

최 종
연구보고서

어육단백질의 용해도 특성을 이용한 surimi 제조 기술의 개발

New Process for Recovery of Fish Protein Using pH Shift

2004. 9

연 구 기 관
경 상 대 학 교

농림수산식품자료실



0014801

해 양 수 산 부

최 종
연구보고서

어육단백질의 용해도 특성을 이용한
surimi 제조 기술의 개발

New Process for Recovery of Fish Protein Using pH Shift

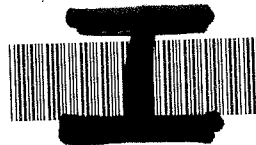
농림수산식품자료실

2004. 9

등록번호: 14801

등록일: 08년 4월 15일

연 구 기 관
경 상 대 학 교



해 양 수 산 부

제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “어육단백질의 용해도 특성을 이용한 surimi 제조 기술의 개발”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2004년 9월

주관연구기관명: 경상대학교

총괄연구책임자: 최 영 준

연구원: 김 진 수

참여기업명: 제일냉장식품

참여기업책임자: 이 원 갑, 공 영 배

요 약 문

I. 제목

어육단백질의 용해도 특성을 이용한 surimi 제조기술의 개발

II. 연구개발 사업의 목적 및 중요성

1. 연구개발 사업의 목적

- 수율을 현저히 증가시킨 수리미 제조 기술의 개발
- 수리미 제조 공정의 단순화와 간편화
- 미이용 어자원, 선도 저하 어류 및 동결어의 수리미 제조 기술 개발
- 오폐수 오염 부하량의 최저화
- 어육 단백질의 식품 소재화

2. 연구개발사업의 중요성

일반적인 상법에 의한 수리미 제조 혹은 어육단백질의 회수 공정은 어육에 함유된 지질, 색소, 비근육 단백질 및 근형질 단백질을 제거하기 위해 다량의 수세수를 사용하며, 수세로 인하여 근형질 단백질이 제거되기 때문

에 수율의 향상에 한계가 있고 이들 수세수의 배출로 인한 수질 오염을 초래할 뿐 아니라 수질 정화를 위한 환경 처리 비용이 많이 소요된다. 따라서 수율을 획기적으로 높이고 수세수의 양을 감소시키면서 근형질 단백질을 회수함으로써 수질 오염을 방지할 수 있는 어육 단백질의 회수 공정의 개발이 절실하다. 본 연구를 통해 개발한 어육 단백질의 회수 방법은 어육의 회수 수율을 기존의 수리미 제조 방법에 비하여 획기적으로 증가시킬 뿐 아니라 근형질 단백질을 회수함으로써 수세수의 발생량과 오염 부하량을 현저히 줄일 수 있기 때문에 환경 친화적인 공정의 설계가 가능하다. 기업의 환경오염 부담금의 절감은 어육 단백질 회수 공정의 경제성 확보에 크게 기여할 것이다.

근형질 단백질은 어육의 젤 형성능을 저하시키는 것으로 알려져 있으나 근형질 단백질의 종류에 따라 다소 차이가 있고, 분자 간 응집을 촉진하여 근원섬유 단백질의 그물 구조를 강화함으로써 젤 구조를 강화할 수도 있다. 염은 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질의 가열 젤 강도를 오히려 감소시키는 것으로 나타나 시판 수리미의 가열 젤과 다른 젤 형성 기구를 보이며, 최종 제품에 포함되는 염의 양을 임의로 조절할 수 있기 때문에 물성의 조절이 쉽고 저염 제품의 제조가 가능하다.

본 공정은 보통의 선도에 해당하는 선어 뿐 아니라 냉동한 백색육 어류에도 적용할 수 있기 때문에 저가의 원양산 냉동 어류에 적용할 수 있고, 단백질을 가용화하여 회수하기 때문에 어체의 크기가 작거나 다량의 지방을 함유한 어류에 적용이 가능하다. 이 같은 장점은 미이용 어류의 고차 가공 식품 자원화에 기여할 수 있을 것이다.

III. 연구개발사업의 내용 및 범위

제 1 장 새로운 surimi 제조 공정 개발

제 1 절 산과 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질 가열 겔의 물성 특성

가) 수리미 제조

- ▷ 수세 공정
- ▷ 산 처리 공정
- ▷ 알칼리 처리 공정

나) 가열 겔의 조제

다) 가열 겔의 물성 특성과 색

라) 물성 특성의 변화

- ▷ 수분함량에 따른 변화
- ▷ pH의 영향
- ▷ 화학제의 영향

제 2 절 산과 알칼리 pH에서 어육 단백질의 용해를 이용한 수리미 제조

가) 용해도에 미치는 pH와 이온 강도의 영향

나) 단백질 용해에 미치는 조직 파쇄 시간과 속도의 영향

다) 가열 겔의 물성에 미치는 단백질 추출 수량의 영향

라) 수리미의 수율

마) 수세, 산, 알칼리 수리미 폐수의 고형물, 총질소 및 화학적 산소요구량

제 3 절 산과 알칼리 공정으로 제조한 회수 단백질의 가열 겔에 미치는 근형질 단백질과 NaCl의 영향

- 가) 수리미 수율
- 나) 산과 알칼리 가열 젤의 물성과 색
- 다) 가열 젤의 물성에 미치는 근형질 단백질의 영향
- 라) 가열 젤의 물성에 미치는 NaCl의 영향
- 마) SDS-polyacrylamide gel 전기영동상

제 4 절 냉동 백조기의 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화와 최소 비용화

- 가) 젤 물성과 색에 미치는 전분의 영향
- 나) 젤 물성과 색에 미치는 비근육 단백질의 영향
- 다) 수리미, 전분 및 비근육 단백질의 최적화
- 라) 가열 젤의 미세구조

제 5 절 전갱이 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화

- 가) 젤 물성과 색에 미치는 전분의 영향
- 나) 젤 물성과 색에 미치는 비근육 단백질의 영향
- 다) 수리미, 전분 및 비근육 단백질의 최적화
- 라) 가열 젤의 미세구조

제 6 절 알칼리 처리 회수 단백질의 동결 안정성

- 가) 지질의 산화
- 나) 갈변도의 변화
- 다) 생균수의 변화
- 라) 조직의 변화

제 7 절 알칼리 회수 단백질의 가열 젤화 기구

- 가) ANS 표면 소수성의 변화
- 나) 수소결합의 변화
- 다) 반응성 및 총 SH기의 변화
- 라) SDS-polyacrylamide 전기영동상
- 마) 열특성

제 2 장 기능성 어육 단백질의 제조

제 1 절 어육의 부분 가수분해물 제조를 위한 효소 및 기질 비의 최적화

- 가) 시판 protease의 가수분해 특성
 - ▷ 단백질 분해효소의 pH 의존성
 - ▷ 단백질 분해효소의 온도의존성
 - ▷ 반응시간에 따른 효소 활성의 변화
 - ▷ Protease kinetics
 - ▷ 가수분해도
- 나) 가수분해물의 분자량 분포
- 다) 효소 반응 중지 조건의 설정
- 라) 가수분해도 조절을 위한 조건의 설정

제 2 절 산업적 규모로 제조한 부분가수분해 어육단백질의 기능특성

- 가) 가수분해물의 수분, 질소 함량 및 가수분해도
- 나) 분자량 분포
- 다) 용해도
- 라) 유화능과 유화안정성
- 마) 수분과 지방 흡착력

제 3 절 건조 분말 수리미의 제조와 식품학적 기능성

- 가) 용해도 특성
- 나) 유화능과 유화 안정성
- 다) 점도
- 라) 수분과 지방의 흡착 능력
- 마) 분말의 색

제 3 장 산업화를 위한 알칼리 공정의 pilot plant화와 제품 특성

제 1 절 pilot plant 공정의 설계와 회수한 어육 단백질의 물성 특성

- 가) 회수 단백질의 수율
- 나) 균질화 속도와 시간의 영향
- 다) 연속원심분리 속도의 영향
- 라) 회수단백질의 조직과 색
- 마) 가열 젤의 보수력
- 바) pH 조절제의 영향
- 사) 잔여지질 함량에 미치는 CaCl_2 의 영향
- 아) 폐수의 고형물, 총질소 및 화학적 산소요구량

제 2 절 회수 단백질의 백색도 개선을 위한 탈색 공정

- 가) Myoglobin에 미치는 pH의 영향
- 나) Myoglobin에 미치는 가열 온도의 영향
- 다) 수율의 변화
- 라) 수분함량이 색에 미치는 영향
- 마) Air float이 회수단백질의 색에 미치는 영향
- 바) 가열 젤의 물성

제 3 절 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질의 안전성

- 가) LAL(lysinoalanine)의 크로마토그램
- 나) 알칼리 공정이 구성 단백질과 LAL 형성에 미치는 영향
- 다) 알칼리 처리시간이 LAL 형성에 미치는 영향
- 라) 가열 처리시간이 LAL의 형성에 미치는 영향
- 마) 알칼리 및 가열 처리시간이 회수 단백질의 조성에 미치는 영향
- 바) 알칼리 처리 후 가열 처리 순서가 LAL 형성에 미치는 영향

제 4 절 신제품 개발을 위한 회수단백질, 가수분해물 및 분말 단백질의 formulation과 제품특성

- 가) 어육 제품의 특성
- 나) 조직 특성에 미치는 시판 수리미 혼합의 영향
- 다) 회수단백질의 젤에 미치는 pH의 영향
- 라) 육의 혼합이 조직에 미치는 영향
- 마) 갈고등어, 냉동 원양 꼬마민어, 닭고기 및 돼지 후지 육의 혼합육 제조를 위한 최적화
- 바) 가열 젤의 미세구조
- 사) 시판 어육 제품과 물성의 비교
- 아) 국수제품의 소비자 기호도

IV. 연구개발 결과

제 1 장 새로운 surimi 제조 공정 개발

제 1 절 산과 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질 가열 젤의 물성 특성

알칼리 pH에서 어육 단백질을 녹인 후 등전점 처리를 통하여 단백질을 회수하고 중성으로 pH를 조절하여 회수한 단백질의 가열 젤의 파괴강도와 변형 값은 수세 공정을 통해 회수한 단백질의 가열 젤에 비하여 손색이 없는 것으로 나타났으나, 백색도 값은 회수 단백질에 남아있는 혈색소와 육색소로 인하여 낮게 나타났다. 산 처리 회수 단백질의 저장 modulus 값은 수분 함량이 감소함에 따라 감소하였으나, 알칼리 철 회수 단백질의 경우는 증가하였다. 수리미의 최종 pH는 저장 modulus 값에 영향을 미치고 산 처리와 알칼리 처리 회수 단백질 사이에 다소 차이를 보였다. Potassium bromide는 S-S 결합의 형성을 통해 가열 젤의 저장 modulus를 증가시키는 것으로 나타났다. 알칼리 처리 회수 단백질은 파괴강도, 변형 값 및 백색도에 미루어 어묵 급의 연제품 제조를 위한 원료로 손색이 없는 것으로 판단하였다.

제 2 절 산과 알칼리 pH에서 어육 단백질의 용해를 이용한 수리미 제조

산과 알칼리 처리 회수 단백질의 제조 공정을 확립하기 위하여 단백질 가용화와 회수를 위한 최적 pH, 이온강도의 영향, 균질화 조건, 마쇄 육에 대한 수도수의 비율 및 수율을 검토하고, 산 및 알칼리 처리 단백질 회수 공정에 따른 폐수의 오염 저감 효과를 수세 공정과 비교하였다. 어육 단백질을 추출하기 위한 최적 pH는 2.5와 10.5-11.0 부근이었으며, 가용성 단백질의 침전 회수를 위한 최적 pH는 5.0-5.5의 범위였다. 추출 용액의 이온

강도 증가는 어육단백질의 추출량을 현저히 감소시키는 것으로 나타났고, 균질화를 위한 최적 조건은 9500 rpm 이하의 속도에서 30초 이었다. 원심 분리 부하량과 파괴강도 및 변형 값을 고려한 최적의 가수량은 마쇄 육 중량에 대하여 6배량이었다. 산 혹은 알칼리 처리 공정을 통한 회수 단백질의 수율은 수세 공정에 비하여 높았다.

제 3 절 산과 알칼리 공정으로 제조한 회수 단백질의 가열 젤에 미치는 근형질 단백질과 NaCl의 영향

pH 2.5와 pH 10.5에서 어육 단백질을 용해시키고 pH 5.0부근에서 침전한 단백질을 회수한 후, pH를 중성 부근으로 재조절하여 제조한 7종 어류의 산과 알칼리 회수 단백질의 수율을 수세로 회수한 단백질과 비교하고 이들 회수단백질과 수세 회수 단백질의 가열 젤에 미치는 근형질 단백질과 NaCl의 영향을 punch test와 색차계로 측정하였다. 알칼리 회수 단백질의 수율은 수세 회수 단백질과 산 처리 회수 단백질에 비하여 높았으나, 파괴강도, 변형 값 및 백색도는 낮았다. 근형질 단백질을 첨가한 가열 젤의 파괴강도는 첨가하지 않은 가열 젤에 비하여 유의적으로 높은 파괴강도와 변형 값을 가졌으나, 백색도는 다소 감소하였다. 염의 첨가 농도가 증가함에 따라 파괴강도는 감소하였으나, 변형 값은 유의적인 차이를 보이지 않았고 백색도는 다소 증가하는 것으로 나타났다. SDS-PAGE 상에서 산 처리하여 회수한 어육 단백질의 myosin heavy chain과 actin은 급속히 분해하였으며, 수세와 알칼리 회수 단백질 사이에는 큰 차이가 없었다. 알칼리 회수 단백질의 수율과 가열 젤의 파괴강도, 변형 값 및 백색도에 미루어 알칼리 처리 단백질 회수 공정은 kamaboko 형의 연제품 제조에 활용이 가능한 것으로 판단하였다.

제 4 절 냉동 백조기의 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화와 최소 비용화

냉동 백조기에서 회수한 알칼리 처리 단백질의 가열 젤 강도 증가를 위한 최적 전분 및 비근육 단백질의 선정과 이들 성분의 최적 첨가량을 설정하기 위해 2 수준 fractional factorial과 mixture design을 실시하였으며, 반응 값은 punch test와 색차계로 각각 물성과 색도를 측정하였다. 전분은 종류에 관계없이 파괴강도와 변형 값을 감소시켰다. 파괴강도는 전분의 농도 증가와 더불어 감소하였고, 변형 값은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 비근육 단백질 중 소 혈청 단백질이 젤의 파괴강도와 변형 값을 가장 크게 증가시켰으며, 첨가농도가 증가함에 따라 파괴강도와 변형 값은 증가하였다. 백색도는 전분과 근육 단백질의 함량이 증가함에 따라 다소 상승하는 것으로 나타났다. 파괴강도 100 g 이상, 변형 값 4.6 mm 이상, 백색도 25.5 이상을 보이는 회수 단백질, 감자전분, 소 혈청의 최적 혼합 비율은 각각 89.4-90.0%(수분 함량 78%), 4.5-5.2%, 5.3-5.8%의 범위였다. 이 범위의 ingredient 첨가 범위 내에서 가격도 최소였다. 전분과 비근육 단백질을 첨가하여 제조한 가열 젤이 단백질의 균일한 분포와 치밀한 망상 구조 형태를 보이고 있었으며, 이 같은 구조가 높은 물성 값에 기여하는 것으로 판단하였다.

제 5 절 전갱이 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화

전갱이 육에서 얻은 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 강도 증가를 위한 최적 전분 및 비근육 단백질의 선정과 이들 성분의 최적 첨가량을 설정하기 위해 2 수준 fractional factorial과 mixture design을 실시하였으며, 반응 값을 punch test에 의한 물성 값과 색차계에 의한 색도로 측정하였

다. 감자, 옥수수 및 밀 전분은 파괴강도 값을 감소시키지만 변형 값에는 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 소 혈청 단백질은 파괴강도를 크게 증가시키는 반면 분말 난백 단백질은 다소 효과가 인정되었고, 유장 단백질과 대두 농축 단백질은 효과가 없었다. 그리고 소 혈청 단백질은 변형 값을 다소 증가시킨 반면 분말 난백 단백질은 크게 감소시켰다. 감자와 옥수수 전분과 비근육 단백질은 백색도를 다소 개선하였다. 파괴강도 110 g 이상, 변형 값 4.2 mm 이상, 백색도 22.5 이상을 보이는 회수 단백질, 옥수수 전분 및 소 혈청 단백질의 최적 혼합비율은 각각 89.5-90.0%, 4.6-6.0%, 4.3-5.4%의 범위였다. 전자 현미경 상에서 전분과 비근육 단백질을 첨가하여 제조한 전갱이 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤이 수세 처리 회수 단백질의 젤에 비하여 균일한 단백질 분포를 보이고 있었다.

제 6 절 알칼리 처리 회수 단백질의 동결 안정성

알칼리 처리 공정으로 회수한 백조기와 깡치 단백질의 동결 안정성을 동결 저장 기간에 따른 지질의 산화, 갈변도, 생균수 및 조직의 변화로 측정하였다. 전갱이 회수 단백질은 동결 저장 기간의 증가와 더불어 지질의 산화 생성물이 증가하는 반면, 백조기는 거의 일정한 수준을 dbi지하였다. 백조기와 전갱이 회수 단백질의 갈변도는 저장 90일까지 큰 변화를 보이지 않았다. 생균수는 전갱이 회수 단백질이 백조기 회수 단백질에 비하여 높았다. 백조기 회수 단백질의 파괴강도, 변형 값 및 백색도는 저장 90일까지 유의적인 변화를 보이지 않았으나, 전갱이 회수 단백질의 파괴강도는 저장 15일까지 감소한 후 다시 증가하였다. 백조기 및 전갱이 회수 단백질의 동결 저장 기간은 각각 90일과 60일이 적당한 것으로 판단하였다.

제 7 절 알칼리 회수 단백질의 가열 젤화 기구

알칼리 용액으로 처리하여 회수한 어육 단백질의 가열 중 ANS 표면 소수성의 변화, IR 스펙트럼의 변화, SH기의 변화, 전기영동 상 및 엔탈피의 변화를 측정하여 가열 변성 기구와 식염 무 첨가 가열 젤의 형성 기구를 구명하고자 하였다.

근원섬유단백질 만을 포함하는 갈고등어와 냉동 꼬마민어의 ANS 소수성은 가열 온도 상승과 더불어 소수성 잔기가 외부로 노출되고 소수성 상호작용이 60°C 부근에서 최대로 일어나지만, 근형질 단백질을 포함하는 근원섬유 단백질은 ANS 소수성에 다소 차이를 보였다. IR 스펙트럼은 pH가 증가함에 따라 1636/cm에 해당하는 peak가 증가하였다. 반응성 SH기와 총 SH기 수의 차이는 pH 7.0과 pH 10.0에서 비교적 큰 것으로 나타났다. SDS-PAGE 상에서 pH가 상승함에 따라 myosin heavy chain의 중합체가 나타났다. 알칼리 회수 단백질은 33.1, 44.3 및 65.5°C에서 전이 온도가 관측되었다.

극단적인 pH 처리에 의한 어육 단백질 젤의 형성은 pH 처리에 의한 α -helix 구조가 β -sheet 구조로 전환하고 가열에 의한 S-S 결합의 형성과 myosin heavy chain 중합체의 형성에 기인하는 것으로 판단된다.

제 2 장 기능성 어육 단백질의 제조

제 1 절 어육 부분 가수분해물 제조를 위한 효소 및 기질 비의 최적화

알칼리 회수 단백질에 대한 Alcalase, Neutrase, Protamex 및 Flavourzyme의 최적 pH는 각각 8.0, 9.0, 9.5 및 7.5였으며, 최적 온도는 65, 60, 60 및 55°C이었다. Alcalase, Neutrase, Protamex 및 Flavourzyme의 반응속도 정수 값은 각각 10.2, 15.7, 43.1, 5.1 mg이었고, 최대속도는 각각 322.6, 384.6, 476.2, 91.74 μ M Tyr/min/mg-protein이었다. Protamex 가

수분해와 Flavourzyme 가수분해 반응의 정지를 위한 조건은 pH 3.0, 55°C, 10분 가열이 가장 적당하였다. 가수분해도 5% 범위의 부분 가수분해 조건은 Flavourzyme인 경우 기질에 대한 효소 비 0.005, 반응온도 45°C, 20분 반응이 가장 적당하였고, 가수분해도 20% 범위는 Protamex인 경우, 기질에 대한 효소 비 0.005, 반응온도 45°C, 반응시간 20분이었다.

제 2 절 산업적 규모로 제조한 부분가수분해 어육 단백질의 기능 특성
가수분해물의 총 질소 함량은 12.91-13.74%의 범위였으며, Protamex와 Flavourzyme 가수분해물의 TCA soluble index는 각각 50.0%와 37.4%로 나타났다. 가수분해 상층물은 분자량 1000-800 dalton에 해당하는 물질을 다량 포함하고 있었다. 부분 가수분해물의 용해도는 가수분해 후 상층액이 잔사에 비하여 월등히 높았다. NaCl은 용해도에 영향을 미치지 않은 반면, 잔사물의 용해도는 pH에 의해 다소 영향을 받는 것으로 나타났다. 유화능은 Flavourzyme 잔사물이 가장 높았으나, 유화 안정성은 Protamex 잔사물이 높았다. 수분과 지방 흡착력은 가수분해 잔사물이 상층물에 비하여 높았다.

제 3 절 건조 분말 수리미의 제조와 식품학적 기능성

알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정을 응용하여 건조 어육 단백질을 제조하고 이들 단백질의 몇 가지 기능적 특성을 측정하였다. 건조 분말 단백질의 용해도는 pH 7.0으로 조절한 분말이 pH 5.5보다 높았다. 건조 분말 단백질의 유화능은 입자의 크기 25 mesh 이상의 건조 분말 단백질(pH 5.5)이 0.042 m²/g-sample이었고 나머지 단백질은 이 보다 낮은 값을 나타내었다. 유화안정성, 거품능 및 거품안정성은 없었다. 건조분말 단백질의 점도는 수리미 단백질의 점도보다 낮았으며 50200-39000 cP를 나타내

있다. 건조분말 단백질의 수분과 지방 흡착력은 각각 2.63-2.89 g-water/g-sample과 2.13-2.17 g-oil/g-sample로서 건조 분말 단백질의 pH와 입자의 크기에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

제 3 장 산업화를 위한 알칼리 공정의 pilot plant화와 제품 특성

제 1 절 pilot plant 공정의 설계와 회수한 어육 단백질의 물성 특성

Pilot plant 공정으로 회수한 어육 단백질의 회수율은 고휘분 함량으로 전어체와 마쇄 육에 대하여 각각 26.2%와 55.1%이었으며, 질소 회수율은 각각 23.9%와 47.5%였다. 가열 젤의 파괴강도와 변형 값은 수분함량 78%에서 각각 224.4 g과 7.46 mm였으며, 2%의 염을 첨가했을 때 파괴강도는 약 1/2로 감소하였고 4%의 감자전분과 5%의 소 혈청 단백질을 포함한 경우 파괴강도와 변형 값은 179.4 g과 5.64 mm로서 염을 첨가한 경우를 제외하고 Pacific whiting FA 수리미의 가열 젤에 비하여 우수하였다. 백색도와 보수력은 회수단백질, 염 첨가, 전분 및 소 혈청 단백질 첨가 젤 사이에 유의적인 차이는 보이지 않았다. pH 조절제로서 citric acid, sodium phosphate 및 calcium oxide는 pH 조절 효과는 있었으나, 회수단백질의 가열 젤 물성 값을 감소시켰다. 알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정은 수세법에 비하여 폐수의 오염 부하량을 현저히 감소시켰다.

제 2 절 회수 단백질의 백색도 개선을 위한 탈색 공정

강치 육과 고등어 육의 myoglobin 함량은 각각 1.44 ± 0.01 mg/g-muscle과 2.00 ± 0.03 mg/g-muscle이었고 met 화는 각각 79.3%와 88.1%였다. 어육 단백질의 용해를 위해 pH 11.0으로 조절하기 전에 공기 부양을 사용한 경우는 pH 조절 후에 공기 부양한 경우에 비하여 낮은 단백질 회수율을 보였으며, 공기 부양 시간이 증가함에 따라 수율은 증가하였다. pH 11.0 처리

전에 20분 동안 공기 부양한 회수단백질의 명도와 황색도 값은 58.22과 2.87로서 pH 11.0 처리 후에 비하여 명도 값은 높았고 황색도 값은 낮았다. 10-20분 동안 공기 부양한 회수 단백질이 가장 높은 백색도 개선 효과를 보였다. 알칼리 처리 전에 공기 부양하여 회수한 단백질의 가열 젤은 알칼리 처리 후에 공기 부양하여 회수한 어육 단백질의 가열 젤에 비하여 백색도를 개선하였으나, 파괴강도와 변형 값은 떨어지는 것으로 나타났다.

제 3 절 알칼리 공정으로 회수한 어육단백질의 안정성

알칼리 조건(pH 11.0)에서 myosin heavy chain의 양은 방치시간과 가열 시간이 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났고, LAL의 생성은 알칼리 균질물을 조제한 후 pH를 조절하지 않고(pH 5.5, pH 7.0) 가열 처리할 때 생성되는 것으로 나타났다. 알칼리 처리 후 용해 단백질을 pH 5.5에서 침전 회수하고 pH 7.0으로 다시 조절한 회수 단백질의 가열 조건에서 LAL은 생성되지 않았다. 이 같은 결과는 알칼리 공정에 의한 어육 단백질의 회수 공정은 안전성에 문제가 없음을 제시한다.

제 4 절 신제품 개발을 위한 회수 단백질, 가수분해물 및 분말 단백질의 formulation과 제품 특성

치즈를 첨가함에 따라 조직은 mushy하였으며, 소 혈청 단백질, 난백 및 전분을 첨가한 경우의 젤은 brittle하게 되는 경향을 보였다. Ingredient의 함량이 증가함에 따라 조직은 brittle하게 되었다. 치즈, 감자전분, 혈청 단백질 및 난백의 첨가는 황색도를 증가시켰다. 파괴강도와 변형 값은 Pacific whiting 수리미가 가장 크게 증가시킨 반면, 회수 단백질과 전갱이 수리미는 이들 값을 감소시키는 것으로 나타났다.

갈고등어의 근원섬유 단백질은 산 과 알칼리 처리에 의해 가열 젤을 형

상하지 못한 반면 근형질 단백질을 포함한 회수 단백질은 가열 젤을 형성하였다. pH 10.5에서 처리한 후 회수한 단백질의 가열 젤의 파괴강도는 갈고등어가 가장 낮았고 변형 값은 냉동꼬마민어>닭 가슴살>돼지 후지 육>갈고등어의 순으로 높았다. 백색도는 냉동 꼬마민어 회수 단백질이 가장 높았다. 갈고등어의 첨가는 파괴강도, 변형 값, 백색도를 감소시키고 가격을 상승시키는 반면, 닭 가슴살의 첨가는 파괴강도와 백색도를 다소 증가시키고 가격을 현저히 감소시켰다. 냉동 꼬마민어의 경우 파괴강도 110 g 이상, 변형 값 4.5 mm 이상, 원료 단가 2000원 이하/kg을 만족하는 각 육의 최적 혼합 비율은 냉동 꼬마민어 36-50%, 닭 가슴살 34-40%, 돼지고기 후지 육 14-25%이었다. 냉동 꼬마민어 회수단백질의 가열 젤 구조가 가장 치밀하였다. 냉동 꼬마민어를 중심으로 닭 가슴살 및 돼지 후지 육의 적절한 혼합은 다양한 연제품의 제조에 활용할 수 있을 것이다.

라면과 비교한 부분 가수분해물을 포함한 국수 제품의 소비자 기호도는 가수분해물의 식품 ingredient로서 활용 가능성을 제시하였다.

V. 연구개발 결과의 활용에 대한 건의

상법의 수리미 제조 공정은 선도가 저하한 어류와 동결 저장한 어류로서는 적절한 젤 형성능을 가진 수리미를 생산하지 못할 뿐 아니라 다지어 인 경우는 급격한 pH 상승으로 인한 젤 형성능의 저하를 방지하기 위하여 알칼리 수세와 같은 과외의 공정을 필요로 한다. 특히 어체가 작거나 균일하지 못한 경우는 두부와 내장을 제거하거나 채육하는 공정을 자동화하기 어렵기 때문에 원양에서 어획되는 어류와 일시 다회성 어류를 식품 소재로 자원으로 활용하기 위한 공정의 개발이 필요하다. 그리고 이 과정에서 소실되는 어육 단백질을 최대한 회수함으로써 수율을 향상시킴과 동시에 폐수에 의한 환경오염을 최소화하는 공정의 개발은 어육 가공 산업의 경제성에 기여 할 수 있다.

연구 개발한 pH 전이에 의한 어육 단백질의 회수 공정은 수세에 의해 손실되는 다량의 근형질 단백질의 대부분을 회수하여 회수 단백질의 수율을 향상시킬 뿐 아니라 수세수에 의한 오염 부하량을 줄일 수 있으며, 채육 공정을 생략하고 원심분리 과정을 거침으로서 공정을 단순화할 수 있다.

어육의 용해도 특성을 이용하여 pH 전이로 회수한 어육 단백질은 pH 조절 과정의 어육을 활용하기 쉽기 때문에 다른 단위 공정을 부가하지 않아도 부분 가수분해물 및 분말 건조 단백질의 조제가 용이하다. 따라서 식품 ingredient로서의 활용도를 넓힐 수 있는 장점을 지니고 있다.

가. 기술적 측면

본 공정은 상법의 수리미 제조 공정에서 수세 과정을 통해 대부분이 소실되는 근형질 단백질을 회수함으로써 최종 회수 단백질의 수율을 획기적

으로 증가시키며, 동결 백색육 어류와 어체의 크기에 상관없이 단백질을 회수할 수 있고, 채육 공정을 삭제함으로써 공정을 단순화시킬 수 있다. 따라서 본 공정은 기존의 수세에 의한 수리미 제조 공정을 일부 대체할 것이다.

수세 과정을 삭제함으로써 수세수의 발생량을 현저히 줄일 수 있고, 수세수에 포함되어 소실되는 유기물의 상당 부분을 회수하여 수세수에 의한 수질 오염을 개선함으로써 환경 친화적 공정의 수립이 가능하다.

어류의 종류, 크기, 지방 함량의 과다에 상관없이 일률적인 공정의 적용이 가능하기 때문에 원료어의 종류에 따른 공정의 수정 혹은 교체가 필요 없다. 따라서 가공 적성이 낮은 일시 다확성 어류의 식품 소재화가 가능하다. 그리고 동결 어류에 적용 가능하기 때문에 연중 회수 단백질의 생산이 가능하다.

공정의 변화와 단위 공정 중 중간 원료를 이용한 다양한 식품 소재 (부분 가수분해물 혹은 분말 건조 단백질)개발이 가능하기 때문에 어육 단백질을 각종 식품 가공의 ingredient로 활용함으로써 어육 단백질의 적용 범위를 확대할 수 있고 비근육 단백질 첨가물의 대체물로 활용할 수 있다.

나. 경제.산업적 측면

우리나라는 고급 연제품인 게맛살류에 비하여 다소 저가품인 어묵류의 소비량이 현저히 높다. 그러나 어묵의 제조에 사용하는 수리미는 깡치를 위주로 저가의 수리미이며 일부를 국내에서 생산하고 있으나, 수요를 충족할 수 없기 때문에 상당량의 동남아산 수리미를 수입하고 있다. 본 연구에서 개발한 어육 단백질 회수 공정은 어류의 종류에 상관없이 균일한 품질의 식품 중간소재로서 어육 단백질을 생산할 수 있기 때문에 일반적인 수리미를 대체할 수 있는 중요한 공정으로 사용할 수 있다. 그리고 수질 오

염 부하량을 현저히 낮출 수 있기 때문에 생산 업체의 환경 오염에 대한 부담을 줄일 수 있다.

원양산 동결 어류와 크기가 작은 어류를 가공할 수 있기 때문에 현재 널리 이용하지 못하고 있는 어류를 대상으로 가공공정을 적용할 수 있다.

가장 널리 사용되고 있는 식품 소재 단백질은 소 혈청 단백질, 난백, 유장 및 대두 단백질이지만, 소 혈청 단백질은 광우병, 난백과 유장 단백질은 식품 알러지 유발의 우려 때문에 사용을 기피하고 있으며, 대두 단백질은 동물성 단백질에 비하여 식품학적 기능성이 다소 떨어지는 단점을 가지고 있다. 따라서 식품학적 기능성을 향상시킨 어육 단백질의 부분 가수분해물의 개발과 식품 응용은 식품 소재 단백질의 단점을 보완하면서 대체제로 사용 가능하다. 그리고 분말 건조 단백질 역시 기능적 단점을 보완하는 식품 소재로 활용이 가능하다.

SUMMARY

I. Title

New Process for Recovery of Fish Protein Using pH Shift

II. Objectives and Significance

1. Objectives

The surimi industry has changed dramatically over the past decade. A decrease in Alaska pollock and quarter in area of far east coast of Russia caused by decrease of resource and stricter fisheries management has restricted opened the door for the use of new species including threadfin bream, big eye and lizard fish in surimi industry. Southeast Asia initiated the expansion by using threadfin bream to make surimi, which is an important import in Japanese surimi market. Furthermore, Japan has been explored fish resource for surimi in Africa, America and France has constructed surimi manufactures in India and Peru, respectively. Although new technologies for using un-utilized fishes have been developed due to decrease of fisheries resource for surimi, the efficient processing for industries has not developed except technique including alkaline washing. For advances of surimi and surimi seafood in future, the processing should be developed for improving yield, utilization of various fish species, reduction of waste water, pollution

and labor costs, and easier and simpler processing.

The scale of international market for surimi was one billion in 1998. The catch has declined because of several factors, including natural declines in abundance and over-fishing of some stocks, and has not recovered from over-fishing during the 1980s. Moreover, it is impossible to make surimi in coastal manufactures except mothership operation due to government regulation and restrictions for water pollution. Since the surimi demand in Korea was much higher than surimi production, surimi from several species, including Alaska pollock and Pacific whiting, was imported corresponding to 50 million US dollar per year. We need to develop the resources and processing for surimi production because the domestic surimi price has been dependent on American surimi price. After crab meat was introduced in Korea, the seafoods of new style has not developed, and the younger generation is gradually shifting to a more Western diet. We need to develop new style seafood to improve preference and ingredients for healthy.

In order to several problems concerning surimi and surimi seafood in Korea, the new processing for surimi production and seafoods should be developed for pelagic fishes in abundance, and much yield from non-commercial fishes. The production of surimi-based seafoods was gradually increased from 108,717 metric ton in 1994 to 135,294 metric ton in 1997, and then decreased to 108,443 metric ton in 1999. The decline of surimi-based seafood was contributed to preference changes of

new generation and fewer products by manufactures. Since the surimi-based seafoods in Korean market was mainly fish sausage, fried, and toasted 'o-deng' style, the seafood industry need a low grade surimi compared to high grade surimi. Sometimes, the color of surimi as one of quality of parameters is not problem. The surimi production in Korea may focus on the low grade.

The objectives of this study is 1) to develop new surimi processing for improving surimi yields, reducing waste water pollution, and using of un-utilized, pelagic, and frozen fishes, 2) to develop ingredients for wide application of fish muscle protein.

2. Significance

The conventional surimi process and protein recovery need much water to remove lipid, pigment such as hemoglobin and myoglobin, non-nitrogenous and sarcoplasmic protein in fish muscle. The sarcoplasmic protein is cause of lowering yield and water pollution. Although the researches for recovering sarcoplasmic protein in washing water were published, the recovered protein has not applied surimi industry because of economical problem and functional properties. Therefore, the innovative new process to improve yield and to reduce washing water and water pollution is very important in surimi industry. A new process using acid and alkaline solubilization and recovery can provide extremely highly yields due to recovery of sarcopalsmic protein,

and reduce washing water and water pollution by sarcoplasmic protein. This process consists of isolating the protein component of fish muscle tissue by acid and alkali, and separating by centrifugation. Before separation, mixing a particulate form of the tissue with acid and alkaline liquid at pH<3.0 and 11.0 produces a protein-rich solution. Then, the protein-rich solution is treated to effect protein precipitation at the isoelectric point (pH 5.0-5.5) of the muscle proteins, followed by protein recovery. This new technology, using protein charges and isolation, has shown significant potential as a new method for maximal protein recovery and results in commercially acceptable gel characteristics. Unlike the conventional method of surimi manufacturing, no washing or dewatering steps are continuously involved, which significantly reduces waste and water consumption.

The content of sarcoplasmic protein in fish muscle varies with fish species, but generally higher in pelagic fish, such as sardine and mackerel. The functions of sarcoplasmic proteins in regards to the formation of myofibrillar protein gels, though, are not clearly in agreement as to whether they work positively or negatively. According to one study, the heat-coagulable sarcoplasmic proteins adhere to the myofibrillar proteins when fish muscle is heated. This phenomenon impeded the gel formation of fish paste and is considered to be one of the reasons why it is difficult to make a strong elastic gel from pelagic fish. However, there is a contrasting report that sarcoplasmic proteins

positively contribute to the gel formation of myofibrillar protein. Heat coagulability of sarcoplasmic protein was found to be highly correlated with the puncture force of sarcoplasmic protein gels. The high gel strength and puncture force of sarcoplasmic protein gels was mainly thought to be due to a large amount of heat-coagulable proteins, especially the 94, 40, and 26 kDa components. The addition of salt decreased a gel strength of recovery protein. The results suggest that gelling mechanism of a recovery protein differs from one of conventional surimi gel. The texture of recovery protein in seafood application can be controlled by the addition of salt.

III. The contents and scope of final report

Chapter 1. Development of new process for surimi

A. Textural properties of heat-induced gel of recovery protein from acid and alkaline process

- a) Process for recovery of muscle protein
- b) Preparation of cooking gel
- c) Textural properties and color of cooking gel
- d) Change of textural properties
 - ▷ Effect of moisture content
 - ▷ Effect of pH
 - ▷ Effect of chemicals

B. Surimi processing using acid and alkaline solubilization of fish protein

- a) Effect of pH and ionic strength on solubility of minced muscle
- b) Effect of homogenized speed and time on solubility of minced muscle
- c) Effect of minced muscle/water ratio on textural properties and color
- d) Yield of recovered protein
- e) Solid, total nitrogen content and chemical oxygen demand of waste water from conventional, acidic and alkaline processing

C. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from recovered protein prepared by acid and alkaline processing

- a) Yield of recovered protein
- b) Textural properties and color of cooking gel
- c) Effect of sarcoplasmic protein on cooking gel
- d) Effect of NaCl on cooking gel
- e) SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

D. Optimum formulation of starch and non-muscle protein for alkaline recovered protein gel from frozen white croaker

- a) Effect of starch on textural properties of cooking gel

- b) Effect of non-muscle protein on textural properties of cooking gel
- c) Optimum formulation of surimi, starch and non-muscle protein
- d) Microstructure of cooking gel

E. Optimum formulation of starch and non-muscle protein for alkaline recovered protein gel from Jack mackerel

- a) Effect of starch on textural properties of cooking gel
- b) Effect of non-muscle protein on textural properties of cooking gel
- c) Optimum formulation of surimi, starch and non-muscle protein
- d) Microstructure of cooking gel

F. Frozen stability of recovered protein by alkaline processing

- a) Oxidation of remained lipid
- b) Development of brown color
- c) Change of viable cell count
- d) Change of textural properties and color

G. Gelling mechanism of recovered protein by alkaline processing

- a) Change of ANS surface hydrophobicities
- b) Change of IR spectrum
- c) Change of reactive and total SH groups

- d) SDS-polyacrylamide gel electrophoresis
- e) Thermal properties

Chapter 2. Process of functional hydrolysates and dried muscle protein

A. Optimum conditions for preparation of partial hydrolysate

- a) Properties of commercial protease on recovered protein
 - ▷ Optimum pH
 - ▷ Optimum temperature
 - ▷ Effect of reaction time
 - ▷ Protease kinetics
 - ▷ Degree of hydrolysis
- b) Distribution of molecular weight of partial hydrolysate
- c) Termination of proteolytic reaction
- d) Optimum formulation for hydrolysis

B. Functional properties of partial hydrolysate from processing of pilot scale

- a) moisture, total nitrogen content and degree of hydrolysis
- b) Distribution of molecular weight of hydrolysate
- c) Solubility
- d) Emulsion capacity and stability
- e) Adsorption of moisture and oil

C. Functional properties of dried fish muscle protein

- a) Solubility
- b) Emulsion capacity and stability
- c) Apparent viscosity
- d) Adsorption of moisture and oil
- e) Color

Chapter 3. Pilot plant for industrial application of alkaline process and properties of products

A. Textural properties of a recovered protein from pilot plant processing

- a) Yield of recovered protein
- b) Effect of homogenized speed and time on solubility
- c) Effect of continuous centrifugal force on protein recovery
- d) Textural properties and color of recovered protein
- e) Water holding capacity of cooking gel
- f) Agents for pH control
- g) Effect of CaCl₂ on remained lipid
- h) Solid, total nitrogen content and chemical oxygen demand in
waste water

B. Process of decoloration to improve whiteness of a recovered protein

- a) Effect of pH of myoglobin
- b) Effect of temperature of myoglobin content
- c) Effect of air-float on yield of a recovered protein
- d) Effect of moisture content of color
- e) Effect of air-float on color of a recovered protein
- e) Textural properties of cooking gel of recovered protein from air-float

C. Stability of a recovered protein from alkaline processing

- a) Chromatogram of lysionalanine(LAL) in amino acid analyzer
- b) Effect of alkaline process on amino acid composition and formation of LAL
- c) Effect of alkaline treatment time on LAL formation
- d) Effect of cooking time on LAL formation
- e) Effect of order of alkaline and cooking of LAL formation

E. Formulation for development of new products using a recovery protein, partial hydrolysate, and dried muscle protein

- a) Properties of kamaboko style products
- b) Blending of commercial surimi
- c) Effect of pH on cooking gel from recovered protein
- d) Effect of blending on textural properties of cooking gel
- e) Formulation of recovered protein from mackerel, black spotted

croaker, chicken breast and pork leg muscle

- f) Microstructure of cooking gel
- g) Comparison of gel properties between recovered protein and commercial surimi
- h) Consumer acceptability of noodle containing hydrolysate

IV. Results of final report

Chapter 1. Development of new process

A. Textural properties of heat-induced gel of recovered protein from acid and alkaline process

Rheological properties of recovery protein gels from white fishes by acidic and alkaline process and effect of chemicals on gelation were investigated by punch and dynamic tests. The breaking force and deformation value of heat-induced gel of acidic recovery protein were less than their values of alkaline and conventional recovered protein gel, and whiteness was greatly decreased. Gel point of acidic recovery protein was decreased, but it of alkaline recovered protein was increased with increasing moisture content in the range of 80 to 85%. Storage modulus of acidic recovered protein was the highest value in pH 6.8, but that of alkaline surimi showed high value at neutral and slightly alkaline pH. Propylene glycol increased storage modulus in 20-50C, but urea and 2-mercaptoethanol suppressed it. Potassium bromide improved

storage modulus in 20-80C. The results suggest that alkaline process is used for making surimi instead of conventional method.

B. Surimi processing using acid and alkaline solubilization of fish muscle protein

To establish acidic and alkaline processing, the effect of pH and ionic strength on solubility of muscle protein, and yield were investigated. The optimum pH for solubilizing protein in acidic and alkaline range was around 2.5 and 11.0, respectively. The optimum pH value for recovery of protein was a range of 5.0 to 5.5. The protein solubility was decreased with increase of salt. The optimum ratio of water to minced muscle was 6 fold by evaluating breaking force, deformation and whiteness of cooked gel. The homogenized speed and time for optimum soluble in acidic and alkaline pH were below 9500 rpm and 30 sec, respectively. The centrifugal force for recovery of soluble protein and precipitated protein around pH 5.0 were needed above 10,000 x g and 2500 x g, respectively. The protein yield of alkaline processing was higher than that of conventional processing.

C. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from recovered protein prepared by acid and alkaline processing

The yield of recovery protein from acidic and alkaline processing of 7 fishes was compared to those from conventional processing. Effect of

sarcoplasmic protein and NaCl on heat-induced gel for acidic and alkaline recovered protein were also investigated by punch test and color. Yield of alkaline surimi was higher than that of conventional surimi. However, the breaking force, deformation and whiteness of heating gel from alkaline recovery protein were lower than those of heat-induced gel from conventional surimi. The sarcoplasmic protein increased a breaking force and a deformation of gel. A breaking force was decreased, but deformation not significantly with NaCl concentration. Myosin heavy chain (MHC) and actin were greatly degraded in acidic processing. Alkaline process for recovery of protein is a valuable way of increasing the utilization of frozen and pelagic fishes, and making kamaboko-type products.

D. Optimum formulation of starch and non-muscle protein for alkaline recovered protein gel from frozen white croaker

The two-level full factorial and mixture design were used to screen ingredient type and to investigate effects of ingredients on properties of alkaline recovered protein from frozen white croakers using measurements of a breaking force, deformation and color. The addition of starch decreased a breaking force and deformation of gel regardless of starch type. The breaking force was decreased, but a deformation was not significantly changed ($p < 0.05$) with increasing starch level. The potato starch was more reasonable than corn and wheat starch for a

breaking force and deformation. The bovine plasma protein (BPP) greatly improved a breaking force and deformation. The breaking force and deformation of gel were increased with concentration of BPP. The whiteness of gel was slightly improved with adding starch and non-muscle for all treatments. At 78% moisture, the optimum ratios of ingredients were 89.4-90.0% for recovered protein, 5.9-6.3% for potato starch and 5.0-5.4% for BPP to obtain above 100 g for a breaking force, 4.6 mm for a deformation, and 25.5 for a whiteness.

