온도 50°C에서 반응시켰을 때의 결과를 나타내었다. 이결과에 의하면 glucose의 첨가비율이 높을수록 가슴육 단백질과의 결합률이 증가하였다. 또한 상대습도간의 비교에 있어서는 67% 보

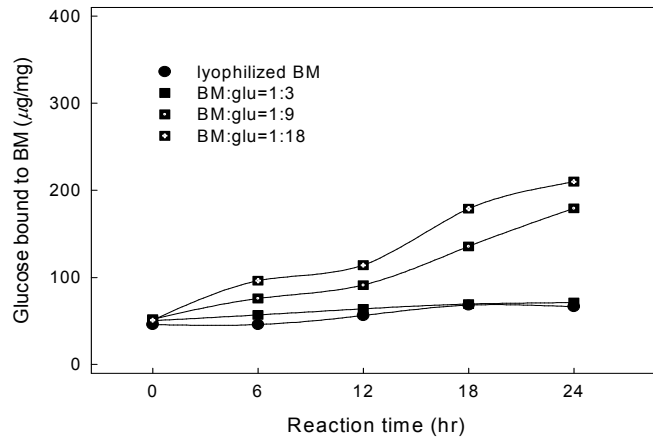


Fig. 42. Amount of glucose bound to BM by Maillard reaction.

BM reacted with glucose at 50°C and 67% relative humidity.

다 32%가 결합률이 좋았다. 한편 dextran의 경우를 Fig. 41 및 42와 같은 조건하에서 검토하여 Fig.43 및 44에 결과를 제시하였다. 이결과에 에 있어서도 glucose의 경우와 거의 같은 경향의 결과를 나타내었으며, 근육 단백질과 dextran의 혼합비율에서는 1 : 18, 상대습도는 32%로 반응한 것이 결합율이 좋았다.

Fig. 45 및 46에는 잔여육 단백질에 결합한 당의 함량을 살펴보고자 근육 단백질과 glucose의 혼합비를 각각 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18로 하여 상대습도 32% 또는 67%, 온도 50°C에서 반응시켰을 때의 결과를 나타내었다. 이결과에 의하면 glucose의 첨가비율이 높을수록 잔여육 단백질과의 결합률이 증가하였다. 또한 상대습도간의 비교에 있어서는 67% 보다 32%가 결합률이 좋았다. 또한 dextran의 경우를 Fig. 45 및 46과 같은 조건하에서 검토하여 Fig.47 및 48에 결과를 제시하였다. 이결과에 에 있어서도 glucose의 경우와 같은 경향의 결과를 나타내었으며, 근육 단백질과 dextran의 혼합비율에서는 1 : 18, 상대습도는 32%로 저절하였을

때 가장 반응이 잘 일어나는 것으로 나타났다.

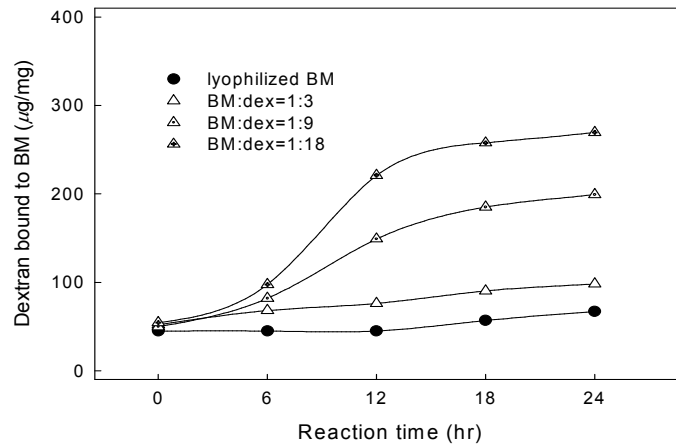


Fig. 43. Amount of dextran bound to BM by Maillard reaction.

BM reacted with dextran at 50°C and 32% relative humidity.

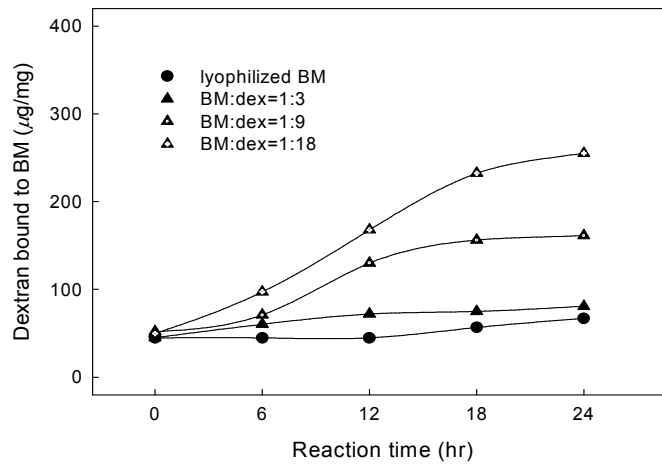


Fig. 44. Amount of dextran bound to BM by Maillard reaction.

BM reacted with dextran at 50°C and 67% relative humidity.

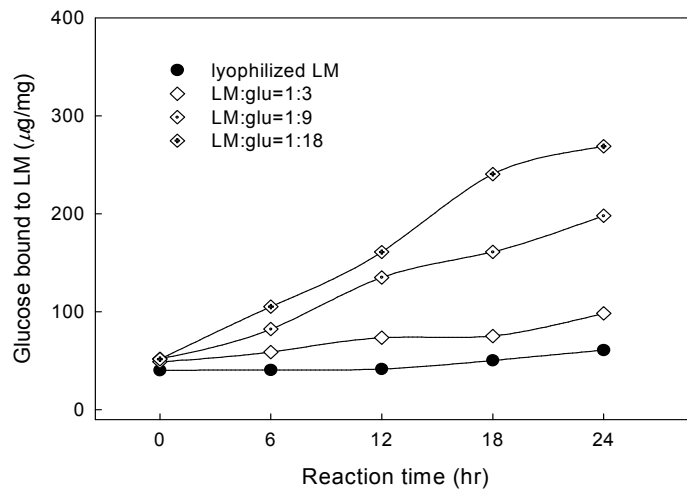


Fig. 45. Amount of glucose bound to LM by Maillard reaction.
LM reacted with glucose at 50°C and 32% relative humidity.

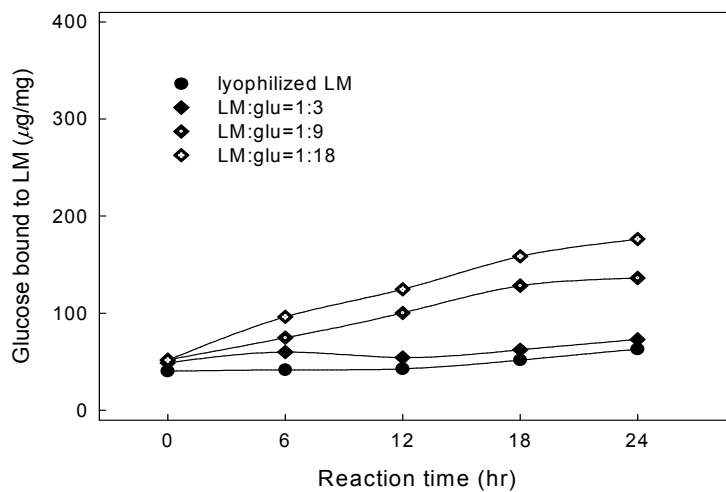


Fig. 46. Amount of glucose bound to LM by Maillard reaction.
LM reacted with glucose at 50°C and 67% relative humidity.

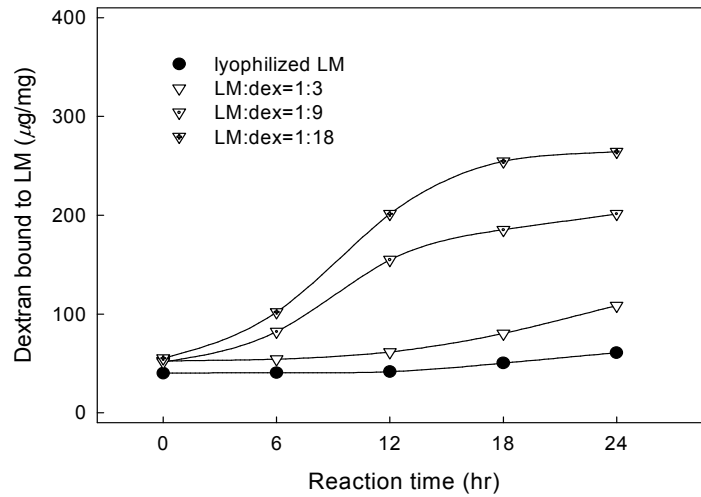


Fig. 47. Amount of dextran bound to LM by Maillard reaction.

LM reacted with dextran at 50°C and 32% relative humidity.

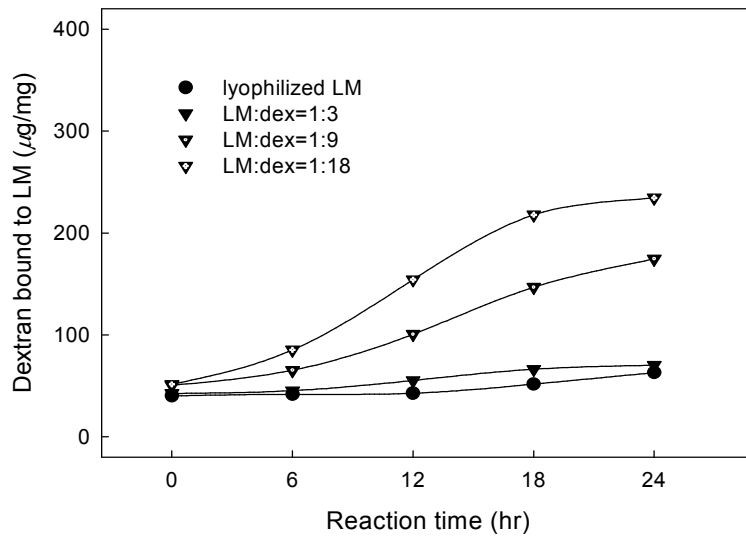


Fig. 48. Amount of dextran bound to LM Maillard reaction.

LM reacted with dextran at 50°C and 67% relative humidity.

3) Browning 측정

근육 단백질과 당류사이에서 Maillard reaction이 진행된다면 갈변현상이 일어나는데 이와 같은 현상은 당의 종류, 온도, 습도 등의 조건에 따라서 다르게 나타난다. 또한, 이러한 갈변현상이 일어날 때에 당의 구조적인 변화가 일어나는데 이러한 것들이 단백질과 당의 결합이 진행되고 있는지를 간접적으로 판단할 수 있는 근거가 된다. 따라서, 제 3)항에서는 노계 가슴육과 가공 후 잔여육에 당류를 혼합하여, 각각의 조건하에서 Maillard reaction에 의한 browning intensity를 검토하였다.

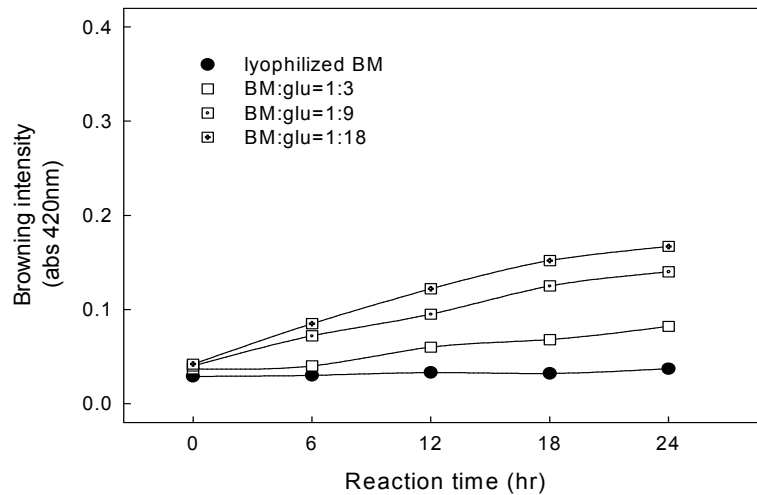


Fig. 49. Change in browning intensity of BM during reaction with glucose. Glycosylated BM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity

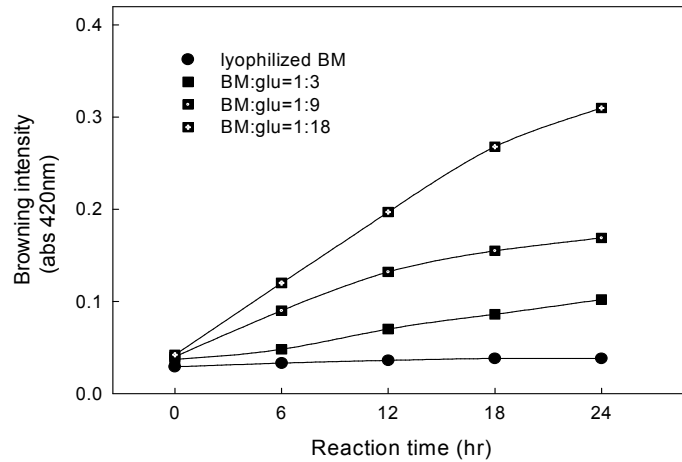


Fig. 50. Change in browning intensity of BM during reaction with glucose. Glycosylated BM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity

Fig. 49 및 50에는 가슴육 단백질에 glucose를 첨가하여 혼합한 혼합물(각각 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율로 혼합)을 상대습도 32% 또는 67%로 조절하여, 50°C에서 반응시켰을 때의 browning intensity를 나타내었다. 이결과에 의하면 glucose의 첨가비율이 높을수록 가슴육의 browning intensity는 증가하였다. 또한 상대습도간의 비교에 있어서는 67%가 32% 보다 높은 browning intensity를 나타내었다. dextran의 경우를 Fig. 51 및 52에 결과를 제시하였는데, 이결과에 있어서는 glucose의 경우와 거의 같은 경향을 나타내었다. 근육 단백질과 dextran의 혼합 비율에서는 1 : 18, 상대습도는 67%로 조절하여 반응한 것이 browning intensity가 높게 나타났다. 또한 glucose와 dextran의 비교에 있어서는 glucose의 browning intensity가 높게 나타났다.

이상의 결과로부터 근육단백질과 당 사이에서 Maillard reaction이 일어날 때 Maillard reaction이 단백질과 당의 결합력과는 비례관계가 성립하

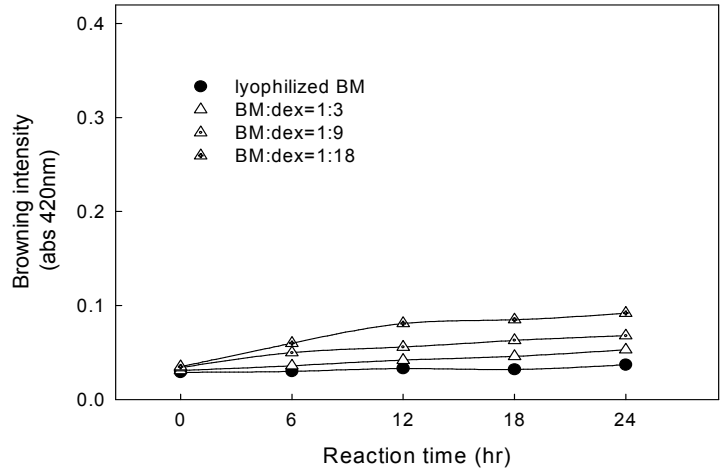


Fig. 51. Change in browning intensity of BM of during reaction with dextran. Glycosylated BM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity

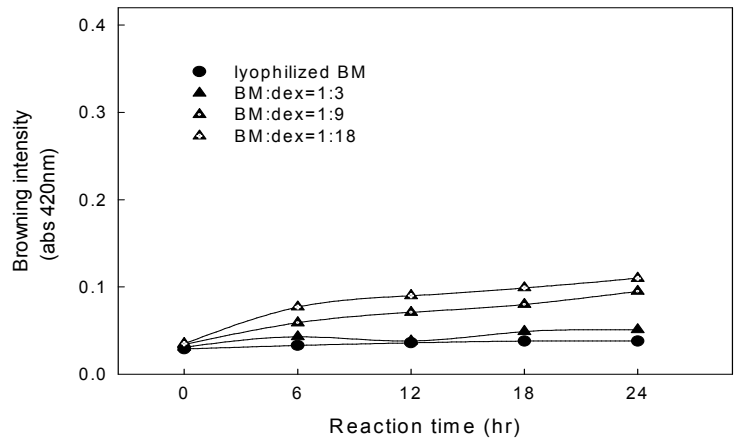


Fig. 52. Change in browning intensity of BM during reaction with dextran. Glycosylated BM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity

지는 않는 것으로 나타났다. 앞서 제시한 단백질과 당의 결합력에서는 상대습도가 낮을수록 결합력이 높았으나 browning intensity는 상대습도가 높을 때 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 Maillard reaction이 glycosylation와는 관여하지는 않지만 어느 조건 이상에서는 glycosylation 반응을 억제하여 오히려 결합력을 떨어뜨리는 것도 예상할 수 있다. 또한 결합력에 dextran 보다 다소 우수하였던 glucose가 browning intensity에 있어서는 훨씬 높은 browning intensity를 나타내어 역시 결합력과 browning intensity는 반드시 일치하지는 않는 것으로 사료되었다. 그 원인에 대해서는 아직 불분명한 것이 많으므로 glycosylation과 browning intensity와의 관계에 대해서는 좀더 지속적인 연구를 필요로 하였다.

Fig. 53~56에는 잔여육과 당 혼합물의 browning intensity의 경우를 나타내었다. 이결과에 있어서도 가슴육의 경우와 같은 경향을 나타내었다. 즉 상대습도가 높을수록, dextran보다는 glucose가 훨씬 높은 browning intensity 값을 나타내었다.

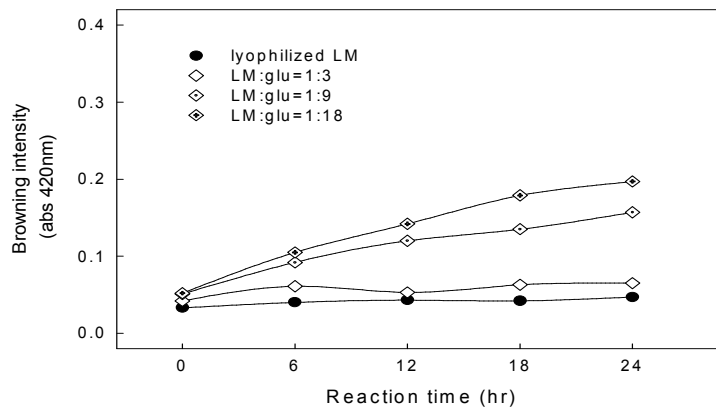


Fig. 53. Change in browning intensity of LM during reaction with glucose. Glycosylated LM-glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity

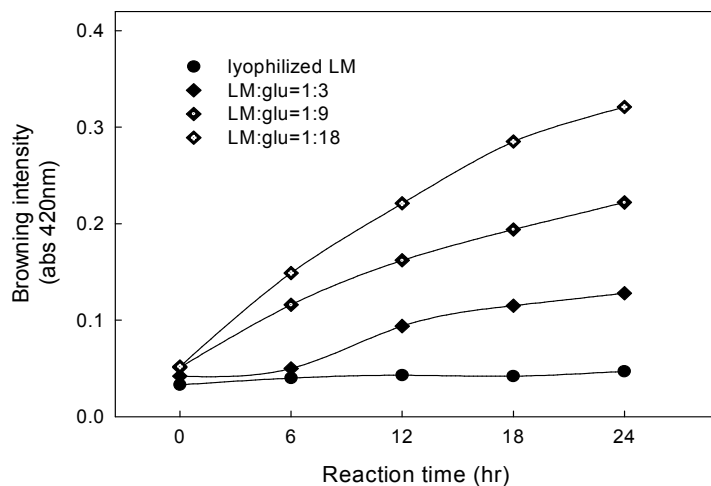


Fig. 54. Change in browning intensity of LM during reaction with glucose. Glycosylated LM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity

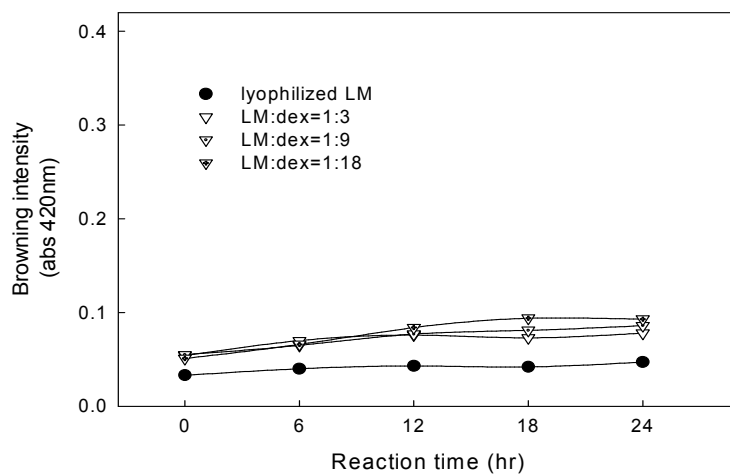


Fig. 55. Change in browning intensity of LM during reaction with dextran. Glycosylated LM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

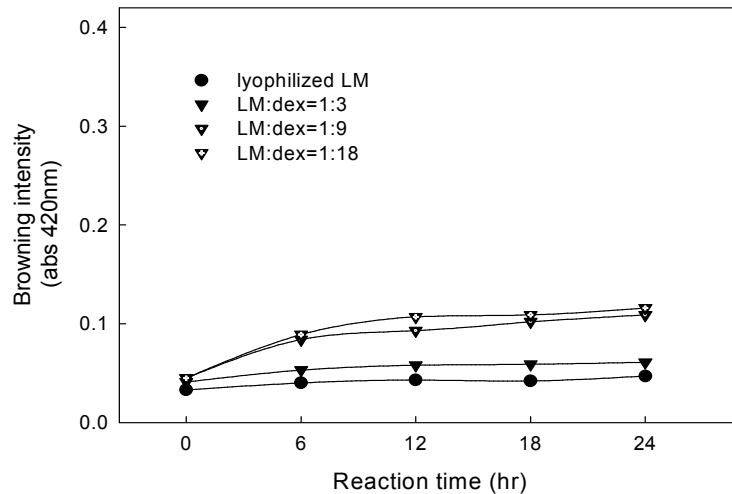


Fig. 56. Change in browning intensity of LM during reaction with dextran. Glycosylated LM-dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

4) Ca, Mg-ATPase activity 측정에 의한 근육 단백질의 변화 검토

Fig. 57~60에는 가슴육 단백질에 glucose 및 dextran을 각각 1 : 3 또는 1 : 9 및 1 : 18로 혼합하여 상대습도 32% 및 67%, 반응온도 50°C에서 반응시켰을 때의 Ca-ATPase 활성을 나타내었다. 우선 상대습도 32%의 경우를 살펴보면 반응시간의 경과와 함께 Ca-ATPase 활성은 감소하는 경향을 보였으며, glucose 보다 dextran 첨가구가 Ca-ATPase 활성의 감소 속도가 빠른 것으로 나타났다. 또한 glucose의 경우 첨가비율이 낮을수록 Ca-ATPase 활성의 저하속도가 빨랐으며, 근육 단백질과 1 : 18의 비율에서 반응시킨 것이 Ca-ATPase 활성의 감소속도가 가장 느리게 나타났다. dextran의 경우도 기본적으로는 glucose와 같은 경향을 나타내었으나, 첨가비율에 따른 차이는 glucose 만큼 크지는 않았다. glucose의 경우 근육 단백질과의 첨가비율에서 그 비율이 높을수록 높은

Ca-ATPase 활성을 나타내고 있는데 glucose에 의한 glycosylation이 단백질(myosin)과 당과의 결합을 촉진시켜 당에 의한 myosin의 변성을 억제하였기 때문인 것으로 사료되었다. 반면에 dextran의 경우는 glucose보다 glycosylation에 의한 단백질과의 결합력이 다소 약하다는 것을 앞서 제시한바 있으며 이를 토대로 하여 생각할 때 dextran은 Ca-ATPase 활성에 있어서도 약간 그 속도가 빨랐으며 이에 따른 myosin에 대한 당의 보호효과가 glucose보다는 적었기 때문으로 사료되었다. 한편, 상대습도에 따른 Ca-ATPase 활성의 변화는 glucose의 경우(Fig. 57 및 58) 상대습도 32%가 67%보다 그 속도가 느리게 떨어지는 것으로 나타났다. 더욱이 glucose가 1 : 18의 비율로 첨가되었을 때 그 정도는 더욱 확연하였으며 이 차이는 역시 근육단백질과 glucose의 결합력에 기인하는 것으로 사료되었다. 그러나 dextran의 경우는 glucose와 경향적으로는 매우 흡사하였으나 glucose 만큼 그 정도가 심하지는 않았다.

다음은 근육 단백질-당의 conjugation의 Mg-ATPase 활성을 측정하여 Fig. 61~64에 결과를 제시하였다. Mg-ATPase 활성에 있어서도 Ca-ATPase 활성의 경우와 매우 유사한 경향을 나타내었다. 즉, 반응시간의 경과와 함께 Mg-ATPase 활성은 감소하는 경향을 보였으며, glucose보다 dextran 첨가구가 Mg-ATPase 활성의 감소 속도가 빠른 것으로 나타났다. 또한 glucose의 경우 근원섬유 단백질과 1 : 8의 비율에서 반응시킨 것이 Mg-ATPase 활성의 감소속도가 느리게 나타났으나, dextran의 경우는 glucose 만큼 큰 차이는 인정되지 않았다. Mg-ATPase는 근원섬유 중의 myosin의 ATPase 활성을 actin에 의해서 활성화 시키는 역할을 하고 있는데 본 결과에서는 actin에 의한 myosin의 ATPase의 활성화에는 크게 기여하지 않는 것으로 사료되었다.

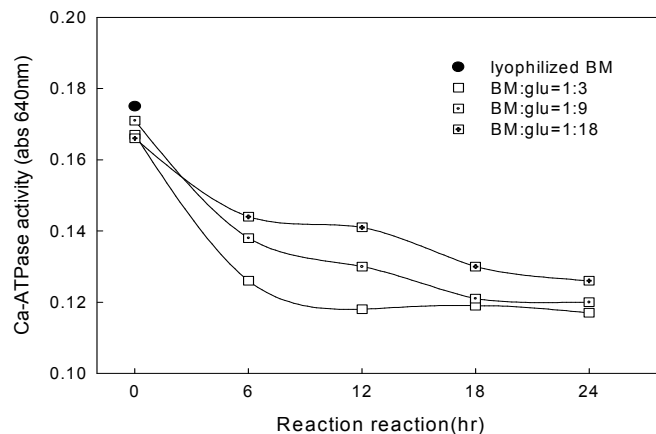


Fig. 57. Change in Ca-ATPase activity of BM during reaction with glucose.