E. Optimum formulation of starch and non-muscle protein for alkaline recovered protein gel from Jack mackerel

The two-level full factorial and mixture design were used to screen ingredient type and to investigate the effects of ingredients on properties of a recovered protein from jack mackerel using measurements of breaking forces, deformation values and color. The addition of starch decreased breaking force significantly ($p < 0.05$), but did not affect deformation. The bovine plasma protein (BPP) among non-muscle proteins increased a breaking force and deformation value. However, the dried egg white increased slightly a breaking force, and decreased greatly a deformation value. The breaking force of gel was increased, but deformation value did not change significantly ($p < 0.05$) with adding BPP. The whiteness of gel was slightly improved with the addition of corn starch and BPP. At 78% moisture, the optimum ratios of

ingredients were 89.5-90.0% for alkaline recovered protein, 4.6-6.0% for corn starch and 4.3-5.4% for BPP to obtain above 110 g for a breaking force, 4.2 mm for a deformation, and 22.5 for a whiteness. The gel containing starch and non-muscle protein showed a uniform distribution of protein and network. The results suggest that a uniform structure contributed to high textural properties.

F. Frozen stability of recovered protein by alkaline processing

Frozen stability of recovered protein from croaker and Jack mackerel was investigated by oxidation of lipid, brown color, viable cell count and textural properties during storage at -20°C. The TBA value in recovered protein from Jack mackerel was increased by 60 days, while the TBA value in recovered protein from croaker was constant by 120 days. Viable cell count was gradually decreased during storage. The breaking force in white croaker was constant significantly by 90 days, while that in Jack mackerel was significantly decreased by 30 days, and then increased. Deformation values of white croaker and Jack mackerel were significantly constant during storage, but whiteness of Jack mackerel was significantly decreased during frozen storage. The results suggest that self-life of recovered protein from white croaker and Jack mackerel was 90 days and 60 days, respectively.

G. Gelling mechanism of recovered protein by alkaline processing

The effect of pH on surface hydrophobicity, infrared spectrum, reactive and total sulfhydryl groups, SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) and transition temperature was investigated in recovered protein from mackerel and frozen croaker by alkaline processing. The surface hydrophobicities were different from myofibrillar and recovered protein. The peak at 1636/cm was increased with increasing pH. Difference of surface and total sulfhydryl groups at pH 7 and 10 was comparative high, and oxidation of surface sulfhydryl group content indicated formation of disulfide bonds. Mackerel and frozen croaker showed bands of polymerized myosin heavy chain on SDS-PAGE pattern. The transition temperatures of recovered protein were 33.1, 44.3 and 65.5°C. Gel formation of recovered protein by alkaline processing was estimated a increase of β -sheet structure by pH treatment, disulfide bonds by oxidation of surface sulfhydryl group in heating, polymerization of myosin heavy chain in order.

Chapter 2. Process of functional hydrolysates and dried muscle protein

A. Optimum conditions for preparation of partial hydrolysate

The optima pH of Alcalase for a recovery protein was 8.0. The proteolytic activity of Neutrase was increased up to pH 9.5, and then decreased. Protamex and Flavourzyme for a recovered protein was not dependent on pH. The optima temperature was 65°C for Alcalase at pH

8.0, 60°C for Neutrase at pH 9.0, 60°C for Protamex at pH 9.5, and 55 °C for Flavourzyme at pH 7.5. Km values of proteases diluted to 100 fold for a recovered protein were 10.2 mg for Alcalase, 15.7 mg for Neutrase, 43.1 mg for Protamex and 71.4 mg for Flavourzyme. Protamex as endoprotease and Flavourzyme as endo- and exoprotease were selected for preparation of partial hydrolysates.

TCA soluble index was measured as 3 level of protease/substrate ratio, temperature and reaction time. In 20-25% of TCA soluble index for recovered protein from white croaker in Protamex, protease/substrate ratio, temperature, and reaction time were 200 fold, 45°C, and 20 min, respectively. They were also 200 fold, 45°C, and 20 min in 5-10% of TCA soluble index in Flavourzyme. In use of recovered protein from Jack mackerel as substrate, reaction time was decreased to obtain the same TCA soluble index. For terminate protease reaction, the reaction mixture was adjusted to pH 3, and heated at 55°C for 10 min. The major molecular weights of hydrolysates were 9500 Da, 7500 Da, and 3500 Da for Protamex, and 14,000 Da, 6700 Da, and 3200 Da for Flavourzyme by gel chromatography.

B. Functional properties of partial hydrolysate from processing of pilot scale

The partial hydrolysates by Protamex and Flavourzyme were dried by drum-drier. The crude protein was the range of 12.91-13.74%. The TCA

soluble index was 50.0% for Protamex and 37.4% for Flavourzyme. The hydrolysate contained much peptide having molecular weight of the range from 800 to 1000 dalton. The solubility of supernatant after hydrolysis was higher than that of residues. The concentration of NaCl did not affect the solubility of supernatant, but pH affected the solubility of residue. The residue of hydrolysate by Flavourzyme showed highest emulsion capacity, but the residue of hydrolysate by Protamex showed higher emulsion stability. The adsorption of water and oil was higher in residue than supernatant after hydrolysis.

C. Functional properties of dried fish muscle protein

For the dried muscle protein, The muscle without head and gut was minced twice at meat grinder, and homogenized at 1:6 (w/v) ratio with cold tap water. The pH of the homogenates was adjusted to 5.5 using 1 N HCl. The pH adjusted homogenates were centrifuged at 10,000 x g for 20 min. The pellet was collected, and added cryoprotectants(5% sorbitol, 4% sucrose, 0.3% sodium polyphosphate). After adjusting to pH 7.0, Muscle protein was dried with 5% corn in Jack mackerel, and 5% potato starch in white croaker by drum drier. The crude protein of dried Jack mackerel and white croaker muscle was 32.5% and 34.4%, and yield of them was 79.7% and 59.3%, respectively. The TCA soluble index of dried muscle protein was below 2.0%. The lightness and yellowness of dried Jack mackerel muscle were 63.4 and 16.53, while

them of dried white croaker were 77.2 and 18.11, respectively. The solubility was higher at pH 7.0 than at pH 5.0. The emulsion capacity above 25 mesh at pH 5.5 was 0.042 m²/g-sample. Emulsion stability, foam capacity and stability did not showed in dried muscle protein. The viscosity of dried muscle protein was the range of 50200-39000 厘, and lower than that of surimi protein. The adsorption of water and oil showed 2.63-2.89 g-water/g-sample and 2.13-2.17 g-oil/g-sample, respectively, and did not affected by pH and particle size. Myosin heavy chain and actin bands disappeared completely by drum dry.

Chapter 3. Pilot plant for industrial application of alkaline process and properties of products

A. Textural properties of a recovered protein from pilot plant processing

To recover muscle protein using alkaline process with pilot scale, the whole fish was de-headed, de-gutted, and throughly clean the belly walls. The semi-dressed fish with bone was grinded 2 times with meat grinder. The grinder muscle was homogenized with 9 volume of tap water at 3000 rpm for 20 min using pilot type homogenizer, and then adjusted to pH 11 using 6 M NaOH to solubilize muscle protein. The solubilized muscle protein was recovered by centrifugation at 7500 rpm using continuous centrifuge, and adjusted to pH 5.0-5.5 using 6 M HCl. The precipitated protein was recovered by centrifugation at 7000 rpm. The yield of recovered nitrogen by pilot plant was 23.9% for whole

fish, and 47.5% for grind muscle, respectively. The breaking force and deformation of heat-induced gel were 224.4 g and 7.46 mm, respectively. The breaking force was decreased up to one-half in 2% NaCl. The breaking force and deformation of cooking gel including 4% potato starch and 5% bovine plasma protein were 179.4 g and 5.64 mm. All formulation was superior to Pacific whiting surimi gel of FA grade except addition of salt. The whiteness of gel was similar between pilot and lab scale. Citric acid and sodium phosphate(tribasic) as pH controller could be used in pH adjustment, while greatly decreased the breaking force and deformation value of cooking gel. The alkaline processing reduced greatly solid content, total nitrogen and chemical oxygen demand in waste water.

B. Process of decoloration to improve whiteness of a recovered protein

Myoglobin content in small croaker and mackerel were 1.44 ± 0.01 mg/g-muscle and 2.00 ± 0.03 mg/g-muscle, respectively. The ratio of met-myoglobin was 79.3% for small croaker and 88.1% for mackerel. The recovered protein showed higher yield after adjusting to pH 11 than before adjusting to pH 11 as using air-float. The yield was increased with increase of air-floating time. When minced muscle was floated using air for 20 min before adjusting to pH 11, the lightness and yellowness of recovered protein was improved. The air-float for 10-20 min before adjusting to pH 11.0 was acceptable condition to improve

whiteness of a recovered protein. The whiteness of a recovery protein was increased with the moisture content. The whiteness of recovered protein gel was improved after air-float. However, the breaking force and deformation was decreased by air-float.

C. Stability of a recovered protein from alkaline processing

Lysinoalanine was not detected after treating 3 hr in pH 11 and heating for 45 min at 90°C. However, the lysinoalanine was formed when minced protein was solubilized at pH 11.0, following heat at 90 °C. The results suggested that lysinoalanine was formed under heating at alkaline condition. The results indicated that alkaline processing for recovering protein is normally very safe in cooking gel.

D. Formulation for development of new products using a recovery protein, partial hydrolysate, and dried muscle protein.

For development of new products, The alkaline surimi from mackerel, frozen croaker, chicken breast muscle and pork leg muscle was prepared, and made optimum formation for blending recovered protein and ingredients. The texture of cooking gel showed mushy with cheese, and brittle with bovine plasma protein. egg white and starch. The addition of cheese, potato starch, bovine plasma protein and egg white increased yellowness of cooking gel. In blended products of recovered protein from mackerel, croaker, chicken breast, and pork leg muscle, the

breaking force of cooking gel was lowest in mackerel alkaline surimi, and deformation was high in order of frozen croaker > chicken breast > pork leg > mackerel. The breaking force, deformation and whiteness of blended products were reduced, while the price of products was increased by addition of alkaline surimi from mackerel. However, the alkaline surimi from chicken breast improved breaking force, whiteness, and final price of products. In alkaline surimi gel from frozen croaker, the optimum formation was 36-50% for alkaline surimi, 34-40% for alkaline surimi from chicken breast muscle, and 14-25% for alkaline surimi from pork leg muscle for products above 110 g of breaking force, 4.5 mm of deformation, and below 1940 won/kg of price.

Among product including cheese in center, product mixed surimi and cheese, product including crab flavor, and ak-mok, the breaking force and whiteness was highest in product including crab flavor, but deformation was highest in product including cheese in center. The product including cheese in center showed highest consumer preference among products, followed in order of mixed cheese surimi and cheese > ak-mok > product including crab flavor.

The oriental noodle including partial hydrolysate was developed. The color and flavor was increased with addition of partial hydrolysate, but texture and taste were not. The formulation was mainly composed of 2.5 % for partial hydrolysate, 4.7% wheat flour, 28.4% for water. The products showed highest in consumer preference.

V. Achievements and recommendations for practical application

Conventional surimi process can not prepare surimi having acceptable gel-forming ability from un-fresh and frozen fish. In addition, alkaline washing process using sodium bicarbonate was needed to prevent damage of gel forming ability caused by sharp increase of pH in surimi process from pelagic fish. Since cutting head and gut, and deboning step is very difficult in small and irregular size, new process should be developed for recovery of protein from frozen and pelagic fish. The reduction of water pollution from washing water contribute to seafood industry, especially surimi manufacture.

The new process to recover protein using pH shift can improve yield, reduce water pollution, and simplify process steps. Also this process can easily prepare partial hydrolysate and dried fish protein for food ingredients because of using intermediates during step of pH shift.

Bovine plasma, egg white, whey, and soy bean protein have been widely used as food ingredients. However, bovine plasma, egg white and whey protein was avoided due to mad-cow disease and allergy in some region. Soy protein has lower food functionalities than other non-muscle protein. The partial hydrolysates can substitute them as food ingredient. Dried fish protein also can use in food for improving functionality.

목 차

제 1 장 새로운 surimi 제조 공정 개발	1
제 1 절 산과 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질 가열 겔의 물성 특성	1
가) 가열 겔의 물성 특성과 색	5
나) 수분함량에 따른 물성 특성의 변화	8
다) 물성에 미치는 최종 pH의 영향	11
라) 저장 modulus에 미치는 화학제의 영향	13
제 2 절 산과 알칼리 pH에서 어육 단백질의 용해를 이용한 수리미	22
가) 용해도에 미치는 pH와 이온 강도의 영향	27
나) 단백질 용해에 미치는 조직 파쇄 시간과 속도의 영향	29
다) 가열 겔의 물성에 미치는 단백질 추출 수량의 영향	30
라) 회수 단백질의 수율	33
마) 수세, 산, 알칼리 수리미 폐수의 고형물, 총질소 및 화학적 산소요구량	34
제 3 절 산과 알칼리 공정으로 제조한 회수 단백질의 가열 겔에 미치는 근형질 단백질과 NaCl의 영향	39
가) 회수 단백질의 수율	44
나) 산과 알칼리 회수 단백질 가열 겔의 물성과 색	46
다) 가열 겔의 물성에 미치는 근형질 단백질의 영향	49
라) 가열 겔의 물성에 미치는 NaCl의 영향	51
마) SDS-PAGE 전기영동 상	55

제 4 절 냉동 백조기의 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화와 최소 비용화	61
가) 젤 물성과 색에 미치는 전분의 영향	66
나) 젤 물성과 색에 미치는 비근육 단백질의 영향	70
다) 회수 단백질, 전분 및 비근육 단백질의 최적화	74
라) 가열 젤의 미세구조	75
제 5 절 전갱이 알칼리 수리미 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화와 최소 비용화	81
가) 젤 물성과 색에 미치는 전분의 영향	88
나) 젤 물성과 색에 미치는 비근육 단백질의 영향	91
다) 회수 단백질, 전분 및 비근육 단백질의 최적화	95
라) 가열 젤의 미세구조	96
제 6 절 알칼리 처리 회수 단백질의 동결 안정성	102
가) 지질의 산화	106
나) 갈변도의 변화	107
다) 생균수의 변화	108
라) 조직의 변화	109
제 7 절 알칼리 회수 단백질의 가열 젤화 기구	116
가) ANS 표면 소수성의 변화	120
나) 수소결합의 변화	122
다) 반응성 및 총 SH기의 변화	125
라) SDS-PAGE	129
마) 열특성	131

제 2 장 기능성 어육 단백질의 제조	138
제 1 절 어육 부분 가수분해물 제조를 위한 효소 및 기질 비의 최적화	138
가) 시판 protease의 가수분해 특성	149
나) 가수분해물의 분자량 분포	156
다) 효소 반응 중지 조건의 설정	160
라) 가수분해도 조절을 위한 조건의 설정	163
제 2 절 산업적 규모로 제조한 부분가수분해 어육단백질의 기능특성	170
가) 가수분해물의 수분, 질소 함량 및 가수분해도	174
나) 분자량 분포	175
다) 용해도	178
라) 유화능과 유화안정성	180
마) 수분과 지방 흡착력	184
제 3 절 건조 분말 수리미의 제조와 식품학적 기능성	189
가) 용해도	192
나) 유화능과 유화 안정성	194
다) 점도	195
라) 수분과 지방의 흡착 능력	196
마) 분말의 색	198

제 3 장 산업화를 위한 알칼리 공정의 pilot plant화와	
제품 특성	201
제 1 절 pilot plant 공정의 설계와 회수한 어육 단백질의	
물성 특성	201
가) 회수 단백질의 수율	204
나) 균질화 속도와 시간의 영향	205
다) 연속원심분리 속도의 영향	207
라) 회수 단백질의 조직과 색	208
마) 젤의 보수력	210
바) pH 조절제의 영향	211
사) 잔여지질 함량에 미치는 CaCl_2 의 영향	214
아) 폐수의 고형물, 총질소 및 화학적 산소요구량	214
제 2 절 회수 단백질의 백색도 개선을 위한 탈색 공정	218
가) Myoglobin에 미치는 pH의 영향	222
나) Myoglobin에 미치는 가열 온도의 영향	224
다) 수율의 변화	224
라) 수분함량이 색에 미치는 영향	225
마) Air float이 회수단백질의 색에 미치는 영향	227
바) 가열 젤의 물성	231
제 3 절 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질의 안전성	234
가) LAL(lysinoalanine)의 크로마토그램	237
나) 알칼리 공정이 구성 단백질과 LAL 형성에 미치는 영향	239
다) 알칼리 처리시간이 LAL 형성에 미치는 영향	240

라) 가열 처리 시간이 LAL의 형성에 미치는 영향	242
마) 알칼리 및 가열 처리 시간이 회수 단백질의 조성에 미치는 영향	243
바) 알칼리 처리 후 가열 처리 순서가 LAL 형성에 미치는 영향	245
제 4 절 신제품 개발을 위한 회수단백질, 가수분해물 및 분말 단백질의 formulation과 제품특성	250
가) 어묵 제품의 특성	258
나) 조직 특성에 미치는 시판 수리미 혼합의 영향	261
다) 회수단백질의 젤에 미치는 pH의 영향	264
라) 육의 혼합이 조직에 미치는 영향	268
마) 갈고등어, 냉동 원양 꼬마민어, 닭고기 및 돼지 후지 육의 혼합육 제조를 위한 최적화	272
바) 가열 젤의 미세구조	274
사) 시판 어육 제품과 물성의 비교	275
아) 국수제품의 소비자 기호도	277

제 1 장 새로운 surimi 제조 공정의 개발

제 1 절 산과 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질 가열 젤의 물성 특성

서론

수리미는 내장과 뼈를 제거하고 절취한 어육을 마쇄하여 수세공정을 통해 근원섬유 단백질을 농축한 후 냉동변성 방지제를 혼합한 단백질 제품으로서 다양한 수산식품의 가공을 위한 중간소재로 사용하고 있다 (Wu, 1992; Park and Morrissey, 2000). 수리미의 품질과 등급은 수분함량, 백색도, 불순물의 함량, 겔 강도 등에 의해 결정되기 때문에 수리미 가공원료로는 주로 백색육 어류를 사용하고 있으나 (Lanier, 1992; Park and Morrissey, 2000), 전 세계 어획량의 40~50%가 적색육 어류이기 때문에 이 같은 저가의 어류를 이용하기 위하여 알칼리 수세법과 같은 수리미 제조 공정의 개발에 큰 관심을 보이고 있지만 (Davis, 1988; Shimizu et al., 1992), 수율과 젤 형성능을 동시에 만족시킬 수 있는 공정의 개발은 이루어지지 않았다.

최근 수세 공정을 거치지 않고, 어육 단백질의 용해도 특성을 이용하여 pH 2.5부근에서 근형질 단백질을 비롯하여 근원섬유 단백질을 가용화시킨 후 어육 단백질의 등전점에 해당하는 pH 5.0 부근에서 침전시켜 침전 단백질을 회수하는 산 처리 공정을 이용한 수리미 제조 방법이 개발되었으며, 이 방법으로 제조한 Pacific whiting의 수리미는 기존의 수리미 제조 공정에 비하여 조작이 간단하며 높은 수율을 얻을 수 있었고, 우수한 겔 형성능을 보였다 (Choi and Park, 2000; Kim et al., 2001). 그리고 rockfish의 마쇄육을 알칼리 pH 영역에서 가용화한 후 등전점 침전법으로 회수한

수리미의 가열 젤은 산 처리 방법으로 회수한 수리미 젤에 비하여 높은 파괴강도 값과 수율을 보이며 젤 형성은 주로 disulfide 결합에 기인하는 것으로 보고하였다 (Yongsawatdigul and Park, 2001). 그러나 산 혹은 알칼리 처리 공정으로 제조한 수리미를 이용한 가열 젤의 어중에 따른 강도 차이와 젤 형성에 미치는 화학결합의 변화 등 가열 젤 형성기구에 관하여는 전혀 알려져 있지 않다.

수리미 젤의 물성 측정을 위해 가장 널리 사용하고 있는 fracture에 의한 표준 물성 측정법은 torsion test를 이용하여 응력과 변형을 측정하는 미국의 표준 방법과 punch test로 파괴강도와 변형으로 물성을 표시하는 전통적인 일본의 방법이 제시되어 있으며, 두 방법에 따른 장단점이 각각 있지만 모두 국제적으로 공인되어 있다 (Lanier et al., 1991; Kim and Park, 2000). 한편 non-fracture에 의한 물성의 측정은 dynamic test를 흔히 사용하고 있으며 수리미인 경우 저장 modulus 값이 물성변화를 가장 잘 반영한다 (Joseph et al., 1994).

본 연구는 산 혹은 알칼리 처리 방법으로 제조한 수리미의 가열 젤 특성을 확인하기 위하여 punch test기로 파괴강도와 변형 값을 측정하고, 산 및 알칼리 처리 방법으로 제조한 수리미의 가열 젤에 미치는 pH 영향과 몇 가지 화학제의 첨가에 따른 물성을 변화를 dynamic test로 측정하여 새로운 공정으로 제조한 수리미의 가열 젤화에 관여하는 주요 화학 결합의 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

냉동 백조기(*Pennahia aregentata*, 평균 체장 20.5 cm; 평균 체중 158 g)와 냉동 꼬마 민어(*Protonibea diacanthus*, 평균 체장 19.5 cm; 평균 체중

126 g)는 각각 경남 통영 소재의 어시장에서 구입하여 실험실로 운반한 후 실온에서 해동시킨 후 각각 두부와 내장을 제거하고 육만을 절취하여 수리미 제조를 위한 시료로 사용하였다. 그리고 Pacific whiting(*Merluccius productus*, 평균 체장 47 cm; 평균 체중 735 g)은 미국 Oregon 주의 Warrenton 소재 Point Adams에서 입수한 시료를 Oregon 주립 대학의 Seafood Lab으로 운반한 후 필레로 처리하여 수리미 제조에 사용하였다.

어육 단백질의 회수

어육 단백질은 세 가지 방법으로 조제하였다. 즉 수세에 의한 단백질 회수는 마쇄 육에 2배량의 증류수를 가하여 Ultra Trrux (T25 basic, IKA Works Inc, Wilmington, NC)으로 8,000 rpm에서 2분 동안 마쇄한 후 원심 분리 (10,000 x g, 20분)하여 침전물을 수세하였고 이 조작을 2회 실시한 후 최종적으로 0.1%의 NaCl 용액으로 수세하여 조제하였다(수세 회수 단백질). 산 처리에 의한 어육 단백질의 회수는 잘 마쇄한 어육에 9배량의 증류수를 첨가하여 Ultra Trrux (T25 basic, IKA Works Inc, Wilmington, NC)로 8,000 rpm에서 2분 동안 균질화한 다음 2 N HCl용액을 사용하여 pH 2.5로 조절하여 육 단백질을 녹인 후 원심분리 (10,000 x g, 20분)하였다. 중성 지방이 포함된 상층과 결체조직 및 막 지질 등을 포함하고 있는 바닥 층은 버리고 가용성 단백질과 수화 단백질을 포함하고 있는 중간층을 회수하여 2 N NaOH용액을 이용하여 pH 5.0으로 조절하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리 (10,000 x g, 20분)하였다. 침전한 단백질은 회수하여 2 N NaOH용액을 사용하여 pH 7.0으로 조절하고, 냉동 변성 방지제 (4% sucrose, 5% sorbitol, 0.3% polyphosphate)를 첨가하고 1분 동안 믹서기 (Shin-il Co. Korea)로 잘 혼합하여 조제하였다(산 처리 회수 단백질). 그리고 알칼리 처리에 의한 단백질 회수는 pH 10.5에서 단백질을 녹인 후,

pH 5.0에서 단백질을 회수하고 회수 단백질을 2 N NaOH 용액으로 pH 7.0 부근으로 조절한 후 위의 냉동 변성 방지제를 첨가하여 회수 단백질을 조제하였다(알칼리 처리 회수 단백질).

가열 젤의 제조

모든 젤의 수분은 필요하다면 얼음물을 사용하여 수분 함량이 80%가 되게 조절하였으며, 염은 2%로 조절하였다. 회수 단백질에 염을 고르게 뿌리고 믹서기로 1분 동안 균질화하였다. 균질화한 회수 단백질 paste를 비닐 백에 넣고 진공 포장기를 이용하여 회수 단백질의 paste에 남아있는 공기를 제거하고, sausage stuffer (Sausage Maker, Buffalo, NY)를 사용하여 collagen tube (1.9 x 20 cm, #180, Nippi Co, Japan)에 충전하였다. 충전한 tube는 90°C의 water bath에서 15분 동안 가열한 후 즉시 얼음물에서 15분 동안 방냉시키고 비닐 백에 넣어 하룻밤 냉장 보관한 후 젤의 특성 실험에 사용하였다.

젤 특성의 측정

실린더 형의 시료(19 x 20 mm) 위에 지름 5 mm의 구형 플런저를 장착하고 60mm/min의 속도로 올리면서 rheometer (Sun Rheometer, Model CR-100D, Sun Scientific Co., Ltd, Tokyo, Japan)로 파괴강도 (g)과 변형 (mm) 값을 측정하였다.

CIE Lab color는 색차계 (Model CR-300, Minolta, Japan)을 이용하여 젤의 명도 (L*), 적색도(a*)와 황색도(b*)를 측정하였다. 색차계는 표준 백판을 이용하여 표준화하였으며, 6개 이상의 젤의 측정하였고, 백색도는 백색도 지표, L^*-3b^* 를 이용하여 계산하였다(Park, 1994).

점탄성 특성의 측정

산 및 알칼리 회수 단백질의 pH 변화 및 화학제의 첨가에 따른 점탄성 특성은 cone (지름 4 cm, 각도 4도)을 부착시킨 Bohlin rheometer (Model CS-50, Bohlin, Cranbury, NJ)로 측정하였다. 저장 modulus (G'), 손실 modulus(G'') 및 phase angle($\tan \delta$, d)과 같은 점탄성 특성은 ethylene glycol과 물 혼합용액을(1:1, v/v)을 포함하는 thermo circulator(Neslab, RTE-211, USA)로 1°C/min의 속도로 온도를 상승시키면서 20-80°C의 온도 구간에서 측정하였으며, 측정하는 동안 수분의 손실을 방지하기 위하여 용매 trapper를 사용하였고, 1 Pa torque와 진동수 0.1 Hz에서 측정하였다. 회수 단백질의 pH는 1N HCl과 NaOH로 조절하였으며, 화학제로는 Sigma사의 propylene glycol(P1009), urea(U0631), 2-mercaptoethanol (M7154) 및 potassium bromide(P5912)를 사용하였다.

통계분석

표준편차의 계산과 유의성 검증은 통계프로그램 JMP(1992)로 실시하였다.

결과 및 고찰

가열 젤의 물성 특성과 색

냉동 백조기, 냉동 꼬마 민어와 Pacific whiting의 수세, 산 및 알칼리 회수 단백질의 가열 젤의 파괴 강도와 변형 값은 어종에 따라 큰 차이를 보였으며, 같은 어종이라 할지라도 회수 방법에 따라 차이를 보이고 있었다 (Fig. 1). 이 같은 결과는 Shimizu et al. (1981)이 52종의 meat paste로 젤 형성능을 조사하여 어종에 따른 젤 형성 특성을 자연응고 곤란-되풀림 곤란, 자연응고 곤란-쉬운 되풀림, 쉬운 자연응고-쉬운 되풀림 및 쉬운 자연

응고와 되풀림 곤란의 4개 군으로 분류할 수 있다고 하였고, 변과 전(1994)은 표백처리를 하지 않은 가염 고기풀의 자연응고(setting)와 되풀림(returning) 정도는 어종에 따라 특이성을 보인다고 보고한 바와 같았다. 냉동 백조기와 Pacific whiting의 알칼리 회수 단백질의 파괴강도 값은 수세 회수 단백질의 가열 젤과 비슷한 값을 보였으나 냉동 꼬마 민어의 경우는 알칼리 회수 단백질에 비하여 약 20g 정도 높은 값을 보였다. 그리고 산 처리 회수 단백질의 파괴강도 값은 수세 회수 단백질에 비하여 현저히 낮은 값을 보였다. 한편 변형 값은 산 처리와 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤이 수세 회수 단백질의 가열 젤보다 낮은 값을 보였으며, 산 처리 및 알칼리 처리 회수 단백질 간에는 큰 차이를 보이지 않았다. 이 같은 결과는 새로운 회수 단백질(수리미)의 제조 공정 중 어육 단백질의 가용화를 위해 처리한 극단적으로 낮거나 높은 pH 값이 수세에 비하여 단백질 변성에 크게 기여하기 때문인 것으로 보인다. 대부분의 단백질은 아주 높고 낮은 pH에서 변성하며 높은 pH에서 적절히 노출시킨 후 중성 pH로 조절함으로써 단백질 분자를 활성화 시켜 단백질의 기능 특성을 개선할 수 있지만, 과도한 노출은 응집 형성을 억제한다는 사실(Boye et al., 1997)에 미루어 본 단백질 회수 공정 중 pH 2.5와 10.5에 노출하는 시간을 줄임으로서 물성을 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

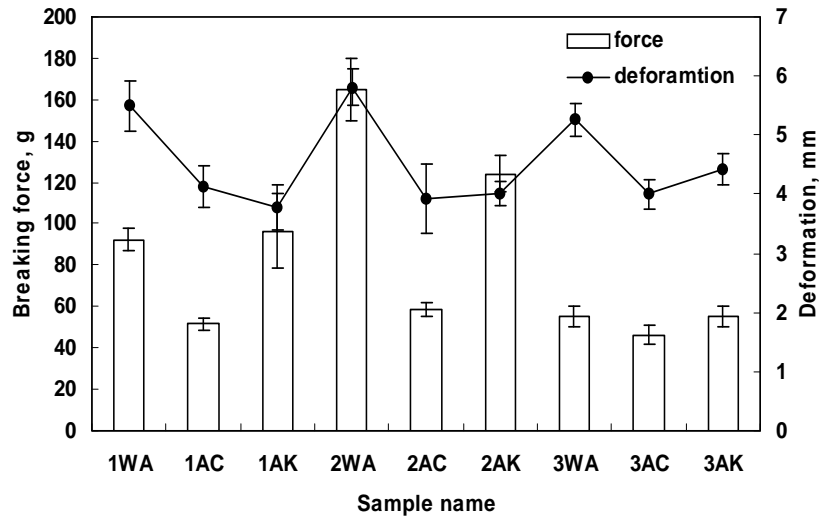


Fig. 1. Breaking force and deformation of surimi from 3 cycle washing(WA), acid(AC) and alkali(AK) process. 1, croaker; 2, black spotted croaker; 3, Pacific whiting.

수세, 산 및 알칼리 처리 회수 단백질의 색을 비교한 결과(Fig. 2), 수세 회수 단백질에 비하여 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 높은 황색도는 백색도에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 어육 중에 포함되어 있는 육색소인 myoglobin 단백질의 등전점이 고등어 5.9, 정어리 5.8, 눈다랑어 6.8, 황다랑어 8.6, 말 7.3, 향고래 8.4(橋本, 1976)로서 어종에 따라 다소 차이가 있으나 일부가 pH 5.0 부근에서 침전하여 회수 단백질과 같이 회수되기 때문으로 판단된다.

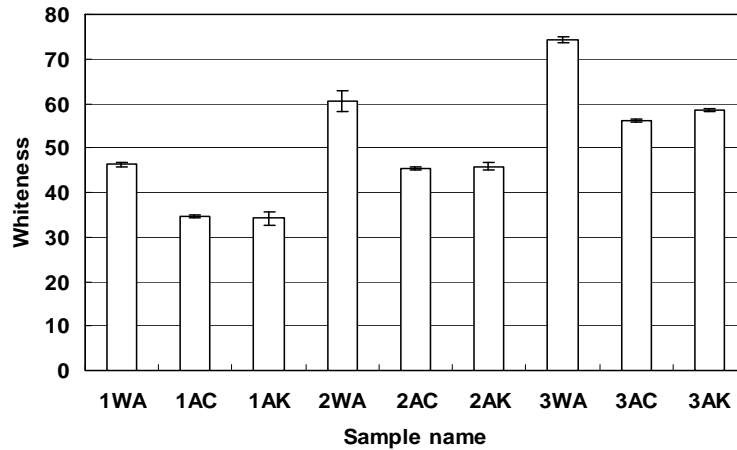


Fig. 2. Whiteness of surimi from 3 cycle washing(WA), acid(AC) and alkali(AK) process. 1, croaker; 2, black spotted croaker; 3, Pacific whiting.

수분함량에 따른 물성 특성의 변화

수분 함량 83%와 85%의 산 처리 회수 단백질과 수분 함량 80%와 83%의 알칼리 처리 회수 단백질은 전형적인 수리미의 저장 modulus 형태를 보여주고 있었다(Fig. 3). 가열 온도에 따른 phase angle의 peak를 젤화 온도(Joseph et al., 1994; Lian et al., 2002)로 추정할 때 산 처리 회수 단백질의 젤화 온도는 수분 함량 80, 83, 85%에서 각각 36°C, 40°C 및 46°C 부근으로 수분 함량이 증가함에 따라 젤화 온도가 낮아진다는 Hsieh et al.(1993)의 보고와 일치하였다. 그러나 알칼리 처리 회수 단백질인 경우, 수분 함량 80%, 83% 및 85%의 젤화 온도는 36°C, 26°C 13°C로서 산 처리 회수 단백질과는 반대로 수분 함량의 증가와 더불어 감소하였으며, 젤화 온도까지 phase angle 값이 큰 변화 없이 일정하게 유지되다가 이후부터 감소하는 경향을 보여 저온에서 이미 약한 젤을 형성하고 있는 것으로 추정되었다. 이 같은 결과는 산 처리 회수 단백질이 젤화 온도까지는 phase angle 값이 증가하다가 peak를 보인 후 감소하는 것과는 아주 다른 형태로

서 단백질 젤화가 단백질의 변성, aggregation, gelation의 순서로 일어난다는 사실(Boye et al., 1997)에 미루어, 단백질 용해를 위한 알칼리 처리는 이미 단백질의 회수 과정에서 약한 결합을 통한 젤화가 진행되고, 수분 함량의 증가는 단백질 젤화를 위한 반응기의 유동성 증가에 기여하는 것으로 추정되었다. 한편 북양 명태와 croaker actomyosin의 phase angle 값은 30-40°C에서 감소하여 약한 탄성 matrix의 actomyosin 복합체를 형성한다는 보고(Joseph et al., 1994)와 본 실험의 결과가 차이를 보이는 것은 산 및 알칼리 처리의 영향은 물론 각각의 회수 단백질에 포함된 근형질 단백질의 영향에 의한 것으로 추정된다.

본 실험의 결과에 미루어 적절한 점탄성을 확보하기 위해서는 산 처리 회수 단백질인 경우는 수분함량 83% 이하, 알칼리 처리 회수 단백질인 경우는 85% 이하로 조절할 필요가 있으며, 어묵 제품의 제조에는 알칼리 처리 회수 단백질이 산 처리 회수 단백질에 비하여 우수한 탄성을 보일 것으로 예측할 수 있었다.

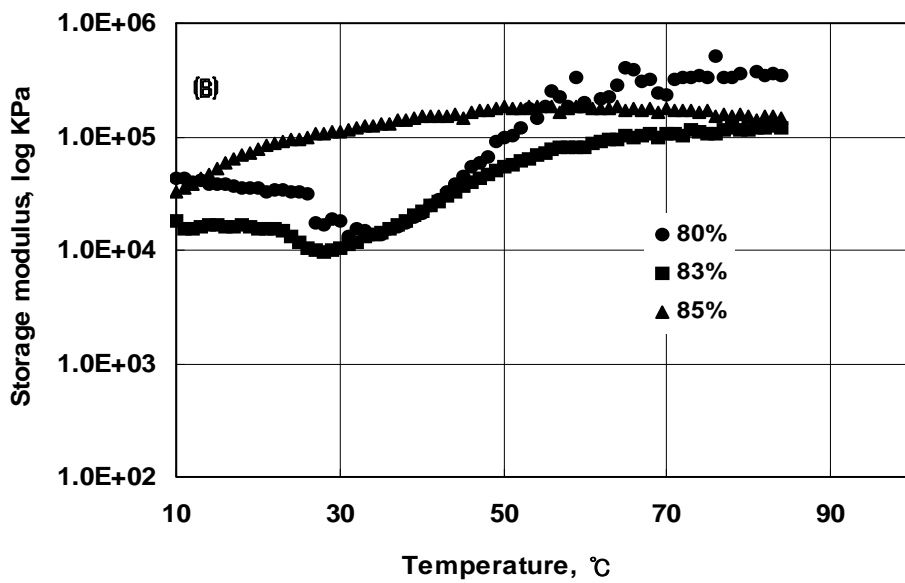
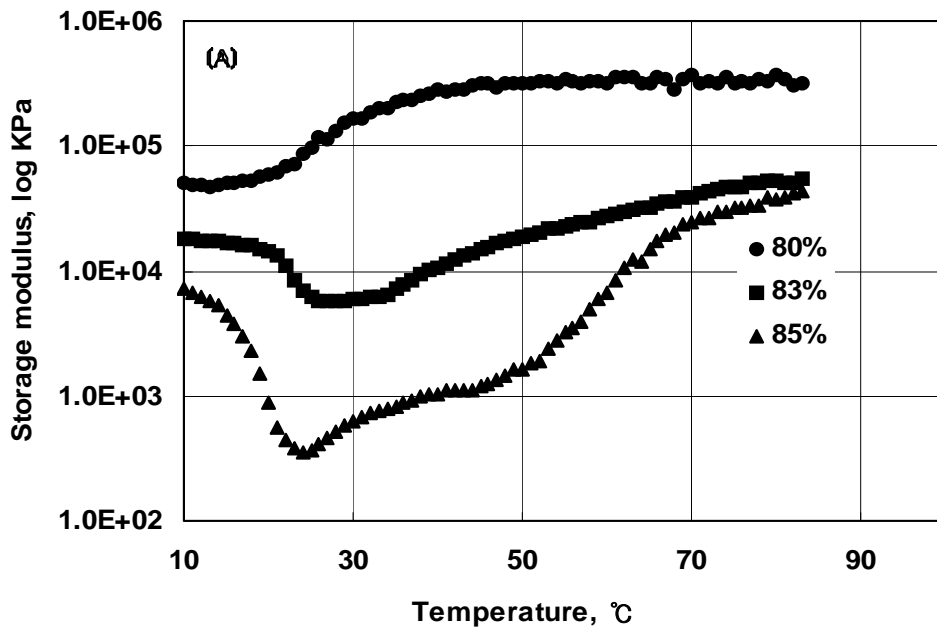


Fig. 3. The effect of moisture content on gel of Pacific whiting surimi by acid(A) and alkali(B) process.

물성에 미치는 최종 pH의 영향

산 처리 회수 단백질의 최종 pH는 가열 겔의 물성에 영향을 미치는 것으로 나타나 pH 6.8의 젤화 값은 23°C 부근이었으며, pH 7.4, 8.0 및 8.5는 각각 36°C, 49°C, 42°C이었다(Fig. 4). Phase angle의 변화에서 pH 6.8과는 달리 pH 7.4 이상에서는 19°C 부근에 하나의 peak를 나타내고 있었다(결과 미제시). 이 같은 결과는 19°C 부근의 저온에서 약한 결합에 의한 젤화 특성을 보이지만 온도 상승과 더불어 약한 결합은 파괴되고 점성의 증가를 수반하다가 36-45°C의 구간에서 젤화에 이은 망상 결합을 형성하는 것으로 추정된다. 알칼리 수리미인 경우 pH 6.6, 7.0, 7.5 및 8.2의 젤화 온도는 각각 31°C, 36°C, 37°C 및 37°C로서 pH 증가에 따라 젤화 온도도 다소 증가하는 것으로 나타났다. 최종 저장 modulus는 pH 6.6에 비하여 pH 7.0가 아주 높았으며, 산 처리 회수 단백질의 pH 6.8에서의 값과 비슷하여 산 처리 및 알칼리 처리 회수 단백질의 최종 pH는 7.0이 가장 적절할 것으로 판단된다. 그리고 산 처리 회수 단백질인 경우, phase angle 값이 젤화 온도까지 다소 증가하다가 이후의 온도부터는 감소하는 경향을 보인 데 반하여 알칼리 처리 회수 단백질은 초기부터 낮은 값을 그대로 유지하다가 젤화 온도 구간에서 작은 peak를 보인 후 감소하고 있었다. 이 같은 결과는 산 처리와 알칼리 처리 회수 단백질 사이의 가열 젤화 기구에 차이가 있음을 보여주는 것으로 판단된다.

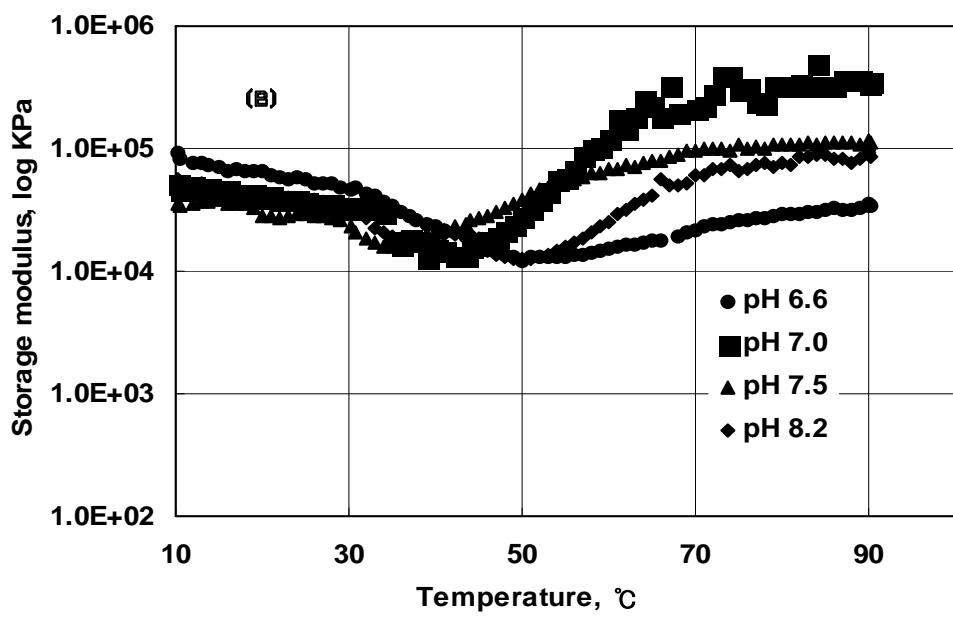
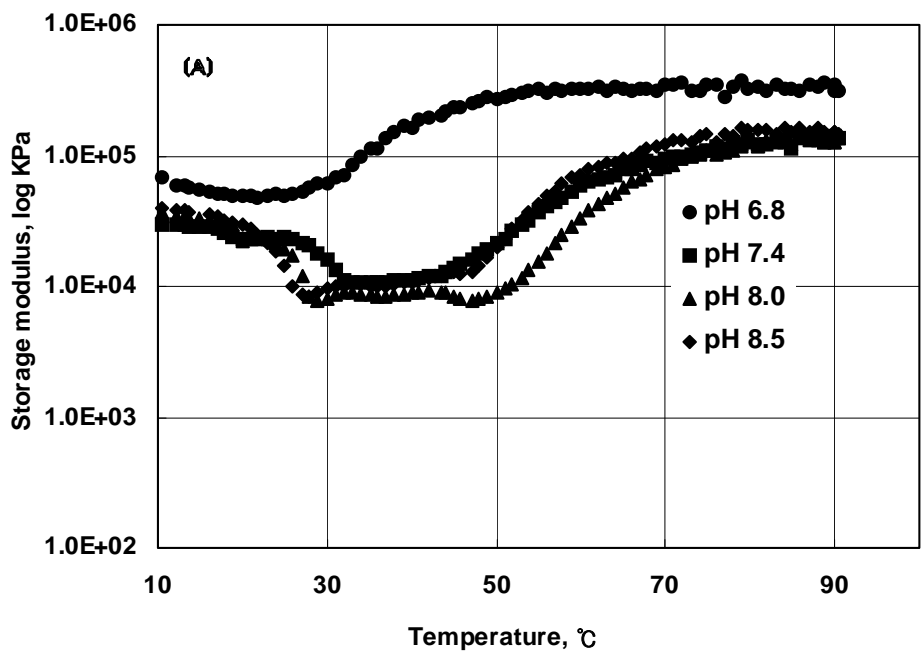


Fig. 4. The effect of pH on gel of Pacific whiting surimi by acid(A) and alkali(B) process.

단백질의 최종 pH 값이 물성에 미치는 영향과 관련하여 Lian et al. (2002)은 산에 의한 수리미 젤의 저장 modulus는 15-80°C의 온도 구간에서 계속 증가하였고 전이 peak를 보이지 않았다고 보고하였으며, Boye et al.(1997)은 강 염기성 용액에 대한 과도한 노출은 carboxylate-phenolic 기와 양자화된 아미노기의 상호작용을 저해하여 응집물의 가교 결합을 방해하기 때문에 젤 형성에 영향을 미친다고 보고하였다.

저장 modulus에 미치는 화학제의 영향

화학제의 첨가가 산 처리 화수 단백질의 젤화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수소 결합의 강화에 기여하는 propylene glycol, 수소 결합과 소수성 상호작용의 파괴에 관여하는 urea, S-S 결합의 절단에 기여하는 2-mercaptoethanol 및 S-S 결합의 형성에 기여하는 potassium bromide를 농도 별로 첨가하여 저장 modulus 값의 변화를 측정하였다(Fig. 5, 6).

Propylene glycol을 첨가한 경우(Fig. 5), 20~40°C의 온도 구간에서 첨가하지 않은 대조군에 비하여 높은 저장 modulus 값을 보였으나, 5% 첨가 시에는 가열 초기에 대조군과 큰 차이를 보이지 않았으며, 80°C에서의 저장 modulus 값은 propylene glycol를 첨가한 젤이 대조 젤에 비하여 높은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 가열 젤의 수소 결합은 저온에서 증가하며(Niwa and Muramoto, 1971), 대두 단백질의 7S로 만든 가열 젤의 경도는 propylene glycol의 첨가에 의해 증가했다는 보고(Utsumi and Kinsella, 1985)와 대단히 유사하였다.

Urea는 첨가한 농도가 증가함에 따라 저온에서 저장 modulus 값은 대조군에 비하여 낮은 값을 보였으며 고온으로 갈수록 그 차이는 감소하는 것으로 나타나 25%의 urea를 첨가한 경우, 65°C 이상에서는 대조구와 거의 차이를 보이지 않았다(Fig. 5). 그러나 2 M 이상의 urea 농도에서는 80°C

에서도 저장 modulus 값이 대조군과 많은 차이를 보이고 있어서 회수 단백질의 가열 젤 형성에 기여하는 화학결합은 저온에서는 수소 결합이며 고온에서는 소수성 상호작용에 기인한다는 사실을 보여주고 있다(Niwa, 1975; Niwa et al., 1983; Niwa et al., 1989). Myosin 분자의 소수성은 0-60°C에서 현저히 증가하며 정전기적 결합은 변화를 보이지 않고 공유결합의 변화는 80°C 이상의 높은 온도에서 관측된다(Kawai et al., 1983).

25 mM의 2-mercaptoethanol의 첨가는 대조군과 비슷한 젤화 형태를 보였으나, 50 mM 이상의 첨가 시에는 대조군에 비하여 낮은 저장 modulus 값과 가열 온도 상승에 따른 저장 modulus 값의 증가 속도도 낮은 것으로 나타났다(Fig. 6).

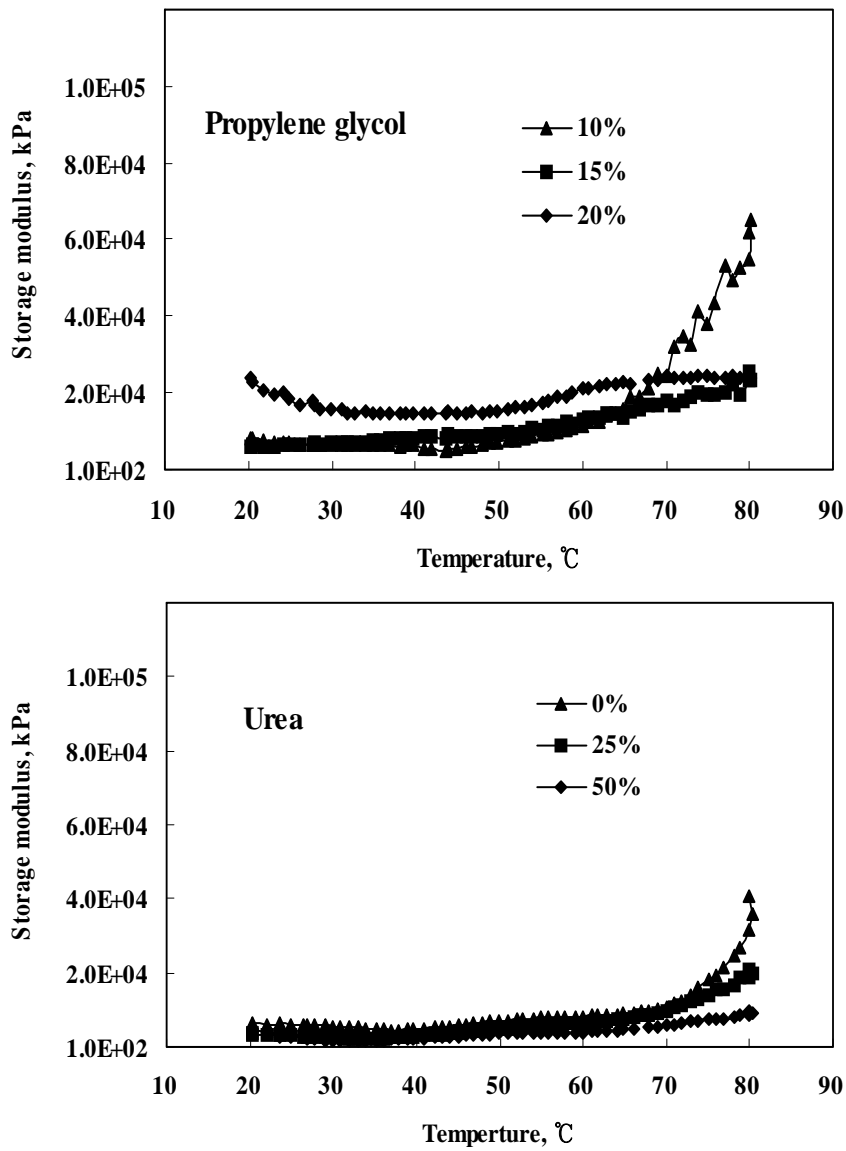


Fig. 5. The effect of propylene glycol and urea on gel of Pacific whiting acid surimi.

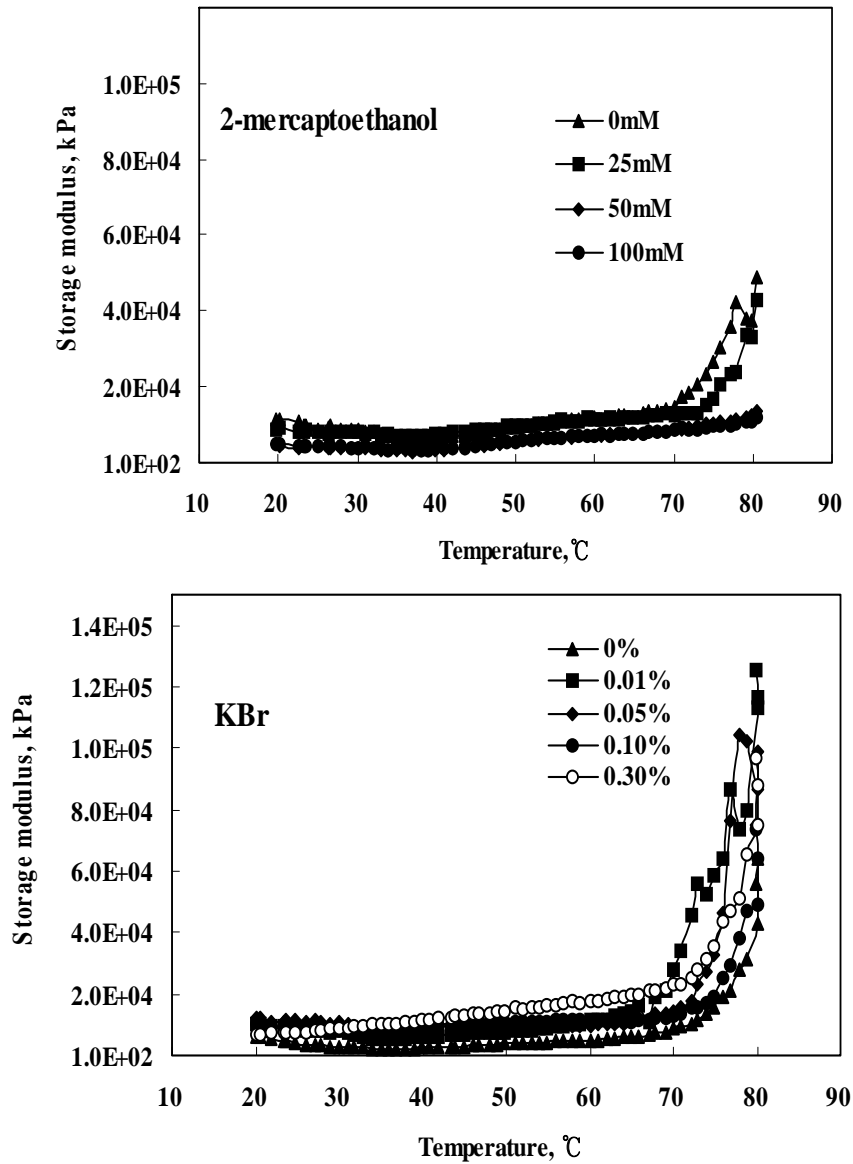


Fig. 6. The effect of 2-mercaptoethanol and potassium bromide(KBr) on gel of Pacific whiting acid surimi.

이 같은 결과는 첨가한 2-mercaptoethanol이 고온에서 S-S 결합의 형성을 방해하기 때문으로 판단된다. 가열 공정 중 어육 단백질의 반응성 SH기의

거동과 관련하여 Itoh et al.(1979)은 60°C에서 잉어 actomyosin의 반응성 SH기는 최대로 노출되어 단백질 분자 사이의 결합을 통해 actomyosin의 젤 형성에 기여하는 것으로 추정하였다. Myosin을 가열하는 동안 S-S 결합을 통한 단백질의 중합은 myosin heavy chain의 SH 기가 구리 이온과 같은 촉매제의 존재 하에서 산화하는 반응과 십량체 이상의 중합체의 형성에 기여한다(Kishi et al., 1995).

Potassium bromide의 첨가는 저장 modulus 값의 현저한 증가를 초래하였으며(Fig. 6) 이 같은 결과는 고온에서 S-S 결합의 증가에 기인하는 것으로 판단된다. Potassium bromide는 단백질 가수분해 효소의 불활성화를 통해 수리미의 젤화를 증진시키고 가열 응고하는 동안 S-S 결합의 형성을 강화한다(Pacheco-Aguilar and Crawford, 1994).

요약

알칼리 pH에서 어육 단백질을 용해한 후 등전점 처리를 통하여 단백질을 회수하고, 중성으로 pH를 조절하여 조제한 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤의 파괴강도와 변형 값은 수세 과정을 통해 회수한 기존의 수리미 가열 젤에 비하여 손색이 없는 것으로 나타났으나, 백색도 값은 회수 단백질에 남아있는 혈색소와 육색소로 인하여 낮게 나타났다.

산 처리 회수 단백질의 저장 modulus 값은 수분 함량이 감소함에 따라 감소하였으나 알칼리 처리 회수 단백질의 경우는 증가하였다. 회수 단백질의 최종 pH는 저장 modulus 값에 영향을 미치고, 형태는 산 처리와 알칼리 처리 회수 단백질 간에 다소 차이를 보였다. Potassium bromide는 S-S 결합의 형성을 통해 가열 젤의 저장 modulus를 증가시키는 것으로 나타났다. 알칼리 처리 회수 단백질은 파괴강도, 변형 값 및 백색도에 미루어 어묵 grade의 연제품 제조를 위한 원료로 손색이 없는 것으로 판단하였다.

참고문헌

- Boye JL, Ma CY, Harwalkar VR. 1997. Thermal denaturation and coagulation of proteins. In *Food Proteins and Their Application*, S. Damodaran and A. Paraf (eds.) Marcel Dekker Inc, New York, p 25-56.
- Choi YJ, Park JW. 2000. Feasibility study of new acid~aided surimi processing methods for enzyme~laden Pacific whiting. 2000 IFT annual meeting, Dallas, USA., 51A-4
- Davis N. 1988. Fatty fish utilization: Upgrading from feed to food. UNC Sea Grant College Publication UNC-SG-88-04.
- Hsieh YL, Regenstein JM, Rao MA. 1993. Gel point of whey and egg proteins using dynamic rheological data. *J Food Sci* 58: 116-119.
- Itoh Y, Yoshinaka R, Ikeda S. 1979. Behavior of the sulfhydryl groups of carp actomyosin by heating. *Nippon Suisan Gakkaishi* 45: 1019-1022.
- Joseph D, Lanier TC, Hamann DD. 1994. Temperature and pH affect transglutaminase~catalyzed "setting" of crude fish actomyosin. *J Food Sci* 59: 1018-1023, 1036.
- JMP. 1992. Statistics and graphics guide, version 3.1, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA, p 66-94.
- Kawai Y, Hatano M, Zama K. 1983. Effect of heat treatment on some physico~chemical properties of carp myosin. *Journal of Hokkaido Univeristy* 34: 131-139.
- Kim BY, Park JW. 2000. Rheology and texture properties of surimi

- gels. In *Surimi and Surimi Seafood*, JW. Park (ed.) Marcel Dekker, New York, p 267–324.
- Kim YS, Park JW, Kim BJ, Choi YJ. 2001. Use of pH adjustment and centrifugation for surimi processing from Pacific whiting. 2001 IFT annual meeting, New Orleans, USA, 73F-7.
- Kishi A, Itoh Y, Obatake A. 1995. The polymerization of protein through disulfide bonding during the heating of carp myosin. *Nippon Suisan Gakkaishi* 61: 75–80.
- Lanier TC, Hart K, Martin RE. 1991. A manual of standard methods for measuring and specifying the properties of surimi. University of North Carolina Sea Grant College Program, Raleigh, N.C.
- Lanier TC. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties. In *Surimi Technology* TC Lanier and CM Lee, (eds), Marcel Dekker, New York, p 123–166.
- Lian, PZ, Lee CM, Chung KH. 2002. Textural and physical properties of acid-induced and potassium-substituted low-sodium surimi gels. *J Food Sci* 67: 109–112.
- Niwa E, Miyake M. 1971. Physico-chemical behavior of fish meat protein-II. Reactives of side groups of polypeptide chains during setting of fish meat paste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 37: 884–890.
- Niwa E. 1975. Role of hydrophobic bonding in gelation of fish flesh paste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 41: 907–910.
- Niwa E, Kanoh S, Osaka Y, Nakayama T, Watabe S, Hashimoto K. 1989. Changes in surface hydrophobicity of fish actomyosin

- induced by urea. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 143-146.
- Niwa E, Nakayama T, Hamada I. 1983. The third evidence for the participation of hydrophobic interactions in fish flesh gel formation. *Nippon Suisan Gakkaishi* 49: 1763.
- Pacheco-Aguilar R, Crawford DL. 1994. Potassium bromate effects on gel-forming ability of Pacific whiting surimi. *J Food Sci* 59: 786-791.
- Park JW. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J Food Sci* 59: 525-527.
- Park JW, Morrissey MT. 2000. Manufacturing of surimi from light muscle fish. In *Surimi and Surimi Seafood*. JW Park (ed.), Marcel Dekker, New York, p 23-58.
- Shimizu Y, Machida R, Takenami S-I. 1981. Species variations in the gel forming characteristics of fish meat paste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47: 95-104.
- Shimizu Y, Toyohara H, Lanier TC. 1992. Surimi production from fatty and dark-fleshed fish species. In *Surimi Technology*, TC Lanier and CM Lee (eds), Marcel Dekker, New York, p 181-208.
- Utsumi S, Kinsella JE. 1985. Forces involved in soy protein gelation: Effects of various reagents on the formation, hardness and solubility of heat-induced gels made from 7S, 11S, and soy isolate. *J Food Sci* 50: 1278-1282.
- Wu M-C. 1992. Manufacture of surimi-based products. In *Surimi Technology*, TC. Lanier and CM. Lee (eds), Marcel Dekker, New York, p 245-272.

- Yongsawatdigul J, Park JW. 2001. Gelation characteristics of alkaline and acid solubilization of fish muscle proteins. 2001 IFT annual meeting, New Orleans, USA. 73F-6
- 橋本周久. 1976. 色素蛋白質. In 白身の魚と赤身魚, 日本水産學會編, 동경, p 28-41.
- 변재형, 진중균. 1994. 수산이용화학. 수학사, 서울, p 16-19.

제 2 절 산과 알칼리 pH에서 어육 단백질의 용해를 이용한 수리미 제조

서론

수리미는 어육을 마쇄하여 수세 공정을 통해 근형질 단백질, 색소, 지질, 비단백태 질소 화합물 등을 제거하고 근원섬유 단백질을 농축한 후 냉동 변성제를 혼합한 어육 단백질로서 다양한 수산식품을 가공하기 위한 중간 소재로 사용되고 있다(Park and Morrissey, 2000). 수리미의 품질과 등급은 수분함량, 백색도, 불순물의 함량, 젤 강도 등에 의해 결정되기 때문에 가공원료는 주로 백색육 어류를 사용하고 있다(NFI, 1991). 그러나 어자원의 효율적인 이용과 식량 자원화를 위해 주로 사료와 비료로 활용하고 있는 다핵성 적색육 어류의 수리미 제조에 관한 연구가 수행되었지만(Akanahe, 1988; Nonaka, 1989; Shimizu, 1992) 적절한 수율과 젤 형성능을 가지며 비교적 간단한 수리미의 제조 공정은 개발되지 않고 있다.

수세를 통한 일반적인 수리미 제조 공정은 수세 횟수가 증가함에 따라 근원섬유 단백질의 일부가 소실되고(Stefannson and Hultin, 1994) 대부분의 근형질 단백질이 제거되어 수세수로 배출되기 때문에(Park and Morrissey, 2000) 백색육 어류로 조제한 수리미의 최종 수율은 20-25%이며(Lin and Park, 1996), 다량의 단백질을 함유한 수세수의 처리는 수리미 제조업의 폐수 처리를 위한 경비 부담을 가중시키고 있다. 따라서 수세수에 있는 단백질을 회수하여 다시 사용하기 위한 연구가 수행되었으나 회수량이 적고 젤 형성능이 떨어지기 때문에 경제성이 없는 것으로 판명되었다(Lin et al., 1995).

수리미 제조 공정의 개선과 개발은 수율의 향상(Park, 2001; Choi and Park, 2002), 부산물(Morrissey, 2000) 및 미이용 어자원의 이용(Hultin and

Kelleher, 2000) 등에 중점을 두고 있으며, 수세수 및 폐수 발생량의 절감과 수율의 향상과 관련하여 최근 산과 알칼리 용액에서 어육 단백질을 가용화하고 등전점 부근의 pH에서 단백질을 회수하는 단백질 회수 공정이 소개되었다(Choi and Park, 2000; Choi and Park, 2002; Lim et al., 2002; Undland et al., 2002). 그러나 어종에 따른 단백질 용해 특성의 차이, 주요 공정의 운전 조건 및 폐수의 오염 부하량의 절감 효과 등에 관한 검토는 거의 이루어져 있지 않다. 따라서 본 연구는 냉동 백조기와 전갱이 마쇄육의 pH 별 용해도 특성과 단백질 회수를 위한 주요 공정별 최적 조건을 구명하고 산과 알칼리 처리 회수 단백질 제조에 따른 폐수의 오염 저감 효과를 수세 수리미 제조 공정과 비교 검토하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 냉동 백조기(*Pennahia argentata*; 체장, 18.2 ± 2.4 cm, 체중, 125.0 ± 35.9 g)와 냉장 전갱이(*Trachurus japonicus*; 체장, 20.8 ± 1.8 cm; 체중 179.0 ± 31.4 g)는 각각 경남 통영시 소재의 어시장과 부산시 공동 어시장에서 구입하여 실험실로 운반하였다. 냉동 백조기는 실온에서 해동시킨 후, 냉장 전갱이는 그대로 각각 두부와 내장을 제거하고 육만을 절취하여 수리미 제조를 위한 시료어로 사용하였다.

용해도의 측정

pH에 따른 어육 단백질의 용해도를 측정하기 위해 어육 2 g에 18 mL의 탈 이온수를 첨가하여 homogenizer(IKA-25 basic, IKA Works, Wilmington, NC, USA)로 8000 rpm에서 30초 동안 조직을 파쇄한 후 10 mL 용량의 biuret을 이용하여 1 N HCl 혹은 1 N NaOH를 첨가하면서

pH를 조절하였다. 이때 첨가한 HCl과 NaOH 용액의 양은 각각 기록하여 총 부피 변화에 따른 단백질 농도 계산의 보정에 사용하였다. pH를 조절된 용액을 저온(4°C)에서 30분 동안 정치시킨 후 냉동원심분리기(SUPRA 30K, Hanil Science Industrial Co. Ltd., Incheon, Korea)로 원심분리(2,500xg, 15분)하였다. 상층액의 단백질 농도는 bovine serum albumin(Sigma P7656)으로 검량곡선을 작성한 Umemoto 법(1966)에 따라 측정하였다. 그리고 용해도에 미치는 이온 강도의 영향을 측정하기 위해 어육 단백질 2 g에 pH 2.5와 pH 10.5로 조절한 18 mL의 NaCl 용액(0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0 M)을 첨가하여 용해도 측정 방법과 동일한 방법으로 처리하여 단백질 농도를 측정하였다.

조직 파쇄 정도가 단백질의 용해에 미치는 영향을 측정하기 위해 meat grinder(M-12S, Kyeonggi, Fugee Korea, Korea)로 마쇄한 어육 2 g에 증류수 18 mL를 넣고 homogenizer의 속도(8,000 rpm, 9,500 rpm)와 시간(15, 30, 45, 60초)를 달리하면서 조직을 파쇄한 후 원심분리(2,500xg, 15분)하여 상층액의 단백질 농도를 측정하였다.

마쇄육에 대한 적정 수량의 측정

어육 단백질의 가용화를 위해 첨가하는 적정한 증류수의 양을 측정하기 위해 어육에 대하여 각각 5-9배량의 증류수를 첨가하고 8000 rpm에서 1분 동안 파쇄하여 단백질 회수 공정에 따라 회수한 단백질 가열 젤의 파괴강도, 변형 값 및 색을 비교하였다.

수리미의 제조

수세 단백질은 마쇄육에 2배량의 증류수를 가하여 homogenizer(IKA-25 basic, IKA Works, Wilmington, NC, USA)로 8000 rpm에서 2분 동안 조

직을 파쇄한 후 원심분리(10,000xg, 25분)하여 침전물을 수세하는 과정을 2회 반복하고 2배량의 0.1% NaCl 용액으로 수세하여 4% sucrose(CJ Co., Seoul, Korea), 5% sorbitol(LTS powder 20M, PT Sorini Towa Berlian Co., Cangkringmalang, Indonesia), 0.3% polyphosphate(Food Grade, Haifa Chemical Co., Israel)의 냉동변성방지제를 첨가하고 Kitchen aid (Max watts 325, St. Joseph, Michigan, USA)로 잘 혼합하여 제조하였다. 산과 알칼리 처리 회수 단백질은 파쇄한 어육에 6배량의 증류수를 첨가하고 1 N HCl 혹은 1 N NaOH를 사용하여 pH를 2.5와 10.5로 각각 조정하여 어육 단백질을 용해시킨 후 원심분리(10,000xg, 25분)하였다. 중성 지방 등이 포함된 유허층(최상층)과 결체조직, 막지질, 비늘, 뼈 등을 포함하고 있는 최저층을 버리고 가용성 단백질과 수화 단백질을 포함한 중간층을 회수하여 1 N HCl 혹은 1 N NaOH로 pH 5.0으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000x g, 25분)하여 단백질을 회수하였다. 회수한 단백질은 1 N NaOH로 pH 7.0으로 조절한 후 냉동변성방지제를 첨가하여 제조하였다.

수율의 측정

수리미의 수율은 어체와 제조한 최종 수리미의 수분 함량을 적외선 수분 측정계(FD-600, Kett Electric Laboratory, Tokyo, Japan)로 측정하고 건물 중량으로 환산한 후, 어체에 대한 최종 수리미의 중량 %로 표시하였다.

가열 젤의 제조

조제한 각각의 회수 단백질에 얼음물과 염을 고르게 뿌리고 food processor(SQ-103, Iljin Co, Korea)로 1분 혼합한 후 비닐 백에 넣어 진공 포장기(Food Saver Ultra, Tilia International Inc., China)를 이용하여 수리

미 중의 기포를 제거하고 sausage 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., New York, NJ, USA)를 사용하여 collagen tube (1.9 x 20 cm, #180, Nippi Co., Tokyo, Japan)에 충전하였다. 충전한 tube는 90°C의 water bath에서 15분 동안 가열하고 즉시 얼음물에 15분 동안 냉각시켜 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였다. 젤 조제를 위한 회수 단백질의 수분 함량은 얼음물을 사용하여 78%로 조절하였으며 염은 2%를 첨가하였다.

물성과 색도 측정

Okada의 방법(1964)에 따라 실린형의 시료(1.9 x 2.0 cm)위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 rheometer (Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴강도(g)와 변형(mm) 값을 측정하였다.

그리고 젤의 표면 CIE Lab color는 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색차계는 표준 색 plate로 $L^* = 96.83$, $a^* = -0.36$, $b^* = 0.62$ 로 표준화하였으며, 백색도는 $L^* - 3b^*$ 로 계산하였다(Park, 1994).

고형물 함량, 총질소 함량 및 화학적 산소요구량의 측정

수세 회수 단백질과 산 및 알칼리 처리 회수 단백질 제조 시에 배출되는 수세수 및 원심분리 상층액 중의 고형물 함량은 상층액 100 mL를 0.45 μ m filter로 감압 여과한 고형물을 105°C에서 3시간 건조시킨 후의 무게를 측정하여 g/L로 표시하였으며, 총질소 함량은 semi-micro Kjeldahl 법(진과 임, 1971)으로, 화학적 산소요구량은 과망간산 칼륨법(김, 1994)으로 측정하였다.

통계분석

표준 편차와 유의성 검정의 통계분석은 JMP program(JMP, 2002)의 standard least squares로 실시하였으며, 유의차는 $p < 0.05$ 수준에서 검토하였다.

결과 및 고찰

용해도에 미치는 pH와 이온강도의 영향

어육 단백질의 용해도에 미치는 pH의 영향을 pH 2-11의 구간에 걸쳐 측정된 결과(Fig. 1), 전갱이의 용해도는 pH 2.5와 10.5 부근에서 가장 높았고, pH 5.5 부근에서 가장 낮은 반면, 백조기의 용해도는 산성과 알칼리 쪽으로 pH가 낮거나 증가함에 따라 계속 증가하였으며 pH 4.5에서 가장 낮았다. Pacific whiting 마쇄육의 용해도는 pH 5.0-5.5 사이에서 가장 낮았으며 pH 2.0-2.5와 pH 11부근에서 가장 높은 용해도를 보였고(Choi and Park, 2002), herring의 마쇄육은 pH 2.7과 10.8에서 가장 높은 용해도와 pH 5.5에서 가장 낮은 용해도를 보였다(Undeland et al., 2002). 이 같이 어종에 따라 최대 및 최저 용해도를 보이는 pH에 다소 차이를 보이는 것은 어육은 많은 종류의 단백질을 포함하고 있으며(Suzuki, 1981; Sikorski et al., 1994;), 어종에 따라 근원섬유 단백질과 근형질 단백질의 함유량과 근형질 단백질을 구성하는 단백질의 종류에 차이가 있기 때문인 것으로 생각된다(Suzuki, 1981). 산성과 알칼리 영역에서 용해도가 증가하는 것은 단백질을 구성하는 산성 및 염기성 아미노산 측쇄의 하전량이 증가하여 수소결합의 가능성이 높아지기 때문인 것으로 보인다.

이온강도의 영향을 검토하기 위하여 pH 2.5와 10.5로 조절된 농도별 NaCl 용액에 대한 어육 단백질의 용해도를 측정된 결과(Fig. 2), 이온강도가 증가할수록 육 단백질의 용해도는 감소하는 것으로 나타났다. 근원섬유

단백질과 근형질 단백질은 각각 이온강도가 0.5-1.0와 0.01-0.05인 중성염 용액에 용해하는 것으로 알려져 있지만(Sikorski et al., 1994), 강산성과 강알칼리 영역의 pH에서 이온강도의 증가는 하전된 이온들의 척력을 증가시켜 단백질 상호작용과 응집을 유발하여 용해도를 감소시키는 것으로 보인다(Dagher et al., 2000; Chang et al., 2001; Dewitt et al., 2002; Undeland et al., 2002).

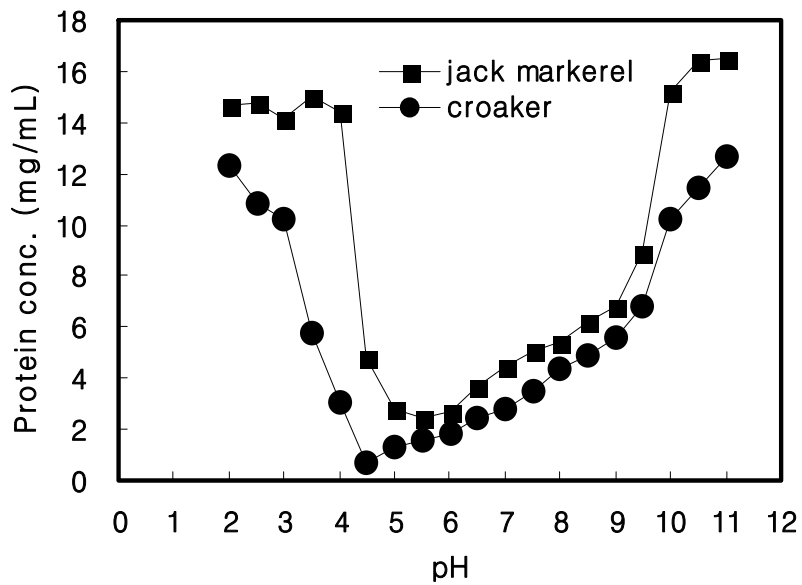


Fig. 1. Effect of pH on solubility of minced Jack mackerel and white croaker muscle.

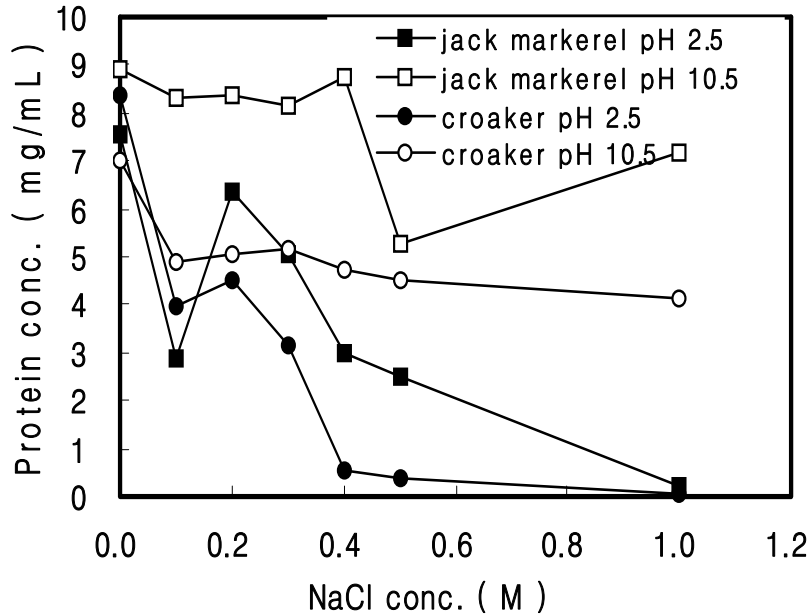


Fig. 2. Effect of NaCl concentration on solubility of minced J a c k mackerel and white croaker muscle in pH 2.5 and 10.5.

단백질 용해에 미치는 조직파쇄 시간과 속도의 영향

어육 조직의 파쇄 정도가 단백질의 가용화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 파쇄 속도와 시간에 따른 용해도를 측정된 결과(Fig. 3), 본 실험에 적용한 파쇄 속도와 파쇄 시간에서는 단백질의 가용화에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 산성 pH에서 단백질의 용해를 이용하여 소심장육의 단백질을 추출할 때 12500 rpm 이하의 균질화 속도는 충분한 양의 단백질을 추출하지 못하고 15000 rpm 이상의 속도에서는 과량의 거품을 발생시켜 단백질 변성시키기 때문에 15000 rpm에서 30초 동안 균질화하는 것이 가장 적당하다고 하였다(Dewitt et al., 2002). 본 실험의 결과, 비교적 저속인 8000 및 9500 rpm에서 균질화 시간에 따른 큰 차이를 보이지 않으며, 백조기의 알칼리 처리 단백질 회수 공정에서 9500 rpm이 오히려

려 8000 rpm에 비하여 추출 단백질의 농도가 낮은 것은 어육의 조직이 축육에 비하여 취약하기 때문(Suzuki, 1981)에 저속에서도 충분히 파쇄되고 과도한 균질화 속도는 거품을 발생시켜 단백질 변성을 유도하기 때문으로 생각된다.

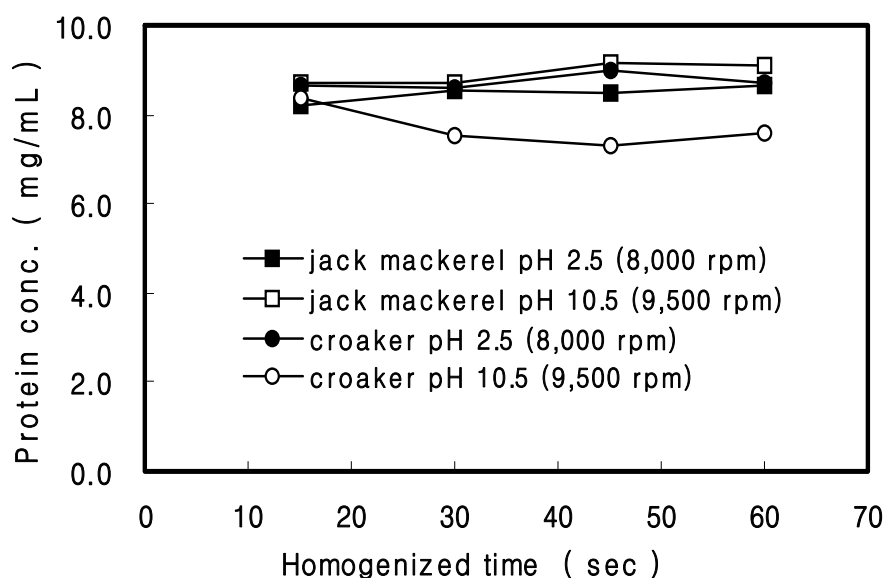


Fig. 3. Effect of homogenized time and speed on solubilization of minced muscle.

가열 젤의 물성에 미치는 단백질 추출 수량의 영향

단백질 추출을 위한 수량과 원심분리의 부하량을 줄이기 위하여 마쇄 육에 대한 가수량을 변화시키면서 회수 단백질을 제조하고 가열 젤의 물성 변화를 측정하여 수세 회수 단백질과 비교하였다(Fig. 4,5). 산과 알칼리 처리 회수 단백질 젤의 파괴강도와 백색도 값은 마쇄 육에 대하여 6배량의 증류수를 첨가한 경우가 7배와 9배를 첨가한 경우 보다 높은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 다량의 수도수 첨가는 원심분리 시간을 지체시켜 단

백질의 변성을 초래하기 때문인 것으로 생각되었다. 산과 알칼리 처리 공정으로 제조한 청어 회수 단백질이 수세 공정으로 회수한 단백질에 상당하는 물성 값과 백색도를 얻기 위해서는 육 중량에 대한 물의 비는 9배량이 가장 적당하지만 9배량의 수도수를 첨가하여 2시간 이상 방치한 경우 회수 단백질의 가열 젤의 물성 값은 현저히 감소한다고 하였다(Undeland et al., 2002). 수세 수리미 제조 시 적정 수세량과 수세 횟수는 육에 대하여 2배량의 수도수로 3회 수세가 가장 적당하며 더 이상 수세하더라도 백색도는 개선되지 않았다(Lin and Park, 1996). 따라서 수리미의 백색도를 개선하기 위해서는 수세량 보다는 수세 횟수가 더욱 중요한 것으로 여겨진다.

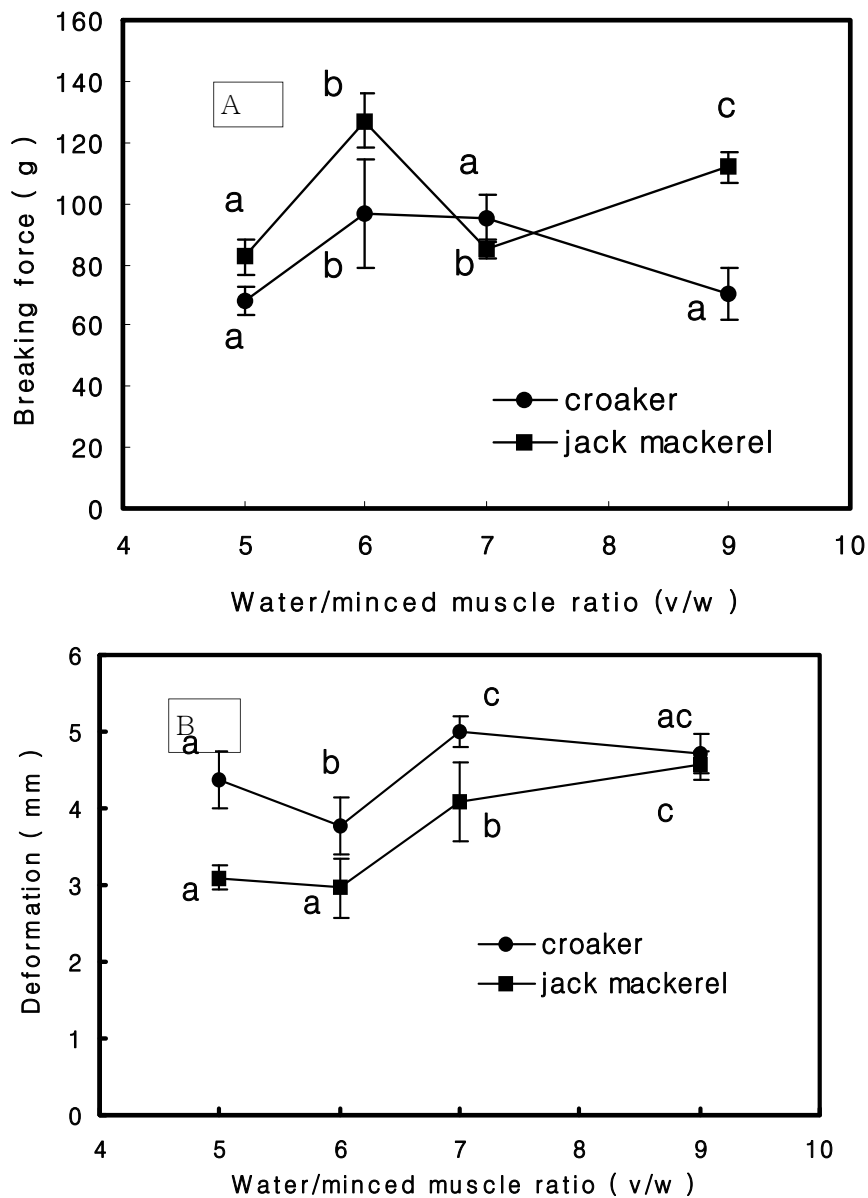


Fig. 4. Effect of water ratio to minced muscle on breaking force (A) and deformation (B). Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

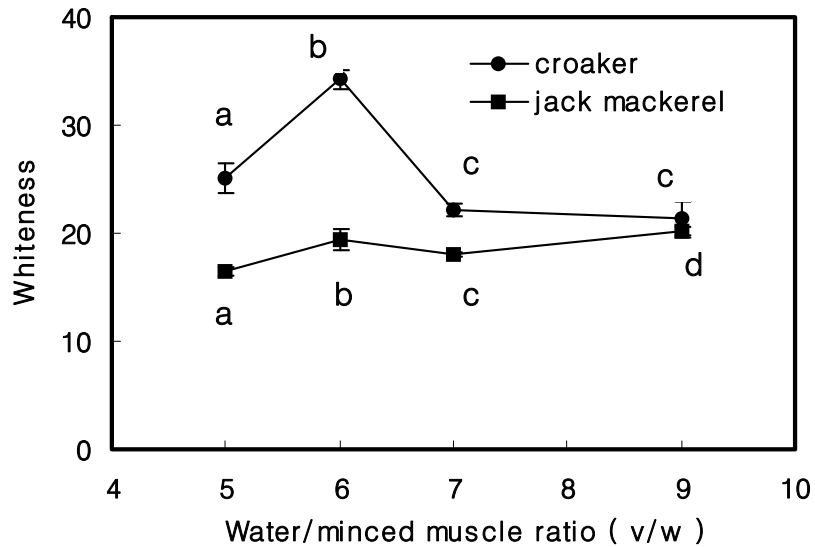


Fig. 5. Effect of water ratio to minced muscle on whiteness. Means with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

회수 단백질의 수율

마쇄 어육과 수세수의 비를 1: 2로 하여 3회 수세하여 제조한 회수 단백질과 산 및 알칼리 처리 공정으로 회수한 단백질의 수율을 비교한 결과 (Fig. 6), 수율은 수세, 산 처리 공정, 알칼리 처리 공정의 순으로 증가하였으며 알칼리 처리 공정은 수세 처리 공정에 비하여 약 5% 이상까지 수율이 증가하였다. 그리고 백조기는 산 처리 공정으로 회수한 단백질의 수율이 가장 낮았으며 알칼리 처리 공정의 수율은 32.7%였다. 수세 처리 공정과 알칼리 처리 공정 사이의 수율의 차이가 백색육 어류인 백조기에 비하여 적색육 어류인 전갱이에서 더 큰 것은 적색육 어류가 백색육 어류에 비하여 다량의 근형질 단백질을 함유하고 있으며, 이들 단백질이 알칼리 처리 공정에 의하여 더 회수되었기 때문으로 추정된다. Suzuki(1981)는 방어, 고등어 등과 같은 적색육 어류의 근형질 단백질 함량이 넙치, 농어 등과

같은 백색육 어류에 비하여 높다고 보고하였다.

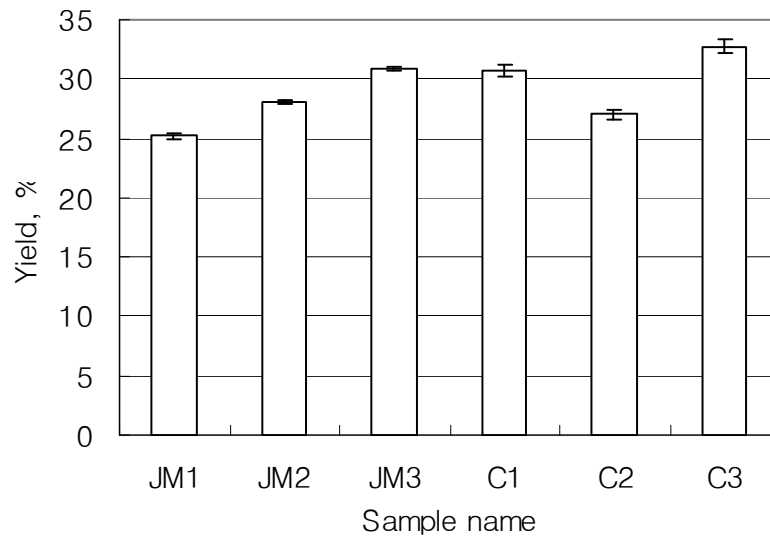


Fig. 6. Protein yield of surimi by conventional, acid and alkali processing. JM, jack mackerel; C, white croaker; 1, conventional processing; 2, acid processing; 3, alkali processing.

수세, 산 및 알칼리 수리미 폐수의 고형물, 총질소 및 화학적 산소요구량(COD)

수세, 산 및 알칼리 처리 공정 중 waste water의 고형물, 총질소 함량 및 COD는 수세>알칼리>산의 순으로 높았다(Table 1). 전경이 수세 처리 공정 폐수의 고형물량, 총질소 함량 및 COD는 산 처리 공정의 454.9배, 2.8배와 1.9배 높았으며, 백조기는 6.8배, 2.2배와 31.1배로서 산과 알칼리 처리 공정에 의한 폐수 경감 효과는 상당히 큰 것으로 나타났다. 그리고 고형물의 감소는 백색육 어류에 비하여 적색육 어류가 높은 반면 COD 저감 효과는 백색육 어류에서 크게 나타났다. 알칼리 처리 공정 폐수의 COD

는 수세 처리 공정에 비하여 전갱이와 백조기가 모두 1.3배 개선된 것으로 나타나 산 처리 공정에 비하여 수질 개선효과가 낮은 것으로 나타났다.

Table 1. Solid, total nitrogen (total-N) and COD of waste water from processing

Sample	Jack mackerel			White croaker		
	Conventional	Acid	Alkali	Conventional	Acid	Alkali
Solid (mg/L)	10918.3±59.2	24.0±2.1	25±7.1	152.7±5.8	22.0±11.1	22.7±1.2
Total-N (mg/100 mL)	166.9±13.9	60.9±1.7	100.7±9.3	99.9±31.8	46.8±7.1	67.8±28.1
COD (mg/L)	2292.0±17.4	1182.7±19.7	1776±21.2	1897.3±16.2	960.0±61.6	1493.3±30.3

요약

산과 알칼리 처리에 의한 단백질 회수 공정을 확립하기 위하여 단백질 가용화와 회수를 위한 최적 pH, 이온강도의 영향, 균질화 조건, 마쇄 육에 대한 수도수의 비 및 수율을 검토하고, 산 및 알칼리 처리 단백질 회수 공정에 따른 폐수의 오염 저감 효과를 수세 처리 공정과 비교하였다. 어육 단백질을 추출하기 위한 최적 pH는 2.5와 10.5 부근이었으며, 가용성 단백질의 침전 회수를 위한 최적 pH는 5.0 부근이었다. 추출 용액의 이온강도 증가는 어육 단백질의 추출량을 현저히 감소시키는 것으로 나타났고, 균질화를 위한 최적 조건은 9500 rpm 이하에서 30초였다. 원심분리 부하량과 파괴강도 및 변형 값을 고려한 최적 수량은 어육에 대하여 6배량이었다. 산 혹은 알칼리 처리 공정의 단백질 회수 수율은 수세 처리 공정에 비하여

높았으며, 폐수의 오염 부하량은 현저히 낮은 것으로 나타났다.