Glycosylated BM-glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative 32% humidity.

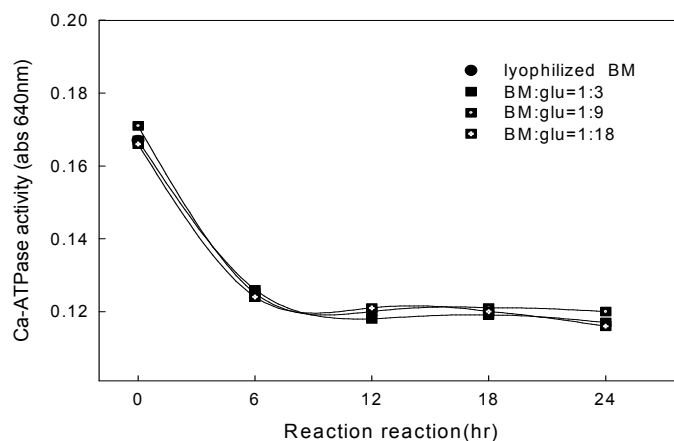


Fig. 58. Change in Ca-ATPase activity of BM during reaction with glucose.

Glycosylated BM-glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

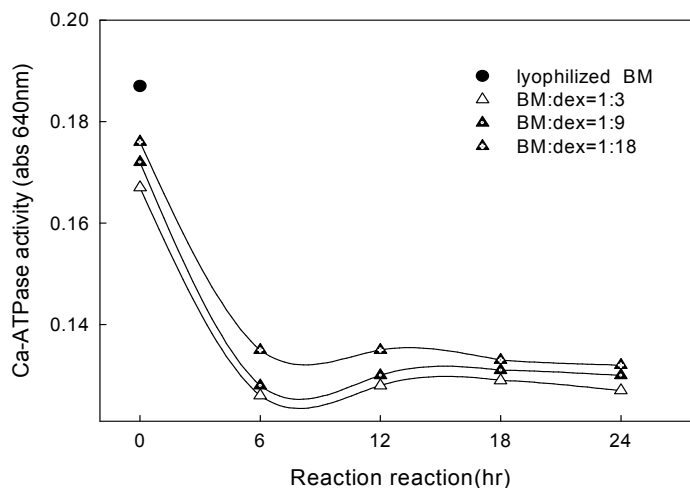


Fig. 59. Change in Ca-ATPase activity of BM during reaction with dextran. Glycosylated BM-dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

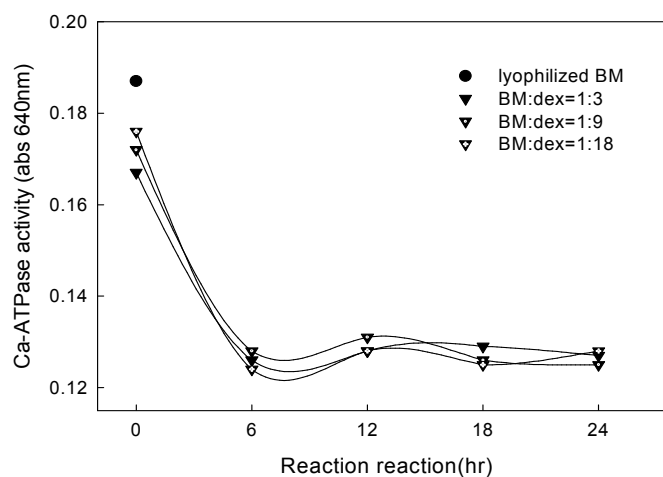


Fig. 60. Change in Ca-ATPase activity of BM during reaction with dextran.

Glycosylated BM-dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

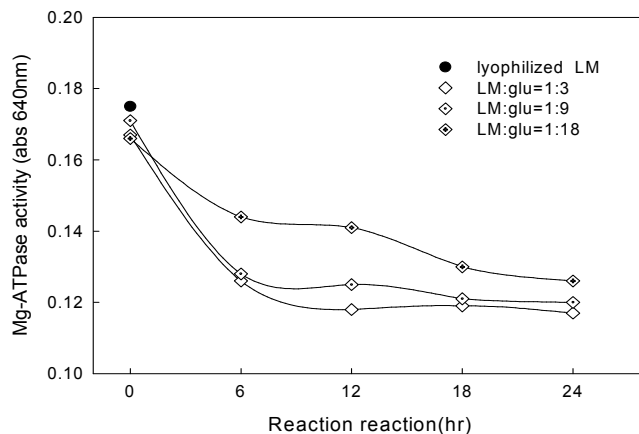


Fig. 61. Change in Mg-ATPase activity of LM during reaction with glucose.

Glycosylated LM-glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

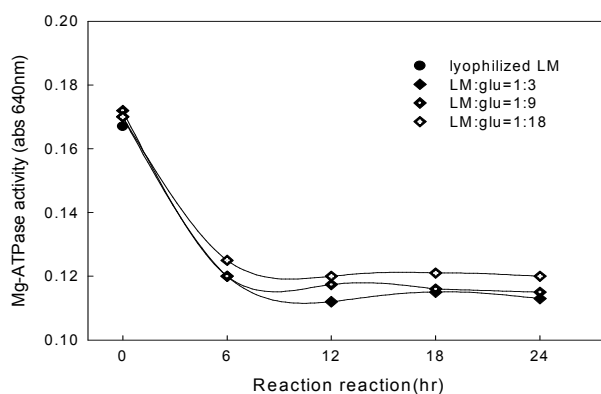


Fig. 62. Change in Mg-ATPase activity of LM during reaction with glucose.

Glycosylated LM-glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

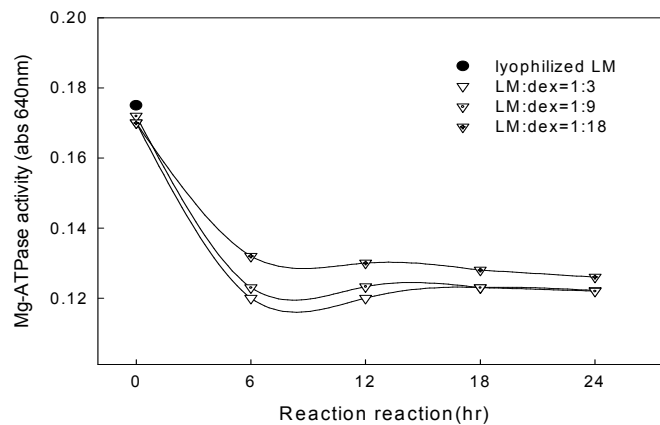


Fig. 63. Change in Mg-ATPase activity of LM during reaction with dextran.

Glycosylated LM-dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

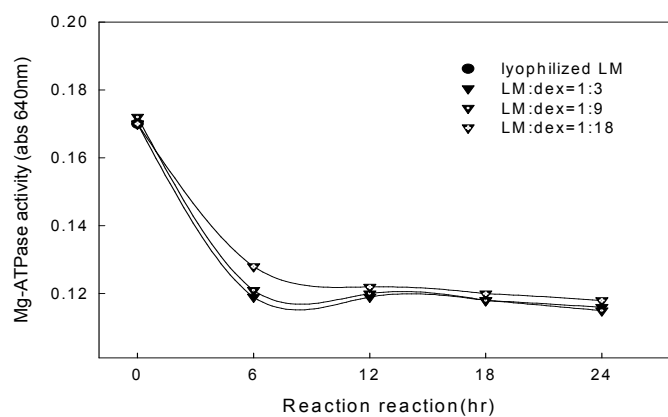


Fig. 64. Change in Mg-ATPase activity of LM during reaction with dextran.

Glycosylated LM-dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

5) Emulsion 형성능 검토

Glycosylation에 의해서 결합된 당-단백질의 emulsion 특성을 검토하였다. 우선 근육과 당의 혼합물에 corn oil을 첨가하여 1분간 mixing한 후 emulsion 형성능을 검토하였다.

Fig. 65 및 66에는 가슴육과 glucose의 혼합비를 1 : 3 또는 1 : 9 및 1 : 18의 비율에서 상대습도 32% 및 67%, 반응온도 50°C에서 반응시킨 후 emulsion turbidity를 측정하였다. 이 결과에 의하면 반응시간의 경과와 함께 전체적으로 증가하는 경향을 나타내었으나, glycosylation이 가장 잘 일어났던 근육과 glucose의 비가 1 : 18, 상대습도 32%일 때 가장 높은 emulsion turbidity를 나타내었다.

Fig. 67 및 68에는 가슴육과 dextran의 혼합비를 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율에서 상대습도 32% 및 67%, 반응온도 50°C에서 반응시킨 후 emulsion turbidity를 측정하였다. 이 결과에 있어서도 반응시간의 경과와 함께 전체적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 여기에서도 glycosylation이 가장 잘 일어났던 근육과 dextran의 혼합비가 1 : 18, 상대습도 32%일 때 가장 높은 emulsion turbidity를 나타내었다.

다음은 glycosylation에 의해서 결합된 가슴육과 당의 emulsion 특성을 가열에 의한 온도안정성에 대하여 검토하였다(Fig. 69). 여기에서는 glycosylation이 가장 활발하게 일어났던 상대습도 32%에서의 근육 단백질-glucose(1 : 18)의 경우를 대표적으로 제시하였다. 이결과에 의하면 가장 반응성이 좋았던 가슴육과 glucose를 18시간 동안 반응시킨 것이 가장 높은 emulsion stability를 나타내었으며, 역시 반응성의 정도에 따라서 emulsion stability는 다르게 나타났다. 즉, 단백질과 당 사이에서의 glycosylation에 의해 상호간의 결합력이 증대되면 당이 단백질을 보호하는 역할을 하여 단백질 변성을 유발하는 과도한 조건에서도 단백질의 변성을 억제하기 때문에 본래의 기능을 유지하는 것으로 사료되었다. 이 결과는 근원섭유-당의 결과와 일치하고 있다.

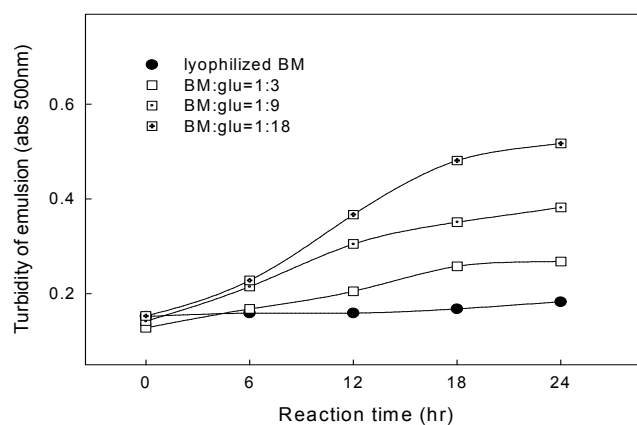


Fig. 65. Change in emulsifying turbidity of BM during reaction with glucose.

Glycosylated BM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

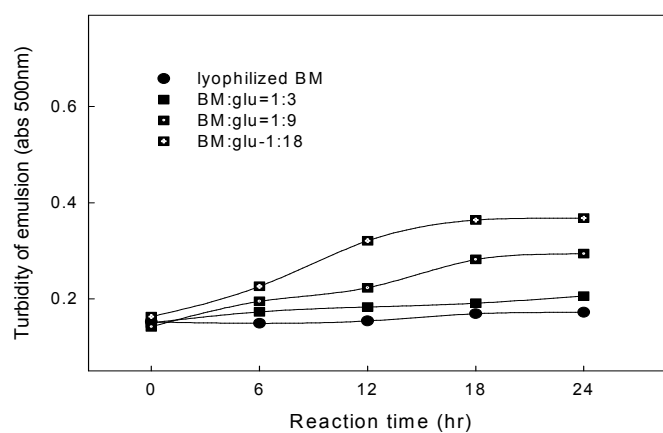


Fig. 66. Change in emulsifying turbidity of BM during reaction with glucose.

Glycosylated BM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

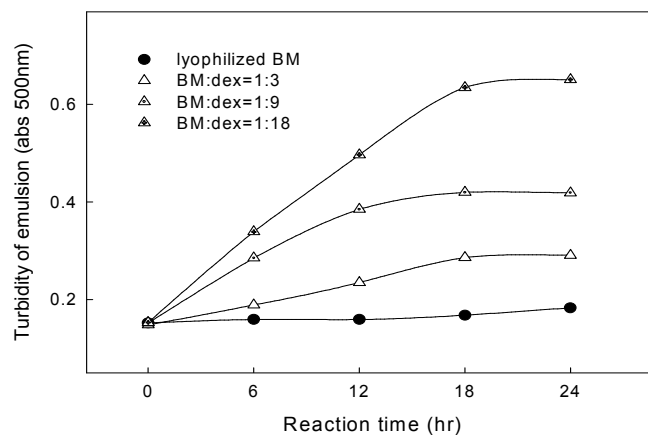


Fig. 67. Change in emulsifying turbidity of BM during reaction with dextran.

Glycosylated BM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

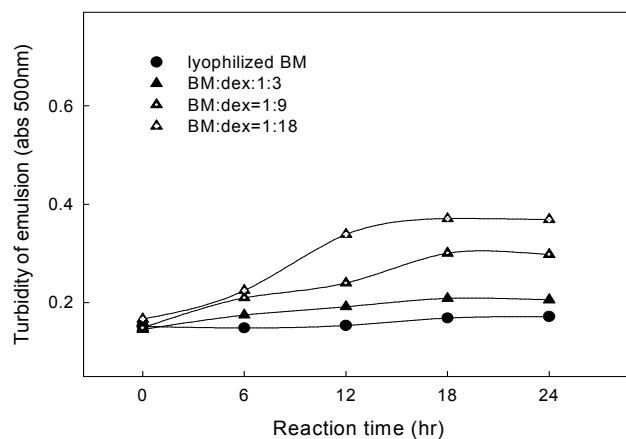


Fig. 68. Change in emulsifying turbidity of BM during reaction with dextran.