참고문헌

- Akahane T.1988. Product development with surimi from fatty species for the US food supply. In *Proceedings of a national technical conference of fatty fish utilization: Upgrading from feed to food*. Raleigh, NC, p 265-276.
- Chang H-S, Feng Y, Hultin HO. 2001. Role of pH in gel formation of washed chicken muscle at low ionic strength. *J Food Biochemistry* 25: 439-457.
- Choi YJ, Park JW. 2000. Feasibility study of new acid-aided surimi processing methods for enzyme-laden Pacific whiting. Abstract No 51A-4 presented at 2000 Annual Meeting of the Institute of Food Technologist. Dallas, TX, USA.
- Choi YJ, Park JW. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J Food Sci* 67: 2962-2969.
- Dagher SM, Hultin HO, Liang Y.2000. Solubility of cod muscle myofibrillar proteins at alkaline pH. *J Aquatic Food Product Technol* 9: 49-59.
- Dewitt CAM, Gomez G, James JM. 2002. Protein extraction from beef heart using acid solubilization. *J Food Sci* 67: 3335-3341.
- Hultin HO, Kelleher SD. 2000. Surimi processing from dark muscle fish. In *Surimi and Surimi Seafood*. Park JW, ed. Marcel Dekker, New York, p 59-78.
- JMP. 2002. *Statistics and graphics guide*. Version 5.0, SAS Institute,

- Cary, NC. p 179-209.
- Kim YS, Park JW, Choi YJ. 2002. Physicochemical characteristics of fish proteins treated at various pH conditions. Abstract No of 56-4 at presented 2002 Annual Meeting of the Institute of Food Technologist. Anaheim, CA, USA.
- Lin TM, Park JW. 1996. Extraction of proteins from Pacific whiting mince at various washing conditions. *J Food Sci* 61: 432-438.
- Lin TM, Park JW, Morrissey MT. 1995. Recovered protein and reconditioned water from surimi processing waste. *J Food Sci* 60: 4-9.
- Morrissey MT, Park JW, Huang L. 2000. Surimi processing waste. In *Surimi and Surimi Seafood*. Park JW, ed. Marcel Dekker, New York, p 127-166.
- NFI. 1991. *A manual of standard methods for measuring and specifying the properties of surimi*. Lanier TC, Hart K, Martin RE, eds. University of North Carolina Sea Grant College Program, Raleigh, NC, USA.
- Nonaka N, Hirata F, Saeki H, Sasamoto Y. 1989. Manufacture of highly nutritional fish meat for food stuff from sardine. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 1575-1581.
- Okada M. 1964. Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 30: 255-261.
- Park JW. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J Food Sci* 59: 525-527
- Park JW. 2001. New developments in surimi and surimi seafood.

Abstract No Th01-1 presented at of 11th World Congress of Food Science and Technology. Seoul, Korea.

- Park JW, Morrissey MT. 2000. Manufacturing of surimi from light muscle fish. In *Surimi and Surimi Seafood*. Park JW, ed. Marcel Dekker, New York, p 23-58.
- Shimizu Y, Toyohara H, Lanier TC. 1992. Surimi production from fatty and dark-fleshed fish species. In *Surimi Technology*. Lanier TC, Lee CM, eds. Marcel Dekker, New York, p 181-207.
- Sikorski ZE, Pan BS, Shahidi F. 1994. *Seafood Protein*. Chapman & Hall, New York, p 13-57.
- Stefannson G, Hultin O. 1994. On the solubility of cod muscle proteins in water. *J Agric Food Chem* 42: 2656-2664.
- Suzuki T. 1981. *Fish and krill protein: Processing technology*. Applied Science Publishers Ltd, London, p 5-61.
- Umemoto S. 1966. A modified method for estimation of fish muscle protein by Biuret method. *Nippon Suisan Gakkaishi* 32: 427-435.
- Undeland I, Kelleher SD, Hultin HO. 2002. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. *J Agric Food Chem* 50: 7371-7379.
- 김용술. 1994. 수질분석. 통영수산전문대학 출판부. 통영, p 174-177.
- 秦忠夫.林力丸. 1971. アミノ酸. クンパク質の分析. 講談社.p 2-7.

제 3 절 산과 알칼리 공정으로 제조한 회수 단백질의 가열 겔에 미치는 근형질 단백질과 NaCl의 영향

서 론

어육 수리미는 수세와 refine 공정을 통하여 지방, 색소, 껍질, 뼈, 근형질 및 근기질 단백질과 같은 가열 겔의 형성과 백색도에 영향을 미치는 불필요한 물질을 제거하고 근원섬유 단백질을 농축한 제품으로서 어육 연제품의 원료로 사용되고 있다. 그러나 일반적인 수세 수리미 공정에 따라 Pacific whiting과 북양 명태 같은 백색육 어류로 제조한 수리미의 수율은 대체로 25% 미만으로 비교적 낮기 때문에(Toyoda et al., 1992; Park et al., 1997) 수율 향상을 위한 공정의 개선과 개발에 관하여 많은 연구가 진행되고 있다.

최근 극단적인 산과 알칼리 pH에서 어육 단백질을 용해시킨 후 등전점 침전을 통해 가용성 단백질을 회수하는 방법이 개발됨에 따라 어종에 따라 수리미의 수율을 크게 개선하게 되었다(Choi and Park, 2002; Undeland et al., 2002). 그러나 이 같은 공정을 이용하여 여러 가지 어류로 제조한 수리미의 수율과 극단적인 산과 알칼리 pH 처리가 가열 겔의 물성에 미치는 영향은 물론, 근형질 단백질이 가열 겔의 물성에 미치는 영향과 근원섬유 단백질의 용해에 기여하는 염의 영향에 대한 검토는 이루어져 있지 않다.

어육의 사후 경직 중의 생화학 및 물리적인 변화는 기능적 특성에 유의적인 변화를 일으키고(Park and Morrissey, 2000), 수리미의 단백질 함량과 수율, 겔 형성능은 사후경직 시기와 밀접한 관련이 있기(Park et al., 1990) 때문에 어획 후 가능한 빠른 시간 내에 가공할 것을 권장하고 있다.

근형질 단백질이 수리미의 가열 겔에 미치는 영향과 관련하여 일치된 견해는 없다. Shimizu and Nishioka(1974)는 어육을 가열할 때 응집한 근

형질 단백질은 근원섬유 단백질에 점착하여 어육 paste의 젤 형성을 방해한다고 보고하였으며, 이는 pelagic fish로 탄성이 강한 젤을 만들지 못하는 타당한 이론적 근거로 생각하고 있다. 그러나 가열 젤 형성 중 actomyosin과 근형질 단백질의 상호작용 형태는 가열 조건에 따라 큰 차이가 있으며(Okazaki et al., 1986), 수세수 중 NaCl 농도의 증가는 잔여 aldolase와 glyderaldehyde -3- phosphate dehydrogenase를 감소시키고 kamaboko의 젤 강도를 증가시킨다고 하였다(Nakagawa et al., 1989). 그리고 근형질 단백질은 근원섬유 단백질의 젤 형성에 긍정적으로 기여하며 근형질 단백질의 가열 응집은 근형질 단백질 젤의 파괴강도와 높은 상관성이 있고, 근형질 단백질의 높은 젤 강도는 열 응고 단백질, 특히 94 K, 40 K 및 26 K 성분들의 높은 함량에 기인한다고 하였다(Morioka and Shimizu, 1990; 1993).

가열 젤화 과정은 염의 첨가에 의한 근원섬유의 해리, 가열 변성에 의한 단백질 구조의 풀림과 기능기의 노출, 3차원 망상 구조를 형성하는 응집의 단계로 진행하기(Roussel and Cheftel, 1990) 때문에 가열 젤을 형성하기 위해서는 염의 첨가가 필수적이다. 그러나 산과 알칼리 공정을 통해 회수한 단백질은 이미 극단적인 pH 처리에 의해 단백질이 상당 부분 변성되어 표면 반응성 기들의 노출이 가열 전에 이루어지기 때문에 수세 처리 회수 단백질과는 다른 젤화 기구를 가질 것으로 예상된다.

본 연구는 산과 알칼리 공정에 의한 여러 어종의 단백질 회수 수율과 가열 젤에 미치는 근형질 단백질과 NaCl의 영향을 검토하기 위하여 5종의 냉동 어류 및 선어를 사용하여 산과 알칼리 처리 공정으로 제조한 회수 단백질의 수율을 고형물의 비로 측정하고, 근형질 단백질과 NaCl을 농도별로 첨가하여 가열 젤의 파괴강도, 변형 및 색도의 변화를 측정하였다.

재료 및 방법

재료

빙장 전갱이 (*Trachurus japonicus*, 체장; 20.8±1.8 cm, 체중; 179.0±31.4 g), 빙장 고등어(*Scomber japonicus*, 체장; 24.5 ± 1.8 cm, 체중; 184.6±36.9 g), 냉동 부세 (*Pseudosciaena crocea*, 체중; 23.5 ± 1.7 cm, 체중; 262.7 ±11.0 g), 냉동 백조기(*Pennahia argentata*, 체장; 18.2±2.4 cm, 체중; 125.0±35.9 g), 냉동 꼬마 민어(*Protonibea diacanthus*, 체장; 21.3±0.2cm, 체중; 139.2±7.1 g)중에서 전갱이와 고등어는 경남 통영 소재의 어시장, 나머지 어류는 부산 소재 어시장에서 각각 구입하여 실험실로 운반한 후 냉동 어류는 실온에서 해동시키고 선어는 그대로 두부와 내장을 제거하고 육만을 절취한 후, meat grinder(M-12S, Kyeonggi, Fujee Korea, Korea)에 마쇄하여 단백질 회수를 위한 시료로 사용하였다.

수율의 측정

수리미의 수율은 어체와 최종 회수 단백질의 수분 함량을 적외선 수분 측정계(FD-600, Kett Electric Laboratory, Tokyo, Japan)로 측정하고 건물 중량으로 환산한 후, 어체에 대한 최종 회수 단백질의 중량 %로 표시하였다.

근형질 단백질의 추출

어육에 2배량의 증류수를 첨가하여 homogenizer(IKA-25 basic, IKA Works, Wilmington, NC, USA)로 8000 rpm에서 30초 동안 조직을 파쇄하고 냉동원심분리기(SUPRA 30K, Hanil Science Industrial Co., Incheon, Korea)로 원심분리(10,000xg, 25분)하여 얻은 상층액과 원심분리 후 남은 잔사에 위와 같은 조작을 통해 얻은 상층액과 합쳐 1 N HCl로 pH 5.0로

조절하고 저온(4℃)에서 30분 동안 방치한 후 원심분리(10,000xg, 25분)하여 얻은 침전물을 근형질 단백질로 사용하였다. 알칼리 처리 회수 단백질에 대하여 1, 3, 5, 7 및 9%의 근형질 단백질을 첨가하여 가열 겔을 조제하였으며, 첨가하지 않은 것을 대조군으로 사용하였다.

회수 단백질의 제조

수세 처리 회수 단백질은 마쇄육에 2배량의 증류수를 가하여 homogenizer(IKA-25 basic, IKA Works, Wilmington, NC, USA)로 8,000 rpm에서 1분 동안 조직을 파쇄한 후 원심분리(10,000xg, 25분)하여 침전물을 수세하는 과정을 2회 반복하고 최종적으로 2배량의 0.1% NaCl 용액으로 수세하여 4% sucrose(CJ Co., Seoul, Korea), 5% sorbitol(LTS powder 20M, PT Sorini Towa Berlian Co., Cangkringmalang, Indonesia), 0.3% polyphosphate(Food Grade, Haifa Chemical Co., Israel)의 냉동변성방지제를 첨가하고 Kitchen aid(Max watts 325, St. Joseph, Michigan, USA)로 잘 혼합하여 제조하였다. 산과 알칼리 처리 회수 단백질은 마쇄한 어육에 6배량의 증류수를 첨가하고 1 N HCl 혹은 1 N NaOH를 사용하여 pH를 2.5와 10.5로 각각 조절하여 어육 단백질을 용해시킨 후 원심분리(10,000xg, 25분)하였다. 중성 지방 등이 포함된 유회층(최상층)과 결체조직, 막지질, 비늘, 뼈 등을 포함하고 있는 바닥층을 버리고 가용성 단백질과 수화 단백질을 포함한 중간층을 회수하여 1 N HCl 혹은 1 N NaOH로 pH 5.0으로 조절하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000xg, 25분)하여 단백질을 회수하였다. 회수한 단백질은 1 N NaOH로 pH 7.0으로 조절한 후 냉동변성방지제를 첨가하여 제조하였다.

가열 젤의 제조

조제한 각각의 회수 단백질에 얼음물과 염을 고르게 뿌리고 food processor(SQ-103, Iljin Co, Korea)로 1분 혼합한 후 비닐 백에 넣어 진공 포장기(Food Saver Ultra, Tilia International Inc., China)를 이용하여 수리미 중의 기포를 제거하고 sausage 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., NY, USA)를 사용하여 collagen tube(1.9 x 20 cm, #180, Nippi Co., Tokyo, Japan)에 충전하였다. 충전한 tube는 90℃의 water bath에서 15분 동안 가열하고 즉시 얼음물에 15분 동안 냉각시켜 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였다. 겔 조제를 위한 수리미의 수분 함량은 얼음물을 사용하여 78%로 조절하였으며 염은 2%를 첨가하였다.

물성과 색도 측정

Okada의 방법(1964)에 따라 실린형의 시료(1.9 x 2.0 cm)위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 rheometer(Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴장도(g)와 변형(mm) 값을 측정하였다. 그리고 겔의 표면 CIE Lab color는 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색차계는 표준 색 plate로 $L^* = 96.83$, $a^* = -0.36$, $b^* = 0.62$ 로 표준화하였으며, 백색도는 $L^* - 3b^*$ 로 계산하였다(1995).

SDS-polyacrylamide gel 전기영동(SDS-PAGE)

수리미 3 g에 27 mL의 5% sodium dodecyl sulfate (SDS) 용액을 첨가하여 homogenizer(IKA-25 basic, IKA Works, Wilmington, NC, USA)로 8000 rpm에서 30초 동안 균질화하여 근형질 및 근원섬유 단백질을 녹이기 위해 80℃에서 30분 동안 항온하였다. 항온한 시료를 원심분리(3,000xg, 15

분)하여 불용성 물질을 제거하고 상층액의 단백질 농도는 Lowry 등의 방법(1951)에 따라 단백질 농도를 측정하였다. 전기영동을 위한 시료의 최종 단백질 농도는 1.00 mg/mL이 되도록 희석하였다. 단백질은 측정 가능한 적정 농도 범위까지 희석되었기 때문에 SDS는 본 실험에서 단백질 농도 측정의 방해 물질로 작용하지 않았다. SDS-PAGE는 5%의 농축 겔과 7.5%의 분리 겔에서 Laemmli의 방법(1970)에 따라 수행하였다. 전기영동이 끝난 겔은 Coomassie brilliant blue R-250에서 하룻밤 염색하였으며, methanol : acetic acid : 증류수(1:1:8, v/v/v)용액에서 탈색하였다. 분자량 측정을 위해 토끼 근육의 myosin (205 kDa), E. coli의 β -galactosidase (116 kDa), 토끼 근육의 phosphorylase b (97 kDa), bovine serum albumin (66 kDa), 난 albumin (45 kDa)과 송아지 적혈구의 carbonic anhydrase (29 kDa)를 포함하는 고분자량 표준 단백질 혼합물(SDS-6H, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA)를 사용하였다.

통계분석

표준 편차와 유의성 검정의 통계분석은 JMP program(2002)의 standard least square로 실시하였으며, 유의차는 $p < 0.05$ 수준에서 검토하였다.

결과 및 고찰

회수 단백질의 수율

산과 알칼리 처리 공정으로 회수한 각 회수 단백질의 수율은 어종에 따라 차이를 보였으나 (Fig. 1), 대체로 수세 회수 단백질의 수율은 25% 내외였으며 전갱이, 부세 및 백조기의 알칼리 처리 회수 단백질의 수율은 각각 31%, 30% 및 33%로서 산 처리 회수 단백질의 수율에 비하여 높은 반면, 냉동 꼬마 민어와 고등어는 산 처리 회수 단백질이 알칼리 처리 회수

단백질에 비하여 수율이 높은 것으로 나타났다. 대부분의 어종에서 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 수율이 수세 처리 회수 단백질에 비하여 3-15% 높았다. 수세 처리 공정으로 제조한 Pacific whiting의 수리미 수율은 21.4%이며(Lee et al., 1990), 몇 가지 어종의 수세 수리미 수율을 측정 한 결과 21-25% 내외라고 보고(Crawford et al., 1972; Toyoda et al., 1992; Park et al., 1997;)한 것에 미루어 수율 측면에서는 산과 알칼리 처리 공정이 수세 공정에 비하여 우수하였다. 이 같은 수율의 증가는 수세 처리 공정에서는 회수되지 않는 근형질 단백질의 회수에 기인하기 때문이다. 그러나 수율은 어종에 따라 차이가 있기 때문에 어종에 따른 공정의 선택이 중요할 것으로 여겨진다.

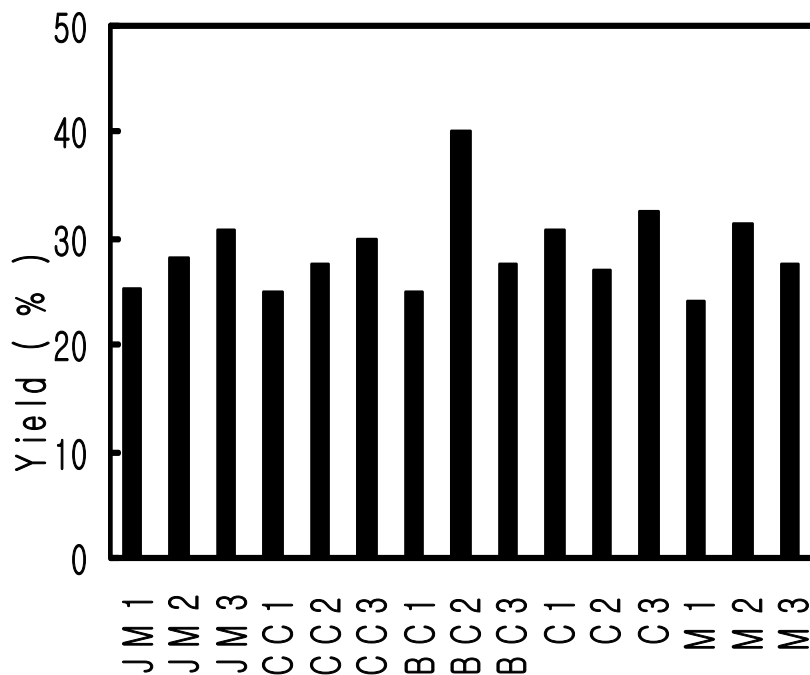


Fig. 1. Yield of surimi from conventional, acidic and alkaline processing. JM, jack mackerel; CC, croceine croaker; BC, blackspotted croaker; C, croaker; M, mackerel : 1, conventional processing; 2, acidic processing; 3, alkaline processing

산과 알칼리 회수 단백질 가열 젤의 물성과 색

수분 함량 78%의 수세 회수 단백질과 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 물성을 비교한 결과, 전갱이, 꼬마 민어, 고등어는 수세 회수 단백질의 젤 강도가 산과 알칼리 처리 회수 단백질에 비하여 높았으나, 부세와 백조기는 알칼리 수리미의 젤 강도가 수세 회수 단백질 젤 강도와 비슷하거나 같은 것으로 나타났다(Fig. 2). 한편 산 처리 회수 단백질의 가열 젤 강도는 모든 어종에서 수세 처리 회수 단백질과 알칼리 처리 회수 단백질에 비하여 낮았다. 이 같은 결과는 어육 단백질의 변성은 알칼리 pH 영역보다 산성 pH 영역에서 더 민감하며, 알칼리 pH 조건이 단백질의 cross-linking을 비롯한 화학적 수식에 적당하기 때문인 것으로 생각된다. 이 같은 결과는 산 처리 회수 단백질의 myosin heavy chain과 actin이 수세 혹은 알칼리 처리 회수 단백질에 비하여 많은 분해가 일어난 SDS-PAGE 상의 band 형태로 확인할 수 있었다.

산과 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤의 변형 값은 고등어를 제외하고는 수세 처리 회수 단백질의 가열 젤에 비하여 0.3-2.1 mm 정도 낮았으며, 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤은 비슷한 수준의 변형 값을 나타내었다(Fig. 3). 이 같이 낮은 변형 값은 극단적인 pH 처리에 의한 어육 단백질의 변성과 수세 처리 회수 단백질에 비하여 산과 알칼리 처리 회수 단백질에는 많은 양의 비근육 단백질 성분들이 남아있기 때문으로 생각된다. Choi and Park(2002)은 Pacific whiting에서 얻은 산 처리 회수 단백질의 파괴강도와 변형 값은 1회 수세하여 회수한 단백질보다는 높고 3회 수세하여 회수한 단백질 보다는 낮다고 하였으며, 6일 동안 빙장한 청어의 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 파괴강도와 변형 값은 선어에 비하여 낮은 값을 보이고 이 같은 결과는 산과 알칼리 처리 회수 단백질에 포함된 지질의 산화에 기인한 것으로 여겨진다(Undeland et al., 2002).

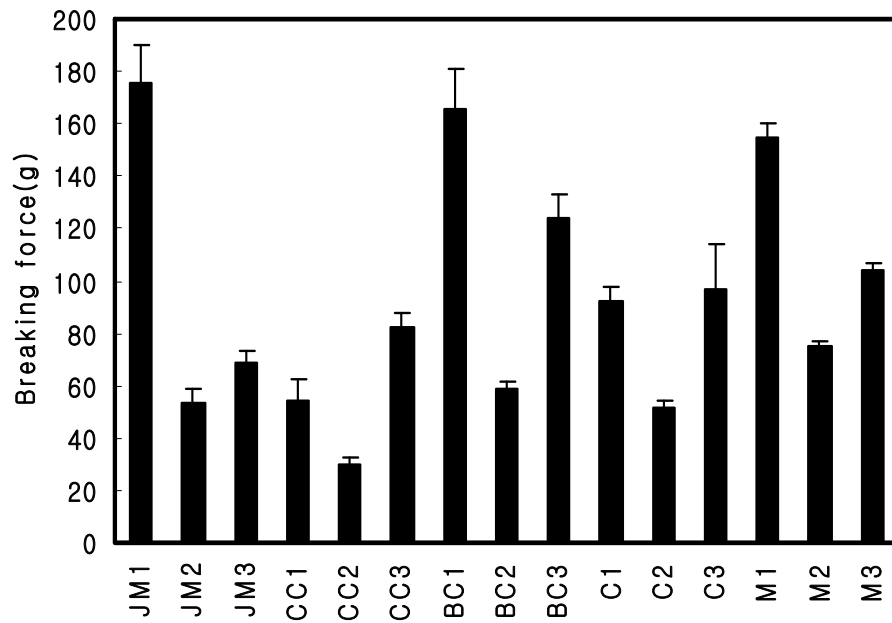


Fig. 2. Breaking force of heating gel from conventional, acidic and alkaline processing by punch test.

JM, jack mackerel; CC, croceine croaker; BC, blackspotted croaker; C, croaker; M, mackerel; 1, conventional processing; 2, acidic processing; 3, alkaline processing

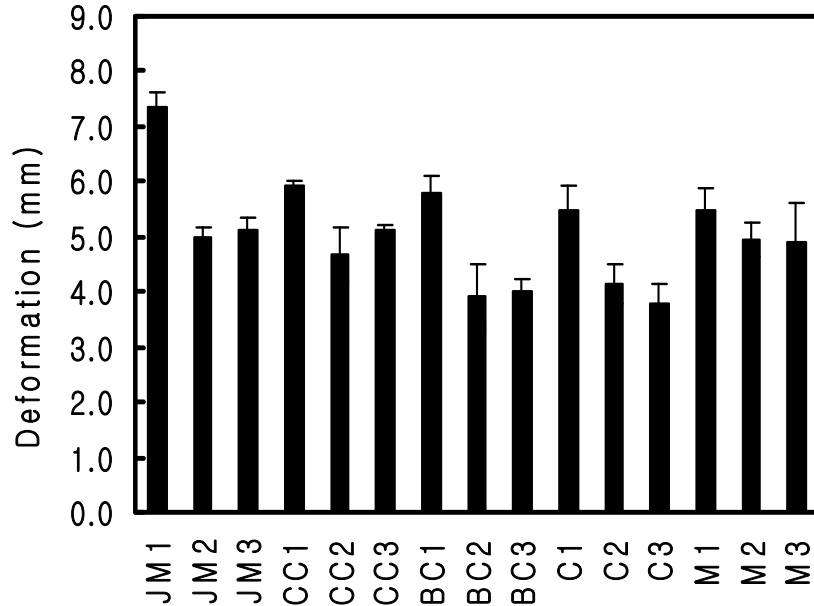


Fig. 3. Deformation of heating gel from conventional, acidic and alkaline processing by punch test.

JM, jack mackerel; CC, croceine croaker; BC, blackspotted croaker; C, croaker; M, mackerel; 1, conventional processing; 2, acidic processing; 3, alkaline processing.

산과 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤의 백색도는 3회 수세하여 제조한 회수 단백질에 비하여 낮았으며, 적색육 어류일수록 백색도에 큰 차이 보였다. 고등어를 제외하고는 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤의 백색도가 산 처리 회수 단백질의 가열 젤에 비하여 같거나 다소 낮았다(Fig. 4). 수세 처리 회수 단백질의 가열 젤의 백색도가 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤에 비하여 높은 것은 수세 과정을 통해 다량의 혈색소인 hemoglobin과 육 색소인 myoglobin이 제거되어 황색도가 감소하기 때문이다.

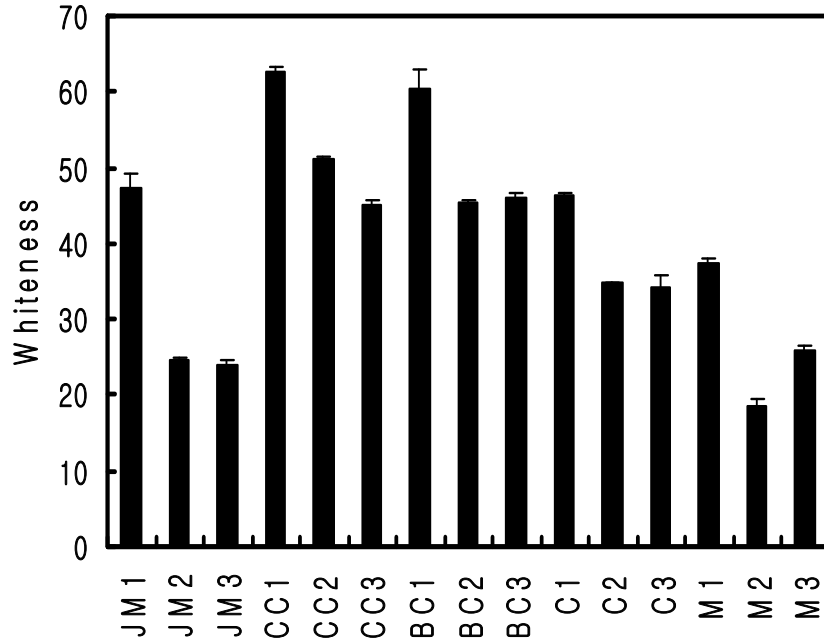


Fig. 4. Whiteness of heating gel from conventional, acidic and alkaline processing.

JM, jack mackerel; CC, croceine croaker; BC, blackspotted croaker; C, croaker; M, mackerel; 1, conventional processing; 2, acidic processing; 3, alkaline processing

가열 젤의 물성에 미치는 근형질 단백질의 영향

백조기의 알칼리 처리 회수 단백질에 근형질 단백질을 첨가하여 가열 젤을 조제한 후 가열 젤의 물성과 백색도에 미치는 근형질 단백질의 영향을 측정하였다(Fig. 5). 파괴강도와 변형 값은 근형질 단백질을 첨가했을 때 증가하였으나, 파괴강도 값은 1-7%의 첨가 시에는 유의적인 차이를 보이지 않았고, 9%를 첨가했을 때 1-7%에 비하여 다소 증가하는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 그리고 변형 값은 1-9%의 범위 내에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이 같은 결과는 근형질 단백질의 첨가가 파괴강도를 증가시

키지만, 일정 농도 범위 내에서는 큰 차이를 보이지 않음을 뜻한다. 근형질 단백질은 어육의 젤 형성능을 저해하기 때문에(Okada, 1964; Shimizu and Nishioka, 1974; Hashimoto et al., 1985) 수리미 가열 젤의 탄력을 증강시키기 위해 수세 공정을 통한 근형질 단백질의 제거는 필요하다고 하였다. 그러나 10-20%의 근형질 단백질을 첨가한 고등어 수리미의 가열 젤의 강도는 오히려 증가했으며(Morioka et al., 1992), 근형질 단백질이 근원섬유의 젤 형성능을 방해하지 않으며, 근형질 단백질을 구성하는 단백질의 종류에 따라 형성된 젤의 특성이 다르다고 하여(Morioka and Shimizu, 1993) 근형질 단백질이 어육의 가열 젤에 미치는 영향에 대하여 일치된 견해를 보이지 않고 있다.

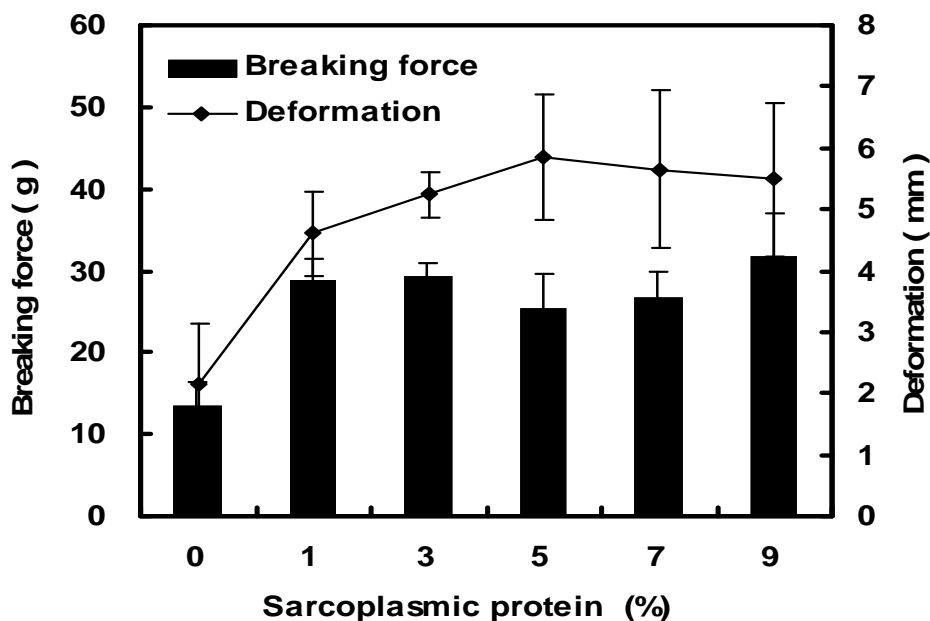


Fig. 5. The effect of sarcoplasmic protein on breaking force and deformation of heating gel from croaker by alkaline processing.

백색도는 첨가한 근형질 단백질의 함량이 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타나(Fig. 6), hemoglobin과 myoglobin에 의한 황색도의 증가에 따른 백색도의 감소를 뚜렷이 반영하였다.

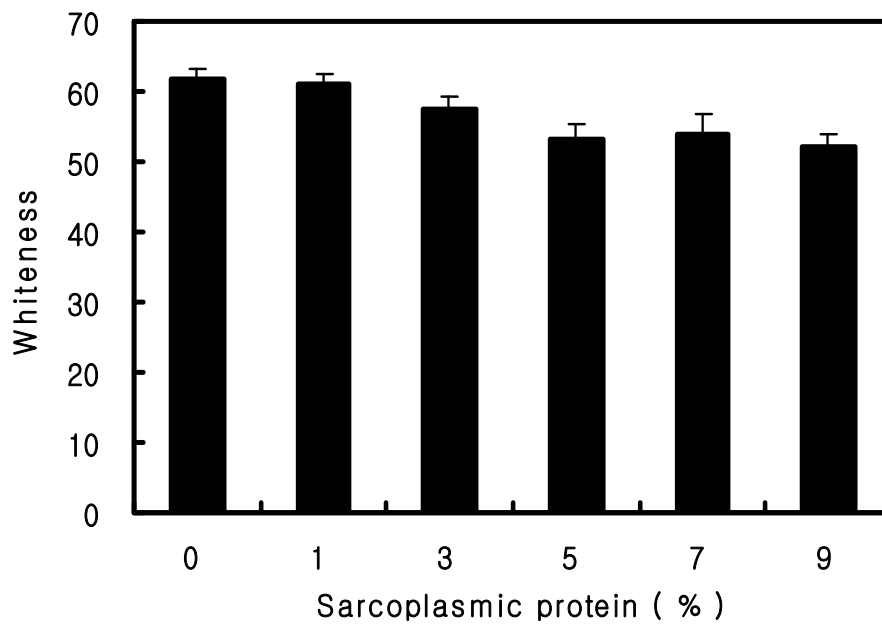


Fig. 6. The effect of sarcoplasmic protein on whiteness of heating gel from croaker by alkaline processing.

가열 젤의 물성에 미치는 NaCl의 영향

산과 알칼리 처리 공정으로 회수한 단백질의 가열 젤 형성에 미치는 염의 영향을 파괴강도, 변형 값 및 백색도를 측정하여 조사하였다. 이때 수분의 함량이 물성에 미치는 영향을 피하기 위해 수분 함량은 78%가 되도록 조정하였다.

파괴강도 값은 첨가하는 염의 함량이 증가함에 따라 유의적으로 감소하

였으며($p < 0.05$), 감소의 정도는 적색육 어류인 전갱이가 백색육 어류인 백조기에 비하여 크게 일어났다. 전갱이의 경우는 염을 첨가하지 않은 젤에 비하여 3%의 NaCl을 첨가한 젤에서 56%까지 감소하였으며, 백조기는 38%까지 감소하였다. 그러나 변형 값은 NaCl 첨가 농도에 따른 유의적인 변화는 보이지 않았다(Fig.7). 회수 단백질의 가열 젤을 형성하기 위해 첨가하는 염은 myosin을 녹이고 가열 중에 myosin의 망상구조에 기여함으로써 탄성적인 젤의 형성에 중요한 역할을 행사하기 때문에 수리미의 가열 젤 형성을 위해 NaCl의 첨가는 필수적이며(Niwa, 1992), 염의 첨가량이 1 M 일 때까지 젤 강도는 증가하고 그 이상일 경우는 오히려 감소한다고 하였다(Shimizu and Shimiy, 1955). 그리고 Pacific whiting 수세 수리미는 2.5%의 NaCl을 첨가했을 때 때 가장 높은 젤 강도를 보인다고 보고하였다(Chung et al., 1993).

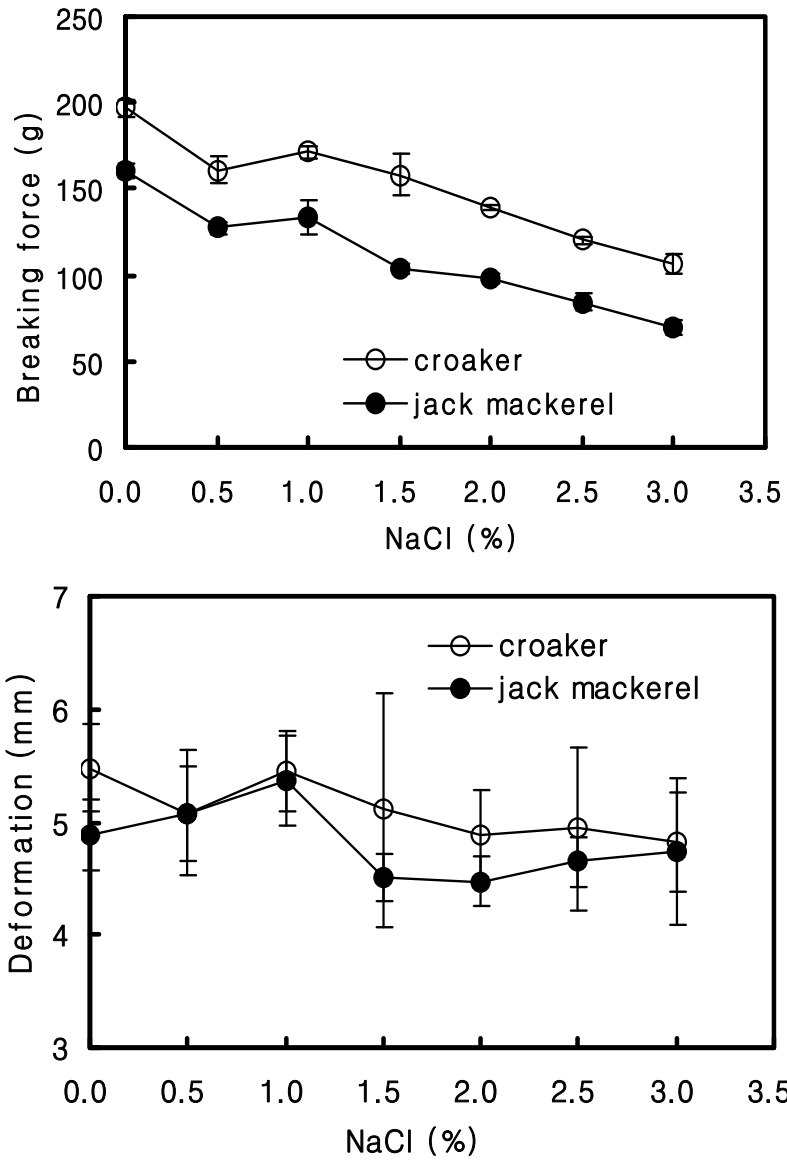


Fig. 7. The effect of NaCl concentration on breaking force(top) and deformation(bottom) of heating gel from alkaline surimi of croaker and jack mackerel.

그러나 본 실험의 결과와 같이 NaCl의 첨가 농도가 증가함에 따라 파괴

강도가 감소하는 것은 극단적인 pH 처리에 의해 myosin 분자의 변성과 풀림이 일어나 노출된 표면의 반응성 잔기에 의한 충분한 화학결합과 망상 구조 형성을 통해 젤을 형성할 수 있으나, 염의 첨가가 변성에 의해 노출된 반응성 기들의 분자 간 인력을 증가시켜 망상 구조의 형성을 방해하기 때문으로 판단된다. 젤화 기구와 젤의 외관은 단백질 분자 내 인력적인 소수성 상호작용과 척력의 정전기적 상호작용에 의해 조절되며(26), 염의 첨가는 Pacific whiting으로 제조한 산과 알칼리 수리미의 파괴강도 값을 저하시킨다고 하였다(Kim et al., 2002). 그러나 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 형성 기구는 장차 분자 내 혹은 분자간의 결합과 관련하여 충분히 검토되어야 할 것이다.

가열 젤의 백색도는 NaCl의 첨가량의 증가와 더불어 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 8).

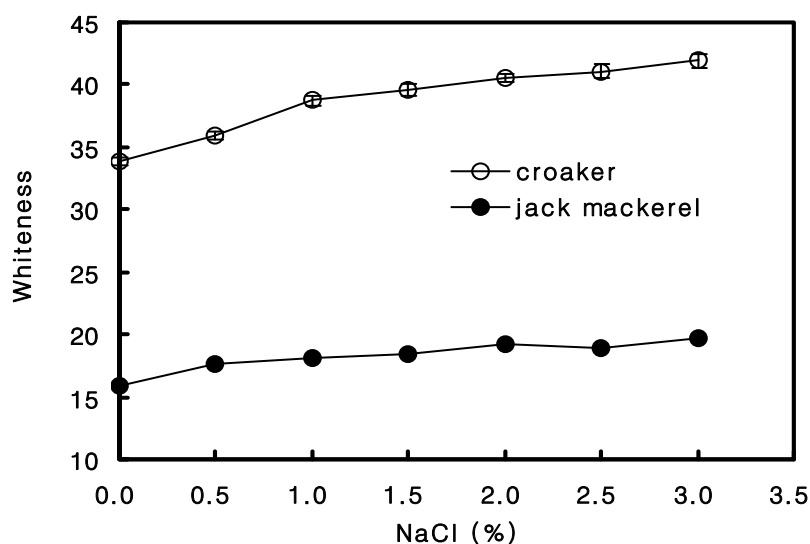


Fig. 8. The effect of NaCl concentration on whiteness of heating gel from alkaline surimi of croaker and jack mackerel.

SDS-PAGE 전기영동 상

산 처리 회수 단백질의 myosin heavy chain(MHC)과 actin은 수세 및 알칼리 처리 회수 단백질에 비하여 많이 분해되었으나, 저분자에 해당하는 myosin light chain에서는 큰 변화를 보이지 않았다(Fig. 9). 그리고 수세와 알칼리 처리 회수 단백질 사이에서는 MHC와 actin 에 해당하는 band에 큰 차이를 보이지 않았다. MHC와 actin의 분해가 myosin 분자와 actin 분자의 산 가수분해에 의한 것인지 산성 pH 영역에서 활성을 보이는 효소에 의한 것인지는 분명치 않으나, 수세 혹은 알칼리 처리 회수 단백질에 비해 낮은 산 처리 회수 단백질의 가열 젤 특성과 상관이 있는 것으로 판단된다. Choi and Park(2002)은 Pacific whiting의 산 처리 회수 단백질은 MHC와 actin에 해당하는 band가 크게 분해되어 각각 minor band를 생성하였으나, 수세 처리 회수 단백질과 알칼리 처리 회수 단백질에서는 이 같은 band가 관측되지 않았으며, 산 처리 후에 124 kDa, 78 kDa과 70 kDa의 고분자와 34 kDa와 28 kDa 사이에 많은 저분자들이 생성되었다고 하였다. 그리고 빙장 한 청어로 제조한 산 처리 회수 단백질은 신선한 청어로 제조한 산 처리 회수 단백질에 비하여 MHC의 분해가 증가하였고, 산 혹은 알칼리 pH에서 처리 시간이 증가함에 따라 분해 속도가 증가한다고 하였다(Undeland et al., 2002). 본 실험의 결과, 이들의 보고에 비하여 산 처리 회수 단백질의 MHC와 actin의 급속한 분해는 극단적인 pH에서 다음 공정까지의 처리 시간의 지연에 따른 영향으로 판단된다. 이 같은 결과는 극단적인 pH에서 근육 단백질 처리 시간의 단축은 MHC와 actin의 분해를 최소화함으로써 가열 젤의 파괴강도와 변형 값의 증가에 기여할 수 있음을 의미한다.



High Croaker High Jack mackerel
 marker SAR 2.5 7.0 10.5 marker SAR 2.5 7.0 10.5

Fig. 9. SDS-PAGE patterns of surimi from sarcoplasmic protein(SAR), conventional(7.0), acidic(2.5) and alkaline(10.5) processing of croaker and jack mackerel.

요약

pH 2.5와 pH 10.5에서 어육 단백질을 용해시키고, pH 5.0 부근에서 침전

한 단백질을 회수한 후, pH를 중성 부근으로 제조절하여 제조한 7종 어류의 산과 알칼리 처리 회수 단백질의 수율을 수세 처리 회수 단백질의 수율과 비교하고 이들 회수 단백질의 가열 젤에 미치는 근형질 단백질과 NaCl의 영향을 punch test와 색차계로 측정하였다.

알칼리 처리 회수 단백질의 수율은 수세 처리와 산 처리 회수 단백질에 비하여 높았으나, 파괴강도, 변형 값 및 백색도는 낮았다. 근형질 단백질을 첨가한 가열 젤의 파괴강도는 첨가하지 않은 젤에 비하여 유의적으로 높은 파괴강도와 변형 값을 가졌으나, 백색도는 다소 감소하였다. 염은 첨가 농도가 증가함에 따라 파괴강도 값은 감소하였으나, 변형 값은 유의적인 차이를 보이지 않았고, 백색도는 다소 증가하는 것으로 나타났다. SDS-PAGE 상에서 산 처리 회수 단백질의 myosin heavy chain와 actin은 급속히 분해하였으며, 수세 처리 회수 단백질과 알칼리 처리 회수 단백질 사이에는 큰 차이가 없었다. 알칼리 처리 회수 단백질의 수율과 가열 젤의 파괴강도, 변형 값 및 백색도에 미루어 알칼리 처리 회수 단백질의 제조 공정은 kamaboko 형의 연제품 제조에 활용 가능한 것으로 판단하였다.

참고문헌

- Choi YJ, Park JW. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J Food Sci* 67: 2962-2969.
- Chung YC, Richardson L, Morrissey MT. 1993. Effect of pH and NaCl on gel strength of Pacific whiting surimi. *J Aquatic Food Product Technol* 2: 19-35.
- Crawford DL, Law DK, Gabbitt JK. 1972. Yield and acceptability of machine separated minced flesh some marine food fish. *J Food*

Sci 37: 551–553.

- Damodaran, S.1996. Amino acids, peptides, and proteins. In *Food Chemistry*. Fennema OR, ed. Marcel Dekker Inc, New York, p 321–429.
- Hashimoto A, Katoh N, Nozaki H, Arai K. 1985. Inhibiting effect of various factors in muscle of Pacific mackerel on gel forming ability. *Nippon Suisan Gakkaishi* 51: 425–432.
- JMP. 2002. Standard least squares. In *Statistics and Graphics Guide*. SAS Institute, Cary, NC, p 179–209.
- Kim YS, Park JW, Choi YJ. 2002. Physicochemical characteristics of fish proteins treated at various pH. Abstract No 56–4 presented at 2002 Annual Meeting of the Institute of Food Technologists. Anaheim, CA, USA.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685.
- Lee MV, Lampila LE, Crawford DL.1990. Yield and composition of surimi from Pacific whiting and the effect of various protein additives on gel strength. *J Food Sci* 55: 83–86.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 256–275.
- Morioka K, Kurashima K, Shimizu Y. 1992. Heat-gelling properties of fish sarcoplasmic protein. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 767–772.
- Morioka K, Shimizu Y. 1990. Contribution of sarcoplasmic proteins to gel formation of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56:

929-933.

- Morioka K, Shimizu Y. 1993. Relationship between the heat-gelling property and composition of fish sarcoplasmic proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59: 1631.
- Nakagawa T, Nagayama F, Ozaki H, Watabe S, Hashimoto K. 1989. Effect of glycolytic enzymes on the gel-forming ability of fish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 1045-1050.
- Ninomiya K, Ookawa T, Tsuchiya T, Masumoto JJ. 1990. Concentration of fish water soluble protein and its gelation properties. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56: 1641-1645.
- Niwa E. 1992. Chemistry of surimi gelation. In *Surimi Technology*. Lanier TC, Lee CM, eds. Marcel Dekker Inc., New York, p 389-427.
- Okada M. 1964. Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 30: 255-261.
- Okazaki E, Kanna K, Suzuki T. 1986. Effect of sarcoplasmic protein on rheological properties of fish meat gel formed by retort-heating. *Nippon Suisan Gakkaishi* 52: 1821-1827.
- Park JW. 1995. Surimi gel colors as affected by moisture content and physical conditions. *J Food Sci* 60: 15-18.
- Park JW, Korhonen RW, Lanier TC. 1990. Effect of rigor mortis on gel-forming properties of surimi and unwashed mince prepared from tilapia. *J Food Sci* 55: 353-360.
- Park JW, Lin TM, Yongsawatdigul J. 1997. New developments in manufacturing of surimi and surimi seafood. *Food Reviews*

International 13: 577-610.

- Park JW, Morrissey MT. 2000. Manufacturing of surimi from light muscle fish. In *Surimi and Surimi Seafood*. Park JW, ed. Marcel Dekker Inc., p 23-58.
- Roussel H, Cheftel JC. 1990. Mechanism of gelation of sardine proteins: influence of thermal processing and of various additives on the texture and protein solubility of kamaboko gels. *Int J Food Sci Technol* 25: 260-280.
- Shimizu Y, Nishioka F. 1974. Interactions between horse mackerel actomyosin and sarcoplasmic proteins during heat coagulation. *Nippon Suisan Gakkaishi* 40: 231-234.
- Shimizu Y, Simidu W. 1955. Studies on jelly strength of kamaboko-IX. On influence of salts (2)-sodium chloride. *Nippon Suisan Gakkaishi* 21: 501
- Toyoda K, Kimura I, Fujita T, Noguchi SF, Lee CM. 1992. The surimi manufacturing process. In *Surimi Technology*. Lanier TC, Lee CM, eds. Marcel Dekker Inc., New York. p 79-112.
- Undeland I, Kelleher SD, Hultin HO. 2002. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. *J Agric Food Chem* 50: 7371-7379.

제 4절 냉동 백조기 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화와 최소 비용화

서론

근원섬유 단백질의 농축물에 해당하는 수리미는 수산 연제품의 주요 구성분으로 사용하고 있으며, 수리미 가열 젤의 기능적 특성과 품질은 조직과 색에 의해 결정된다(NFI, 1991). 수리미의 등급은 생산 회사에 따라 차이가 있으나, 적절한 물성을 나타내는 범위 내에서 기능성, 색 및 제조 단가를 최소로 하고 적절한 물성을 부여하기 위해 여러 등급과 어종의 수리미, 전분 및 비근육 단백질을 혼합하여 사용하고 있다(Yoon et al., 1997; Choi et al., 1999).

전분은 수리미-전분 젤의 충전제 역할을 하기 때문에 수리미 제품의 중요한 기능성 첨가물이며, 수리미 함량의 저감과 더불어 젤 강도를 유지하거나 냉동 냉장 제품의 저장 안정성을 확보하기 위해 4-12%의 수준으로 사용하고 있다(Yoon et al., 1997; Park, 2000). 그리고 비근육 단백질은 전분과 마찬가지로 수리미 양을 절감하여 제품의 단가를 낮추고 기능성을 개선하기 위해 첨가하고 있다. 비근육 단백질 중 소혈청단백질과 난백단백질의 첨가는 수리미 가열 젤의 전단응력과 변형을 증가시키고(Chang-Lee et al., 1990; Park, 1994), 단백질 분해효소에 의한 수리미 젤의 붕괴를 방지한다(Hamann et al., 1990). 마쇄 정어리 젤에 미치는 난백과 대두 단백질은 품질이 좋은 어육 단백질의 젤화는 방해하지만, 품질이 낮은 마쇄육의 젤 강도를 증가시키는 효과가 있어서 비근육 단백질의 젤 강화 효과는 어육의 품질에 의존한다(Gomez-Guillen et al., 1996). pH 조절을 통한 어육 단백질의 용해와 침전을 이용하여 회수한 어육 단백질은 pH 변성에 의한 물성 저하와 잔존하는 근형질 단백질에 의한 백색도 감소를 초래하기 때문에

(Park et al., 2003a; Park et al., 2003b), 전분과 비근육 단백질의 첨가는 pH 조절로 제조한 알칼리 수리미의 가열 젤 강도와 백색도를 개선할 것으로 예상하였다.

본 연구는 pH 조절을 통해 용해하고 회수한 어육 단백질의 가열 젤 강도에 미치는 전분과 비근육 단백질의 영향을 검토할 목적으로 3종류의 전분(감자, 옥수수, 밀)과 4종류의 비근육 단백질(유장, 대두, 난백, 소혈청)이 가열 젤의 강도와 백색도에 미치는 영향을 punch test와 색도로 측정하고, 가장 효과적인 전분과 비근육단백질을 2 수준 fractional factorial design으로 선별한 후, 선별한 전분과 비근육 단백질의 최적 첨가 비율을 mixture design으로 결정하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 냉동 백조기(*Pennahia argentata*; 체장, 18.2 ± 2.4 cm, 체중, 125.0 ± 35.9 g)는 경남 통영시 소재의 어시장에서 구입하여 실험실로 운반하였다. 실온에서 해동시킨 후 두부와 내장을 제거하고 육만을 절취하여 수리미 제조를 위한 시료어로 사용하였다.

실험에 사용한 감자, 옥수수 및 밀 전분은 삼양사(서울, 한국)에서 구입하였으며, 비근육 단백질은 유장단백질(Nutrilac 7723, MD Foods Ingredients Union, NJ, USA), 대두단백질 농축물(Supro 538, Protein Technology International, St. Louis, MO, USA), 건조 난백(Prinegg, Cameron, WI, USA) 과 소혈청단백질(AMPC, Ames, IA, USA)를 사용하였다.

회수 단백질의 제조

수세 단백질은 다음과 같이 회수하였다. 즉 마쇄한 어육에 2배량의 증류수를 가하여 8000 rpm(IKA-25 basic homogenizer, IKA Works, Wilmington, NC, USA)에서 1분 동안 균질화하고 원심분리(SUPRA 22K, Hanil Science Industrial, Dajeon, Korea; 10,000 x g , 25분)하였다. 잔사를 2배량의 증류수에 현탁시키고 1점의 가아제로 여과하여 지방과 근기질 단백질을 제거한 후 원심분리하고, 잔사는 0.2%의 NaCl 용액에 현탁시킨 후 동일한 조건에서 원심분리하였다. 최종적으로 얻은 잔사에 냉동변성방지제로 5% sorbitol, 4% sucrose와 0.3% sodium polyphosphate를 혼합하여 수세 처리 회수 단백질로 사용하였다.

그리고 알칼리 처리 회수 단백질은 마쇄한 어육에 6배량의 증류수를 첨가하여 8000 rpm (IKA-25 basic homogenizer, IKA Works, Wilmington, NC, USA)에서 1분 동안 균질화하고 pH 10.5 (0.1 N NaOH)으로 조정하여 어육 단백질을 용해시킨 후 원심분리(10,000 x g, 25분)하였다. 중성 지방 등이 포함된 유회층(최상층)과 결체조직, 막지질, 비늘, 뼈 등을 포함하고 있는 최저층을 버리고 가용성 단백질과 수화 단백질을 포함한 중간층을 회수하여 pH 5.0 (0.1 N HCl)으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000x g, 25분)하여 단백질을 회수하였다. 회수한 단백질은 1 N NaOH로 pH 7.0으로 조절한 후 냉동변성방지제(5% sorbitol, 4% sucrose, 0.3% sodium polyphosphate)를 첨가하여 제조하였다.

가열 젤의 제조

최적의 전분과 비근육 단백질을 선택하기 위하여 2 수준 fractional factorial로 설계한 혼합비에 따라 전분과 비근육 단백질을 회수 단백질과 혼합하고(Table 1, 2), 최종 수분 함량이 78%가 되도록 얼음물을 첨가하여

kitchen aid (Max watt 325, St. Joseph, MI, USA)로 3분 동안 혼합하였다. 혼합물을 비닐 백에 넣어 진공 포장기(Food Saver Ultra, Tilia International Inc., China)로 paste 중의 기포를 제거하고 sausage 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., New York, NJ, USA)를 사용하여 collagen tube (1.9 x 20 cm, #180, Nippi Co., Tokyo, Japan)에 충전하였다. 충전한 tube는 90°C의 water bath에서 15분 동안 가열하고 즉시 얼음물에 15분 동안 냉각시켜 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였으며, 수세 회수 단백질은 2%의 염을 첨가하였으며, 알칼리 처리 회수 단백질은 염을 첨가하지 않고 가열 젤을 제조하였다.

물성과 색도 측정

Okada의 방법(1964)에 따라 실린형의 시료(1.9 x 2.0 cm)위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 rheometer (Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴강도(g)와 변형(mm) 값을 측정하였다.

그리고 젤의 표면 CIE Lab color는 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색차계는 표준 색 plate로 $L^* = 96.83$, $a^* = -0.36$, $b^* = 0.62$ 로 표준화하였으며, 백색도는 $L^* - 3b^*$ 로 계산하였다(1994).

가열 젤의 미세구조 관측

가열 젤을 1mm³의 크기로 세절하고 2.5% glutaraldehyde와 1% osmium tetroxide로 각각 2시간 동안 1차 및 2차 고정하였다. 고정한 시료를 0.1 M phosphate 완충액(pH 7.2)로 세척한 후 50, 70, 80, 90, 95 및 99% ethyl alcohol로 실온에서 20분 동안 탈수하였다. Propylene oxide로 30분 동안 2회 치환하고, Epon 혼합물과 Epon A+B 혼합물로 2시간 침투시킨 후

Epson 812로 포매하였다. 포매한 시료를 37℃에서 12시간 열중합한 후 microtome(LKB, Nova, Sweden)으로 0.5-1 um의 두께로 절단하여 toluidine blue로 단염색하고 광학현미경으로 관찰 부위를 다듬었다. 이를 200 mesh의 copper gride에 부착시키고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(JEM 1200EX-II, JEOL, Japan)으로 관측하였다.

통계분석

2수준 fractional factorial 및 mixture design은 JMP program(2002)로 실시하였다.

Table 1. Starch formulation by two-level fractional factorial design

Ex p. No	Starch (g) ¹⁾			Response		
	pota to	co rn	whe at	Breaking force (g) ²⁾	Deformation (mm) ²⁾	Whiteness
1	0	0	0	102.6±4.8	5.54±0.20	18.0±1.0
2	0	0	2.1	86.8±5.4	5.05±0.36	20.1±0.3
3	0	2.1	0	89.3±4.1	5.00±0.15	20.2±0.4
4	0	2.1	2.1	72.5±4.4	4.19±0.44	22.8±0.5
5	2.1	0	0	91.8±3.3	5.14±0.20	19.6±0.5
6	2.1	0	2.1	79.2±4.1	4.60±0.23	21.9±0.2
7	2.1	2.1	0	78.3±3.3	4.65±0.27	20.8±0.4
8	2.1	2.1	2.1	57.3±3.5	3.81±0.63	23.2±1.1

1) The sum of starch, alkaline surimi and ice water was adjusted to 70 g without salt.

2) The breaking force and deformation values were assayed by punch test using cylinder-type sample(1.98 x 2.0 cm).

Table 2. Non-muscle protein formulation by two-level fractional factorial design

Exp. No.	Non-muscle protein (g) ¹⁾				Response		
	WP	SPC	EW	BPP	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Whiteness
1	0	0	0	0	84.3±1.0	5.33±0.12	19.1±0.6
2	1.8	0	0	0	55.8±5.3	4.61±0.37	19.6±0.5
3	0	1.8	0	0	42.0±1.6	3.97±0.25	21.1±0.5
4	1.8	1.8	0	0	28.8±1.5	3.32±0.37	23.0±0.5
5	0	0	1.8	0	66.8±3.3	4.29±0.43	20.1±0.7
6	1.8	0	1.8	0	67.6±3.1	4.50±0.24	22.6±0.6
7	0	1.8	1.8	0	59.2±1.9	4.12±0.28	24.5±0.3
8	1.8	1.8	1.8	0	83.4±9.5	4.65±0.09	25.3±0.7
9	0	0	0	1.8	81.0±0.9	5.04±0.16	22.1±0.4
10	1.8	0	0	1.8	89.0±6.1	5.21±0.30	23.2±0.2
11	0	1.8	0	1.8	71.8±4.4	4.90±0.35	25.7±0.3
12	1.8	1.8	0	1.8	103.6±5.9	5.54±0.15	26.5±0.3
13	0	0	1.8	1.8	108.8±5.5	5.13±0.37	22.4±0.5
14	1.8	0	1.8	1.8	153.0±5.2	5.43±0.17	23.2±0.2
15	0	1.8	1.8	1.8	115.2±4.5	5.09±0.22	25.7±0.3
16	1.8	1.8	1.8	1.8	163.6±2.9	5.44±0.27	26.5±0.3

1) The sum of non-muscle protein, alkaline surimi and ice water was adjusted to 60 g without salt.

2) The breaking force and deformation values were assayed by punch test using cylinder-type sample(1.98 x 2.0 cm).

결과 및 고찰

젤 물성과 색에 미치는 전분의 영향

Table 1에 따라 알칼리 처리 회수 단백질과 전분을 8가지 형태로 배합

하고 가열 젤을 조제한 후 반응 값으로 파괴강도, 변형 값 및 백색도를 측정하여 전분 종류가 물성에 미치는 영향을 조사한 결과(Fig. 1), 사용한 전분 모두 첨가량이 증가함에 따라 파괴강도와 변형 값은 감소하는 반면 백색도는 증가하는 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 전분의 함량이 증가할수록 수리미의 함량은 상대적으로 줄었기 때문으로 생각된다. 사용한 전분 중 감자전분이 옥수수 및 밀 전분에 비하여 파괴강도와 변형 값의 감소 정도가 비교적 적은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 전분의 농도가 증가함에 따라 명태 수리미 가열 젤의 강도는 감소하고 RA급에 비하여 A급에서 전분 종류가 젤 강도에 미치는 영향은 크며 감자와 수식 옥수수 전분이 젤 강도에 미치는 영향이 밀, waxy maize 및 옥수수 전분에 비하여 적다는 Choi 등의 보고(1999)와 거의 일치하였다. 수리미 식품에서 전분은 수리미 함량 감소에 따른 젤 강도를 유지하거나 냉장 혹은 동결 제품의 저장 안정성을 확보하기 위해 사용한다(Park, 2000).

3가지 전분 중 젤 강도 감소 정도가 가장 적은 감자 전분을 1-11%까지 회수 단백질에 첨가하여 제조한 가열 젤의 파괴강도와 변형 값의 변화를 측정한 결과(Fig. 2), 파괴강도 값은 전분의 농도 증가와 더불어 감소하였고, 변형 값은 1% 첨가 구에서 가장 높았지만 농도에 따른 큰 차이는 보이지 않았다 ($p < 0.05$). Park(1995)은 전분 농도가 증가함에 따라 전단 응력 값은 감소하나 전분 농도 12% 첨가 시까지 전단 변형은 거의 변하지 않는다고 보고하여 본 실험의 변형 결과와 유사하였다. Choi 등(1999)은 전분의 형태와 함량은 수리미 젤의 조직과 색에 큰 영향을 미치며, 8% 이상의 첨가는 젤 강도를 감소시킨다고 하였다. 본 연구에서 전분의 첨가는 젤의 백색도를 개선하는 것으로 나타났다(Fig.3). 전분을 첨가한 젤의 색은 전분 농도와 전분 특성에 따라 다르지만, 전분입자가 완전히 팽윤된 젤은 전분 농도가 증가함에 따라 명도와 황색도는 다소 감소하기 때문에 백색도에는

거의 영향을 미치지 않는다고 한 Choi 등의 보고(1999)와 본 실험의 결과는 다소 차이를 보였다. 이 같은 차이는 전분의 첨가 농도가 증가할수록 황색도가 감소하는 것에 미루어 알칼리 처리로 회수한 단백질은 잔존하는 myoglobin과 hemoglobin 때문에 높은 황색도를 가지며 첨가한 전분이 육 및 혈색소에 의한 황색도를 완화시키기 때문인 것으로 판단하였다.

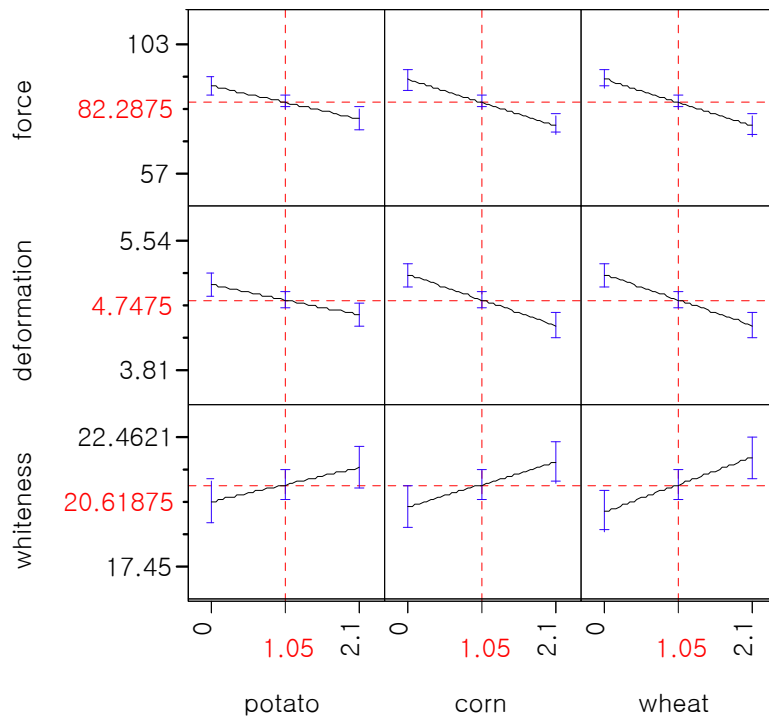


Fig. 1. Prediction profiler of starch on a breaking force, deformation and whiteness of alkali surimi gel from frozen white croaker.

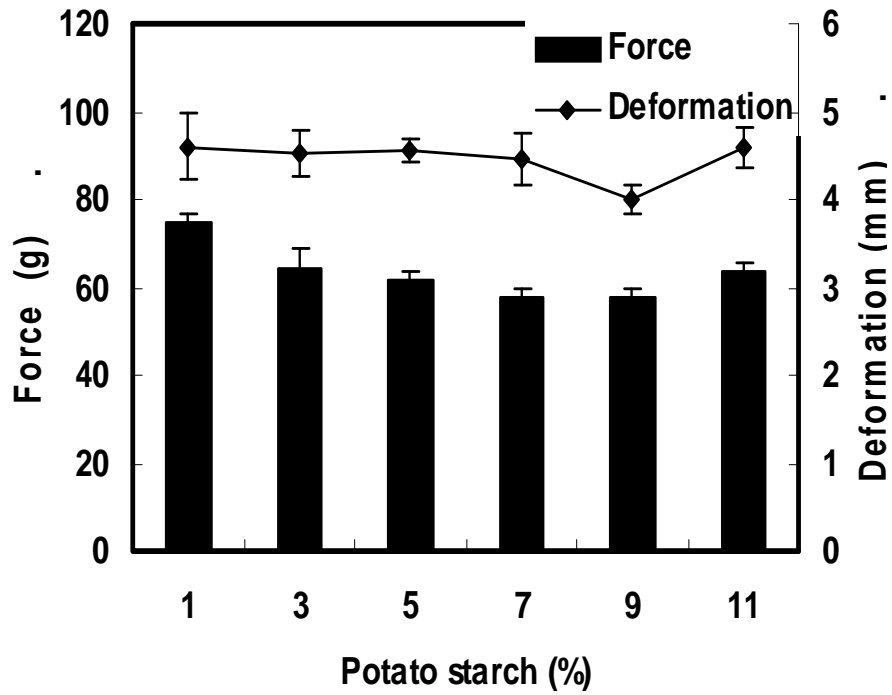


Fig. 2. The effect of potato starch on a breaking force and deformation of alkali surimi gel from the frozen white croaker.

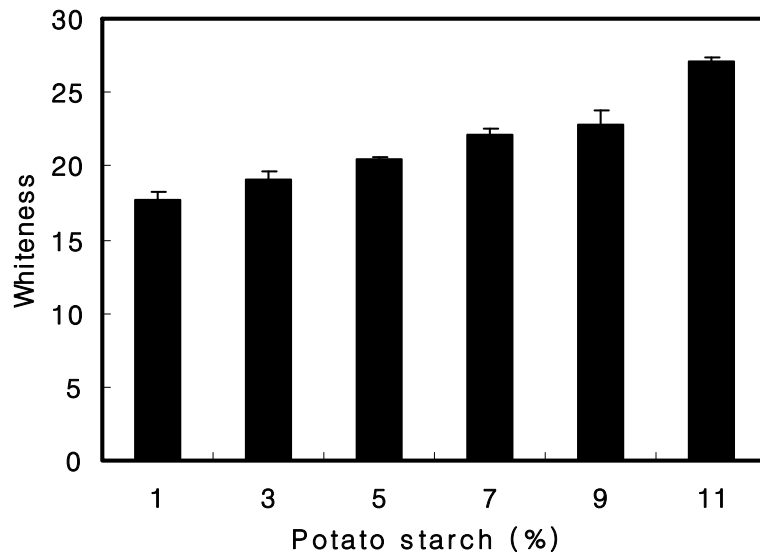


Fig. 3. The effect of potato starch on a whiteness of alkali surimi gel from the frozen white croaker.

젤 물성과 색에 미치는 비근육 단백질의 영향

Table 2에 따라 유장단백질, 대두 농축단백질, 분말 난백 단백질과 소혈청 단백질을 16가지 형태로 조합하여 비근육 단백질이 가열 젤의 물성과 색에 미치는 영향을 조사한 결과(Fig. 4), 소혈청 단백질, 분말 난백, 유장 단백질, 대두 단백질의 순으로 파괴강도를 증가시켰으며, 변형 값은 소혈청 단백질이 크게 개선하였으나 나머지 단백질은 오히려 감소시키거나 개선 효과를 보이지 않았다($p < 0.05$). 그리고 백색도는 대두 단백질이 가장 크게 개선하였고 나머지 단백질들도 다소 백색도를 개선하였다. 이 같은 결과에 근거하여 소혈청 단백질을 농도별로 첨가하여 가열 젤의 물성과 색에 미치는 영향을 조사한 결과(Fig. 5), 소혈청 단백질의 농도가 증가함에 따라 파괴강도 값은 증가하였으며, 변형 값은 3% 첨가 시까지 증가하였으나, 그 이상의 농도에서는 유의적 증가를 보이지 않았다($p < 0.05$). 소혈청 단백질과

난백은 형태와 첨가량에 관계없이 멘헤이던과 명태 수리미 젤의 저온 젤 붕괴 현상을 방지하고 비틀림 전단 응력, 전단 변형 및 보수력을 증가시키는 것은 이들 단백질의 단백질 분해효소 저해 효과에 기인한다고 하였으며 (Hamann et al., 1990), 난백과 소혈청 단백질 첨가는 중급 명태 수리미 젤의 전단 변형을 증가시킨다고 하였다(Park, 1994). Chang-Lee 등(1990)은 Pacific whiting 수리미에 3%의 난백을 첨가하여 우수한 경도와 탄성을 가진 가열 젤을 만들 수 있다고 하였다. 이 같은 보고들은 젤 강도 증강 효과와 비근육 단백질의 형태에 있어서 본 실험의 결과와 일치하였다. 그리고 소혈청 단백질의 첨가는 단백질 자체의 황색도 때문에 가열 젤의 백색도를 감소시키는 것으로 보고되어 있지만(Park, 1994), 본 실험의 결과에서 백색도를 증가시키는 것으로 나타난 것(Fig. 6)은 수리미 자체의 황색도가 소혈청 단백질의 황색도에 비하여 높기 때문에 첨가한 비근육 단백질에 의한 수리미 황색도의 감소 효과에 기인한 것으로 판단된다.

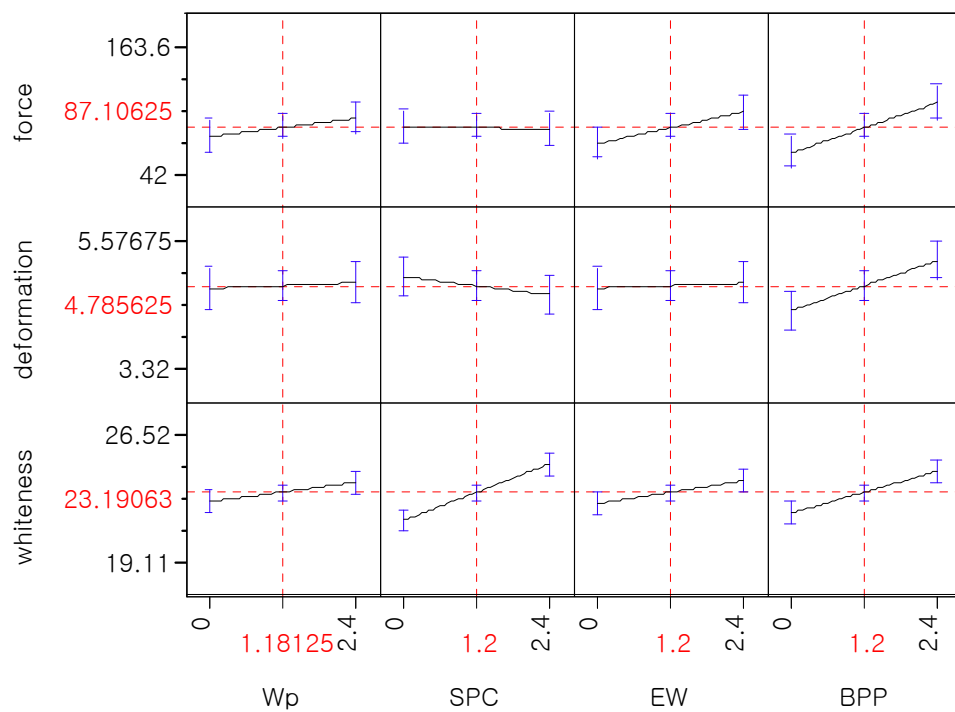


Fig. 4. Prediction profiler of non-muscle protein on a breaking force, deformation and whiteness of alkali surimi gel from the frozen white croaker.

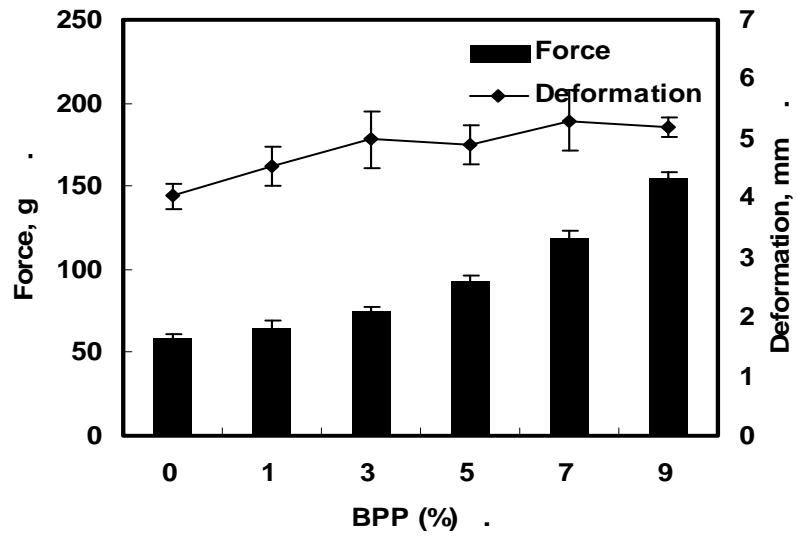


Fig. 5. The effect of bovine plasma protein(BPP) on a breaking force and deformation value of alkali surimi gel from the frozen white croaker.

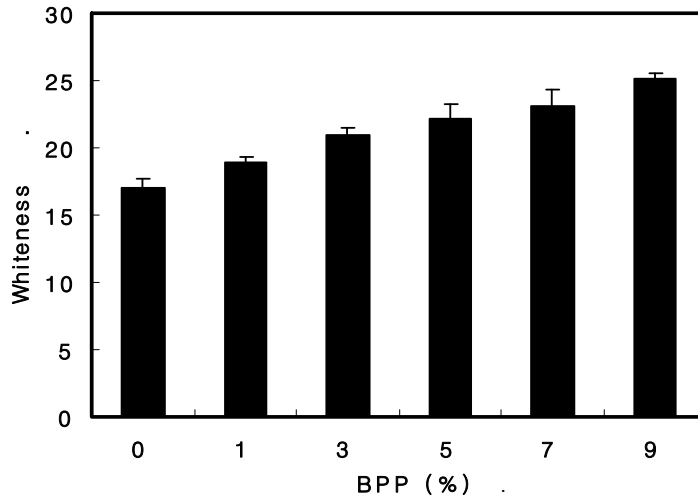


Fig. 6. The effect of bovine plasma protein(BPP) on a whiteness of alkali surimi gel from the frozen white croaker.

회수 단백질, 전분 및 비근육 단백질의 최적화

전분과 비근육 단백질의 선별 실험을 통해 백조기 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤의 물성 강화에 효과가 있는 것으로 인정된 감자 전분, 소혈청 단백질을 인자로 설정하고 혼합 설계법으로 첨가 비율의 최적화를 시도하였으며, 전분과 소혈청 단백질의 최대 첨가 비율은 각각 10% 이하로 제한하였다(Table 3). 파괴강도 값을 100 g 이상, 변형 값을 4.6 mm 이상, 백색도를 25.5 이상으로 설정했을 때 회수 단백질, 감자전분, 소혈청 단백질의 최적 첨가량은 각각 89.4-90.0%, 4.5-5.2% 및 5.3-5.8%였다(Fig. 7). 이 같은 결과는 회수 단백질의 수분 함량이 78%인 점을 고려한다면 실질적인 회수 단백질의 함량은 19.8-21.6%에 해당함을 의미한다. 본 실험의 결과는 표면 반응 분석법으로 추정된 전분과 단백을 첨가하여 제조한 수분

함량 78%인 명태 수리미 젤의 가장 높은 강도를 보여주는 혼합 비율은 3.5%의 전분과 5%의 난백이라고 보고(Chen et al., 1993)한 것과 다소 차이를 보이고 있으나, 이는 첨가한 전분 및 비근육 단백질의 종류에 따른 차이로 판단된다.

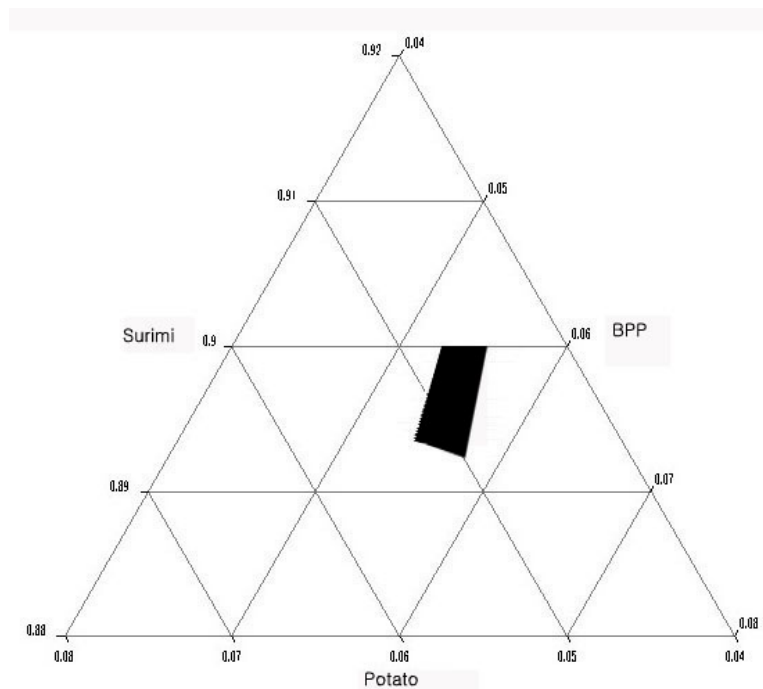


Fig. 7. Ternary plot of ingredient ratio for optimum formulation of alkali surimi gel from the frozen white croaker. BPP means a bovine plasma protein. The breaking force, deformation and whiteness were set above 100 g, 4.6 mm and 25.5, respectively.

가열 젤의 미세구조

투과전자현미경으로 수세 처리 회수 단백질, 알칼리 처리 회수 단백질과 최적 조건으로 전분과 비근육 단백질을 첨가한 알칼리 처리 회수 단백질

젤의 구조를 관측한 결과(Fig. 8), 최적 혼합 회수 단백질 젤의 조직이 가장 치밀한 것으로 나타났으며 3차원 망상 구조의 형성을 관측할 수 있었다. 그리고 알칼리 처리 회수 단백질의 젤은 비교적 고른 단백질의 분포를, 수세 처리 회수 단백질은 검은색으로 보이는 많은 수의 단백질의 덩어리가 관측되었다. 수세 처리 회수 단백질에서 많은 수의 단백질 덩어리가 관측되는 것은 원료로 동결 백조기를 사용했기 때문에 첨가한 소금에 녹지 않는 동결 변성 단백질의 양이 많았기 때문이며, 알칼리 처리 회수 단백질에서 이들 단백질 덩어리가 발견되지 않은 것은 극단적인 알칼리 처리에 의해 이들 단백질이 거의 용해했기 때문인 것으로 판단되었다. 조직이 강한 어묵은 단백질이 균일하게 분산되어 있고, 동결어의 수세 수리미 젤은 많은 수의 용해되지 않은 단백질 덩어리가 존재하며 단백질의 균일한 분산은 젤 강도를 강화시키고, 단백질 덩어리는 젤 강도를 저하시킨다(Sato and Tsuchiya, 1992). 본 실험의 결과 알칼리 처리 회수 단백질의 젤 강도가 수세 처리 회수 단백질에 비하여 다소 높은 것은 단백질의 균일한 분산에 의한 것으로 판단되며, 최적화 한 알칼리 처리 회수 단백질 젤의 높은 파괴강도와 변형 값은 첨가한 혈청 단백질이 망상 구조 형성에 기여했기 때문으로 판단된다.

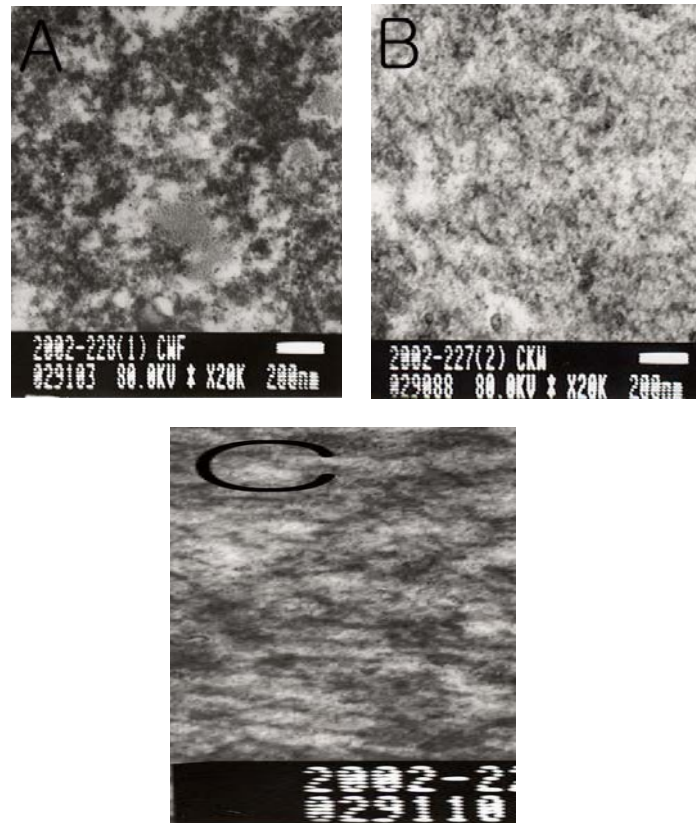


Fig. 8. Electron micrographs of a conventional(A), alkali(B) and optimum formulated surimi gel (C) from the frozen white croaker.

요약

냉동 백조기로 제조한 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 강도 증가를 위한 최적 전분 및 비근육 단백질의 선정과 이들 성분의 최적 첨가량을 설정하기 위해 2수준 fractional factorial과 mixture design을 실시하였으며, 반응 값은 punch test에 의한 물성과 색차계로 색을 측정하였다. 전분은 종류에 관계없이 파괴강도와 변형 값을 감소시켰다. 파괴강도 값은 전분의 농도 증가와 더불어 감소하였고, 변형 값은 유의적인 차이를 보이지

않았다. 비근육 단백질 중 소혈청 단백질이 젤의 파괴강도와 변형 값을 가장 크게 증가시켰으며, 첨가 농도가 증가함에 따라 파괴강도와 변형 값은 증가하였다. 백색도는 전분과 근육 단백질의 함량이 증가함에 따라 다소 상승하는 것으로 나타났다. 파괴강도 100 g 이상, 변형 값 4.6 mm 이상, 백색도 25.5 이상을 보이는 회수 단백질, 감자전분, 소혈청의 최적 혼합 비율은 각각 89.4-90.0%, 4.5-5.2%, 5.3-5.8%의 범위였다. 전분과 비근육 단백질을 첨가하여 제조한 가열 젤이 단백질의 균일한 분포와 치밀한 망상 구조 형태를 보이고 있었으며, 이 같은 구조가 높은 물성 값에 기여하는 것으로 판단하였다.

참고문헌

- Chang-Lee MV, Lampila LE, Crawford DL. 1990. Yield and composition of surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and the effect of various protein additives on gel strength. *J Food Sci* 55: 83-86.
- Chen JS, Lee CM, Crapo C. 1993. Linear programming and response surface methodology to optimize surimi gel texture. *J Food Sci* 58: 535-538.
- Choi YJ, Lee HS, Cho YJ. 1999. Optimization of ingredients formulation in low grades surimi for improvement of gel strength. *J Korean Fish Soc* 32: 556-562.
- Gomez-Guillen MC, Borderias AJ, Montero P. 1996. Rheological properties of gels made from high- and low-quality sardine (*Sardina pilchardus*) mince with added nonmuscle proteins. *J Agric Food Chem* 44: 746-750.

- Hamann DD, Amato PM, Wu MC, Foegeding EA. 1990. Inhibition of modori (gel weakening) in surimi by plasma hydrolysate and egg white. *J Food Sci* 55: 665-669, 795.
- JMP. 2002. Statistics and graphics guide. Version 5.0, SAS Institute, Cary, NC. p 179-209.
- NFI. 1991. A manual of standard methods for measuring and specifying the properties of surimi. Lanier TC, Hart K, Martin RE, eds. University of North Carolina Sea Grant College Program, Raleigh, NC, USA.
- Okada M. 1964. Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 30: 255-261.
- Park JD, Jung C-H, Kim J-S, Cho D-M, Cho MS, Choi YJ. 2003a. Surimi processing using acid and alkali solubilization of fish muscle protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 400-405.
- Park JD, Yoon S-S, Jung CH, Cho MS, Choi YJ. 2003b. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from surimi prepared by acidic and alkaline processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 567-573.
- Park JW. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J Food Sci* 59: 525-527.
- Park JW. 1995. Effect of salt, surimi and/or starch content on the fracture properties of gels at various test temperatures. *J Aquatic Food Products Technology* 4: 75-83.
- Park JW. 2000. ingredient technology and formation development. In Surimi and Surimi Seafood. Park JW, ed. Marcel Dekker, New

York. p 343-391.

Sato S, Tsuchiya T. 1992. Microstructure of surimi and surimi-based products. In *surimi Technology*. Ianier TC, Lee C-M, eds, Marcel Dekker, New York. p 501-518.

Yoon WB, Park JW, Kim BY. 1997. Linear programming in blending various components of surimi seafood. *J Food Sci* 62: 561-564, 567.

Yoon WB, Park JW, Kim BY. 1997. Surimi-starch interactions based on mixture design and regression models. *J Food Sci* 62: 555-560.

제 5 절 전갱이 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤 제조를 위한 전분 및 비근육 단백질의 최적화

서론

수산 자원의 고갈과 더불어 수산가공의 중간 소재로서 근육 단백질에 관한 관심이 고조됨에 따라 가공 적성이 떨어지는 일시 다획성 적색육 어류의 단백질 자원 활용에 관한 관심이 고조되고 있다(Davis, 1988; Shimizu et al., 1992; Jiang et al., 1998; Hultin and Kelleher, 2000; Undeland et al., 2002). 우리나라에서 어획되는 전갱이류는 13,552톤이며, 이중에서 크기가 비교적 작은 전갱이류는 주로 해산 양식 어류의 사료로 사용하고 있다(해양수산부, 2000). 일시다획성 어류들은 계절에 따라 어획량에 차이를 보이며, 크기가 작고 다량의 지방, 혈합육, 육 색소 및 혈색소를 포함하고 있기 때문에 식품 가공 소재로 사용 가능한 안정한 기능성 단백질의 추출이 어렵다.

일시 다획성 적색육 어류를 식품 단백질로 이용하기 위해 산과 알칼리 용액에 침어 마쇄육을 용해시키고 가용성 단백질은 등전점 부근에서 침전시켜 회수하는 방법(Undeland et al., 2002), 정어리와 고등어 마쇄육을 sodium bicarbonate로 회분식 혹은 일괄공정으로 수리미를 제조하는 방법(Shimizu et al., 1992), sodium bicarbonate와 물로 수세하고 산으로 pH를 조정한 후 분무 건조하는 방법(Shahi야 and Venugopal, 1994) 등이 제시되었지만, 이들 수리미의 가열 젤 물성은 백색육 어류에 비하여 떨어지고 잔존하는 hemoglobin과 myoglobin 때문에 백색도는 현저히 감소하기 때문에 적절한 부원료를 첨가하여 젤 특성을 개선할 필요가 있다.

수리미 젤을 제조할 때 첨가하는 주요 부 원료는 전분과 비근육 단백질로서 전분은 수리미-전분 겔의 망상 구조의 형성에 촉진제로 작용하기 때

문(Ziegler and Foegeding, 1991)에 수리미 함량의 저감과 더불어 젤 강도를 유지하거나 냉동 냉장 제품의 저장 안정성을 확보하기 위해 4-12%의 수준으로 사용하고 있다(Park, 2000). 그리고 비근육 단백질은 전분과 마찬가지로 수리미 제품의 수리미 절감에 의한 제품의 단가를 낮추고 기능성을 개선하기 위해 첨가하고 있다(Chang-Lee et al., 1990; Hamann et al., 1990; Park, 1994; Gomez-Guillen et al., 1997).

본 연구는 전갱이의 어육 단백질을 알칼리 용해와 등점전 침전으로 회수하고 회수 단백질의 가열 젤 강도에 미치는 전분과 비근육 단백질의 영향을 검토할 목적으로 3종류의 전분(감자, 옥수수, 밀)과 4종류의 비근육 단백질(유장, 대두, 난백, 소혈청)이 가열 젤의 강도와 백색도에 미치는 영향을 punch test와 색도로 측정하였다. 그리고 가장 효과적인 전분과 비근육 단백질을 2 수준 fractional factorial design으로 선별한 후, 선별한 전분과 비근육 단백질의 최적 첨가 비율을 mixture design으로 결정하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 신선한 전갱이(*Trachurus japonicus*; 체장, 20.8 ± 1.8 cm, 체중, 179.0 ± 31.4 g)는 경남 통영시 소재의 어시장에서 구입하여 빙장 상태로 실험실로 운반한 후 두부와 내장을 제거하고 육만을 절취하여 근육 단백질 회수를 위한 시료로 사용하였다.

실험에 사용한 감자, 옥수수 및 밀 전분은 삼양사(서울, 한국)에서 구입하여 사용하였으며, 비근육 단백질은 유장단백질(Nutrilac 7723, MD Foods Ingredients Union, NJ, USA), 대두단백질 농축물(Supro 538, Protein Technology International, St. Louis, MO, USA), 건조 난백(Prinegg, Cameron, WI, USA) 과 소혈청단백질(AMPC, Ames, IA, USA)을 사용하였다.