Glycosylated BM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

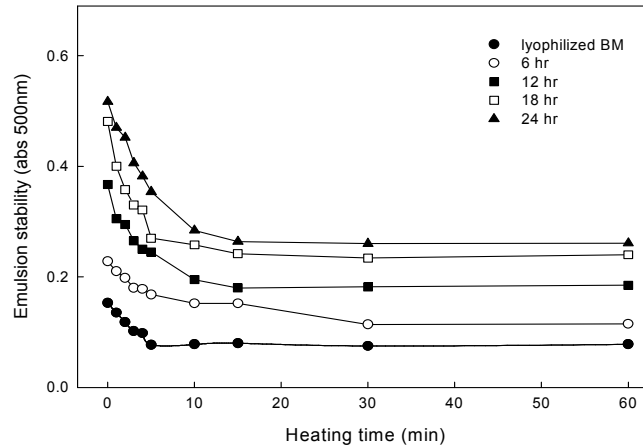


Fig. 69. Change in emulsifying stabilities of BM during reaction with glucose by heating at 80°C.

Glycosylated BM-glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity. Mixing ratio of BM and glucose were 1 : 18.

다음은 가슴육과 마찬가지로 잔여육의 emulsion 특성에 대하여 검토하였다. Fig. 70 및 71에는 잔여육과 glucose의 혼합비를 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율에서 상대습도 32% 및 67%, 반응온도 50°C에서 반응시킨 후 emulsion turbidity를 측정하였다. 이 결과에 의하면 반응시간의 경과와 함께 전체적으로 증가하는 경향을 나타내었으나, glycosylation이 가장 잘 일어났던 잔여육과 glucose의 비가 1 : 18, 상대습도 32%일 때 가장 높은 emulsion turbidity를 나타내었다.

Fig. 72 및 73에는 잔여육과 dextran의 혼합비를 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율에서 상대습도 32% 및 67%, 반응온도 50°C에서 반응시킨 후 emulsion turbidity를 측정하였다. 이 결과에 있어서도 반응시간의 경과와 함께 전체적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, glycosylation이 가장 잘 일어났던 잔여육과 dextran의 혼합비가 1 : 18, 상대습도 32%일

때 가장 높은 emulsion turbidity를 나타내었다.

다음은 glycosylation에 의해서 결합된 잔여육과 glucose의 emulsion 특성을 가열에 의한 온도안정성에 대하여 검토하였다(Fig. 74). 여기에서는 glycosylation이 가장 활발하게 일어났던 상대습도 32%에서의 잔여육과 glucose(1 : 18)의 경우를 대표적으로 제시하였다. 이결과에 의하면 가장 반응성이 좋았던 잔여육과 glucose를 18시간 동안 반응시킨 것이 가장 높은 emulsion stability를 나타내었으며, 잔여육에 있어서도 반응성의 정도에 따라서 emulsion stability는 다르게 나타났다. 즉, 단백질과 당 사이에서의 glycosylation에 의해 상호간의 결합력이 증대되면 당이 단백질을 보호하는 역할을 하여 단백질 변성을 유발하는 과도한 조건에서도 단백질의 변성을 억제하기 때문에 본래의 기능을 유지하는 것으로 사료되었다.

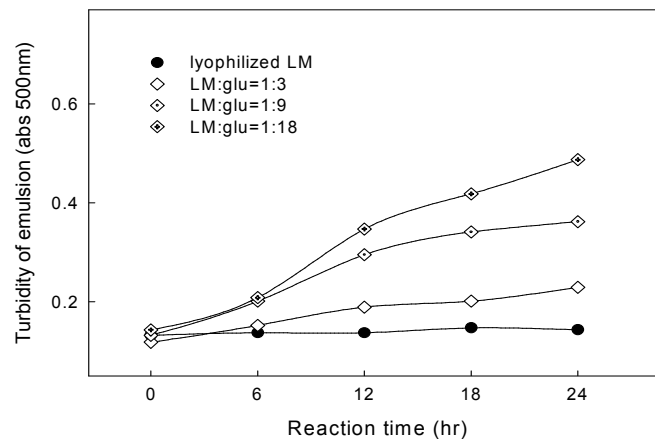


Fig. 70. Change in emulsifying turbidity of LM during reaction with glucose.

Glycosylated LM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

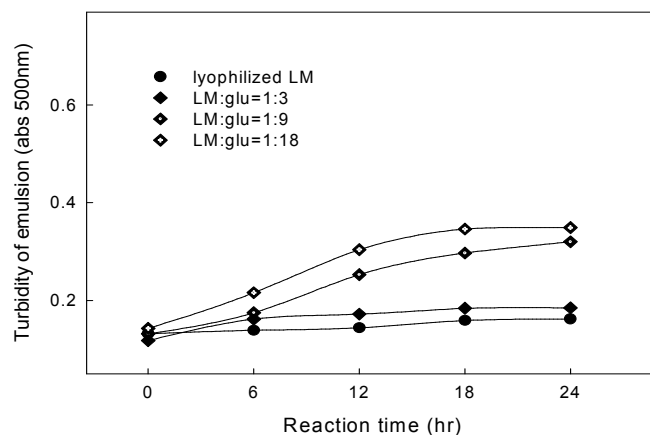


Fig. 71. Change in emulsifying turbidity of LM during reaction with glucose.

Glycosylated LM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

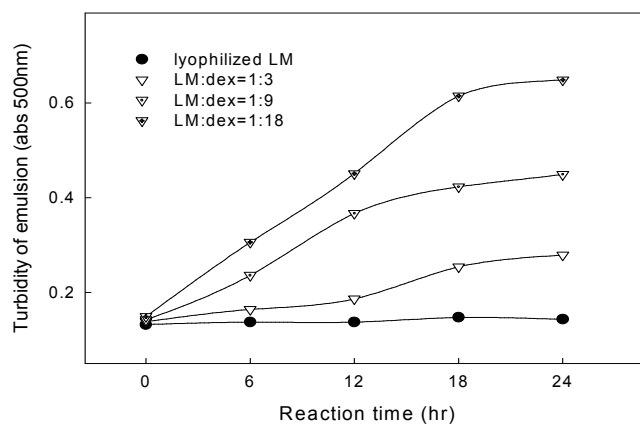


Fig. 72. Change in emulsifying turbidity of LM during reaction with dextran.

Glycosylated LM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

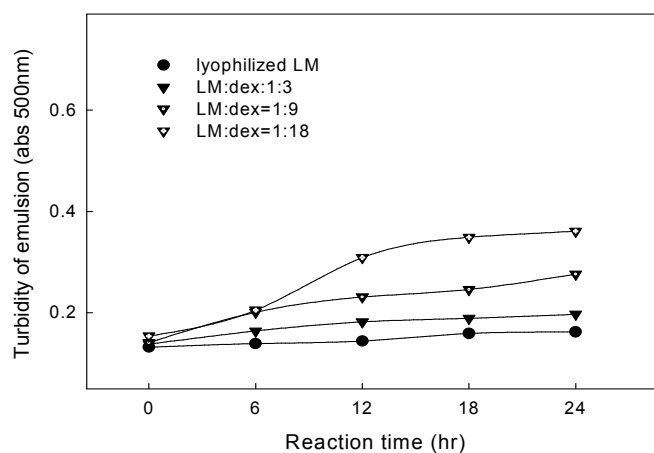


Fig. 73. Change in emulsifying turbidity of LM during reaction with dextran.

Glycosylated LM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

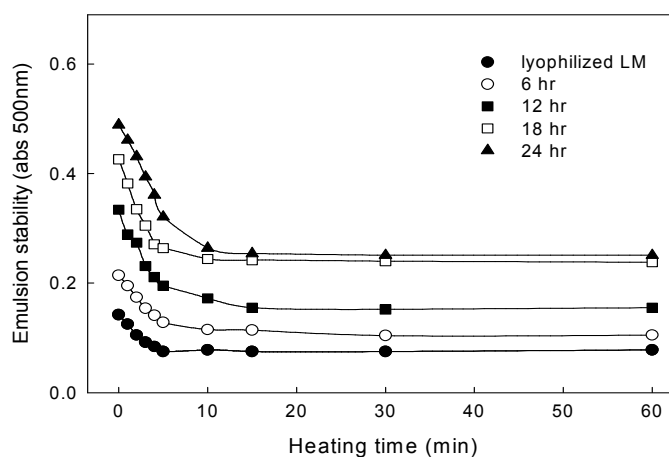


Fig. 74. Change in emulsifying stabilities of LM during reaction with glucose by heating at 80°C.

Glycosylated LM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity. Mixing ratio of LM and glucose were 1:18.

6) 열에 대한 근육단백질의 안정성 검토

근육은 근원섬유의 다발로 형성되어 있다. 이와 같이 근원섬유로 이루어진 근육의 대부분은 염용성 단백질로 이루어져 있으며 일반적으로 식육을 섭취하게 되면 이와 같은 염용성 단백질을 섭취하게 되는 것이다. 염용성인 근원섬유 단백질에 당을 혼합하면 glycosylation에 의한 단백질과 당의 결합이 일어나는데 이때에 결합된 당-단백질은 0.1M NaCl(생리적인 염농도) 이하의 저 이온강도에서도 용해된다(수용화). 이와 같이 당과 단백질이 결합할 때는 단백질 내부에서 생화학적인 변화를 동반하게 되는데 생화학적으로 어떠한 변화가 일어났는지를 좀더 자세히 확인하기 위하여 glycosylation에 의해 얻어진 단백질-당의 결합물을 열처리를 한 결과, 근원섬유 단백질 레벨에서는 당과의 결합에 의하여 열에 대한 안정성이 향상되었다. 따라서 이와 같은 현상이 근육레벨에서도 일어나는지를 알아보기 위하여 근육과 당류의 conjugation의 열처리에 의한 생화학적 변화를 검토하였다.

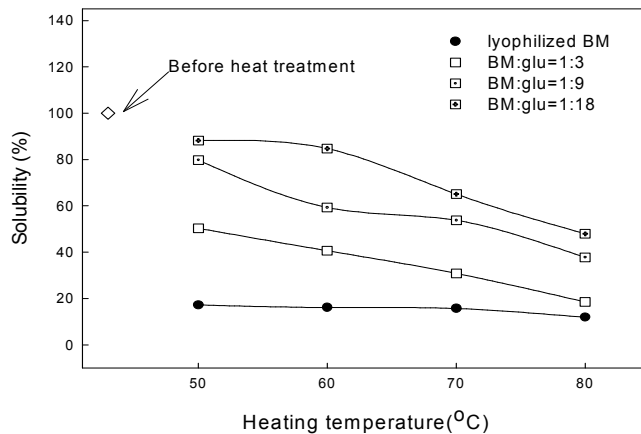


Fig. 75. Change in solubility of BM conjugated with glucose by heating.

Conjugation of BM-glucose heated at various temperatures. BM glycosylated with glucose at 50°C and 32% relative humidity.

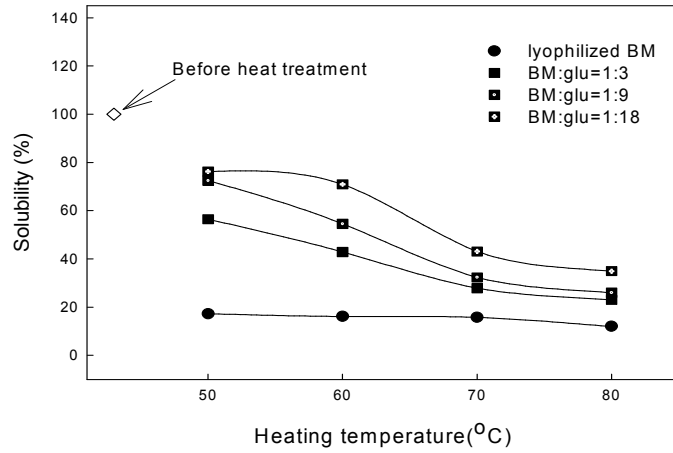


Fig. 76. Change in solubility of BM conjugated with glucose by heating.

Conjugation of BM-glucose heated at various temperatures. BM glycosylated with glucose at 50°C and 67% relative humidity.

Fig. 75 및 76에는 가슴육에 glucose를 각각 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율로 혼합한 후 상대습도 32% 및 67%, 반응온도 50°C에서 반응시킨 가슴육과 결합물을 50°C ~ 80°C에서 2시간 동안 열처리하여 이들의 용해도를 측정하였다. 우선 상대습도 32%에서의 결과를 살펴보면 가슴육과 glucose의 혼합비율이 높아질수록 가열에 의한 용해도는 서서히 떨어졌으며 혼합비율이 낮을수록 급격한 용해도의 저하를 가져왔다(Fig. 75). 또한 Fig. 76에 제시한 상대습도 67%의 경우에 있어서도 32%와 거의 같은 경향을 나타내었으나 상대습도 67%의 경우가 빠른 용해도의 감소를 나타내었다. 이와 같은 결과는 앞서 이야기한바와 같이 가슴육과 당과의 결합력에 의한 단백질의 당의 보호효과에 기인하는 것으로 사료되었다.