회수 단백질의 제조

수세 처리 회수 단백질은 마쇄 어육 중량의 2배량에 해당하는 증류수를 가하여 8000 rpm에서 균질기(IKA-25 basic, IKA Works, Wilmington, NC, USA)로 마쇄한 후 원심분리(SUPRA 22K, Hanil Science Industrial, Dajeon, Korea; 10,000 x g, 25분)하여 얻은 잔사를 2배량의 증류수에 현탁하고 1점의 가아제로 여과하여 근기질 단백질을 제거하였다. 현탁물을 원심분리(10,000 x g, 25분)하여 얻은 잔사는 2배량의 0.2% NaCl 용액을 첨가하여 동일한 조건에서 원심분리하여 색소와 근형질 단백질을 제거하고 얻은 잔사에 냉동변성방지제(5% sorbitol, 4% sucrose, 0.3% sodium polyphosphate)를 첨가하여 제조하였다. 알칼리 처리 회수 단백질은 마쇄한 어육에 6배량의 증류수를 첨가하고 1 N NaOH를 사용하여 pH 10.5로 조정하여 어육 단백질을 용해시킨 후 원심분리(10,000 x g, 25분)하였다. 중성 지방 등이 포함된 유화층(최상층)과 결체조직, 막지질, 비늘, 뼈 등을 포함하고 있는 최저층을 버리고 가용성 단백질과 수화 단백질을 포함한 중간층을 회수하여 1 N HCl로 pH 5.0으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000x g, 25분)하여 단백질을 회수하였다. 회수한 단백질은 1 N NaOH로 pH 7.0으로 조절한 후 냉동변성방지제(5% sorbitol, 4% sucrose, 0.3% sodium polyphosphate)를 첨가하여 제조하였다.

가열 젤의 제조

최적의 전분과 비근육 단백질을 선택하기 위하여 2 수준 fractional factorial 법으로 설계한 혼합비에 따라 전분과 비근육 단백질을 회수 단백질과 혼합하였다(Table 1, 2). 최종 수분 함량이 78%가 되도록 얼음물을 첨가하여 kitchen aid (Max Watt 325, St. Joseph, MI, USA)로 3분 혼합하고 비닐 백에 넣어 진공 포장기(Food Saver Ultra, Tilia International

Inc., China)로 수리미 중의 기포를 제거하여 sausage 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., New York, NJ, USA)로 collagen tube (1.9 x 20 cm, #180, Nippi Co., Tokyo, Japan)에 충전하였다. 충전한 tube는 90°C의 water bath에서 15분 동안 가열하고 즉시 얼음물에 15분 동안 냉각시켜 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였으며, 수세 처리 회수 단백질은 2%의 정제 소금을 첨가하였고 알칼리 처리 회수 단백질은 염을 첨가하지 않고 가열 젤을 제조하였다.

물성과 색도 측정

물성의 측정은 Okada의 방법(1964)에 따라 실린형의 시료(1.9 x 2.0 cm) 위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 rheometer (Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴강도(g)와 변형(mm) 값을 측정하였다.

색도의 측정은 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)로 겔의 표면 CIE Lab color를 측정하였다. 색차계는 표준 색 plate로 $L^* = 96.83$, $a^* = -0.36$, $b^* = 0.62$ 로 표준화하였으며, 백색도는 $L^* - 3b^*$ 로 계산하였다(Park, 1994).

가열 젤의 미세구조 관측

가열 젤을 1mm³의 크기로 세절하고 2.5% glutaraldehyde와 1% osmium tetroxide로 각각 2시간 동안 1차 및 2차 고정하였다. 고정된 시료를 0.1 M phosphate 완충액(pH 7.2)으로 세척한 후 50, 70, 80, 90, 95 및 99 ethyl alcohol로 실온에서 20분 동안 탈수하였다. Propylene oxide로 30분 동안 2회 치환하고, Epson 혼합물과 Epson A+B 혼합물로 2시간 침투시킨 후 Epson 812로 포매하였다. 포매한 시료를 37°C에서 12시간 열중합한 후

microtome(LKB, Nova, Sweden)으로 0.5-1 μm 의 두께로 절단하여 toluidine blue로 단염색하고 광학현미경으로 관찰 부위를 다듬었다. 이를 200 mesh의 copper gride에 부착시키고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(JEM 1200EX-II, JEOL, Japan)으로 관측하였다.

통계분석

2수준 fractional factorial 및 mixture design은 JMP program(2002)로 실시하였다.

Table 1. Starch formulation by two-level fractional factorial design

Exp No	Starch (g) ¹⁾			Response		
	potat o	cor n	wheat	Breaking force (g) ²⁾	Deformation (mm) ²⁾	Whiteness
1	0	0	0	84.4±8.3	4.27±0.79	18.0±0.6
2	0	0	2.1	70.8±3.3	3.69±0.61	17.6±0.4
3	0	2.1	0	72.4±3.2	4.45±0.50	17.9±0.3
4	0	2.1	2.1	52.4±3.1	3.80±0.33	17.7±0.6
5	2.1	0	0	70.0±3.1	4.00±0.21	17.7±0.6
6	2.1	0	2.1	44.2±1.3	4.63±0.47	18.0±0.4
7	2.1	2.1	0	52.7±2.5	3.70±0.30	18.0±0.2
8	2.1	2.1	2.1	54.2±4.1	4.01±0.46	17.9±0.7

1) The sum of starch, alkali surimi and ice water was adjusted to 70 g without salt.

2) Breaking force and deformation values were assayed by punch test using cylinder-type sample(1.98 x 2.0 cm).

Table 2. Non-muscle protein formulation by two-level fractional factorial design

Exp No.	Non-muscle protein (g) ¹⁾				Response		
	WP	SPC	EW	BPP	Breaking force (g)	Deformation (mm)	Whiteness
1	0	0	0	0	136.8±5.1	4.77±0.26	20.0±0.1
2	2.4	0	0	0	115.4±4.1	4.27±0.27	20.3±0.5
3	0	2.4	0	0	119.2±15.3	4.92±0.47	22.1±0.6
4	2.4	2.4	0	0	101.4±11.0	4.61±0.41	22.7±0.9
5	0	0	2.4	0	138.4±22.1	4.11±0.73	19.6±0.5
6	2.4	0	2.4	0	134.8±6.7	4.69±0.45	21.6±0.3
7	0	2.4	2.4	0	110.2±6.8	4.14±0.36	22.2±0.9
8	2.4	2.4	2.4	0	135.0±5.0	4.44±0.34	24.3±0.3
9	0	0	0	2.4	158.8±22.0	4.74±0.58	21.2±0.3
10	2.4	0	0	2.4	170.6±8.8	4.95±0.25	21.4±0.4
11	0	2.4	0	2.4	147.0±5.5	4.98±0.30	22.0±0.3
12	2.4	2.4	0	2.4	149.6±4.3	4.89±0.09	24.1±0.2
13	0	0	2.4	2.4	155.8±3.9	4.36±0.26	21.7±0.2
14	2.4	0	2.4	2.4	180.0±22.5	4.29±0.50	24.1±0.8
15	0	2.4	2.4	2.4	173.4±16.3	4.43±0.27	23.5±0.8
16	2.4	2.4	2.4	2.4	197.0±16.8	4.32±0.34	26.1±1.1

1) The sum of non-muscle protein, alkali surimi and ice water was adjusted to 60 g without salt.

2) Breaking force and deformation values were assayed by punch test using cylinder-type sample(1.98 x 2.0 cm).

결과 및 고찰

젤 물성과 색에 미치는 전분의 영향

알칼리 처리 회수 단백질과 전분은 Table 1에 따라 8가지 형태로 배합하고 가열 젤을 조제한 후 반응 값으로 파괴강도, 변형 값 및 백색도를 측정하여 전분 종류가 물성에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 1). 사용한 전분 모두 첨가량이 증가함에 따라 파괴강도는 감소하는 것으로 나타났으며, 변형 값은 감자와 밀전분에서는 변화가 없었으나, 옥수수 전분은 다소 감소하는 것으로 나타났다. 그리고 백색도는 밀전분에서 다소 감소하는 것으로 나타났다. 이 같은 결과를 백조기로 실험한 결과와 비교할 때(Park, 1995), 전분의 첨가가 파괴강도와 변형 값을 저하시키는 점에서는 일치하였으나, 전분의 종류에 따른 파괴강도와 변형 값의 감소 정도에는 다소 차이를 보였다. 이 같은 결과에 미루어 전분이 백색육 어류와 적색육 어류의 회수 단백질의 젤에 미치는 영향은 다소 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 전분의 첨가량이 증가함에 따라 전체 젤의 성분 중 수리미의 함량이 상대적으로 감소한 것에 비추어 젤의 파괴강도는 전분보다는 수리미의 함량에 의존하는 것으로 보인다. Ziegler and Foegeding(1991)은 젤화 및 비 젤화 첨가물이 차지하는 공간 배열에 따라 5가지의 모델을 제시하였으며, 수리미에 첨가한 전분은 액체의 분산된 입자로 2차적인 젤 망상으로 존재하고 근원섬유 단백질이 구성하는 gel 망상과는 관계가 없는 것으로 추정하였다.

감자, 옥수수 및 밀 전분 중에서 파괴강도 감소에 미치는 영향이 가장 적은 옥수수 전분을 1-9%까지 회수 단백질에 첨가하여 제조한 가열 젤의 파괴강도와 변형 값의 변화를 측정하였다(Fig. 2). 전분의 첨가는 파괴강도를 감소시켰으나 3-9%의 범위에서는 파괴강도 값에 유의적인 차이를 보이지 않았다($p < 0.05$). 변형 값은 1% 첨가 시 다소 상승하였으나, 이후 감소

하여 첨가 농도에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다($p < 0.05$). Park(1995)은 전분 농도가 증가함에 따라 전단 응력 값은 감소하나 전분 농도 12% 첨가 시까지 전단 변형은 거의 변하지 않는다고 보고하여 본 실험의 변형 결과와 유사하였다.

옥수수 전분의 첨가는 젤의 백색도를 다소 개선하는 것으로 나타났다 (Fig.3). 전분을 첨가한 젤의 색은 전분 농도와 전분 특성에 따라 다르지만, 명태 수리미에 첨가한 전분은 완전히 팽윤하여 전분 농도가 증가함에 따라 명도와 황색도는 다소 감소하기 때문에 백색도에는 거의 영향을 미치지 않는다고 한 Choi 등의 보고(1999)와 본 실험의 결과는 다소 차이를 보였으나, 사용한 수리미의 종류가 다르기 때문에 직접적인 비교는 어려웠다. 전분의 첨가 농도가 증가할수록 백색도가 증가하는 것이 미루어 알칼리 처리 회수 단백질은 잔존하는 myoglobin과 hemoglobin 때문에 높은 황색도를 갖지만 첨가한 전분이 이 같은 황색도를 낮추는 것으로 판단하였다.

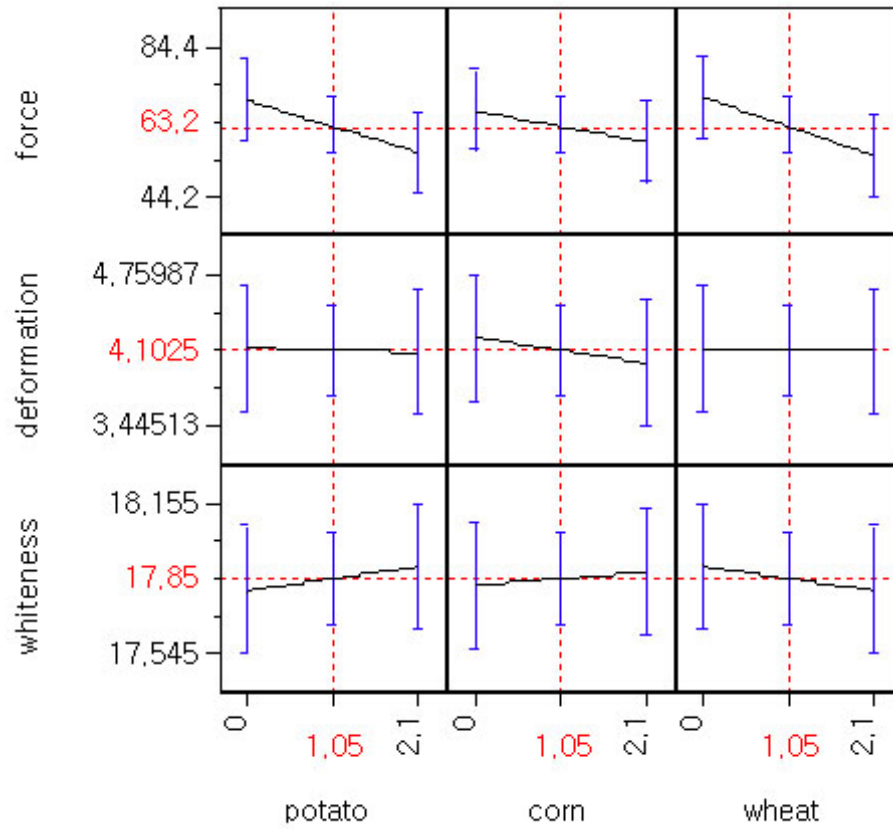
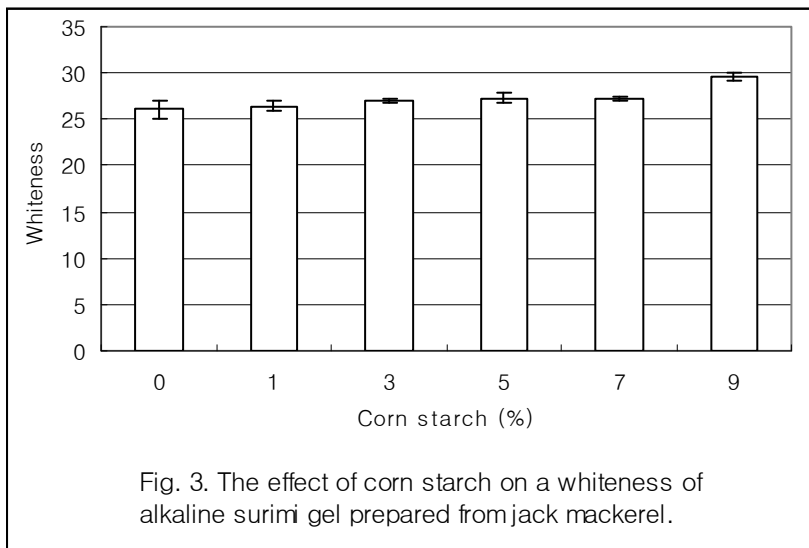
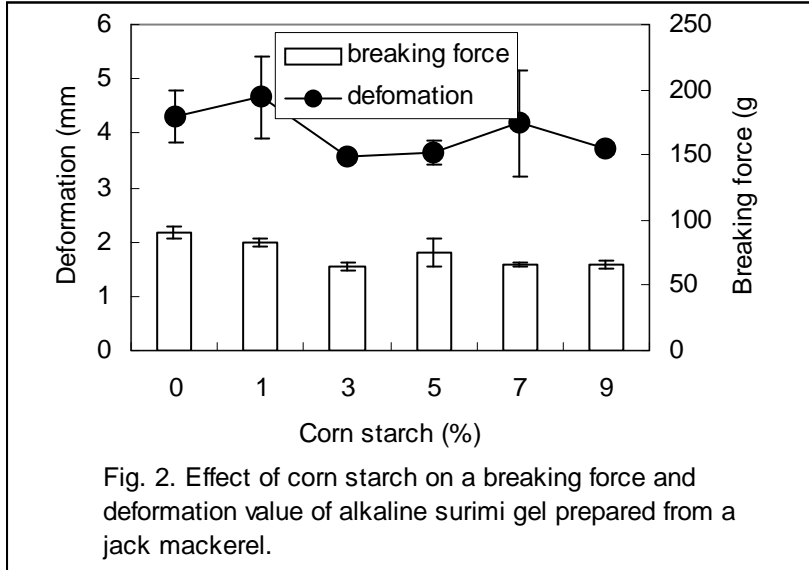


Fig. 1. Prediction profiler of starch on breaking force, deformation and whiteness of alkali surimi gel from the jack mackerel.



젤 물성과 색에 미치는 비근육 단백질의 영향

유장단백질, 대두 농축단백질, 분말 난백 단백질과 소혈청 단백질을 Table 2의 조합 방법에 따라 16가지 형태로 조합하여 비근육 단백질이 가

열 젤의 물성과 색에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 4). 파괴강도 값은 소혈청 단백질이 현저히 증가시키는 것으로 나타났으며, 분말 난백 단백질은 다소 증가시켰으나, 유장단백질과 대두 농축 단백질은 거의 영향을 미치지 않았다. 변형 값의 경우, 소혈청 단백질은 다소 증가시킨 반면 분말 난백 단백질은 현저히 감소시켰고 유장단백질과 대두 농축 단백질은 거의 영향을 미치지 않았다. 그리고 첨가한 비근육 단백질 모두 백색도를 개선하는 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 백조기 알칼리 처리 회수 단백질의 젤에 첨가한 소혈청 단백질이 파괴강도를 현저히 증가시키고 변형 값을 다소 증가시킨다는 보고(Park, 2003)와 일치하지만 난백 단백질이 변형 값을 현저히 감소시킨다는 점에서는 일치하지 않는다. 소혈청 단백질은 젤 망상에 스며드는 모델로서 이들 단백질이 젤 망상의 형성에 참여함으로써 전단 응력을 현저히 증가시키고 전단 변형은 다소 증가시킨다고 하였다(Ziegler and Foegeding, 1991). 난백 단백질이 변형 값을 현저히 감소시키는 반면 소혈청 단백질이 변형 값을 다소 증가시키는 것은 소혈청 단백질이 근원섬유단백질과 가교결합을 통하여 젤의 망상구조 형성에 기여했기 때문으로 판단된다. 소혈청 단백질 희분 중 α_2 -macroglobulin이 풍부한 혈청 희분과 transglutaminase가 풍부한 희분은 단백질의 가교 연결 활성을 가지며 Pacific whiting 수리미의 젤 강도 강화에 기여한다고 하였으며(Seymour et al., 1997), 소혈청 단백질에 의한 북양명태 수리미 젤의 강화 효과는 비공유 결합을 통한 근원섬유 단백질과 혈청 단백질 사이의 상호작용의 강화에 기인한다고 보고하였다(Yasunaga et al., 1997).

젤 강도 강화에 가장 효과적인 소혈청 단백질을 농도별로 첨가하여 가열 젤의 물성과 색에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 5). 소혈청 단백질은 첨가 농도가 증가함에 따라 파괴강도 값은 현저히 증가하였으나, 변형 값은 유의적인 차이($p < 0.05$)를 보이지 않아 소혈청 단백질이 수리미 가열 젤의

과괴강도 값을 현저히 증가시킨다는 보고(Ziegler and Foegeding, 1991; Park et al., 2003; Seymour et al., 1997)와 일치하였다. 그리고 소혈청 단백질의 첨가는 가열 젤의 백색도를 다소 증가시키는 것으로 나타났으며 (Fig. 6), 이 같은 결과는 회수 단백질 자체의 황색도가 소혈청 단백질의 황색도에 비하여 높기 때문에 첨가한 비근육 단백질에 의한 회수 단백질의 황색도의 감소 효과에 기인한 것으로 판단된다. 소혈청 단백질에 의한 백색도 증가는 백조기 알칼리 처리 회수 단백질의 젤에서도 같은 효과를 보이고 있었다(Park et al., 2003).

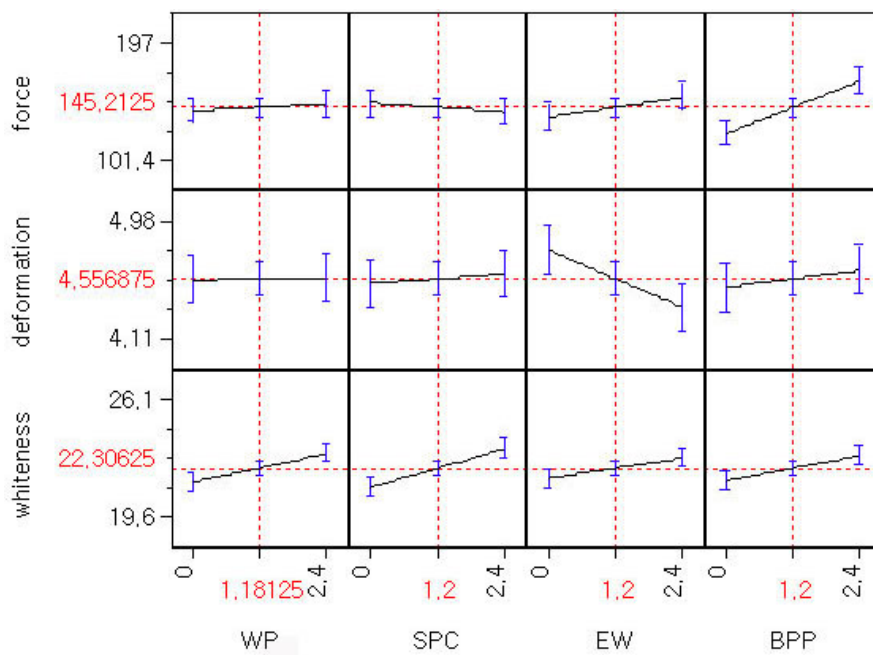
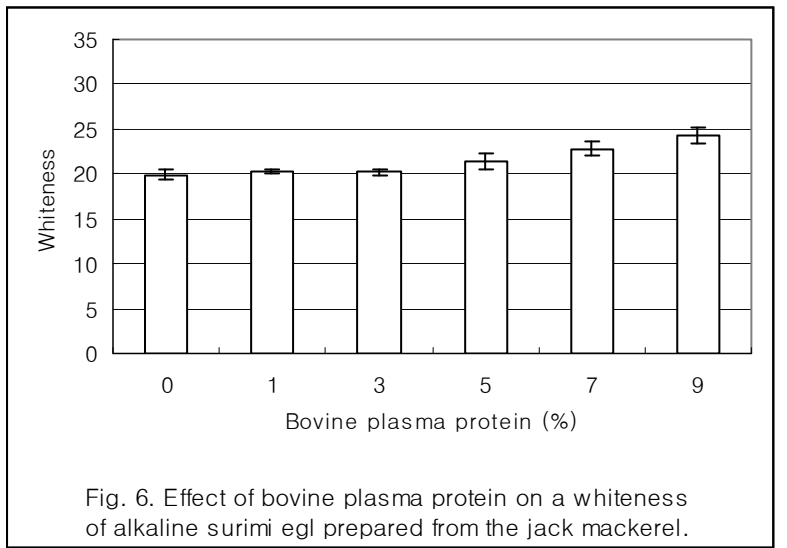
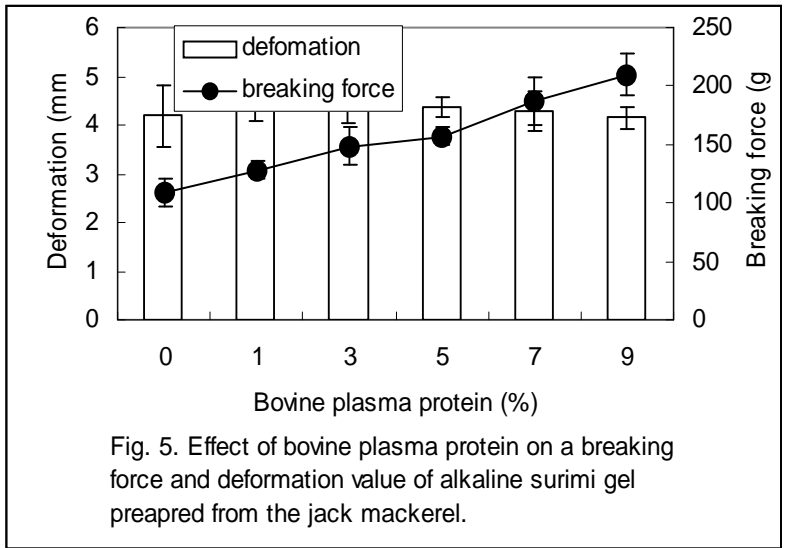


Fig. 4. Prediction profiler of non-muscle protein on a breaking force, deformation value and whiteness of alkali surimi gel from the jack mackerel. WP, SPC, EW and BPP means whey protein, soy protein concentrate, dried egg white and bovine plasma protein, respectively.



회수 단백질, 전분 및 비근육 단백질의 최적화

선별 실험을 통해 전갱이 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤의 물성 강화에 효과가 있는 것으로 인정된 옥수수 전분과 소혈청 단백질을 인자로 설정하고 혼합 설계법으로 최적 첨가 비율을 결정하였다. 이때 옥수수 전분과 소혈청 단백질의 최대 첨가 비율은 각각 10%로 제한하였다(Table 3). 파괴강도 값을 110 g 이상, 변형 값을 4.2 mm 이상, 백색도를 22.5 이상으로 설정했을 때 회수 단백질, 감자전분, 소혈청 단백질의 최적 첨가량은 각각 89.5-90.0%, 4.6-6.0% 및 4.3-5.4%로서(Fig. 7), 백조기 알칼리 처리 회수 단백질 젤에 비하여(Park, 1995) 전분의 첨가 범위는 다소 넓었으며 소혈청 단백질은 약 1% 감소하였다. 이 같은 결과는 어종에 따라 부 원료의 최적 첨가비율에 차이가 있음을 지적한다. 표면 반응 분석법으로 추정된 전분과 난백을 첨가하여 제조한 수분 함량 78%인 명태 수리미 젤이 가장 높은 강도를 보여주는 혼합 비율은 3.5%의 전분과 5%의 난백이라고 보고(Chen et al., 1993)한 것과 본 실험의 결과는 다소 차이를 보이고 있으나, 이는 첨가한 전분 및 비근육 단백질의 종류에 따른 차이로 판단된다.

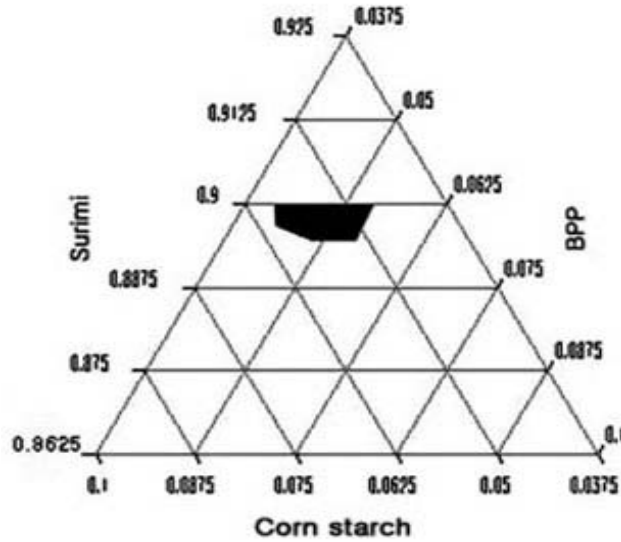


Fig. 7. Ternary plot of ingredients ratio for optimum formulation of alkali surimi gel from the jack mackerel. BPP means a bovine plasma protein. The breaking force, deformation and whiteness were set above 110 g, 4.2 mm and 22.5, respectively.

가열 젤의 미세구조

투과전자현미경으로 수세 및 알칼리 처리 회수 단백질과 최적 조건으로 전분과 비근육 단백질을 첨가한 알칼리 처리 회수 단백질의 가열 젤의 구조를 관측한 결과, 최적 혼합 회수 단백질 젤의 단백질이 가장 고르게 분포하고 있음을 확인하였다(Fig. 8). 수세 처리 회수 단백질은 검은색으로 보이는 많은 수의 단백질의 덩어리가 관측되었으며, 이 같은 결과는 첨가

한 2.0%의 소금에 근원섬유 단백질이 완전히 용해하지 않았기 때문인 것으로 판단된다. 한편 알칼리 처리 회수 단백질에서 이들 단백질 덩어리가 발견되지 않은 것은 극단적인 알칼리 처리에 의해 이들 단백질이 거의 용해했기 때문인 것으로 판단되었다. 조직감이 우수한 어묵은 단백질이 균일하게 분산되어 있으며, 균일한 단백질의 분산은 젤 강도를 강화시키고, 단백질 덩어리는 젤 강도를 저하시킨다(Park, 2003). 본 실험의 결과 알칼리 처리 회수 단백질의 젤 강도가 수세 처리 회수 단백질에 비하여 다소 높은 것은 균일한 단백질 분산에 의한 것으로 판단되며, 최적화 한 알칼리 처리 회수 단백질 젤의 높은 파괴강도와 변형 값은 첨가한 혈청 단백질이 비공유 결합과 공유결합을 통해 망상 구조의 형성에 기여했기 때문으로 판단되었다.

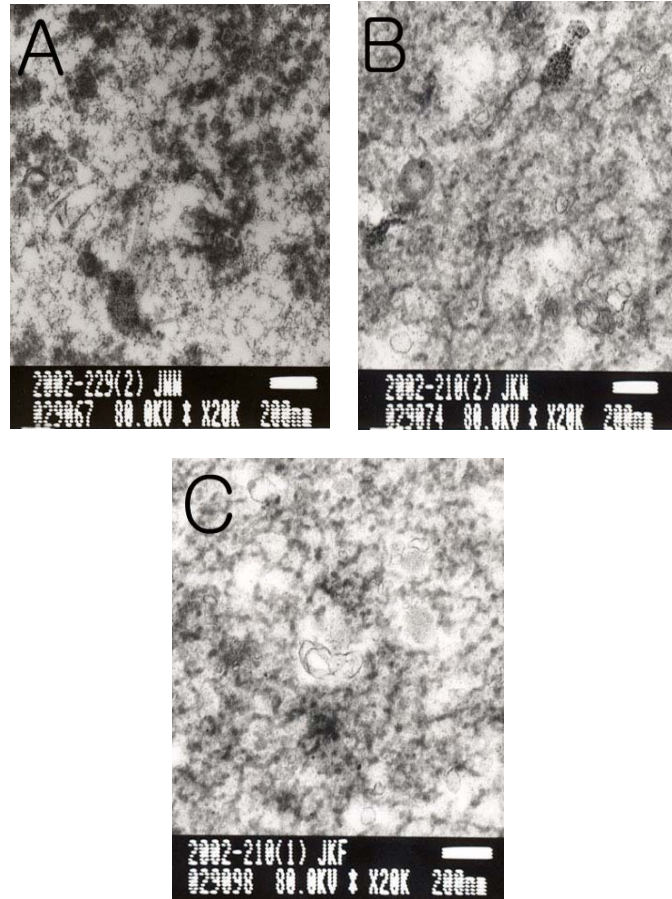


Fig. 8. Electron micrographs of a conventional (A), alkali (B) and optimum formulated surimi gel (C) from the jack mackerel.

요약

전갱이 육으로 제조한 알칼리 수리미의 가열 겔 강도 증강을 위한 최적 전분 및 비근육 단백질의 선정과 이들 성분의 최적 첨가량을 설정하기 위해 2수준 fractional factorial과 mixture design을 실시하였으며, 반응 값은 punch test에 의한 물성과 색차계로 색을 측정하였다. 감자, 옥수수 및 밀

전분은 파괴강도 값을 감소시키지만 변형 값에는 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 소혈청 단백질은 파괴강도 값을 크게 증가시킨 반면 분말 난백 단백질은 다소 효과가 인정되었고 유장단백질과 대두 농축 단백질은 효과가 없었다. 그리고 소 혈청 단백질은 변형 값을 다소 증가시킨 반면 분말 난백 단백질을 크게 감소시켰다. 감자와 옥수수 전분과 비근육 단백질은 백색도를 다소 개선하였다. 파괴강도 110 g 이상, 변형 값 4.2 mm 이상, 백색도 22.5 이상을 보이는 수리미, 옥수수전분 및 소혈청의 최적 혼합 비율은 각각 89.5-90.0%, 4.6-6.0%, 4.3-5.4%의 범위였다. 전분과 비근육 단백질을 첨가하여 제조한 전갱이 알칼리 수리미의 가열 젤이 수세 수리미 젤에 비하여 균일한 단백질 분포를 보이고 있었다.

참고문헌

- Chang-Lee MV, Lampila LE, Crawford DL. 1990. Yield and composition of surimi from Pacific whiting (*Merluccius productus*) and the effect of various protein additives on gel strength. *J Food Sci* 55: 83-86.
- Davis N. 1988. *Fatty fish utilization: upgrading from feed to food*, UNC Sea Grant Publication 88-04, Raleigh, NC, USA
- Gomez-Guillen C, Borderias AJ, Montero P. 1997. Thermal gelation properties of two different composition sardine (*Sardina pilchardus*) muscles with addition of non-muscle proteins and hydrocolloids. *Food Chemistry* 58: 81-87.
- Hamann DD, Amato PM, Wu MC, Foegeding EA. 1990. Inhibition of modori (gel weakening) in surimi by plasma hydrolysate and egg white. *J Food Sci* 55: 665-669, 795.

- Hultin HO, Kelleher SD.2000. Surimi processing from dark muscle fish. In *Surimi and Surimi Seafood*, Park JW, ed. Marcel Dekker, New York. p 59-77.
- Jiang S-T, Ho M-L, Jiang S-H, Lo L, Chen H-C. 1998. Color and quality of mackerel surimi as affected by alkaline washing and ozonation. *J Food Sci* 63: 652-655.
- JMP. 2002. Statistics and graphics guide. Version 5.0 SAS Institute, Cary, NC. p 179-209.
- Okada M. 1964. Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 30: 255-261.
- Park JD, Cho M-S, Cho Y-J, Choi J-D, Choi YJ. 2003. Optimum formulation of starch and non-muscle protein for alkali surimi gel from frozen white croaker. *J Korean Soc Food Sci Nutr* (in press).
- Park JW. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J Food Sci* 59: 525-527.
- Park JW. 2000. Ingredient technology and formulation development. In *Surimi and Surimi Seafood*, Park JW, ed. Marcel Dekker, New York, p 343-391.
- Seymour TA, Peters MY, Morrissey MT, An H. 1997. Surimi gel enhancement by bovine plasma proteins. *J Agric Food Chem* 45: 2919-2923.
- Shahidi F, Venugopal V. Solubilization and thermostability of water dispersions of muscle structural proteins of Atlantic herring (*Clupea harengus*). *J Agric Food Chem* 42: 1440-1446.

- Shimizu Y, Toyohara H, Lanier TC. 1992. Surimi production from fatty and dark-fleshed fish species. In *Surimi technology*, Lanier TC, Lee C-M, eds. Marcel Dekker, New York. p 181-207.
- Undeland I, Kelleher SD, Hultin HO. 2002. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. *J Agric Food Chem* 50: 7371-7379.
- Yasunaga K, Abe Y, Yamazawa M, Arai K-I. 1997. Effect of bovine plasma on heat-induced cross-linking of myosin heavy chains in salt-ground meat from walleye pollack frozen surimi. *Nippon Suisan Gakkaishi* 63: 739-747.
- Ziegler GR, Foegeding EA. 1991. The gelation of protein. In *Advances in Food and nutrition Research*, Kinsella JE, ed. Academic press, New York. p 203-298.
- 해양수산부. 2000. 1999년 일반해면어업 월별.어종별 생산량. 해양수산통계연보. p 1091.

제 6 절 알칼리 처리 회수 단백질의 동결 안정성

서론

수리미의 근원섬유단백질은 장기간 동결 저장하는 동안 변성하여 응집하고 결과적으로 젤화 특성을 소실한다. 어육 단백질은 동결 전에 냉동변성 방지제와 혼합하지 않으면 변성과 응집에 민감하다. 냉동변성 방지제는 수리미 단백질의 제조 공정의 마지막 단계에서 혼합하여 동결과 동결 저장에 일어나는 변성의 영향을 최소화 할 수 있다. 그러나 냉동변성지제의 첨가가 동결 저장 중 단백질의 변성을 완전하게 보호하는 것은 아니며, 몇 가지 변성 물질, 예를 들어 trimethylamine oxide(TMAO)의 분해 산물인 formaldehyde나 지질산화 생성물인 peroxide에는 효과적이지 못하다. 당을 첨가했을 때도 TAMO demethylase 활성이 검출되는 것에 미루어 변성 화합물에 의한 변성은 어류와 어육의 적절한 수세를 통해 이들 화합물과 효소를 제거함으로써 방지할 수 있다.

알칼리 처리 공정으로 회수한 어육 단백질은 pH 10.5-11의 알칼리 처리에 의해 어육에 분포하는 대부분의 효소는 변성되고, 수용성의 비단백태질소 화합물은 용해한 어육의 침전 및 회수 단계에서 제거될 것으로 예상된다. 그러나 Choi and Park(2002)은 산 처리 공정으로 회수한 Pacific whiting 어육 단백질은 수세법으로 회수한 어육 단백질에 비하여 높은 cathepsin B와 L 활성을 가지는 반면, Ca, Mg-ATPase 활성은 완전히 소실되었다고 하였고, Kim et al.(2003)은 pH 10.5에서 처리한 어육단백질이 pH 2, 3, 11, 12에서 처리한 어육 단백질에 비하여 현저히 높은 cathepsin L 활성을 보인 반면, cathepsin B는 pH 2와 3에서 처리한 어육 단백질에서 높은 활성을 보여 cathepsin L과 B의 pH 안정성에 차이를 보인다고 하였다. 이 같은 보고는 극단적인 pH 처리를 행하여도 일부의 단백질 분해

효소는 잔존하고 있으며, 이들에 의한 단백질 분해를 무시할 수 없음을 지적한다. 동결 수리미의 Ca-ATPase 활성과 점도는 저장 기간과 역의 상관 관계를 가지며, 가열 젤의 파괴강도 및 변형 값과 정의 상관 관계를 가지고(Scott et al., 1988), 동결 저장 중 잔여 Ca-, 및 Mg-ATPase 활성으로 동결 명태 수리미의 품질을 판정하였다(Kato et al., 1979). 그러나 산 및 알칼리 공정으로 회수한 단백질은 ATPase 활성을 갖지 않기 때문에(Choi and Park, 2002) 잔여 ATPase 활성 측정을 통한 회수 단백질의 품질 판정은 불가능하다.

수리미는 동결하지 않은 신선한 어류로 제조하고 있지만, 동결 어류를 수리미 제조에 사용할 수 있다면, 연중 원료어의 공급이 가능하기 때문에 육상 수리미 제조업체의 경제성을 개선할 수 있고 어장과는 거리가 있으나, 수리미 제품을 다량 소비하는 대도시 근교에 가공 공장이 위치할 수 있다. 특히 알칼리 처리 공정은 동결어를 원료어로 사용할 수 있기 때문에 어획시기와 장소에 따른 제약을 피할 수 있는 장점이 있다.

본 연구는 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질의 동결 어장 안정성을 측정할 목적으로 동결 저장 중 조직과 색, 지질의 산화, 갈변도의 변화, 총 균수의 변화를 측정하였으며, 시판 수리미의 조직과 색을 비교하였다.

재료 및 방법

재료

동결 백조기(*Pennahia argentata*)는 경남 통영시 소재 top mart에서 구입하였으며, 전갱이(*Trachurus japonicus*)는 경남 통영시 소재 어시장에서 구입한 후, 두부, 내장 및 꼬리를 제거하고 단백질 회수를 위한 원료어로 사용하였다.

알칼리 처리 회수 단백질의 제조

알칼리 처리 회수 단백질은 meat grinder(M-12S, Kyeonggi, Fujii Korea, Korea)에서 2회 마쇄한 어육에 6배량의 증류수를 첨가하고 호모게나이저(Ika basic 25, Ika Works, Willmington, NC, USA)로 8000 rpm에서 분 동안 균질화한 후, 1 N NaOH를 사용하여 pH 10.5로 각각 조정하여 어육 단백질을 용해시킨 후 원심분리(10,000xg, 25분)하였다. 중성 지방 등이 포함된 유화층(최상층)과 결체조직, 막지질, 비늘, 뼈 등을 포함하고 있는 최저층을 버리고 가용성 단백질과 수화 단백질을 포함한 중간층을 회수하여 1 N HCl로 pH 5.0으로 조정하여 단백질을 침전시킨 후 원심분리(10,000x g, 25분)하여 단백질을 회수하였다. 회수한 단백질은 1 N NaOH로 pH 7.0으로 조절한 후 냉동변성방지제(5% sorbitol, 4% sucrose, 0.3% sodium polyphosphate)를 첨가하여 -20℃에서 동결 저장하면서 분석을 위한 시료로 사용하였다.

TBA 값의 측정

동결한 회수 단백질 2 g에 증류수 97.5 mL를 첨가하고 2.5 mL의 6 N HCl과 소포제를 첨가하여 50 mL를 받은 다음 여과하였다. 여과액 5 mL에 TBA/CH₃COOH 용액 5 mL를 혼합하여 90℃에서 30분 동안 가열 후 냉각하고 531 nm에서 흡광도를 측정하였다.

갈변도의 측정

갈변도는 회수 단백질 10 g에 40 mL의 66% ethanol 용액을 첨가하여 8000 rpm에서 30초 동안 균질화하고, 균질물을 Toyo No.2 여과지로 여과하여 430 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총균수의 측정

동결 저장한 회수 단백질 20 g에 멸균 증류수 180 mL를 첨가하여 혼합하고 60초 동안 Waring blender로 균질화하였다. 균질 시료를 A.P.H.A(1962) 방법에 준하여 표준평판배양법으로 실험하였으며, 배양 결과는 상법에 따라 시료 g 당으로 계산하였다.

가열 겔의 제조

동결 저장한 회수 단백질을 실온에서 해동시킨 후, 수분 함량이 78%가 되도록 얼음물을 고르게 뿌리고 food processor(SQ-103, Iljin, Korea)로 1분 혼합한 후 비닐 백에 넣어 진공 포장기(Food Saver Ultra, Tilia International Inc., China)를 이용하여 수리미 중의 기포를 제거하고 sausage 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., New York, NJ, USA)를 사용하여 collagen tube (1.9 x 20 cm, #180, Nippi Co., Tokyo, Japan)에 충전하였다. 충전한 tube는 90°C의 water bath에서 15분 동안 가열하고 즉시 얼음물에 15분 동안 냉각시켜 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였다.

조직과 색의 측정

Okada의 방법(1964)에 따라 실린형의 시료(1.9 x 2.0 cm)위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 rheometer (Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴강도(g)와 변형(mm) 값을 측정하였다. 겔의 표면 CIE Lab color는 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색차계는 표준 색 plate로 $L^* = 96.83$, $a^* = -0.36$, $b^* = 0.62$ 로 표준화하였으며, 백색도는 $L^* - 3b^*$ 로 계산하였다(Park, 1995).

통계분석

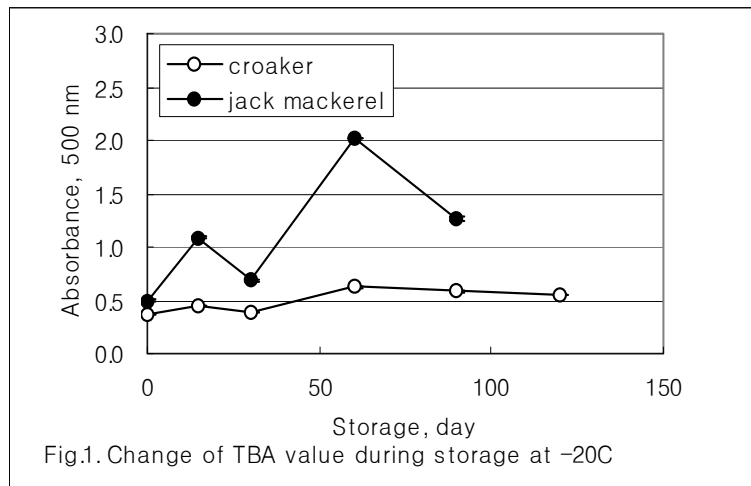
표준 편차와 유의성 검정의 통계분석은 JMP program(2002)의 standard least squares로 실시하였으며, 유의차는 $p < 0.05$ 수준에서 검토하였다.