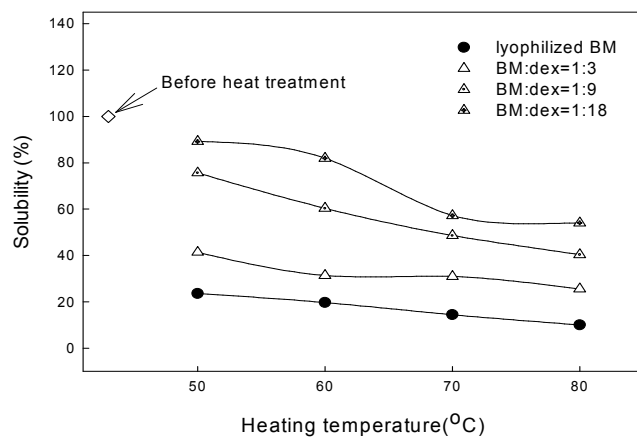


Fig. 77. Change in solubility of BM conjugated with dextran by heating.

Conjugation of BM–dextran heated at various temperatures. BM glycosylated with dextran at 50°C and 32% relative humidity.

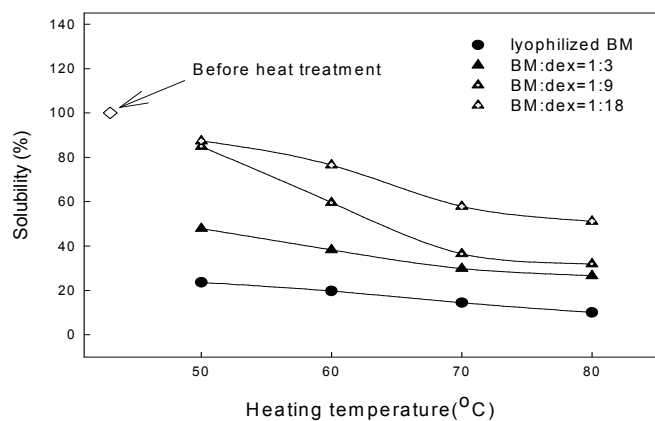


Fig. 78. Change in solubility of BM conjugated with dextran by heating.

Conjugation of BM–dextran heated at various temperatures. BM glycosylated with dextran at 50°C and 67% relative humidity.

Fig 77 및 78에는 dextran의 경우를 glucose와 같은 조건하에서 검토한 결과를 나타내었다. 이결과에 있어서도 상대습도 등의 영향을 받았으며, glycosylation의 정도에 따라서 전체적으로는 가열에 의한 용해도에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

한편, Fig. 79~82에는 잔여육의 경우를 가슴육(Fig. 75~78)과 같은 실험을 통하여 얻은 결과를 나타내었다. 잔여육에 있어서도 가슴육과 거의 같은 결과였으며, 상대습도, 당의 첨가비율에 따라서 가열에 의한 용해도에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

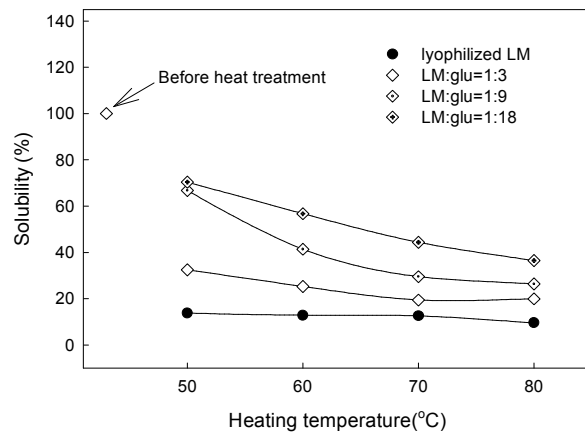


Fig. 79. Change in solubility of LM conjugated with glucose by heating.

Conjugation of LM-glucose heated at various temperatures. LM glycosylated with glucose at 50°C and 32% relative humidity.

이상의 결과는 단백질과 당의 glycosylation의 정도에 따라서 단백질의 변성을 억제하는 것으로 사료되었다. 즉 glycosylation이 잘 일어났던 glucose 및 dextran의 1 : 18의 경우 용해도의 감소가 서서히 일어났으며, 이 결과는 단백질에 당이 결합함으로써 외부로부터의 단백질의 변성을 유발시키는 요인을 막아주는 역할을 하기 때문인 것으로 사료되었다. Hashimoto 등은 어류 단백질의 변성을 방지하는 인자로서 각종 당류에 대한 영향을 보고한 바가 있으며, 당류의 OH기수에 따라서 단백질의 변성을 억제한다는 보고를 하고 있다. 따라서 본 연구의 결과에서도 같은 경향을 나타내고 있으며, glucose 및 dextran은 단백질의 열안정성을 높여주는 것으로 확인되었다.

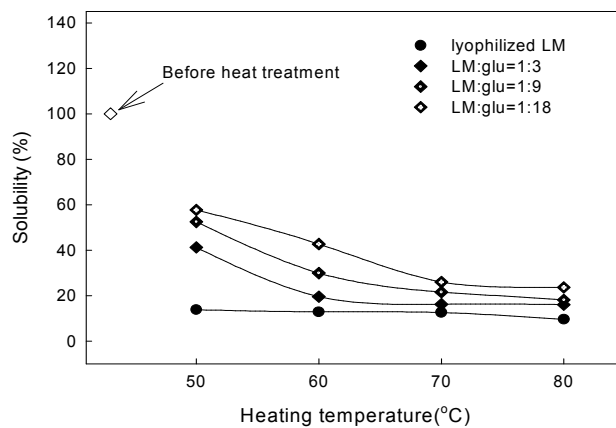


Fig. 80. Change in solubility of LM conjugated with glucose by heating.

Conjugation of LM-glucose heated at various temperatures. LM glycosylated with glucose at 50°C and 67% relative humidity.

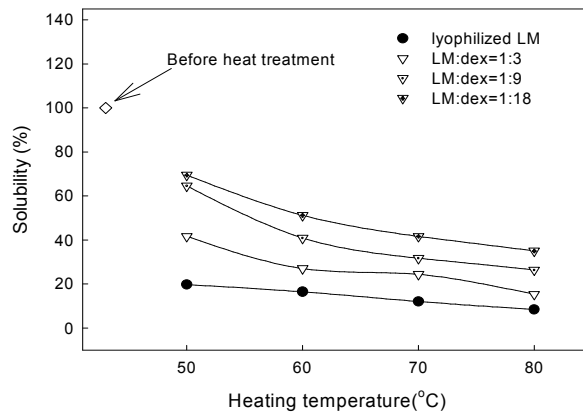


Fig. 81. Change in solubility of LM conjugated with dextran by heating.

Conjugation of LM–dextran heated at various temperatures. LM glycosylated with dextran at 50°C and 32% relative humidity.

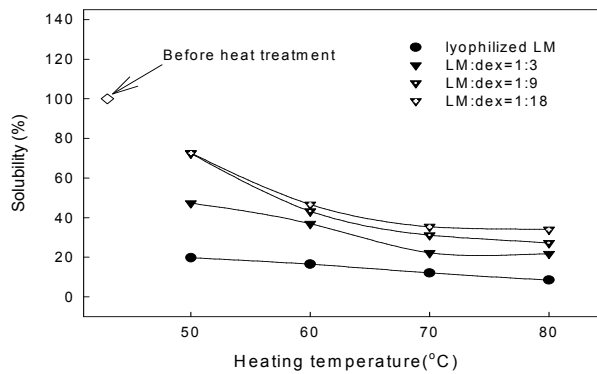


Fig. 82. Change in solubility of LM conjugated with dextran by heating.

Conjugation of LM–dextran heated at various temperatures. LM glycosylated with dextran at 50°C and 67% relative humidity.

7) SDS-PAGE에 의한 근육 단백질 조성의 변화 측정

단백질에 당류를 첨가하면 Maillard reaction에 의한 glycosylation이 일어나며 단백질과 당 사이에서의 강한 결합이 일어난다. 즉 온도, pH, 상대습도를 조절하여 반응시키면, carbohydrates의 carbonyl group과 단백질의 *N*-terminal amino group 또는 lysine residues의 ϵ -amino group이 결합하여 carbohydrate-protein의 결합체가 생성되는 것이다. 그러나 근육의 경우는 단백질뿐만 아니라 결합조직 등의 다른 성분들도 포함되어 있어 이와 같은 결합이 근육의 경우에 있어서도 일어나는지에 대해서 확인할 필요가 있다. 따라서 본 항에서는 근원섬유 단백질과 마찬가지로 조건의 변화에 따라서 똑같은 당첨가에 의한 근육단백질의 변화가 일어나는지를 SDS-PAGE로 검토하였다. 여기에서는 대표적으로 glycosylation이 가장 잘 일어났던 근육과 glucose의 혼합비율이 1 : 18, 상대습도 32% 및 반응온도 50°C에서의 경우를 제시하였다.

Fig. 83에는 근육과 glucose의 conjugation의 Total protein과 이들로부터 분리된 수용성 단백질의 subunit 조성을 10% polyacrylamide gel을 이용하여 분석한 결과를 나타내었다. Total protein의 경우 근육내 단백질과 glucose의 결합에 의하여 myosin heavy chain 및 actin에 상당하는 성분들이 반응시간의 경과와 함께 이동도가 조금씩 짧아지는 경향을 나타내었으며, 단백질과 당의 결합에 의한 분자량에 변화를 나타내었다. 또한 이들로부터 분리된 수용성 단백질의 변화를 보면 반응시간의 경과와 함께 각각의 단백질 조성량이 많아짐을 알 수 있었으며, 여기에서도 이동도가 짧은 성분들이 검출되었다.

상기의 결과로부터 반응시간의 경과와 함께 근육내 단백질과 당의 결합에 의해서 고분자화가 진행되는 것이 관찰되었는데 이들의 결과를 좀더 상세히 관찰하기 위하여 5% polyacrylamide gel을 이용하여 분석하여 Fig. 84에 결과를 제시하였다. 이 결과에서는 포화 size가 큰 gel을 사용하였기 때문에 actin에 상당하는 성분은 검출되지 않았지만, myosin

heavy chain의 성분은 자세히 관찰할 수 있었다. 즉 Total protein이나 수용화 성분 어느쪽에서도 반응시간의 경과와 함께 서서히 myosin heavy chain의 고분자화가 일어나는 것을 알 수 있었으며, 근육과 glucose를 혼합하여 일정한 환경에서 반응을 시키면 상호간의 반응에 의한 고분자화가 일어나는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 결과는 제 2항에서의 근원섭유 레벨에서의 결과와 기본적으로는 같았다.

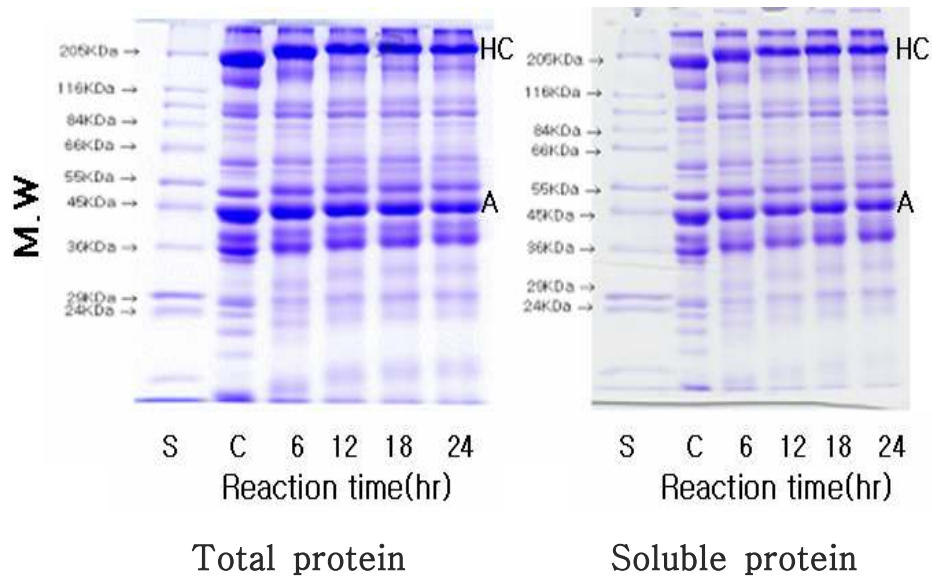


Fig. 83. SDS-PAGE patterns of BM conjugated with glucose.

Mixing ratio of BM and glucose were 1 : 18 and reacted at 50°C and 32% relative humidity.

10% polyacrylamide gel. S: standard marker

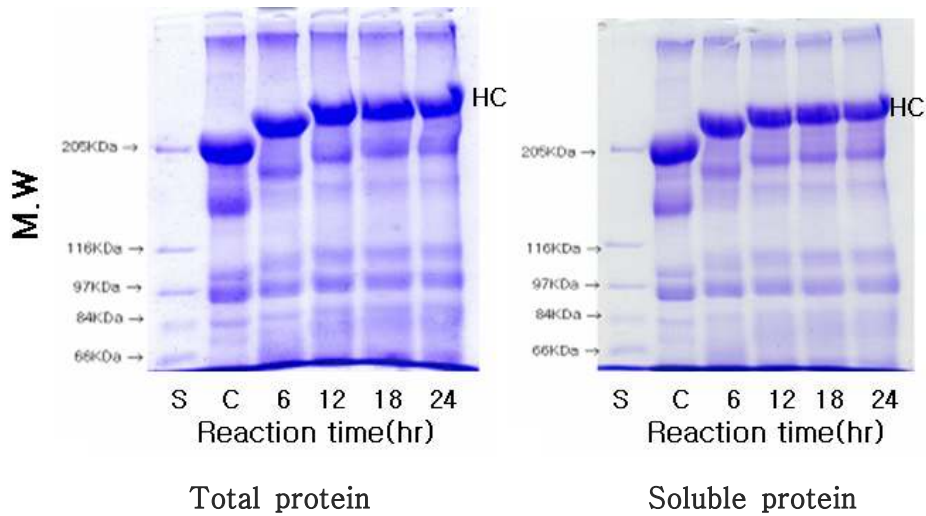


Fig. 84. SDS-PAGE patterns of BM conjugated with glucose.

Mixing ratio of BM and glucose were 1:18 and reacted at 50°C and 32% relative humidity.

5% polyacrylamide gel. S: standard marker

8) 근육과 당류의 결합에 의한 탁도의 변화

근육에 당을 혼합하여 일정조건하에서 반응을 하면 근육 내 단백질과 당과의 glycosylation에 의한 결합이 일어나며 이때에 단백질의 저 이온 강도의 조건하에서도 용해도가 증가한다는 것을 이미 기술하였다. 따라서 이와 같이 근육 내 단백질과 당이 결합에 의해서 수용화가 일어날 때 탁도에 미치는 영향은 어떠한지를 조사하였다.

Fig. 85 및 86에는 가슴육에 glucose를 각각 1 : 3, 1 : 9 및 1 : 18의 비율로 혼합한 후 상대습도 32% 및 67%, 반응온도 50°C에서 반응시킨 가슴육과 결합물의 탁도를 측정한 결과이다. 우선 상대습도 32%에서의 결과를 살펴보면 가슴육과 glucose의 혼합비율이 높아질수록 탁도는 서서히 증가하였으나, 혼합비율이 낮을수록 빠른 탁도의 증가를 가져왔다(Fig. 85). 또한 Fig. 86에 제시한 상대습도 67%의 경우에 있어서도

32%와 거의 같은 경향을 나타내었으나 상대습도 67%의 경우가 빠른 탁도의 증가속도를 나타내었다. 이와 같은 결과는 앞서 제시한 근육과 당의 결합에 따른 용해도의 결과와 일치하는 결과였다. 즉, 당 결합에 의한 근육 내 단백질의 용해도가 증가하면 탁도는 그다지 증가하지 않지만, 결합력이 그다지 좋지 않았던 조건하에서는 용해도가 낮았으며 이것이 탁도 상승의 요인이 된 것으로 사료되었다. 이와 같은 결과는 Fig. 87 및 88에 제시한 dextran의 경우도 같았으며, 또한 Fig. 89~92(잔여육의 glucose 및 dextran)의 경우에 있어서도 그 결과는 같았다.

이상의 결과는 단백질과 당의 glycosylation의 정도에 따라서 단백질의 탁도에도 영향을 미치는 것으로 나타났다. 즉 glycosylation이 잘 일어났던 glucose 및 dextran의 1 : 18의 경우 탁도는 매우 낮았으며 이 결과는 단백질과 당의 결합에 의한 단백질의 수용화가 일어나 이것이 탁도에 영향을 미친 것으로 사료되었다.

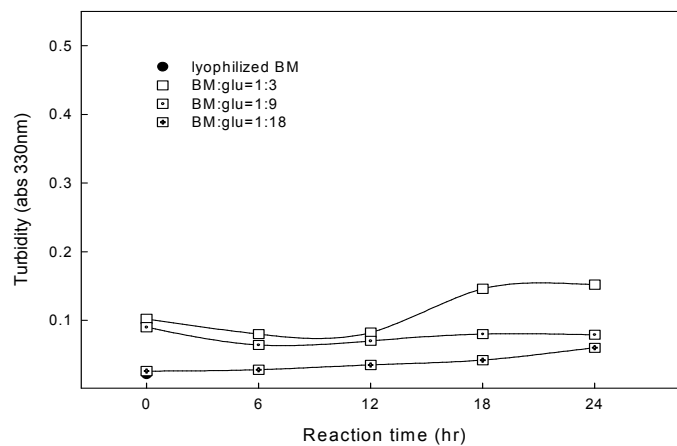


Fig. 85. Change in turbidity of BM during reaction with glucose. Glycosylated BM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

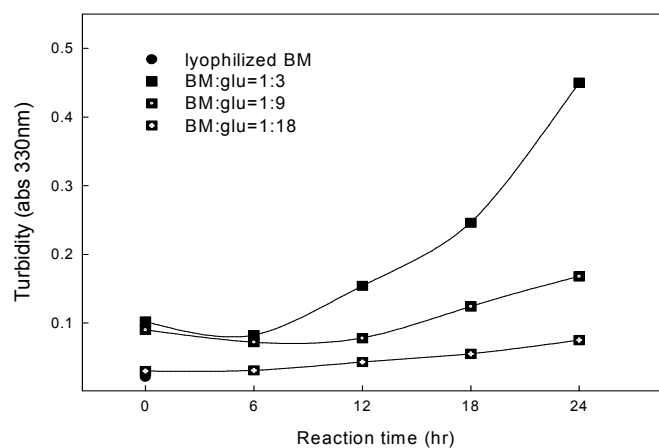


Fig. 86. Change in turbidity of BM during reaction with glucose. Glycosylated BM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

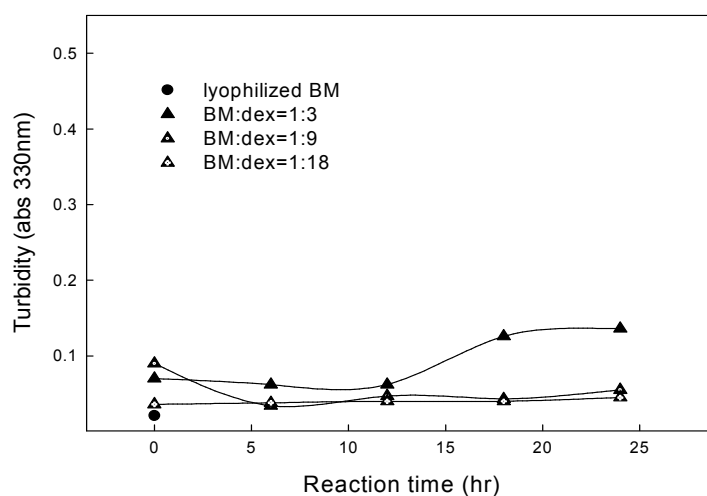


Fig. 87. Change in turbidity of BM during reaction with dextran. Glycosylated BM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

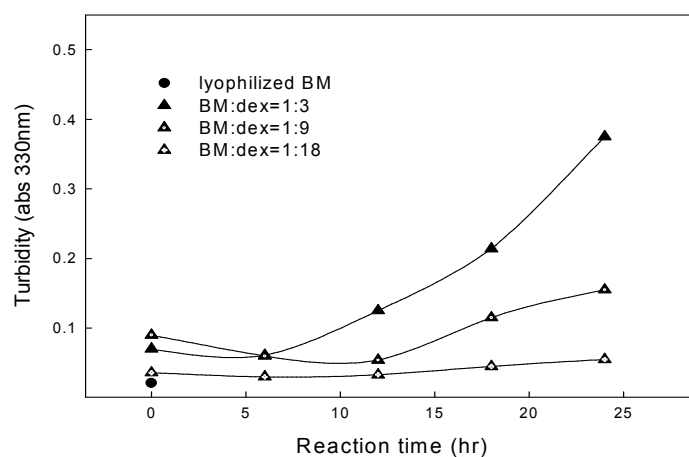


Fig. 88. Change in turbidity of BM during reaction with dextran. Glycosylated BM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

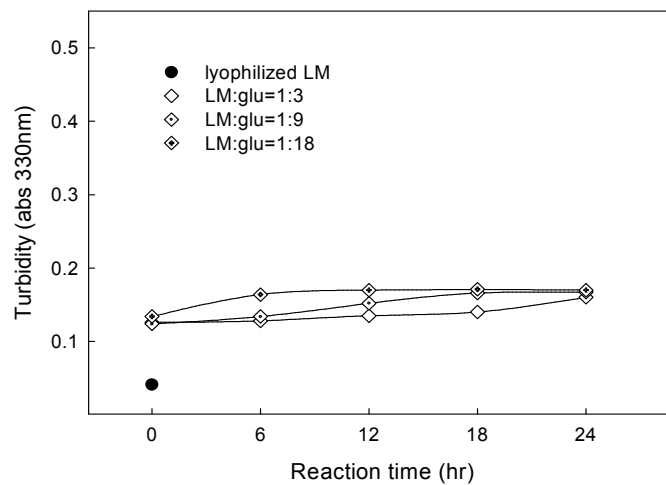


Fig. 89. Change in turbidity of LM during reaction with glucose. Glycosylated LM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

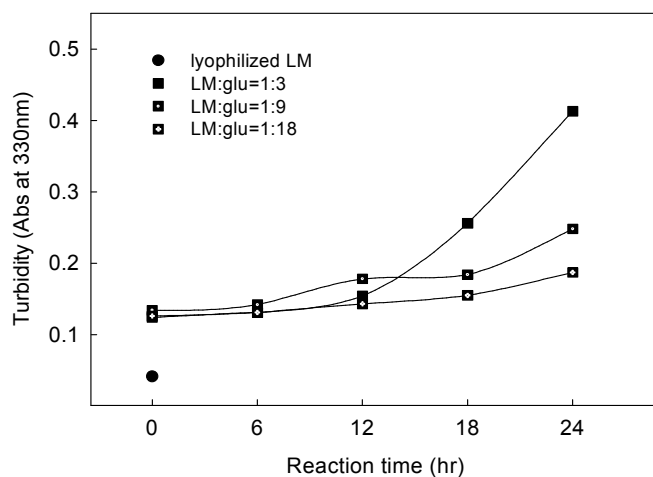


Fig. 90. Change in turbidity of LM during reaction with glucose. Glycosylated LM–glucose mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

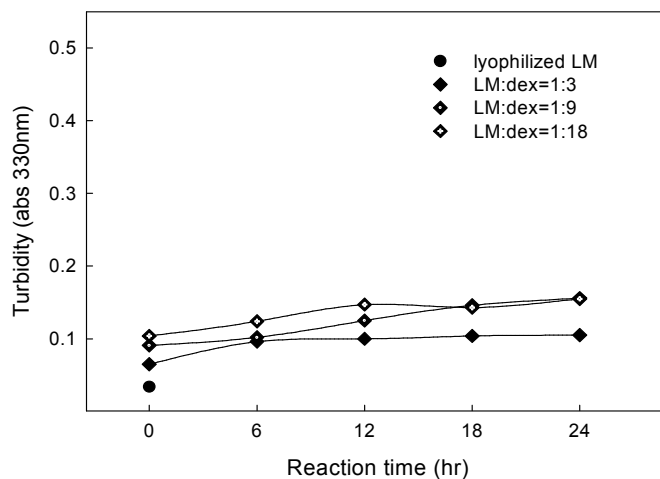


Fig. 91. Change in turbidity of LM during reaction with dextran. Glycosylated LM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 32% relative humidity.

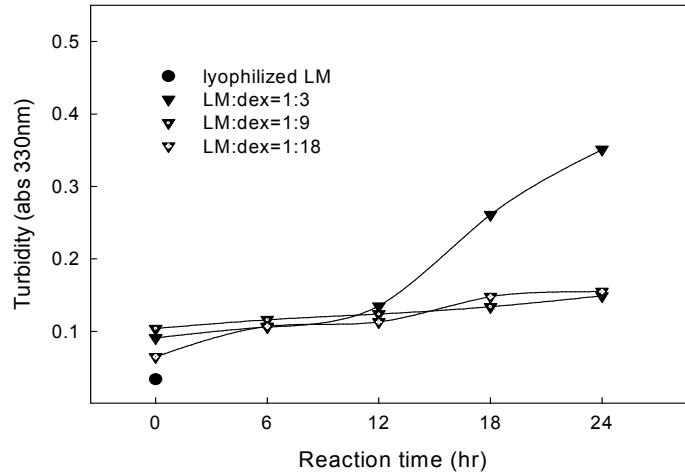


Fig. 92. Change in turbidity of LM during reaction with dextran. Glycosylated LM–dextran mixtures were reacted at 50°C and 67% relative humidity.