결과 및 고찰

지질의 산화

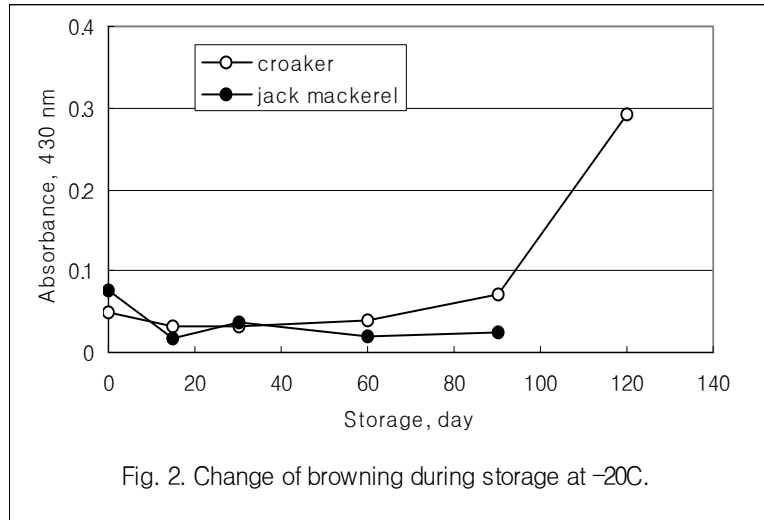
전갱이 회수 단백질은 냉동 저장 중 지질의 산화가 크게 일어나는 것으로 나타났으며, 백조기 회수 단백질은 저장 기간 중 큰 변화를 보이지 않았다(Fig. 1). 이 같은 결과는 전갱이 회수 단백질은 백조기 회수 단백질에 비하여 다량의 지질이 잔존하기 때문인 것으로 추정된다. 동결 저장 기간 중 TBA 값의 증가는 인지질의 가수분해에 의한 유리 지방산의 생성에 기인 할 수도 있다. 어육 중 인지질의 효소적 가수분해는 동결 저장 중에 급속하게 일어날 수 있으며, 지방산 생성은 단백질 변성과 지질 산화에 의해 증가되는 변패취의 원인이 될 수 있다(Sikorski et al., 1976). 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질은 상법과는 달리 수세 공정이 없기 때문에 다량의 hemoglobin과 myoglobin을 함유하고 있으며, pH 전이 공정은 hemoglobin의 pro-oxidative 활성을 증가시키기 때문에(Richards and Hultin, 2003), 회수 단백질에 남아있는 hemoglobin과 myoglobin은 지질의 산화에 기여한 것으로 추정된다. Deoxyhemoglobin은 민감한 heme-crevis 때문에 oxyhemoglobin에 비하여 강력한 산화 촉매로 작용하며, pH 7.2에 비하여 pH 6에서 hemoglobin의 산화 속도는 증가한다(Undeland et al., 2004). 알칼리 공정은 단백질 회수를 위해 pH 5.5로 조절하는 공정을 포함하기 때문에 상법에 비하여 hemoglobin의 산화가 촉진되고, 이들 deoxyhemoglobin과 metahemoglobin이 산화를 촉진하는 것으로 추정된다. 어중에 따른 hemoglobin의 pro-oxidation의 차이는 수심과 수온에 대한 적

응의 차이로 보고하였다(Undeland et al., 2004).



갈변도의 변화

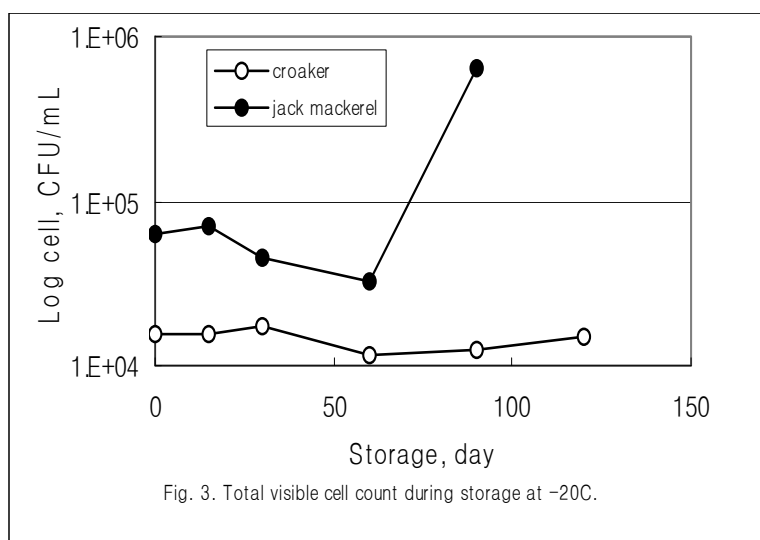
동결 저장 중 전갱이 알칼리 처리 회수 단백질의 갈변도는 저장 90일까지 거의 변화가 없었으며, 백조기 알칼리 처리 회수 단백질은 저장 90일까지 전갱이와 거의 차이를 보이지 않았으나, 저장 90일 이후에 급속히 증가하였다(Fig. 2). 동결 저장 중 백조기 알칼리 처리 회수 단백질의 급격한 갈변도의 증가는 전갱이 회수 단백질에 비하여 높은 명도 값으로 인하여 갈변도를 잘 반영할 수 있기 때문 인 것으로 추정된다.



생균수의 변화

회수 단백질의 초기 생균수는 백조기와 전갱이가 각각 $1.5 \times 10^4/g$ 및 $6.4 \times 10^4/g$ 으로서 전갱이 회수 단백질이 4배 높았으며, 동결 저장 일수가 증가함에 따라 감소하여 저장 60일째에는 각각 $1.2 \times 10^4/g$ 과 $3.2 \times 10^4/g$ 을 나타내었다(Fig. 3). 이 같은 결과는 적절히 냉각한 신선한 어류로 제조한 수리미의 미생물은 $10^3-10^4/g$ 의 범위라는 보고와 거의 일치한다(Lee, 1992). 시판하고 있는 게맛살과 튀김어묵의 생균수는 $8.8 \times 10^4/g - 4.9 \times 10^5/g$ 및 $7.0 \times 10^4/g - 3.9 \times 10^6/g$ 으로서 제품에 따라 많은 차이를 보인다(김, 1985). 고등어 버거 제조를 위한 원료 고등어의 생균수는 $4.8 \times 10^3/g$ 이었으며, 두부와 내장을 제거하고 수세하여 고기같이한 다음, 다수의 첨가물과 항산화제를 첨가하여 대두유에 튀긴 후 공기 포장한 고등어 버거의 생균수는 $2.8 \times 10^2/g$ 이었고 $-20^\circ C$ 에서 60일 저장 후에는 $3.3 \times 10/g$ 까지 감소하였다(한, 1989). 오래된 어류로 만든 수리미는 $10^6/g$ 의 미생물을 포함하고 있으며, 미생물 상의 22%는 *Pseudomonas* 속이다(Elliot, 1987).

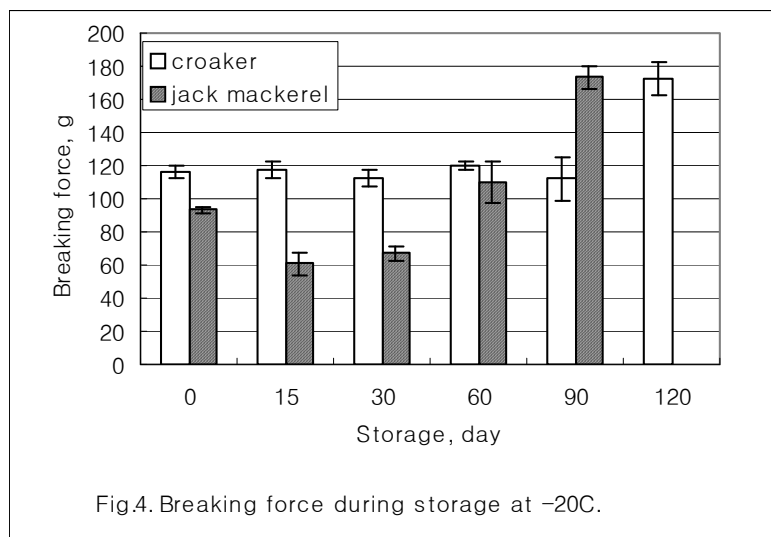
그러나 동결 수리미에서 발견되는 대부분의 세균은 가열 처리 조작 중에 불활성화되기 때문에 수리미 제품에서 발견되는 세균은 가공 후에 오염된 미생물이거나 전분, 솔비톨, 향기 및 색소 성분, 난백 등에서 유래한 내열성 세균이라고 보고하였다(Matches et al., 1987).



조직의 변화

동결 저장한 백조기 및 전갱이 알칼리 회수 단백질의 가열 젤의 조직을 측정하였다. 백조기의 경우 가열 젤의 파괴강도는 저장 90일까지 유의적인 차이없이 112-120 g의 범위를 유지하였으나, 전갱이에서 회수한 단백질의 가열 젤은 저장 30일까지 감소하였다가 이후 증가하여 저장 90일째에는 174 g까지 도달하였다(Fig. 4). 그러나 잘 부서지는 관능적 특징을 보여 기계적 물성 값과 관능적 특성에 미루어 백조기 회수 단백질은 90일, 전갱이 회수 단백질은 60일이 저장 한계인 것으로 판단하였다. 이 같이 동결 저장 기간이 일반적인 수리미에 비하여 대단히 짧은 것은 극심한 pH 전이에 의

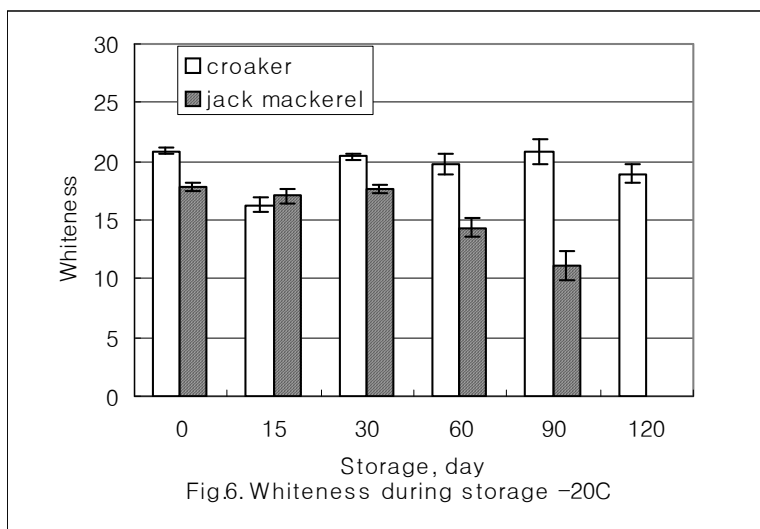
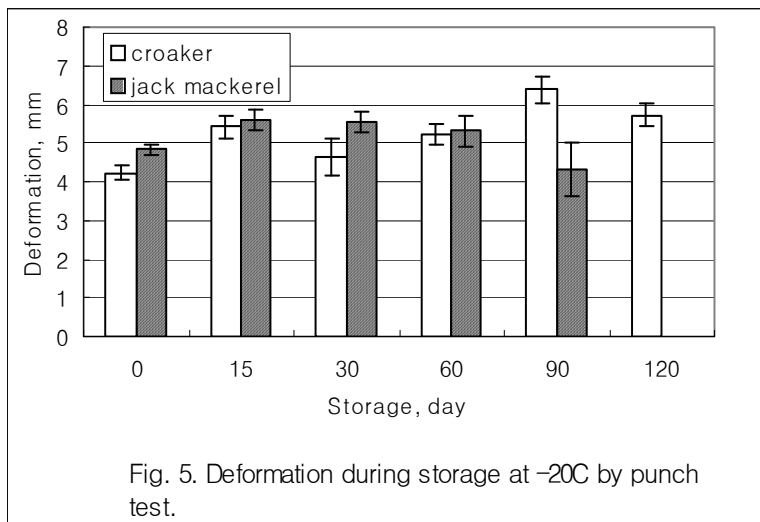
한 myosin의 변성과 동결 저장에 의한 동결 변성이 겹쳐 전체적인 회수 단백질 myosin의 변성 속도는 상법으로 제조한 수리미 보다 현저히 크기 때문인 것으로 추정된다. 근원섬유 단백질은 pH 6.5 이하에서 불안정하여 젤 형성능을 급격히 소실하며, 동결 시 근원섬유 단백질의 불안정성은 단백질의 원형 구조를 안정하게 하는 분자 내 소수적 상호작용의 약화에서 유래한다고 하였다(MacDonald et al., 2000).



알칼리 공정으로 회수한 어육단백질의 변형 값은 백조기인 경우 저장 15 일째에 다소 증가하여 저장 90일까지 큰 변화를 보이지 않은 반면, 전갱이는 저장 15일 이후에 다소 증가하다가 저장 90일째에는 크게 감소하였다 (Fig. 5). 가열 젤의 탄력을 반영하는 변형 값의 감소도 파괴강도와 마찬가지로 공정 중 pH 전이에 의한 myosin의 심각한 손상과 동결 저장 중의 변성에 의해 일반적인 수리미 단백질에 비하여 변성의 속도가 크기 때문에 저장 기간이 짧은 것으로 추정된다. 신선한 어육으로 만든 수리미 단백질의 strain은 -20℃에서 6개월 저장 한 후에도 유의적인 변화를 보이지 않

는다는 보고(MacDonald et al., 2000)에 비추어 알칼리 공정으로 제조한 회수 단백질의 동결 저장 기간은 백색육 어류는 90일, 적색육 어류는 60일이 적당할 것으로 보인다.

백색도는 백조기 회수 단백질인 경우, 저장 15일째를 제외하고는 저장 기간 중 유의적인 변화를 보이지 않은 반면, 전갱이는 저장 60일 이후부터 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 6). 이 같은 결과는 갈변도에서 저장 60일 이후부터 증가하는 것에 미루어 황색도의 증가가 전체적인 백색도의에 기여한 것으로 예상되며, 황색도의 증가는 지질 산화 생성물들에 의한 여러 가지 반응에 의해 일어난 것으로 추정된다. 혈액과 혈액 성분들은 지질의 산화를 중재하며, 이 같은 형태의 지질 산화는 hemoglobin의 농도와 형태에 의존한다고 보고하였다(Richards and Hultin, 2002). 이 같은 보고에 비추어 전갱이의 알칼리 처리 회수 단백질은 상법의 수리미에 비하여 다량의 hemoglobin과 myoglobin, 및 단백질 분리 과정에서 혼입된 지질을 포함하고 있기 때문에 저장 기간의 연장과 더불어 혈액과 혈액 성분의 지질 산화 중재에 의한 산화 속도가 백색육 어류에 비하여 크고, 산화 생성물에 의한 갈변도의 증가 때문에 전체적으로 백색도가 감소한 것으로 추정된다.



요약

알칼리 처리 공정으로 회수한 단백질의 동결 저장 안정성을 측정할 목적으로 회수 단백질을 -20℃에서 저장하면서 지질의 산화, 갈변도, 생균수,

조직 및 색의 변화를 측정하였다.

전갱이 회수 단백질은 동결 저장 기간의 증가와 더불어 지질의 산화 생성물도 증가하는 반면, 백조기 회수 단백질은 거의 일정한 수준을 유지하였다. 백조기와 전갱이 회수 단백질의 갈변도는 저장 90일까지 큰 변화를 보이지 않았다. 생균수는 전갱이 회수 단백질이 백조기 회수 단백질에 비하여 높았으며, 저장 60일까지 감소하는 경향을 보였다. 백조기 회수 단백질의 파괴강도, 변형 값 및 백색도는 저장 90일까지 유의적인 변화를 보이지 않았으나, 전갱이 회수 단백질의 파괴강도는 저장 15일까지 감소하였다가 증가하였으며 변형 값과 백색도는 저장 60일 이후 다소 감소하였다. 이 같은 실험 결과는 백조기 및 전갱이 회수 단백질의 동결 저장 기간은 각각 90일과 60일이 적당한 것으로 판단된다.

참고문헌

- A.P.H.A. 1962. Recommended procedure for the bacteriological examination of sea water and shellfish. 3rd ed. An. Pub. Health Assoc. Inc. USA, 1-51.
- Choi YJ, Park JW. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J Food Sci* 67: 296-2967.
- Elliot EL. 1987. Microbiological quality of Alaska poolock surimi. In Seafood Quality Determination, DE Kramr and J Liston, eds, Elsevier, Amsterdam p 269-281.
- JMP. 2002. Statistics and Graphics Guide. SAS Institute, Cary, NC.
- Katoh N, Nozaki H, Komatsu K, Arai K-I. 1979. A new method for evaluation of the quality of frozen surimi from Alaska pollack relationship between myofibrillar ATPase activity and Kamaboko

- forming ability of frozen surimi. *Bull Japan Soc Sci Fish* 45: 1027-1032.
- Kim YS, Park JW, Choi YJ. 2003. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fisheries Science* 69: 1231-1239.
- Lee JS. 1992. Microbiological considerations in surimi manufacturing. In *Surimi Technology*, TC Lanier and CM Lee, eds, Marcel Dekker Inc, New York, p 113-121.
- MacDonald GA, Lanier TC, Carvajal PA. 2000. Stabilization of protein in surimi. In *Surimi and Surimi Seafood*, JW Park, ed, Marcel Dekker Inc, New York, p 91-125
- Matches JR, Raghaubeer E, Yoon IH, Martin RE. 1987. Microbiology of surimi-based products. In *Seafood Quality Determination*, DE Kramer and J Liston, eds, Elsevier, Amsterdam, p 373-387.
- Okada M. 1964. Effect of washing on the jelly forming ability of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 30: 255-261.
- Park JW. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J Food Sci* 59: 525-527.
- Richards MP, Hultin HO. 2003. Hemolysates from mackerel, herring and trout promote lipid oxidation at different rates. *Fisheries Science* 69: 1298-1300.
- Scott DN, Porter RW, Kubo G, Miller R, Koury B. 1988. Effect of freezing and frozen storage of Alaska pollock on the chemical and gel-forming properties of surimi. *J Food Sci* 53: 353-358.
- Sikorski Z, Olley J, Kostuch S. 1976. Protein changes in frozen fish.

Critical Reviews In Food Science and Nutrition, 8: 97-129.

김동관. 1985. 연제품의 세균학적 품질 및 내열성 세균의 특성에 관한 연구. 부산수산대학교 대학원 공학석사학위 청구논문.

한봉호. 1989. 정어리, 고등어를 이용한 냉동조리식품의 가공에 관한 연구. 부산수산대학 수산식품연구소.

제 7 절 알칼리 회수 단백질의 가열 젤화 기구

서론

어육 단백질은 중요한 식품 자원이며 보수력, 지방 결합능, 젤화능, 유화 및 거품 특성과 같은 식품학적 기능성 때문에 식품 제조 시에 주요 구성분으로 사용할 수 있다(Xiong, 1997). 그러나 수많은 어류, 특히 일시 다획성 어류에서 얻은 어육 단백질의 사용은 크기가 작고 다량의 지질과 비근육 단백질을 함유하고 있으며, 원양에서 어획한 백색육 어류는 장거리 수송을 위하여 냉동하기 때문에 작은 어체는 공정의 자동화에 걸림돌이 되고, 다량의 혈합육과 비근육 단백질 및 냉동변성은 어육 단백질의 식품학적 기능성을 저하시킨다(Shenouda, 1980; Lanier, 1987; Snow, 1992). 최근 이 같은 문제를 해결하기 위해 저이온 강도의 용액을 사용하거나(Krishnamurthy et al. 1996; Chang et al., 2001), 저이온 강도의 산과 알칼리 용액에서 단백질을 용해시킨 후 등전점 침전시켜 회수하는 방법(Choi and Park, 2002; Kristinsson and Hultin, 2003; Park et al., 2003a; Park et al., 2003b)이 제시되었다. 이 중에서 pH 2.5와 10.5 부근에서 어육 단백질을 용해시키고, pH 5.0 부근에서 침전시켜 단백질을 회수하는 방법은 수리미 제조 과정에서 수세로 인해 소실되는 근육단백질의 약 25-30%에 해당하는 근형질 단백질을 회수할 수 있기 때문에 수율을 획기적으로 증대시킬 뿐만 아니라 수세수로 인한 수질 오염을 방지할 수 있다(Park et al., 2003a). 그러나 이 같은 극단적인 pH 처리를 통해 회수한 어육 단백질은 제조 과정에서 pH 변성이 예상되며 가열 젤을 형성할 때 수세법으로 근원섬유 단백질을 농축한 수리미와 다른 변성 기구를 보일 것으로 예상된다. 한편 수리미는 탄력있는 가열 젤을 형성하기 위해서 근원섬유 단백질의 용해와 망상 구조 형성을 위해 1.5-2.0%의 염을 첨가해야 하지만(Lanier, 1992) pH 처리를 통해 회수한 어육 단백질의 가열 젤 형성

시 염의 첨가는 오히려 파괴강도와 변형 값을 감소시키는 것으로 나타나 (Park et al., 2003b) 가열 젤 형성 기구에 차이가 있음을 보여주고 있다. 그러나 pH 처리를 통해 회수한 단백질의 가열 변성 및 젤 형성 기구에 관한 연구는 거의 이루어져 있지 않다.

본 연구에서는 알칼리 용액으로 처리하여 회수한 어육 단백질의 가열 중 ANS 소수성의 변화, SH 기의 변화, 전기영동 상의 변화, IR 스펙트럼의 변화 및 엔탈피의 변화를 측정하여 가열 변성기구와 식염을 첨가하지 않은 가열 젤 형성 기구를 구명하고자 시도하였다.

재료 및 방법

재료

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

용해 단백질의 제조

근형질 단백질을 포함하는 회수 단백질은 다음과 같이 조제하였다. 즉 10% sorbitol을 포함하는 마쇄 육에 6배량의 찬 증류수를 첨가하여 8000 rpm에서 1분 동안 호모게나즈하였다. 균질물에 1 N NaOH를 첨가하여 pH 7, 8, 9, 10, 10.5 및 11로 조절하고 원심분리(10,000 x g, 25분)하여 용해한

중간의 층만을 취하여 사용하였다.

ANS 소수성 측정

ANS 소수성은 Roura 등의 방법(1992)에 따라 용해한 어육 단백질을 동일한 pH 용액으로 0.125, 0.25, 0.5 및 1 mg/mL가 되도록 4단계로 희석한 어육 단백질 3 mL를 가열 순환수조(Model PCC-7000, EYELA, Tokyo, Japan)에서 분당 1°C의 속도로 25°C에서 80°C까지 가열하면서 5°C 간격으로 시료를 꺼내 즉시 얼음물에서 냉각시키고 20°C에서 5분 동안 단백질을 안정시킨 다음 10 uL의 1-anilino-8-naphthalene sulfonate(ANS) 용액을 첨가하여 excitation 파장 374 nm, emission 파장 485 nm에서 형광광도계(LS-50B, Perkin Elmer, USA)로 측정하였다. 한편 등은 가열을 위해 각각의 어육 단백질 시료를 20, 30, 40, 50, 60, 70 및 80°C에서 10분 동안 가열한 후 동일한 방법에 따라 형광강도를 측정하였다. 표면 소수성의 크기는 단계별로 희석한 단백질 용액의 농도에 대한 형광강도의 크기를 선형회귀로 분석하고 선형 방정식의 기울기로 표시하였다.

FT-IR 스펙트럼의 측정

KBr 분말을 균일하게 혼합하여 성형기에서 3-5분 동안 가압하면서 press로 압착하여 투명한 disk를 성형하였다. 성형한 KBr disk를 cell에 넣고 동일 pH 용액을 사용하여 단백질의 농도를 5 mg/mL로 조절한 각 시료 용액 10 uL를 loading한 후 500-4000/cm의 범위에서 FT-IR(IFS 66, Bruker, Germany)로 흡수 스펙트럼을 분석하였다.

SH기의 측정

반응성 SH기와 total SH기는 Ellman의 방법(1959)을 다소 변형하여 측

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

SDS-polyacrylamide 전기영동(SDS-PAGE)

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

SDS-PAGE는 5%의 농축 젤과 10%의 분리 젤에서 Laemmli의 방법(1970)에 따라 실시하였다. 전기영동이 끝난 젤은 Coomassie brilliant blue R-250에서 하룻밤 염색한 후 methanol:acetic acid:증류수(1:1:8, v/v/v)의 탈색액으로 배경이 깨끗해질 때까지 탈색하였다. 분자량 측정을 위해 토끼 근육 myosin(205 kDa), 대장균 galactosidase(116 kDa), 토끼 근육 phosphorylase b(97 kDa), 토끼근육 fructose-6-phosphate kinase(84 kDa), 소혈청 albumin(66 kDa), 소 간 glutamic dehydrogenase(55 kDa), 토끼 근

육 glyceraldehyde-3-phospho dehydrogenase(36 kDa), 소 적혈구 carbonic anhydrase(29 kDa), 소 췌장 trypsinogen(24 kDa), 대두 trypsin inhibitor(20 kDa), 우유 α -lactoalbumin(14.2 kDa) 및 소 폐 aprotinin(6.5 kDa)을 포함하는 광범위 표준 단백질 혼합물(M 4038, Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo, USA)를 사용하였다.

시차주사열량계(DSC) 분석

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

통계분석

표준편차, 유의성 검정 및 선형회귀분석은 JMP 통계 프로그램(2002)로 실시하였다.

결과 및 고찰

ANS 표면 소수성의 변화

갈고등어와 냉동 꼬마 민어의 pH별 기능성 단백질의 최대 소수성 노출 온도에 미치는 pH의 영향을 검토한 결과(Fig. 1), 40°C에서 소수성은 pH 7.0에서 가장 높았고, 60°C에서는 pH 9.0, 80°C에서는 pH 8.0과 10.5에서 비슷한 값을 보였다(Fig.1a). 그리고 냉동 꼬마 민어는 40°C에서는 pH 11, 60°C와 80°C에서는 pH 10.5와 pH 7.0에서 가장 높은 값을 보였다(Fig.1b).

이 같은 결과는 가열 온도 상승과 더불어 소수성 잔기가 외부로 노출되고 소수성 상호작용은 60°C 부근에서 최대로 일어나지만, 어종과 pH에 따라 소수성이 최대로 노출되는 온도 영역에는 다소 차이가 있는 것으로 판단된다. 액토미오신 분자들은 약 30°C에서 풀리기 시작하여 분자 내부에 포함된 소수성 및 SH 기들이 외부로 노출되고 이들의 상호작용에 의해 응집되기 시작하며, 40°C 이상에서 미오신 분자의 일부는 액틴 필라멘트에서 해리되어 해리된 미오신 분자와 미오신이 부족한 분자들이 공존하고 60°C 이상에서 액토미오신은 큰 응집물을 형성하여 섬유상 형태는 관측되지 않으며 이 응집은 주로 S-S 결합에 의해 일어난다고 하였다(Sano et al., 1994). 회수 단백질에 포함된 근형질 단백질은 소수성 노출에 영향을 미치는 것으로 추정된다. 결체조직 단백질을 제거한 Pacific whiting 육의 DSC 분석에 의한 전이온도는 46.5°C와 75.3°C로 두개의 peak를 보였으나, 근형질 단백질을 회분은 45.2°C, 59.0°C 및 75.5°C에서 3개의 peak를 보였고, 근형질 단백질을 제거한 육은 열에 민감하며 pH는 thick filament, 특히 myosin의 구조에 영향을 미친다고 하였다(Beas et al., 1990).

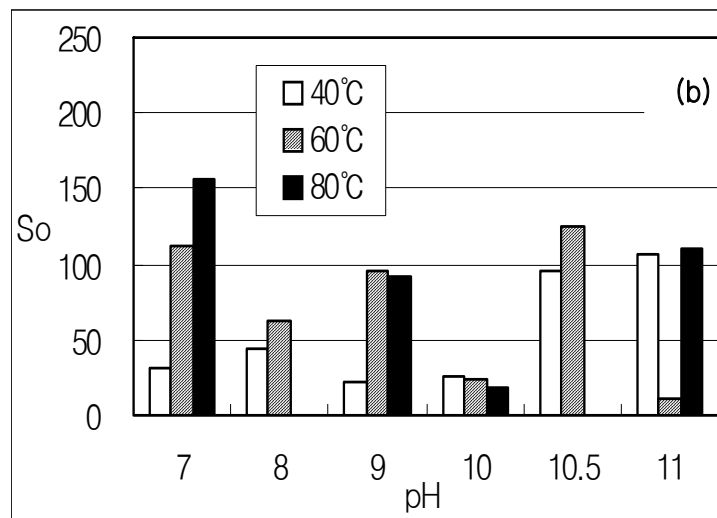
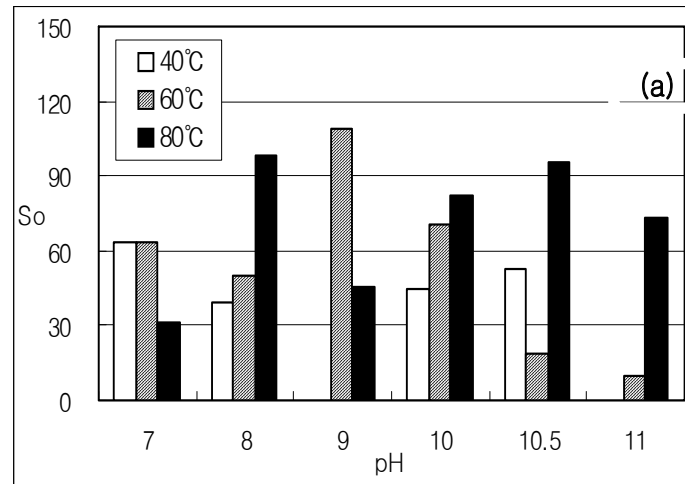


Fig.1. Surface hydrophobicity of the functional protein from mackerel(a) and frozen croaker(b).

수소결합의 변화

단백질의 구조 변화에 미치는 pH의 영향을 알아보기 위해 IR 스펙트럼의 변화를 분석하였다. 갈고등어인 경우(Fig. 2), pH 7에서 나타난 2911.0/cm,

2845.0/cm의 peak는 pH 10.0 이후 사라졌으며, 1636.4/cm의 peak는 pH 10과 10.5에서 현저히 증가하였다가 pH 11.0에서 다시 감소하였다. 2360.9/cm와 2342.7/cm는 pH 11에서 완전히 사라졌다. 한편 pH 8.0 이상에서 1395-1402/cm의 peak가 새로 출현하였다. 한편 냉동 꼬마 민어의 경우도 pH 7.0에서 나타난 2927/cm와 2854/cm의 peak는 pH 10.5 이상에서 사라진 반면, 2330/cm와 1123/cm의 peak는 pH 10.5에서 새로이 출현하였으며 pH 상승과 더불어 1628/cm의 peak는 증가하는 것으로 나타났다(Fig.3).

Li-Chan and Nakai(1991)는 lysozyme의 열 및 DTT에 의한 젤화에서 2880, 2942/cm는 지방족 C-H, 1660/cm는 amide I, 1447/cm는 CH₂, 1080/cm와 1107/cm는 C-N, 1030/cm는 Phe, 543/cm는 Trp의 변화에 해당한다고 하였고, 가열 처리는 amide I에 해당하는 1660/cm에 해당하는 band의 증가를 초래하고 이는 total β -sheet 구조의 증가에 기인한다고 하였다(Li-Chan and Nakai, 1991). 본 실험에서 pH 7.0에 비하여 pH 10.5에서 1636/cm에 해당하는 peak의 증가는 알칼리 pH에서 어육 단백질의 구조 풀림에 기인한 β -sheet 구조의 증가로 판단된다. 이 같은 결과는 높은 pH 범위에서 변성에 의해 어육 단백질의 α -helix 구조가 풀리는 것을 의미한다. α -Helix의 열에 대한 저항은 어육 액토미오신의 젤화를 방지하기 때문에 α -helix 구조의 풀림은 자연응고 중 액토미오신의 젤화를 위해 필수적이라고 하였다(Ogawa et al., 1999). Pacific whiting 수리미의 Raman spectrum에서 염석, 자연응고 및 조리 시 지방족 사슬의 소수성 상호작용의 포함은 C-H stretching 진동에 해당하는 2930/cm 근처의 강도 감소로 추정할 수 있다고 하였으며 (Bouraoui et al., 1997), 3070/cm 근처의 띠는 방향족 C-H stretching에 해당한다고 하였다(Li-Chan and Nakai, 1991). 그러나 2330-2370/cm의 흡수띠에 관한 의미는 분명치 않다.

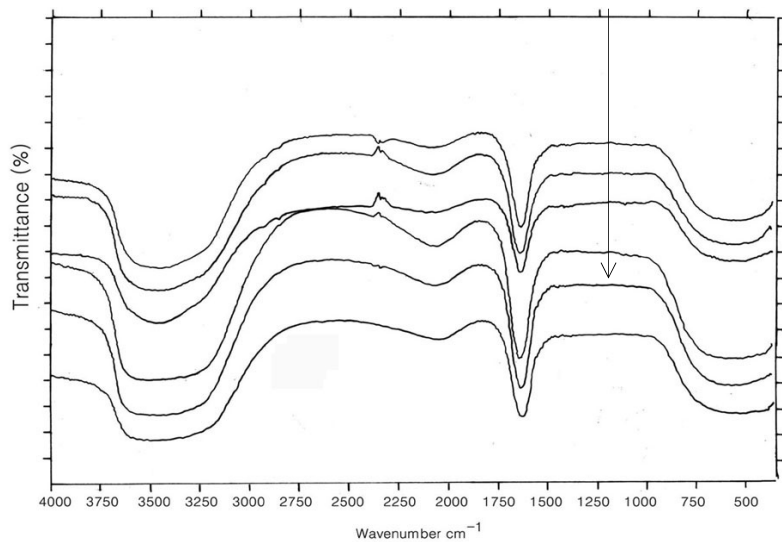


Fig. 2. FT-IR spectra (500–4000/ cm) of the functional protein from mackerel at pH 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 10.5 (top to bottom), and 11. 50 μg of protein was loaded in cell.

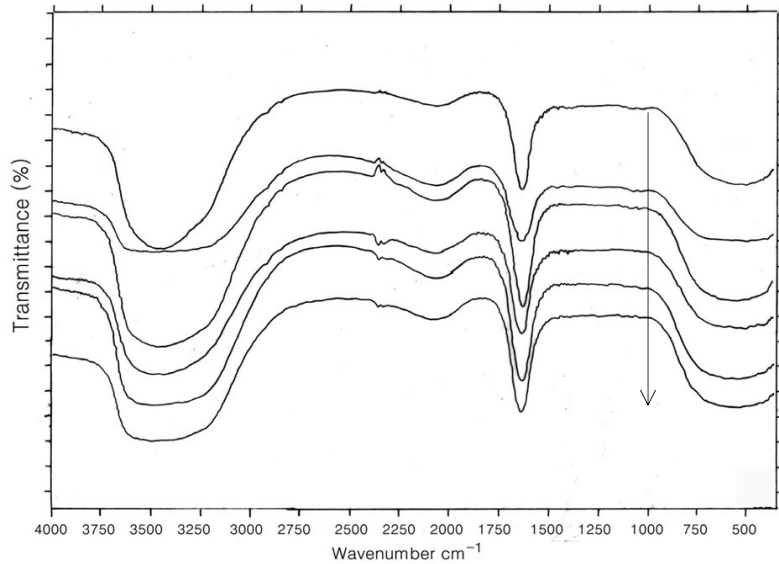


Fig.3. FT-IR spectra (500-4000/cm) of the functional protein from frozen croaker at pH 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 10.5 (top to bottom) and 11. 50 μg of protein was loaded in cell.

반응성 및 총 SH 기의 변화

용해 단백질의 반응성 및 총 SH기의 변화에 미치는 pH의 영향을 알아보기 위해 pH 7, 8, 9, 10, 10.5 및 11에 용해한 갈고등어 단백질을 20-80°C까지 1°C/min의 속도로 가열하면서 40°C, 60°C 및 80°C에서의 반응성 SH기(Fig. 4)와 총 SH기(Fig. 5)의 변화를 측정하였다. 반응성 SH 기의 수는 40°C와 60°C에서 pH 상승과 더불어 감소하였고 80°C에서도 pH 상승과 더불어 감소하는 경향을 보였으나, 큰 차이는 없었다. 총 SH기도 pH 및 온도에 대한 영향은 반응성 SH기와 비슷한 경향을 보이고 있었다. 반응성 SH기와 총 SH기 수의 차이는 pH 7.0과 pH 10에서 비교적 큰 것으로 나타나 반응성 SH기의 환원에 의한 S-S 결합 형성을 시사하였다. S-S 결합은 어육 젤의 탄성 modulus의 증가에 기여하며(Niwa et al., 1986),

가열에 의하여 분자 표면에 나타난 반응성 SH는 단백질 분자 사이에 결합을 통해 젤 형성에 기여한다고 하였다(Itoh et al., 1979). 그리고 가열에 의해 형성된 난백의 강도와 단백질 SH 기는 높은 상관을 가지고 반응성 SH기들은 난백의 열에 의한 젤 형성에 중요한 역할을 행사한다고 하였다(Margoshes, 1990).

냉동 꼬마 민어의 반응성 및 총 SH기 수의 변화는 갈고등어의 경우와 많은 차이를 보이고 있어서 온도에 따른 반응성 SH기의 수는 거의 차이가 없었고 pH 10.5에서 가장 높은 반응성 SH 기 함량을 나타내는 것에 미루어(Fig. 6), pH 10.5에서 가장 내부의 SH기가 표면으로 노출되는 것으로 판단된다. 그리고 가열 온도에 따른 총 SH기 수는 차이가 없었으나 pH 7, 8, 9에서 가장 높았고 pH 10과 11에서는 1/3이 감소하였다(Fig. 7). 이 같이 높은 pH에서 총 SH기의 수가 감소한 것은 SH기가 다른 화학 반응에 참여한 것으로 판단된다. 초산에 의해 유도된 젤의 강도는 자연응고와 가열 조건에 의해 영향을 받으며 젤화는 SH 기의 산화와 연관이 있다고 하였다(Chawla et al., 1996).

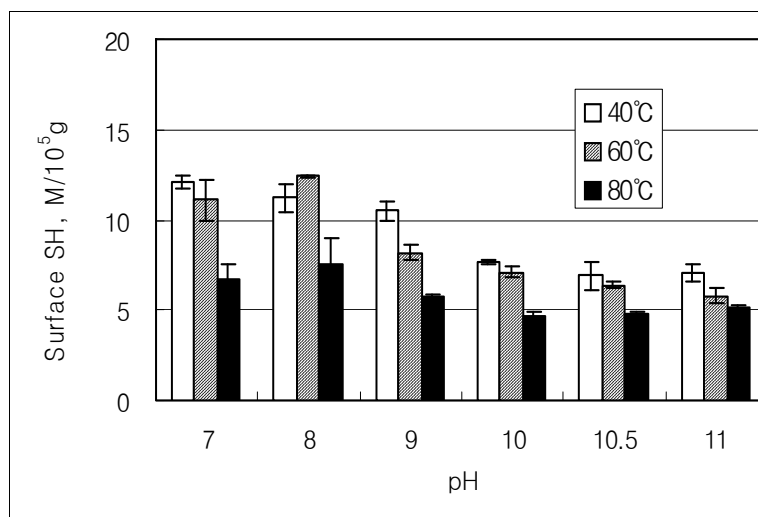


Fig. 4. Reactive sulfuryl group content of the functional protein from mackerel.

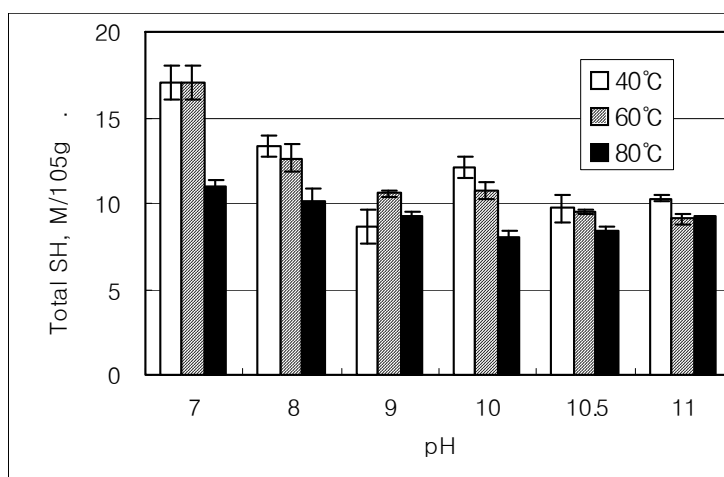


Fig. 5. Total sulfuryl group content of the functional protein from mackerel.

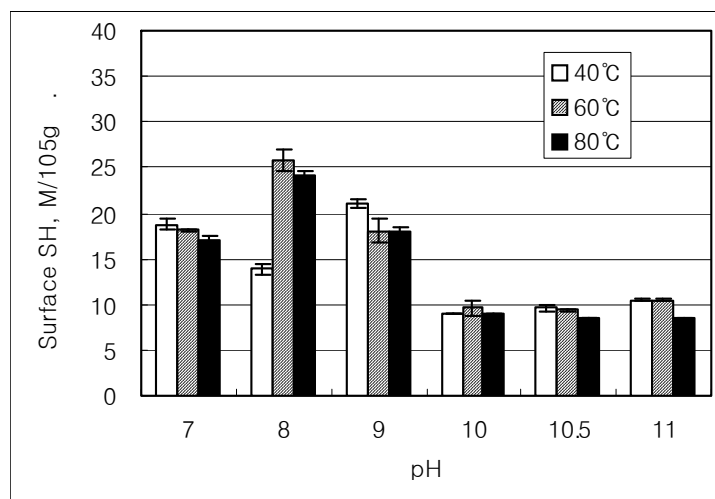


Fig. 6. Reactive sulfuryl group content of the functional protein from frozen croaker.

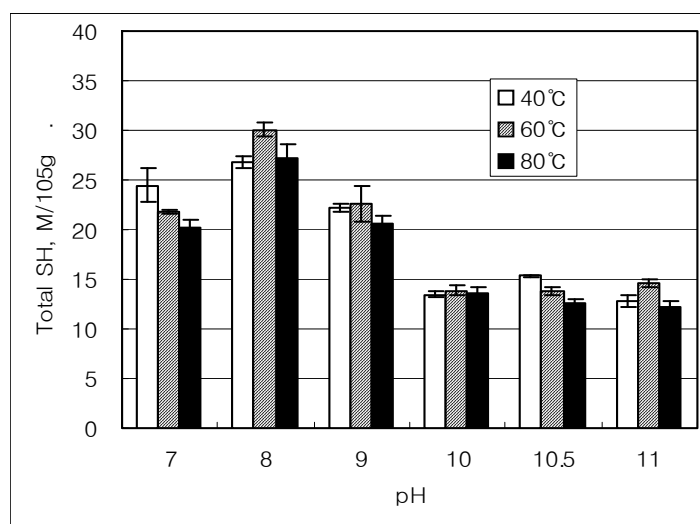
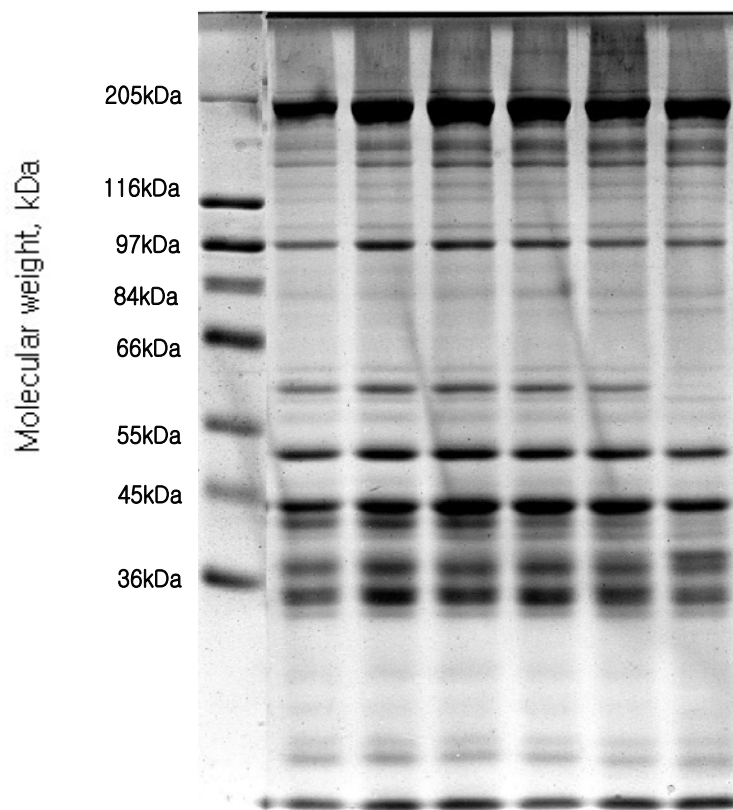


Fig. 7. Total sulfuryl group content of the functional protein from frozen croaker.

SDS-PAGE

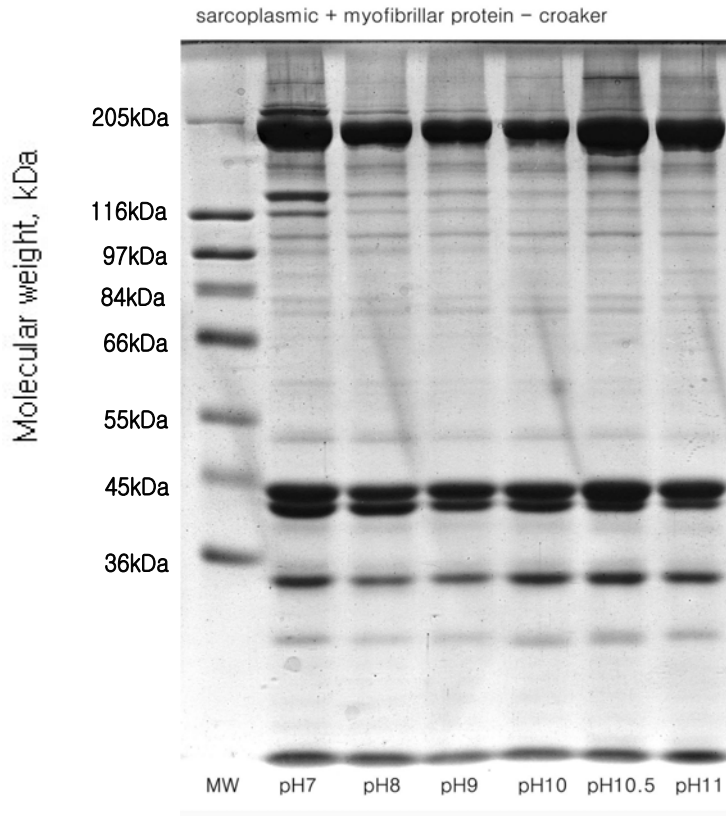
갈고등어와 냉동꼬마민어의 육단백질을 pH 별로 용해시킨 후 10% polyacrylamide 겔에서 SDS-PAGE한 결과, 갈고등어는 pH가 상승함에 따라 myosin heavy chain의 양은 다소 감소하면서 205 kDa과 116 kDa 사이에 minor band가 출현하였고 pH 11에서 약 50 kDa에 해당하는 band가 소실되었다(Fig.8). 그리고 냉동 꼬마 민어는 pH 7.0에서 뚜렷하게 나타난 분자량 약 125 kDa의 band의 강도는 pH 상승과 더불어 감소하는 것으로 나타났고 myosin heavy chain에 해당하는 205 kDa 이상에서 몇 개의 특정한 minor band를 관측할 수 있었다(Fig.9). 이는 pH 10.5에서 myosin heavy chain의 중합체 형성에 의한 것으로 판단된다. 가열 겔의 강도는 myosin heavy chain의 중합과 분해에 의존한다(Hossain et al., 2001). Threadfin bream의 acetic acid에 의한 겔화는 myosin heavy chain의 분해와 관련이 있고 약 160 kDa의 단백질 분자가 나타난다고 하였다(Chawla et al., 1996). Hoki 수리미 중 수용성 단백질 성분은 myosin heavy chain의 가교 결합 반응을 촉매하고 이 반응과 자연응고 kamaboko 겔의 형성을 위해 Ca 이온이 필수적이며 이 반응은 transglutaminase에 의한 가능성을 시사하였다(Limura et al., 1991).