4. 근육의 생화학적 변환에 따른 수용화 성분의 수거기술 검토

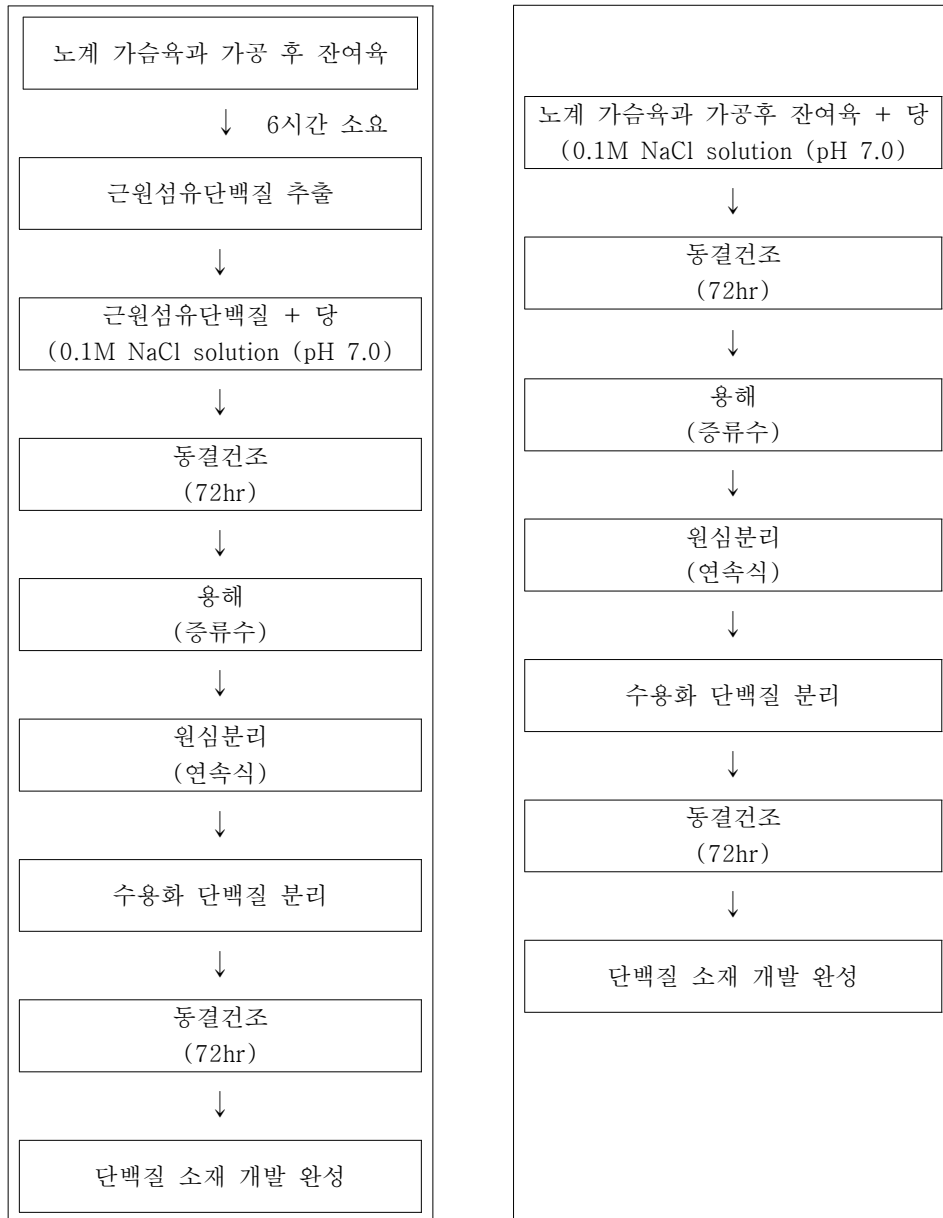
노계 가슴육 또는 잔여육의 근원섬유 단백질 및 가슴육 또는 잔여육에 glucose, dextran, fructose 및 alginate를 적절한 비율로 혼합하면 반응온도, 상대습도, pH에 의해서 glycosylation이 일어나는데 이때에 단백질의 수용화가 일어나 저 이온강도에서도 단백질의 분리가 일어난다. 이들 분리된 단백질을 수거하는데 각각의 당류첨가에 따른 최적 수거조건을 검토하여 Table 3에 제시하였다. 이 결과에 의하면 모든 당류의 첨가에 의한 수용화 단백질의 최적 수거능 조건은 혼합비율 1 : 18, pH 7.0, 상대습도 32%, 반응온도 50~60°C에서 나타났다. 그러나 당류간의 수용화 단백질의 수거율은 각기 달랐으며, glucose 첨가구가 가장 좋았으며, 다음으로 dextran이 좋았다. fructose 및 alginate는 반응에 의해서 약간 수용화 단백질 함량이 증가하는 하였지만 큰 효과는 보지 못했다. 결론적으로 본 연구를 통하여 단백질과 당 사이에서의 glycosylation에 의한 단백질

의 수용화 능력은 glucose 및 dextran이 가장 좋았으며 수용화 성분을 수거 시 glucose 및 dextran과 같은 당류를 활용하는 것이 적합한 것으로 나타났다.

Table 3. The optimum recovery conditions of soluble component by glycosylation of muscle and sugars.

Sugars	Optimum conditions				Recovery rate(w/w)	
	pH	Mixing ratio of protein and sugars(w/w)	Relative humidity (%)	Temperature (°C)	BM	LM
<u>glucose</u>	7.0	1 : 18	32	50, 60	<u>58.6</u>	<u>55.6</u>
<u>dextran</u>	7.0	1 : 18	32	50, 60	<u>49.7</u>	<u>48.1</u>
fructose	7.0	1 : 18	32	50, 60	30.8	29.1
alginate	7.0	1 : 18	32	50, 60	28.3	27.2

Table 4. Manufacturing process of soluble protein from Myofibril and Muscle protein.



5. 생화학적 변환에 의한 수용화 단백질의 근육 강화 식품에 대한 가공 적성 검토.

지금까지의 결과를 토대로 단백질과 당의 결합에 의한 수용화 단백질을 모델 근육강화공급제와 모델 단백질 강화식품 등을 제조하였으며 응용 가능한 제품을 제시하고자 하였다.

1) 근육 강화 공급제에 대한 가공 적성 검토

(1) 단백질 캡슐 및 powder 제조

당을 결합하여 수용화한 단백질을 캡슐과 powder 형태의 근육 강화 공급제를 제조하였다.



Fig. 93. Capsulation of water soluble protein from conjugation of BM and sugar.



Fig. 94. Water soluble protein powder

2) 단백질 강화식품에 대한 가공 적성 검토

(1) 젤리제조

수용화 단백질을 첨가하여 모델젤리를 제조하였다. 젤리제조에 사용하는 agar의 함량을 각각 0.3~2.0%로 조절하면서 agar 함량에 따른 젤리 형성능을 관찰하였고, 여기에 수용화한 단백질을 농도별로 첨가하여 젤리의 형상을 유지하는 단백질 강화식품을 제조하였다. 그 결과, 젤리 형태를 유지하는 agar의 함량은 1.0%이상일 때 형태를 완전히 유지하였으며, 그 이하에서는 쉽게 부서지는 현상을 보였다. 따라서 agar의 함량을 최대한 낮추고 단백질의 함량을 높여, 낮은 agar 함량에서 수용화 단백질의 농도를 높여가면서 형성되는 젤리의 성상을 살펴보기로 하였다. agar의 함량을 0.3%로 고정하고 여기에 수용화 단백질을 농도별(0.5~2.0%)로 첨가하여 그 성상을 살펴본 결과, 첨가한 수용화 단백질의 농도가 높아질수록 젤리 형성능이 좋아지는

경향을 나타내었고, 투명도는 약간 감소하는 경향을 보였다. agar의 함량이 낮아서 젤리 형성에 어려움이 있었던 것을 수용화 단백질을 첨가하여 젤리의 형성능을 높여주는 결과를 보여, agar의 함량을 낮추고 수용화 단백질의 함량을 높인 젤리를 가공함으로써 단백질 강화식품에 대한 가능성을 시사하였다.

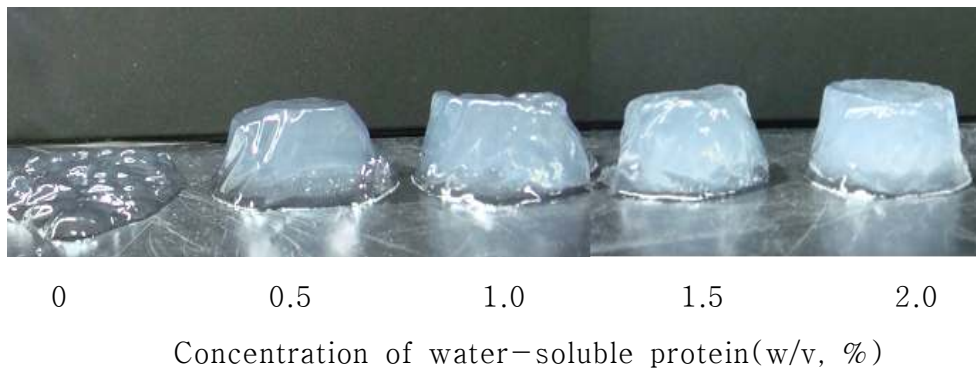


Fig. 95. Gel forming ability of agarose by addition of water soluble protein.

(2) 죽류 제조

본 연구의 결과로부터 얻어진 수용화 단백질을 이용하여 죽류를 제조하였다. 단백질은 glucose 및 dextran을 결합하여 수용화 한 단백질을 사용하였다. 제조공정은 다음과 같다.




공정	방법
	<p>분쇄한 쌀과 수용화 단백질을 비율(8:2, 6:4, 5:5)에 따라 혼합한다.</p>
	<p>혼합물에 5배량의 물을 첨가하여 30분간 수침한다.</p>
	<p>과우치에 내용물을 넣고 밀봉한 다음 121℃에서 15분간 retort하여 완성한다.</p>

Fig. 96. Manufacturing process of rice gruel added water soluble protein.

쌀과 수용화 단백질의 비율에 따른 죽의 성상을 살펴보면, 수용화 단백질의 비율이 높아질수록 묽은 죽의 형태를 나타내었으며, dextran과 결합하여 수용화한 단백질 강화죽의 경우 대조구와 거의 비슷한 성상을 보였다. 반면, glucose와 결합하여 수용화 한 단백질 강화죽은, 단백질 함량비가 높아질수록 쌀과 분리되고 갈변이 일어났다. 따라서 수용화 단백질 강화죽의 경우에는 dextran과 결합한 수용

화 단백질을 첨가하는 것이 더 적합한 것으로 판단된다.











	Ratio of rice and sugar			
	10 : 0	8 : 2	6 : 4	5 : 5
control				
glucose				
dextran				

Fig. 97. Rice gruel added water soluble protein.

(3) 음료제조

수용화 단백질을 음료에 첨가한 후 용해시켜, 단백질 강화 기능성 음료를 제조하였다. 수용화 단백질의 첨가량은 0.5~2.0%로 하였고, 그 결과, 수용화 단백질의 함량이 높아질수록 대조구에 비해 육안으로 느껴지는 탁도가 약간 높아지는 경향을 나타내었다. 따라서 수용화 단백질의 첨가는 단백질 강화 기능성 음료를 제조하는데 있어서 충분히 활용할 수 있을 것으로 사료되었다.



0.5

1.0

2.0

Concentration of water-soluble protein(w/v, %)

Fig. 98. Water soluble protein drink

3) 단백질 소재의 안전성 검토

수용화 단백질 분말의 저장성 검토를 위하여 분말상태를 각각 냉장(4℃)과 냉동(-20℃) 보관하였을 때 미생물 총균수와 *Bacillus cereus*의 변화를 검토하였다. 총균수 측정은, 수용화 단백질 분말을 멸균수에 10진법에 의해 희석하고, 멸균된 petri dish에 3반복 이상 무균적으로 분주한 후, Plate count agar(Difco, BD. USA)로 pouring 하여 37℃에서 72시간 동안 배양하여 측정하였고 이는 4일 간격으로 실험하였다. 한편, *Bacillus cereus* 검출에는 Desoxycholate agar (Difco, BD. USA)를 사용하여 총균수와 같은 방법으로 검출하였다.

그 결과, 냉장과 냉동보관 모두 초기 값에 비해 저장 20일 이후에도 큰 변화가 없었으며, 이들 모두에서 *Bacillus cereus*는 검출되지 않았다. 따라서, 수용화 단백질의 분말상태는 저장성에 있어서도 문제가 없는 것으로 판단되었다.

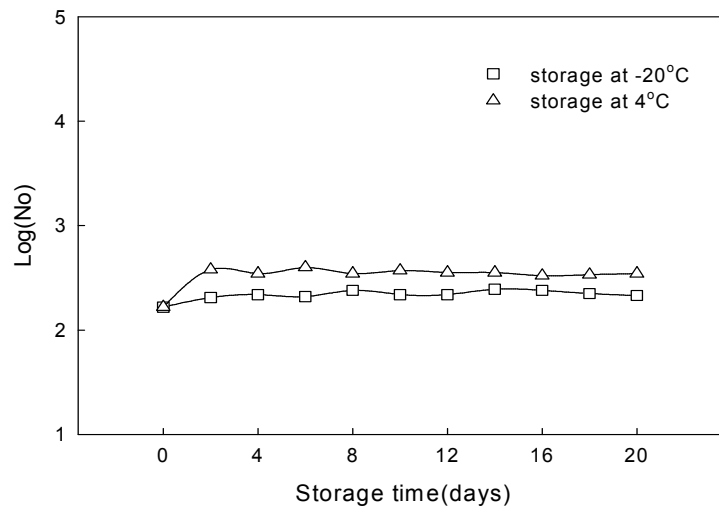


Fig. 99. Changes in total plate count of water soluble protein powder during storage at 4 and 20°C.

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	연구목표 및 평가의 착안점	목표 달성도	기여도
1차년도(2006)	○ 각종 당류와 근원섬유 단백질과의 반응성	100	매우 큼
	○ 근원섬유 단백질의 glycosylation에 의한 생화학적 특성	100	
2차년도(2007)	○ 근육과 당류의 반응성	100	매우 큼
	○ 근육 단백질의 glycosylation에 의한 생화학적 특성	100	
3차년도(2008)	○ 근육강화 공급제의 가공적성	100	큼
	○ 단백질 강화 식품의 가공적성	100	
	○ 단백질 소재의 안전성	100	
최종평가	○ 근원섬유 단백질의 수용화 ○ 근육 단백질의 수용화 ○ 수용화 단백질의 가공성 ○ 노계 가슴육 및 잔여육의 활용 증진	100 100 100 100	매우 큼

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구를 통하여 개발된 근육 또는 근원섬유 단백질의 수용화에 대한 결과는 현재 특허를 출원(제목 : 근원섬유단백질의 수용화 방법 10-2008-0036238, 제목 : 근육 단백질의 분리방법 10-2009-0033858)하였으며, 현재 참여업체인 (주)정우식품과 기술이전에 대하여 협의 중에 있다. 또한, 이 기술을 개발하기 위한 기초연구는 현재 관련학회에 논문 투고(국내 2편, 국외 2편)를 준비하고 있으며, 식품과학회, 식품영양과학회 등에 4회에 걸쳐 발표한 바 있다. 또한 본 연구의 성과물을 토대로 하여 현재 박사과정 1인을 배출할 예정으로 있다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

생체내에서의 단백질 및 아미노산의 대사관련 연구는 많이 수행되었다. 즉, M Rennine(1996) 등은 단백질 및 아미노산 신진대사에 관한 운동의 영향에 대하여 보고하였으며, 근육 중에 존재하는 유리아미노산이 단백질의 분해 및 합성에 있어서 중요한 역할을 한다고 하였다. 또한 WJ Evans(1986) 등은 일상적으로 격한 운동을 하는 사람과 그렇지 않은 사람과의 신진대사의 변화에 대하여 조사한 결과, 운동은 근조직 및 근세포에 손상을 입히며 그 손상은 골격근 세포에 다량 함유하고 있는 Creatine kinase를 혈중에 누출하여 혈중에서의 효소활성을 상승시키기 때문에 항상 운동을 격하게 하는 사람에게서 근조직의 손상이 쉽게 일어나며, 갑자기 격한 운동을 하였을 때 근조직의 손상이 빠르게 일어났다고 하였다. 또한, 운동에 의한 근조직의 손상을 알아보기 위하여 소변 중의 요소 함량을 측정된 결과 운동 시간이 길어질 수록 요소의 농도가 증가되는 것으로 나타났으며, 운동에 의한 단백질의 분해량은 운동시간에 비례하는 것으로 나타났다. 또한 소변 중의 요소 농도가 상승하지 않는 1시간 이내의 단시간의 운동에서도 leucine의 분해가 촉진되었으며, 이는 일부의 아미노산은 상당히 빠른 시점에서 분해가 일어나는 것으로 추정되었다(RR Wolfe 등 1982).

한편, 운동 후 단백질 또는 아미노산을 섭취하면 근육의 합성이 일어나는 것으로 판명되었으며, 어느 시점에서 섭취하는 것이 가장 효율적인가에 대하여 개를 대상으로 하여 실험한 결과 운동 후 2시간 후에 섭취하는 것이 가장 효율적인 것으로 나타났다(K. Okamura 등 1997). 또한, 그 후 사람을 대상으로 한 실험결과에서는 운동직후 와 2시간 후에 공급한 비교연구에서 운동직후 바로 섭취하였을 때 근단백질의 합성이 보다 효율적이었다(B. Esmarck 등 2001). 실험 대상자에게 40~50분간 레지스탕스 운동시 운동 직전 또는 운동 직후에 아미노산을 공급하여 비교하면

운동 직전에 공급하는 것이 단백질 합성율이 높은 것으로 나타났다(KD. Tipton 2001). 이외에 섭취한 단백질의 체내 축적율에 대하여 조사한 결과 다른 영양소와 동시에 섭취하는 것이 단백질 합성에 더욱 효과적이라는 보고도 있다. 즉, 단백질 단독의 섭취, 단백질과 설탕의 동시 섭취, 단백질과 지방의 동시섭취의 조건으로 섭취 후 8시간까지의 섭취 단백질의 체내 축적율을 검토한 결과 단백질과 설탕을 동시에 섭취하였을 경우 가장 높은 축적율을 나타내었다(C. Gaudichon 등 1999).

이상과 같이 운동 후에 근육의 손상이 일어나는 것으로 알려지고 있으며, 또한 병약자 및 성장기의 유아에게는 충분한 단백질의 공급이 필요하며 이를 보충하기 위해서는 적당량의 단백질 및 아미노산 등의 영양을 공급하여야 한다. 따라서 최근에는 손쉽게 섭취할 수 있는 아미노산의 supplement에 대한 연구 예가 많이 있으며, 아미노산 보강음료 등으로 산업화가 이루어져 판매되고 있다. 그러나, 아미노산 supplement의 경우 대부분 chemical을 이용한 예가 많아 그 안전성에 있어서 완전히 확보되었다고는 할 수 없다.

한편, 근육으로부터 순수 단백질만을 분리한 supplement에 대한 연구에는 매우 적은편이며, 이는 단백질의 안정성이 매우 불안정하므로 취급하기 어려운 것이 하나의 원인일 것으로 사료된다. 또한, 아미노산과 단백질을 공급하였을 때 단백질이 아미노산 보다 단백질 합성율에서 우수하다는 보고도 있어 단백질 supplement에 대한 연구는 계속적으로 발전시켜야 할 분야로 사료된다.

현재 연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
Hokkaido University	<ul style="list-style-type: none"> - glycosylation에 의한 어류 근원섬유 단백질의 기능 개선 : 당류첨가에 따른 근원섬유단백질의 안정화 및 용해도 증진 효과 - 산란 후 연어육의 활용성 증진을 위한 glycosylation에 의한 근원섬유 단백질의 기능개선 	현재 진행 중

제 7 장 참 고 문 헌

1. Ryo Sato, Shigeru Katayama, Tomoo Sawabe, and Hiroki Saeki : Stability and Emulsion-Forming ability of water-soluble fish myofibrillar protein prepared by conjugation with anginate oligosaccharide. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4376-4381, 2003.
2. Hiroki Saeki and Keisuke Inoue : Improved solubility of Carp myofibrillar proteins in low ionic strength medium by glycosylation. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3419-3422, 1997.
3. Hiroki Saeki *J. Agric. Food Chem* : Preparation of neoglycoprotein from Carp myofibrillar protein by Maillard reaction with glucose. Biochemical properties and emulsifying properties. *J. Agric. Food Chem.* 45, 680-684, 1997.
4. Marion M. Bradford : A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein -Dye binding. *Analytical biochemistry* 72, 248-254, 1976.
5. M. J. Medina Hernandez and M.C. garcia alvarez-Coque : Available lysine in protein, assay using o-Phthalaldehyde/N-Acetyl-L-cysteine spectrophotometric method. *J. Food Sci.* 57, 503-505. 1992.
6. Michel Dubois, k. A. gilles, J. K. Hamilton, P.A. Reberts, and Fred smith.: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry.* 28, 3 350-356. 1956.
7. Akio Kato, Kazuaki Minaki, and Kunihiro Kobayashi. : Improvement of emulsifying properties if egg white proteins by the attachment of polysaccharide though Maillard reaction in a dry state. *J. Agric. Food Chem.* 41, 540-543. 1993.

8. Kevin N. Pearce and John E. Kinsella : Emulsifying properties of proteins ; Evaluation of turbidmetric Technique. *J. Agric. Food Chem.* 26, 716–723. 1978.
9. S. H. Ashoor and J. B. zent : Maillard browning of common amion acids and sugars. *J. Food Sci.* 49, 1206–1207, 1984.
10. H. J. Kim, V. A. Loveridge, and I. A. TAUB : Myosin cross-linking in freeze-dried meat. *J. Food Sci.*, 49, 699–703. 1984.
11. A.O.A.C. : *Official Methods of analysis*. 15th ed. Assocoation of Official Analytical Chemists, Washinton, DC. USA. 1990.
12. Gornall, A. G., Bardawill C. J., David M. M. : Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 177. 751~766. 1949.
13. Laemmli, V. K. : Cleavage of structural proteins during the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680~685. 1970.
14. Neuhoff V., Arold N., Taube D., Ehrhardt N. : Improved staining of proteins in polyacryamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brient Blue G250 and R250. *Electrophoresis*. 9, 255~262. 1988.
15. Jan E. Hansen, Ole Lund, Khristoffer Rapacki, Henrik Clausen, Erik Mosekilde, Jens O. Nielsen and John-Erik S. Hansen. : Glycosylation and protein conformation. *Protein structure by distance analysis*. 247~256. 1994
16. Yasuko Kato, Kenji Watanabe and Yasushi Sato. : Effect of Maillard reaction on some physical properties of ovalbumin. *J. Food Sci.* 46, 1835–1839. 1981.

17. Terence M. Joys and Henry Kim. : O-phthalaldehyde and the fluorogenic detection of peptides. *Analytical biochemistry*. 94. 371~377. 1979.
18. M. J. Medina Hernandez, R. M. Villanueva Camanas and M. C. Garcia Alvarez-Coque. : Determination of total free amino acids with o-phthalaldehyde and N-acetyl-L-cysteine. – *Microchemical journal*. 42. 288~293. 1990.
19. J. A. Stamp, S. Linscott, C. Lomauro and T. P. Labuza. : Measurement of water activity of salt solutions and foods by several electronic methods as compared to direct vapor pressure measurement. *J. food science*. 49. 1139~1142. 1984.
20. Urdangarin M., Shigeru K., Ryo S., and Hiroki S. : Improved solubility and stability of carp myosin by conjugation with alginate oligosaccharide. *Fisheries science*. 70, 896–902. 2004.
21. Shigeru K. and Hiroki S. : Cooperative effect of relative humidity and glucose concentration on improved solubility of shellfish muscle protein by the Maillard reaction. *Fisheries science*. 70, 159–166. 2004
23. Shigeru K., Junji S., and Hiroki S. : Solubility improvement of shellfish muscle proteins by reaction with glucose and its soluble state in low-ionic strength medium. *J. Agric. Food Chem*. 50, 4327–4332. 2002.
24. Mahmoud A., Rohayeh R., and Fatemeh J. : Effect of Maillard-based conjugation with dextran on the functional properties of lysozyme and casein. *J. Sci. Food Agric*. 85. 2617–2624. 2005.
25. Hiroki S., and Manabu T. : Change in solubility of carp

- myofibrillar protein by glycosylation with ribose. *Fisheries science*. 65, 967–968. 1999.
26. Jean L. C., Bernard C., and Denis L. : Covalent binding of glycosyl residues to bovine casein : Effects on solubility and viscosity. *J. Agric. Food Chem.* 37, 32–36. 1989.
27. C. H. Lea and R. S. Hannan : Studies of the reaction between protein and reducing sugars in the "DRY" state. 1. The effect of activity of water of pH and of temperature on the primary reaction between casein and glucose. *Biochemica et biophysica ACTA*. 3. 313–325. 1949.
28. J. B. Yang, W. H. Yoon, M. S. Ko and C. H. Kim : Electrophoretic patterns of Myofibrillar proteins by sugar addition and heat treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22. 640~645. 1990.
29. H. Roh, S. Kim, S. Kim, D. Oh, K. Han and B. Noh. : Physicochemical properties of a low calorie sweetener, Tagatose. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32. 24~29. 1999.
30. T. P. Labuza, S. R. Tannenbaum and M. Karel. : Water content and stability of low-moisture – intermediate-moisture Foods. *Food Technol.* 24. 543~550. 1970.
31. K. Fujiwara, T. Oosawa, and Hiroki S. : Improved thermal stability and emulsifying properties of carp myofibrillar proteins by conjugation with dextran. *J. Agric. Food Chem.* 46, 1257–1261. 1988.
32. Y. Kato, T. Aoki., N. Kato., R. Nakamura, and T. Matsuda. : Modification of ovalbumin with glucose 6-phosphate by amino-carbonyl reaction. Improvement of protein heat stability and emulsifying activity. *J. Agric. Food Chem.* 43, 301–305. 1995.

33. W. M. Baisier, and T. P. Labuza. : Maillard browning kinetic in a liquid model system. *J. Agric. Food Chem.* 40, 707~713. 1989.
34. N. L. Mattarella, L. K. Creamer, and T. Richardson. : Amidation of esterification of bovine lactoglobulin to form positively charged proteins. *J. Agric. Food Chem.* 31, 968~972. 1983.
35. G. Puski. : Modification of function properties of soy proteins by proteolytic enzyme treatment. *Cereal chem.* 52. 655~664. 1975.
36. T. M. Lin, and J. W. Park. : Protein solubility in pacific whiting affected by proteolysis during storage. *J. Food Sci.* 61, 536~539. 1996.
37. M. Tanaka, N. Chiba, S. Ishizaki, R. Takai, and T. Taguchi. : Influence of water activity and Maillard reaction on the polymerization of myosin heavy chain in freeze-dried squid meat. *Fisher. Sci.* 60. 607~611. 1994.
38. S. Kubo, S. Tokura, and Y. Tonomura. : On the active site of myosin A-Adenosine triphosphatase : 1. reaction of the enzyme with trinitrobenzenesulifonate. *J. Biol. Chem.* 235. 2835~2839. 1960.
39. T. Miyanishi, A. Inoue, and Y. Tonomura. : Differential modification of specific lysine residues in the two kids of subfragment-1 of myosin with 2,4,6-trinitrobenzenesulfonate¹. *J. Biochem.* 85, 747~753. 1979.
40. A. Kato, Y. Sasaki, R. Furuta, and K. Kobayashi. : Functional protein-polysaccharide conjugate prepared by controlled dry-heating of ovalbumin-dextran mixtures. *Agric. biol. Chem.*, 54. 107~112. 1990.
41. M. Morales, C. W. Dill, and W. A. Landmann. : Effect of Maillard

condensation with D-glucose on the heat stability of bovine serum albumin. *J. Food. Sci.* 41. 234~236. 1976.

42. M. Tunabe, and H. Saeki. : Effect of Maillard reaction with glucose and ribose on solubility at low ionic strength and filament-forming ability of fish myosin. *J. Agric. Food. Chem.* 49. 3403~3407. 2001.

43. R. Sato, T. Sawabe, H. Kishimura, K. Hayashi, and H. Saeki. : Preparation of neoglycoprotein from carp myofibrillar protein and alginate oligosaccharide: Improved solubility in low ionic strength medium. *J. Agric. Food. Chem.* 48. 17~21. 2000.

44. Bradford M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72. 248-254. 1976.