HM* pH 7 pH 8 pH 9 pH 10 pH 10.5 pH 11

Fig. 8. SDS-PAGE pattern of the functional protein from mackerel..

HM*: wide range standard marker



HM* pH 7 pH 8 pH 9 pH 10 pH 10.5 pH 11

Fig. 9. SDS-PAGE pattern of the functional protein from frozen croaker.
HM*: wide range standard marker

열특성

근원섬유 단백질, 근형질 단백질 및 단백질 회수 공정의 차이에 의한 구성 단백질의 전이온도와 엔탈피를 사차주사열량계로 분석하였다(Table 1). 근원섬유 단백질은 42.3, 51.7 및 60.1°C에서 endothermic peak를 보였으며 변성 엔탈피 값은 0.170 cal/g이었다. 잉어의 myosin, light meromyosin 및 actin은 각각 50°C, 47°C 및 75°C에서 최대 전이온도를 나타내며, 조 actin은 조절단백질의 영향으로 인하여 53°C에서 peak를 보이고, 잉어의 천연

액토미오신은 43°C, 53°C 및 68°C에서 세 개의 peak를 보인다고 하였다.

Table 1. The results of DSC analysis of myofibrillar, sarcoplasmic and surimi protein from croaker with processing

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

Data was mean values by duplicate determination

¹⁾ Maximal transition temperature(°C)

²⁾ enthalpy value (cal/g)

그리고 이 같은 변성온도는 동물에 차이가 있으며 서식온도와 밀접한 상관이 있다고 하였다(Akahane et al., 1985). 본 실험의 결과 근원섬유단백질은 42.3°C, 51.7°C 및 60.1°C에서 최대 전이온도를 나타내어 잉어와 다소 차이를 보이는 것은 동물의 종에 따른 차이인 것으로 판단되며, 51.7°C의 peak는 myosin을 변성을 반영하는 것으로 보인다.

근형질 단백질은 33.4°C와 58.5°C에서 endothermic peak를 나타내고 변성 엔탈피 값은 0.0037 cal/g이었다. DSC로 측정한 결체 조직이 없는 Pacific whiting 육의 근형질 단백질 획득은 45.2, 59.0°C 및 75.5°C의 3개의

전이온도와 3.92 cal/g의 엔탈피 값을 가진다는 보고(Beas et al., 1990)와 본 실험의 결과는 58.5°C를 제외하고는 많은 차이를 보이며, 근형질 단백질의 변성 엔탈피 값이 낮은 것은 근형질 단백질을 회수하는 과정에서 pH 5.5로 침전했을 때 단백질의 변성이 일어났기 때문인 것으로 추정된다.

알칼리 공정으로 제조한 회수단백질은 33.1, 44.3°C 및 65.5°C에서 전이온도가 나타났으며, 변성 엔탈피 값은 0.0188 cal/g으로 근원섬유단백질에서 myosin의 변성에 해당하는 온도인 51.7°C에 해당하는 peak는 보이지 않았으며 변성 엔탈피도 근원섬유단백질에 비하여 낮은 것에 미루어 극단적인 알칼리 pH가 어육 단백질의 변성에 기여한 것으로 추정하였다. 자연응고 지표와 되풀림이 지표는 엔탈피 변화에 의존하며 엔탈피변화와 젤 강도 사이에는 상관이 없다고 하였다(Iso et al., 1991).

요약

알칼리 용액으로 처리하여 회수한 어육 단백질의 가열 중 ANS 소수성의 변화, IR 스펙트럼의 변화, SH 기의 변화, 전기영동 상의 변화 및 엔탈피의 변화를 측정하여 가열 변성기구와 식염 무첨가 가열 젤 형성 기구를 구명하고자 하였다.

근원섬유 단백질만 포함하는 갈고등어와 냉동꼬마민어의 ANS 소수성은 가열 온도 상승과 더불어 소수성 잔기가 외부로 노출되고 소수성 상호작용이 60°C 부근에서 최대로 일어나지만, 근형질 단백질을 포함하는 근원섬유 단백질은 근형질 단백질이 소수성 노출에 영향을 미치지 때문에 ANS 소수성의 차이를 나타내었다. IR 스펙트럼의 변화를 보면 pH가 증가함에 따라 1636/cm⁻¹에 해당하는 peak의 증가는 알칼리 pH에서 어육 단백질의 구조 풀림에 기인한 β -sheet 구조의 증가로 판단된다. 반응성 및 총 SH 기의 변화에 미치는 pH의 영향을 보면 반응성 SH기와 총 SH 기 수

의 차이는 pH7.0과 pH10에서 비교적 큰 것으로 나타나 반응성 SH 기의 환원에 의한 S-S 결합 형성을 시사하였다. pH 별로 용해시킨 갈고등어와 냉동꼬마민어의 SDS-PAGE한 결과, pH가 상승함에 따라 가열 젤의 강도와 관련있는 myosin heavy chain의 중합체가 나타났다. 알칼리 공정으로 제조한 회수 단백질을 시차주사열량계로 분석한 결과, 33.1, 44.3°C 및 65.5°C에서 전이온도가 나타나며, myosin의 변성에 해당하는 온도인 51.7°C의 peak는 보이지 않은 것으로 보아, 극단적인 알칼리 pH가 어육 단백질의 변성에 기여한 것으로 추정하였다.

극단적인 pH 처리에 의한 어육 단백질 젤의 형성은 pH 처리에 의한 α -helix 구조가 β -sheet 구조로 전환하고 가열에 의한 S-S 결합의 형성과, pH 10.5 처리에 의한 myosin heavy chain 중합체 형성에 의한 것으로 보인다.

참고문헌

- Akahane T, Chihara S, Niki TP, Sano T, Tsuchiya T, Noguchi SF. 1985. Differential scanning calorimetric studies on thermal behaviors of myofibrillar proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi* 51: 1841-1846.
- Beas VE, Wagner JR, Crupkin M, Anon MC. 1990. Thermal denaturation of hake (*Merluccius hubbsi*) myofibrillar proteins. A differential scanning calorimetric and electrophoretic study. *J Food Sci* 55: 683-687, 696.
- Bouraoui M, Nakai S, Li-Chan E. 1997. In situ investigation of protein structure in Pacific whiting surimi and gels using Raman spectroscopy. *Food Research International* 30: 65-72.

- Chang H-S, Feng Y, Hultin HO. 2001. Role of pH in gel formation of washed chicken muscle at low ionic strength. *J Food Biochemistry* 25: 439-457.
- Chawla SP, Venugopal V, Nair PM. 1996. Gelation of proteins from washed muscle of threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) under mild acidic conditions. *J Food Sci* 61: 362-366, 371.
- Choi YJ, Park JW. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J Food Sci*, 67: 2962-2967.
- Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.
- Hossain MI, Itoh Y, Morioka K, Obtatake A. 2001. Inhibiting effect of polymerization and degradation of myosin heavy chain during preheating at 30°C and 50°C on the gel-forming ability of walleye pollack surimi. *Fisheries Science* 67: 718-725.
- Iso N, Mizuno H, Ogawa H, Mochizuki Y, Masuda N. 1991. Differential scanning calorimetry on fish meat paste. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 337-340.
- Itoh Y, Yoshinaka R, Ikeda S. 1979. Behavior of the sulfhydryl groups of carp actomyosin by heating. *Nippon Suisan Gakkaishi* 45: 1019-1022.
- JMP. 2002. *Statistics and graphics guide*. SAS Institute, Cary, NC, USA
- Kimura I, Sugimoto M, Toyoda K, Seki N, Arai K, Fujita T. 1991. A study on the cross-linking reaction of myosin in Kamaboko "suwari" gels. *Nippon Suisan Gakkaihsi* 57: 1389-1396.
- Krishnamurthy G, Chang H-S, Hultin HO, Feng Y, Srinivasan S,

- Kelleher SD. 1996. Solubility of chicken breast muscle proteins in solutions of low ionic strength. *J Agric Food Chem*, 44: 408-415.
- Kristinsson HG, Hultin HO. 2003. Role of pH and ionic strength on water relationships in washed minced chicken-breast muscle gels. *J Food Sci* 68: 917-922.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lanier TC. 1987. Muscle protein functional properties and protease content of surimi prepared from fatty, dark-fleshed fish species. In *Fatty fish utilization: upgrading from feed to food*, Proceedings of a national technical conference in Raleigh, NC, USA. p 247-262.
- Lanier TC. 1992. Measurement of surimi composition and functional properties. In *Surimi Technology*, Lanier TC, Lee CM, eds, Marcel Dekker Inc, New York, p 123-163.
- Li-Chan E, Nakai S. 1991. Raman spectroscopic study of thermally and/or dithiothreitol induced gelation of lysozyme. *J Agric Food Chem* 39: 1238-1245.
- Margoshes BA. 1990. Correlation of protein sulfhydryls with the strength of heat formed egg white gels. *J Food Sci* 55: 1753,1756.
- Niwa E, Mori H, Nakayama T, Hamada I. 1986. Contribution of SS bonding to fish flesh gel. *Nippon Suisan Gakkaishi* 52: 1103.
- Ogawa M, Nakamura S, Horimoto Y, An H, Tsuchiya T, Nakai S.

1999. Raman spectroscopic study of changes in fish actomyosin during setting. *J Agric Food Chem* 47: 3309–3318.
- Park JD, Jung C-H, Kim J-S, Cho D-M, Cho MS, Choi YJ. 2003a. Surimi processing using acid and alkali solubilization of fish muscle protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 32: 400–405.
- Park JD, Yoon S-S, Jung C-H, Cho MS, Choi YJ. 2003b. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from fish muscle surimi prepared by acid and alkaline processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 32: 567–573.
- Raura S, Saavedra JP, Truco R, Crupkin M. 1992. Conformational change in actomyosin from post-spawned hake stored on ice. *J Food Sci* 57: 1109–1111.
- Sano T, Ohno T, Otsuka-Fuchino H, Matsumoto JJ, Tsuchiya T. 1994. Carp natural actomyosin: Thermal denaturation mechanism. *J Food Sci* 59: 1002–1008.
- Shenouda SYK. 1980. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. In *Advances in Food Research*, vol.26, Chichester CO, Mark EM, Stewart GF, eds, Academic press, New York. p 275–311.
- Snow GW. 1992. Development of under-utilized species in Atlantic Canada. In *Seafood science and technology*, Bligh EG, ed., Fishing News Books, Cambridge, MA, USA p 149–153.
- Xiong YL. 1997. Structure–function relationships of muscle proteins. In *Food Proteins and Their Applications*; Damodaran S, Paraf A, eds. Marcel Dekker, Inc, New York, p 341–392.

제 2 장 기능성 어육 단백질의 제조

제 1 절 어육의 부분 가수분해물 제조를 위한 효소 및 기질 비의 최적화

서론

어육 단백질의 가수분해에 관한 대부분의 연구는 1960년대에 시행되었으며, 주로 개발도상국의 값싼 단백질 자원 생산과 동물 사료의 생산에 목적이 있었으며, 최근에는 맛(특히 쓴 맛)과 공정의 경제성이 제한 인자이기는 하나 우수한 기능적 특성을 가진 어육 단백질 가수분해물을 식품 소재로 활용하기 위해 많은 연구가 진행되고 있다(Kristinsson and Rasco, 2000a).

식품 단백질의 효소적 가수분해는 영양가의 손실없이 원형 단백질의 물리화학적, 기능적 및 관능적 특성을 개선할 수 있는 중요한 공정이다(Kristinsson and Rasco, 2000b). 효소적 가수분해물을 조제하여 식품학적 기능성을 보고한 연구는 정어리(Sugiyama et al., 1991), 청어(Hoyle and Merritt, 1995), capelin(Shahidi et al., 1995), dogfish(Diniz and Martin, 1996), Pacific whiting 부산물(Benjukul and Morrissey, 1997), 대서양 연어(Kristinsson and Rasco, 2000) 등이 있으나, 사용한 효소의 활성이 다르고 최종 생성물의 가수분해율이 다르기 때문에 기능성의 직접적인 비교가 불가능하다. 효소를 이용한 단백질 가수분해 시 단백질 분해효소의 선택과 가수분해도는 가수분해물의 물리화학적 성질에 크게 영향을 미친다(Nielsen, 1997). 기질에 대한 효소의 특이성 역시 가수분해물의 분자 크기와 친수성/소수성 균형에 크게 영향을 미치기 때문에 가수분해물의 기능성에 극히 중요하며, 생성된 펩티드의 크기가 작을수록 복잡한 펩티드 형태가 된다(Gauthier et al., 1993; Mullally et al., 1994).

어육의 효소적 가수분해물 제조와 가수분해물의 기능성에 관한 연구는

많이 수행되어 있으나, pH 전이를 통한 회수 공정 중의 단백질을 이용하여 효소적 가수분해물을 조제한 연구는 거의 이루어져 있지 않다. 어육의 알칼리 처리는 어육 단백질을 부분적으로 변성시켜 단백질 분해 효소의 작용이 원형 단백질과 많은 차이를 보일 것으로 예상되며, 어육 단백질만을 기질로 사용하기 때문에 최종 생성물은 식품 ingredient로 활용이 가능할 것으로 판단하였다.

본 연구는 Alcalase 0.6 L, Neutrase 0.5 L, Protamax 1.5 G 및 Flavourzyme 500 MG를 이용하여 알칼리 처리 공정으로 어육 단백질을 용해하고 pH 5.5로 조절하여 제조한 어육의 침전 단백질을 가수분해할 때의 가수분해도의 조절을 위한 최적 조건을 찾기 위하여 시도하였다.

재료 및 방법

재료

냉동 백조기(*Pennahia argentata*)는 통영 소재의 whole sale mart에서 구입하여 실험실로 운반하고 4℃의 저온 chamber에서 하룻밤 해동한 후 펠렛하여 단백질 추출용 시료로 사용하였다.

시약

식품 급 시판 단백질 분해효소는 어육 단백질을 가수분해할 수 있는 능력, 고도의 기능성 가수분해물을 제조할 수 있는 잠재력과 구입의 용이성에 근거하여 결정하였다. Alcalase 0.6 L(endoproteinase from *Bacillus licheniformis*), Neutrase 1.5 MG(endoprotease from *Bacillus amyloliquefaciens*), Protamex 1.5 MG(*Bacillus protease complex*)와 Flavourzyme 1000 MG(endoprotease and exopeptidase from *Aspergillus oryzae*)는 (주) 바이오시스에서 구입하였다. 제조업체에서 제시한 시판 효소의 특성은 Table 1과 같다(Novo Nordisk, 1996).

Table 1. Properties of proteases provided by manufacture

Protease	Declared activity	Optimum pH	Optimum Temperature, °C	Max % DH
Alcalase 0.6 L	0.6 AU/g	8	50-60	15-25
Neutrase 0.5 L	0.5 AU/g	7-10	40-50	10-15
Protamex 1.5 MG	1.5 AU/g	7-8	50	10-20
Flavourzyme 500 MG	500 LAPU/g	5.5-7.5	50-55	about 60

어육 단백질의 추출

마쇄한 필렛에 마쇄육의 9배에 해당하는 증류수를 첨가하고 8000 rpm에서 30초 동안 균질화한 후(IKA-25 basic, IKA Works, Wilmington ,NC, USA), 2 N NaOH로 pH를 10.5로 조절하여 어육 단백질을 용해하였다. 용해한 어육 단백질은 10,000 x g에서 25분 동안 원심분리(SUPRA 30K, Hanil Science Industrial Co. Ltd, Incheon, Korea)하여 회수하였으며, 상층의 지질을 완전히 제거하기 위하여 2겹의 가아제를 사용하여 여과하였다. 가용성 단백질에 2 N HCl을 사용하여 pH 5.5로 조절하여 단백질을 침전시킨 후 동일한 조건에서 원심분리하고 침전 단백질을 회수하여 가수분해를 위한 기질 용액으로 사용하였다.

효소 활성의 측정

추출한 어육 단백질을 기질로 한 시판 효소의 단백질 분해 활성은 완충 용액 0.25 mL에 어육 단백질 0.25 mL와 시판 효소 0.25 mL(1% 용액)를

가하고 40°C에서 10분 동안 반응시킨 후, 16% TCA 0.75 mL를 넣어 반응을 중지시키고, 원심분리(1500 x g, 10분)하여 얻은 상층액 0.5 mL에 2.0 mL의 0.55 M Na₂CO₃ 용액을 넣고 15분, 0.5 mL의 1 N Folin-phenol 용액을 첨가하여 30분 방치한 후 660 nm에서 분광광도계(HeLios beta, Unicam, England)로 흡광도를 측정하였다. 효소 활성도는 Anson의 방법(1938)에 따라 주어진 반응 조건에서 분당 효소 단백질 mg이 유리하는 1 u mole 상당량의 tyrosine으로 표시하였다. 반응 중 유리되는 tyrosine을 측정하기 위한 검량곡선은 Fig. 1과 같다. 그리고 효소 반응 중지를 위해 기질로 azocasein을 사용한 효소 활성의 측정은 An et al.(1994)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 2 mg의 azocasein과 0.625 mL의 McIlvaine 완충액(pH 3, 6.75, 10.5)를 포함하는 반응 혼액 1 mL를 각 반응 온도에서 5분 동안 항온한 후, 1%의 시판 효소 용액을 0.25 mL 가한 후, 실험 계획에 따른 반응 시간(10, 35, 60분)동안 항온하였다. 50%의 TCA 용액 0.2 mL를 가하여 반응을 중지시킨 후, 1500 x g에서 원심분리(Eppendorf Microcentrifuge, Model 5415C, Brinkman, New York, NY)하여 침전물을 제거하고 상층액 0.8 mL를 취하여 azo 색을 강화하기 위해 10 N NaOH 용액을 가한 후 430 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단백질 농도는 Lowry et al.(1951)의 방법에 따라 측정하였으며, bovine serum albumin으로 작성한 검량곡선에 따라 단백질 농도를 계산하였다(Fig. 2).

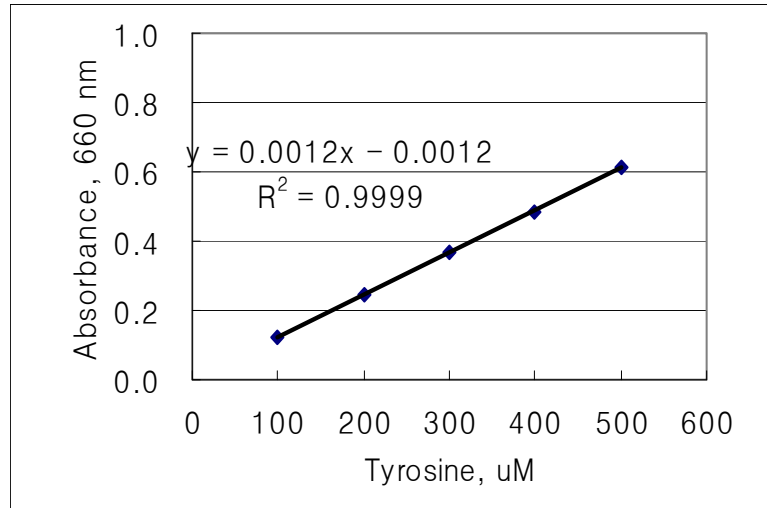


Fig. 1. Standard curve for determination of tyrosine.

가수분해도의 측정

가수분해도는 TCA soluble index를 측정하여 표시하였다. 즉 가수분해 전과 후의 단백질 용액에 최종 농도가 5%되도록 TCA 용액을 첨가하여 실온에서 30분 동안 방치한 후, 원심분리(3000 x g, 15분)하여 단백질을 제거하고 상층액 중의 아미노태 질소 함량을 TNBS법으로 측정하여 L-Leucine으로 작성한 표준곡선 (Fig. 3)에 따라 정량하였다. 가수분해 전 후의 %로 TCA 가용성 지표로 표시하였다.

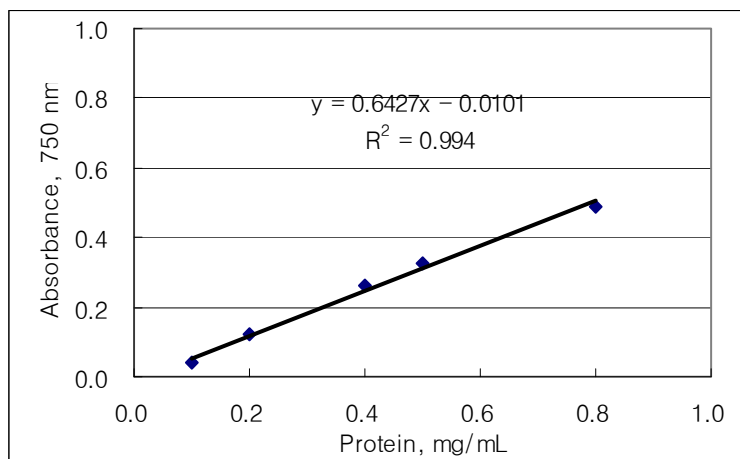


Fig. 2. Standard curve for determination of protein concentration by Lowry method.

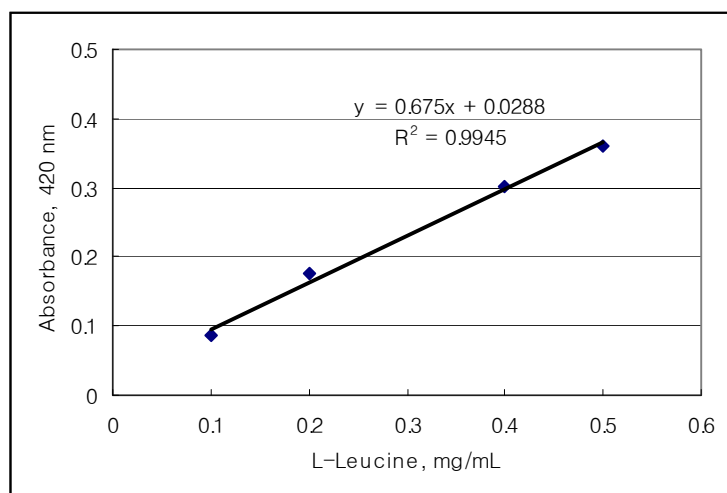


Fig. 3. Standard curve for determination of amino nitrogen by TNBS method.

가수분해물의 분자량 측정

가수분해물의 분자량 분포를 측정하기 위하여 가수분해물에 최종 농도

가 1%가 되게 SDS 용액을 가한 후 80°C의 항온 수조에서 가수분해물을 용해시켰다. 용해한 시료를 원심분리(3000xg, 15분)하여 불용성 잔사를 제거하고 젤 chromatography를 위한 시료로 사용하였다. 시료 용액 100 uL를 0.01% SDS 용액을 포함하는 20 mM Tris-HCl (pH 7.0)으로 평행시킨 HiLoad Superdex 200 prep gel column(1.6 x 60 cm)과 HiLoad Superdex 30 prep gel column (1.6 x 60 cm)에 주입하여 같은 완충액으로 1 mL/min의 속도로 용출하였다. 이때 용출되는 단백질은 206 nm에서 검출하였다. 검출된 단백질의 분자량은 같은 조건에서 젤 크로마토그래피한 표준 단백질, bovine serum albumin (MW, 66,000 dalton), egg ovalbumin (MW, 43000 dalton), chymotrypsinogen (MW, 25,000 dalton), ribonuclease (MW, 137,000 dalton), cytochrome (MW, 12400 dalton), aprotinin(MW 6500 dalton), vitamin B12(MW 1344) 및 carnosine (MW 226)으로 작성한 표준곡선에 따라 측정하였다(Fig. 4).

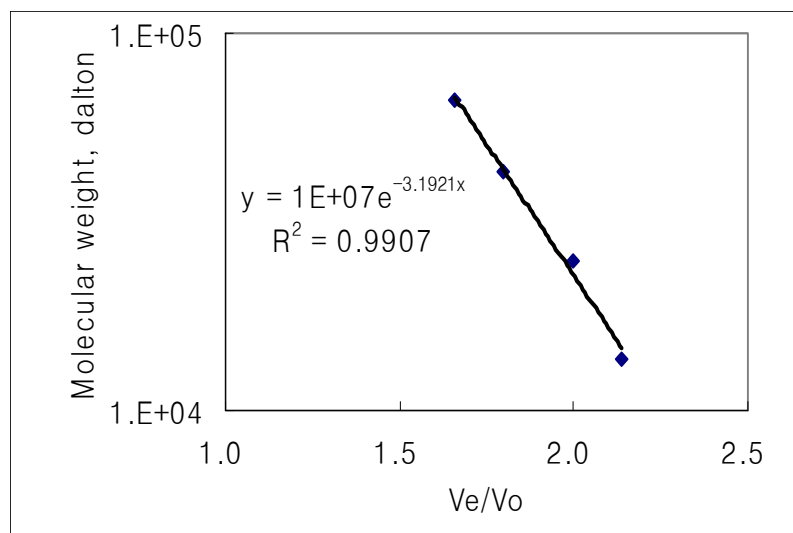


Fig. 4. Standard curve for determination of molecular weight by HiLoad 16/60 Superdex 200 column chromatography.

효소 반응 중지를 위한 실험의 설계

적정 가수분해도 유지를 위한 가수분해 반응 중지의 조건을 설정하기 위하여 Table 2와 같은 방법으로 pH, 온도, 시간을 인자로 3 수준의 실험을 설계하였으며, 반응 값은 azocasin을 기질로 효소 활성을 측정하였다.

가수분해도 조절을 위한 반응 조건의 설계

효소적 가수분해물의 제조 시 가수분해물의 특성을 결정하는 가장 중요한 인자인 효소와 기질의 비, 반응 온도 및 시간을 설정하기 위해 Table 3, 4와 같이 Protamex와 Flavourzyme에 대한 실험 설계를 실시하였다. 즉 두부, 내장 및 꼬리를 제거하고 고기같이한 어육에 6배량의 증류수를 첨가하여 8000 rpm에서 1분 동안 균질화하고 1 N NaOH 용액으로 pH 10.5에서 단백질을 용해하여 원심분리(10000xg, 20분)로 회수한 용해 단백질에 1 N HCl을 부가하여 pH 5.5에서 침전시킨 단백질을 가수분해용 시료로 사용하였다. 회수 단백질의 농도는 biuret 법(Umemoto, 1966)으로 측정하였다. TCA soluble index는 가수분해물 3.5 mL를 취하여 최종 농도가 4%가 되도록 TCA 용액을 첨가하여 효소 반응을 중지시키고, 원심분리(3000xg, 15분)하여 상층액에 있는 TCA 가용성 물질의 양을 Lowry의 방법(1951)에 따라 측정하였다.

통계분석

평균, 표준편차, 유의성 검정 및 표면반응 분석법은 JMP 통계 프로그램(2002)으로 실시하였다.

Table 2. Experimental design for inactivation of Protamex and Flavouzyme after hydrolysis

Rows	pH	Temp(C)	Time(min)	Residual activities against azocasein, 430 nm	
				Protamex	Flavourzyme
1	6.75	30	60	1.931	1.633
2	10.5	80	35	0.074	0.052
3	6.75	55	35	1.567	0.491
4	10.5	55	10	0.712	0.580
5	3	55	10	0.004	0.045
6	6.75	55	35	1.583	0.350
7	3	30	35	0.024	0.815
8	6.75	55	35	1.513	0.420
9	6.75	80	10	0.048	0.036
10	3	80	35	0.050	0.047
11	10.5	30	35	1.655	1.442
12	3	55	60	0.057	0.048
13	6.75	30	10	1.971	1.704
14	10.5	55	60	0.368	0.114
15	6.75	80	60	0.049	0.030

Table 3. Experimental design for preparation of hydrolysate from Jack mackerel using Protamex and Flavourzyme

Rows	Protease: substrate	Temp(C)	Time(min)	Response	
				Protamex	Flavourzyme
1	0.0095	60	30	10.48	10.10
2	0.0095	60	10	12.24	7.06
3	0.0095	30	10	4.35	2.29
4	0.0095	45	20	13.67	8.31
5	0.1	60	20	19.93	12.22
6	0.1	45	10	18.93	15.27
7	0.0095	30	30	10.57	3.90
8	0.0095	45	20	12.40	8.07
9	0.1	30	20	16.37	8.72
10	0.005	30	20	5.99	3.14
11	0.005	45	10	8.90	4.09
12	0.005	45	30	11.47	8.42
13	0.005	60	20	9.94	5.02
14	0.0095	45	20	13.61	6.39
15	0.1	45	30	13.37	12.93

Table 4. Experimental design for preparation of hydrolysate from croaker using Protamex and Flavourzyme

Rows	Enzyme: substrate	Temp(C)	Time(min)	Response	
				Protamex	Flavourzyme
1	0.0095	60	30	28.28	16.71
2	0.0095	60	10	19.87	10.40
3	0.0095	30	10	10.62	3.58
4	0.0095	45	20	27.29	10.42
5	0.1	60	20	47.72	29.21
6	0.1	45	10	42.44	25.33
7	0.0095	30	30	15.58	6.56
8	0.0095	45	20	28.32	11.43
9	0.1	30	20	30.92	17.05
10	0.005	30	20	11.32	3.11
11	0.005	45	10	14.75	5.35
12	0.005	45	30	23.61	8.28
13	0.005	60	20	24.09	9.83
14	0.0095	45	20	23.27	12.04
15	0.1	45	30	49.67	26.93

결과 및 고찰

시판 protease의 가수분해 특성

어육 단백질 가수분해를 위한 효소 농도의 탐색; 시판 protease로 상업적으로 가장 널리 사용하고 있는 Alcalase, Neutrase, Protamex 및 Flavourzyme을 선택하여 알칼리 처리 공정에 따라 알칼리 pH에서 어육 단백질을 용해하고, pH 5.5에서 용해 단백질을 침전시켜 회수한 어육 단백질의 분해를 위한 적정 효소 농도를 결정하기 위하여 효소 농도별 에 따른 각 proteases의 비활성을 40°C, pH 7.0에서 10분 동안 항온하여 측정하였다(Fig. 5).

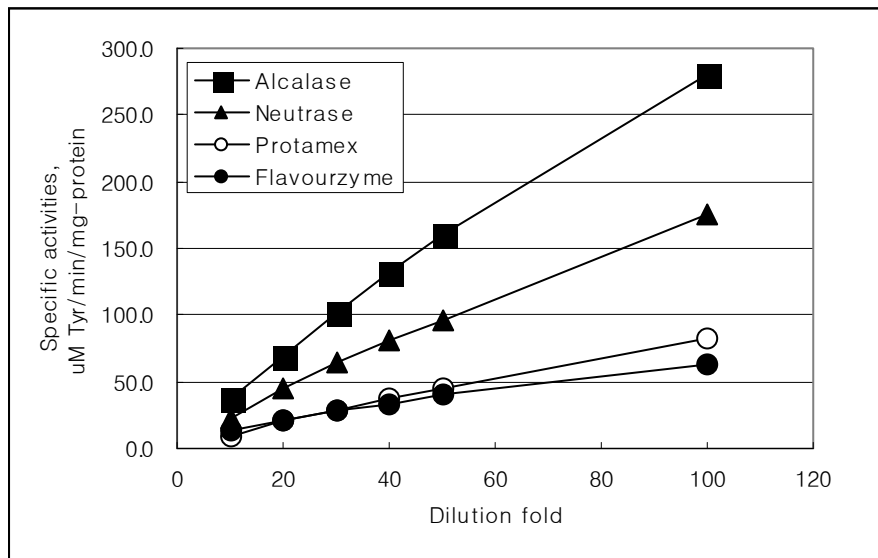


Fig. 5. Changes of specific activities with protease concentration.

효소 농도 희석에 따른 각 protease의 비활성은 1/100의 희석까지 효소 농도가 감소함에 따라 거의 선형으로 증가하는 것으로 나타났으며, 희석 비율에 따라 비활성의 증가는 Alcalase가 가장 큰 것으로 나타났다. 이 같

은 결과는 시판 효소 원액을 1/100로 희석하여도 회수 단백질 기질과 적절히 반응할 수 있음을 나타내는 것으로 추정하였다. 따라서 pH 의존성과 온도 의존성의 실험은 시판하는 원액 효소를 1/100로 희석한 것을 사용하였다.

단백질 분해효소의 pH 의존성; 최적 pH 탐색을 위한 효소 반응의 온도는 40°C로 설정하였으며, pH 조절을 위한 완충액은 citrate phosphate (pH 5.5-6.5), sodium phosphate (pH 7.0-8.0), Tris-HCl (8.0-9.0) 및 glycine-NaOH (9.5-10.5)를 사용하였다.

Alcalase의 최적 pH는 8.0 부근인 것으로 나타났으나, pH 10.0 이상에서도 높은 활성을 유지하고 있었다(Fig. 6). Hemoglobin을 기질로 Anson의 방법에 따라 측정한 Alcalase의 활성은 pH 5와 8.5 사이에서 최적의 활성을 보인다는 보고와는 다소 차이가 있었다(Novo Nordisk, 1996).

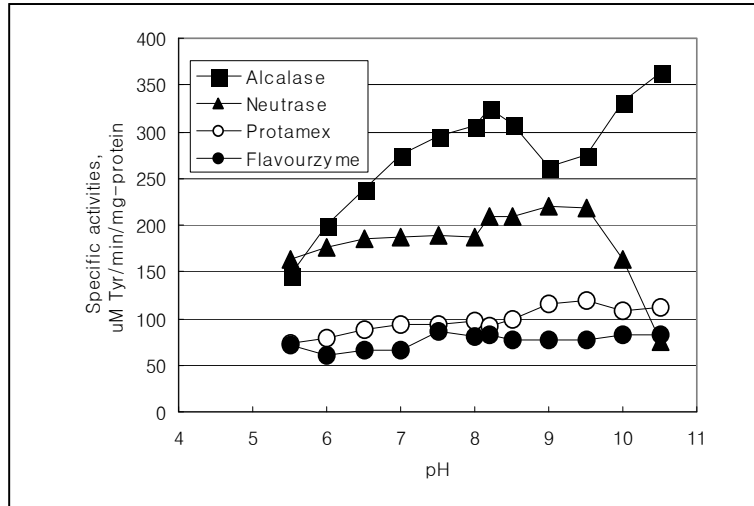


Fig. 6. pH dependence of protease against recovered protein from alkaline treatment.

Neutrase의 최적 pH 구간은 pH 8-9.5, Protamex는 pH 9 부근, Flavourzyme는 pH 5.5-10.5의 구간에 걸쳐 pH에 대한 의존성이 크지 않았다. 이 같은 결과는 Neutrase 0.5 L, Protamex 1.5 MG 및 Flavourzyme 500 MG의 최적 pH는 각각 pH 7-10, pH 7-8, pH 5.5-7.5의 범위라고 보고한 것과 다소 차이를 보이고 있었다. 이 같이 최적 pH의 차이는 기질의 차이에 기인하는 것으로 추정된다.

단백질 분해효소의 온도 의존성; 각 proteases의 온도 의존성을 측정하기 위하여 Alcalase, pH 8.0; Neutrase, pH 9.0; Protamex, pH 9.5; Flavourzyme, 7.5에서 반응 온도별로 활성을 측정하여 비활성으로 표시하였다(Fig. 7).

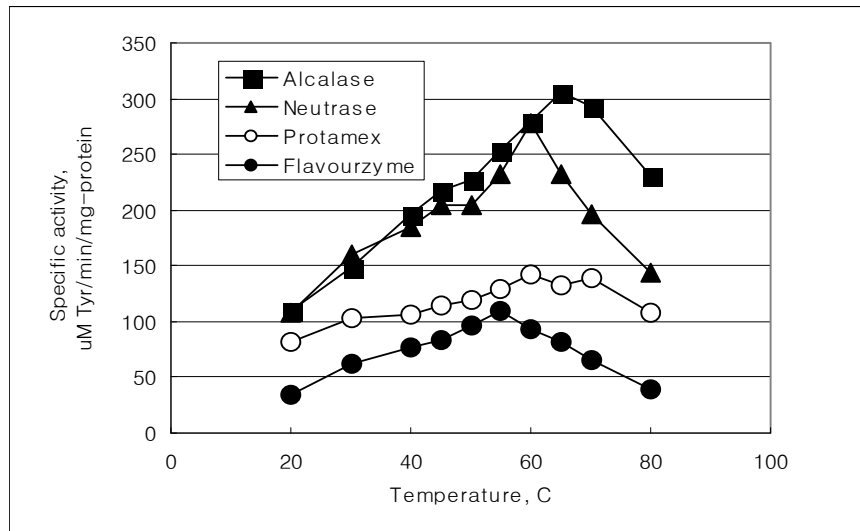


Fig. 7. Temperature dependence of protease against recovered protein from alkaline treatment.

가장 비활성이 높은 온도는 Alcalase, Neutrase, Protamex 및 Flavourzyme 이 각각 65°C, 60°C, 60°C 및 55°C로서 protease 제조업체에서 제시한 최적 온도에 비하여 다소 높은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 제조업체에서는 활성 측정을 위하여 변성 hemoglobin을 사용하였으나, 본 연구에서는 알칼리 처리를 통하여 용해하고 등전점 부근에서 침전한 어육 단백질을 사용했기 때문이며, 극단적인 알칼리 처리를 행한 후 회수한 어육 단백질이라 할지라도 변성 hemoglobin에 비하여 단백질 구조의 풀림 정도가 낮기 때문인 것으로 추정된다.

반응 시간에 따른 효소활성의 변화; 반응 시간에 따른 회수 단백질의 분해 정도를 확인하기 위하여 각 proteases의 최적 pH 및 온도 조건에서 반응 시간에 따른 비활성의 변화를 측정하였다(Fig. 8).

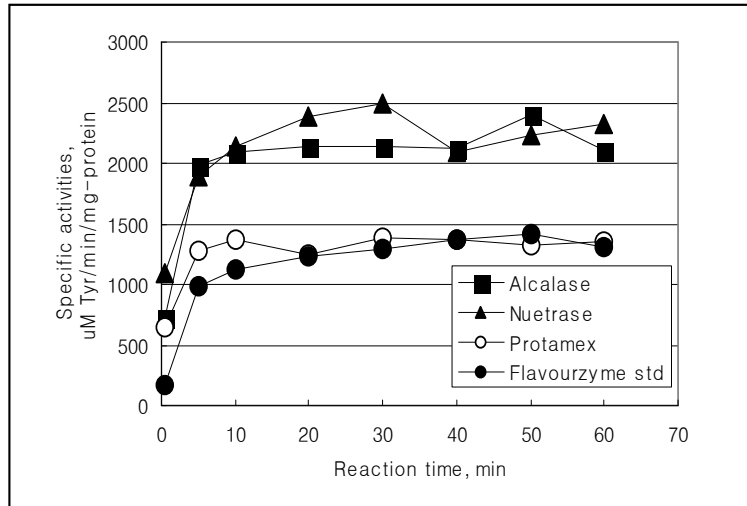


Fig. 8. Changes of protease activities with reaction time.

반응 10분 이후에 효소-기질 반응은 최대 속도에 도달하였으며, 그 이후는 반응 시간이 증가하여도 비활성은 증가하지 않고 다소 감소하는 경향으로 나타났다. 이 같은 결과는 효소 혹은 기질이 반응 시간 10분 이후에는 이미 포화되었음을 뜻하며, protease의 종류에 따라 반응시간이 증가함에 따라 비활성이 오히려 감소하는 현상은 효소와 기질 반응에 의한 최종 반응 생성물이 효소 촉매 반응을 오히려 저해하기 때문인 것으로 추정된다.

Protease kinetics; 가수분해 반응을 위한 최적의 효소/기질의 비를 결정하기 위하여 각 protease의 최적 조건에서 반응 속도 상수(K_m)값을 결정하였다. 증류수로 각각 100배 희석한 Alcalase, Neutrase, Protamex 및 Flavourzyme의 반응속도 식은 각각 $y=0.0317x + 0.0031(r^2=0.9997)$, $y=0.0408x + 0.0026(r^2=0.9823)$, $y=0.0905x + 0.0021(r^2=0.9965)$ 및 $y=0.0556x + 0.0109(r^2=0.9885)$ 이었으며, 각 protease의 V_{max} 와 K_m 값은 Table 5와 같았다.

Table 5. Km for hydrolysis of recovered protein by alkaline treatment at optimum condition

Proteases	Optima pH	Optima Temp, °C	Vmax uM Tyr/min/mg	Km, mg
Alcalase	8.0	65	322.6	10.2
Neutrase	9.0	60	384.6	15.7
Protamex	9.5	60	476.2	43.1
Flavourzyme	7.5	55	91.74	5.1

최적의 pH 및 온도 조건에서 Vmax 와 Km 값은 Protamex가 가장 높은 476.2와 43.1이었고, Flavourzyme는 가장 낮은 91.74와 5.1이었다. 이들 각 protease는 멸치 내장에서 정제한 chymotrypsin 및 trypsin정제 효소에 비하여 현저히 높은 Vmax와 Km값을 나타내고 있다(허, 1993). 이상의 결과에 따라 알칼리 처리로 회수한 어육 단백질의 부분 가수분해물을 제조하기 위하여 Vmax와 Km 값이 가장 높은 Protamex와 가장 낮은 Flavourzyme을 선택하였다.

가수분해도; 부분 가수분해물의 기능성은 가수분해도에 의해 결정되기 때문에(Kristinsson and Rasco, 2000a), 알칼리 처리를 통해 회수한 어육단백질에 대한 각 protease의 가수분해를 측정하였다. 회수 단백질 용액을 기질로 사용하여 1/100 배 희석한 각 protease를 최적의 온도와 pH 조건에서 60분 동안 가수분해했을 때 가수분해 시간에 따른 가수분해도를 TNBS법에 따라 측정하였다(Fig.. 9). 이때 Alcalase와 Neutrase의 전체 질소 함량은 499.30 mg/100 mL, Protamex와 Flavourzyme는 전체 질소량이 221.76

mg/100 mL인 회수단백질을 사용하였다.

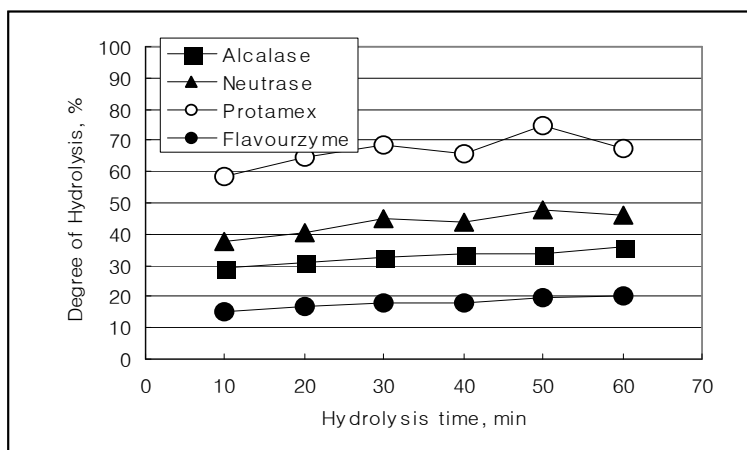


Fig. 9. Degree of hydrolysis against recovered protein by commercial proteases.

가수분해 시간이 증가함에 따라 가수분해도는 증가하였으나, 증가의 정도는 그다지 크지 않았다. 가장 가수분해도가 높은 protease는 Protamex 이었으며, 가수분해도가 가장 낮은 protease는 Flavourzyme이었다. 특히 최적 pH 및 온도 조건에서는 10분 동안 가수분해하여도 가수분해도가 15%를 상회하며, 특히 Protamex인 경우는 58%에 해당하기 때문에 가수분해도가 5-10% 및 20-30%인 부분 가수분해물을 제조하기 위해서는 각 효소의 최적 조건을 사용할 수 없음을 나타낸다. 따라서 본 연구에서는 5-10%의 가수분해도를 가지는 부분 가수분해물의 제조를 위해서 Flavourzyme을, 가수분해도 20-30%의 부분 가수분해물을 제조하기 위해서 Protamex를 사용하였고, 원하는 가수분해도의 범위에 속하는 부분 가수분해물을 제조하기 위하여 실험 계획법에 따라 적정 pH, 적정 온도, 적정 가수분해 시간을 설정하였다.

가수분해물의 분자량 분포

최적 pH와 온도에서 각 protease로 10분 동안 가수분해한 회수단백질의 분자량 분포를 HiLoad Superdex 200 prep column(1.6 x 60 cm)으로 확인하였다(Table 6).

Table 6. Distribution of molecular weight of hydrolysate by HiLoad Superdex 200 prep grade column (1.6 x 60 cm)

Proteases	Distribution of molecular weight(dalton)
Alcalase	325000(49.7), 12500(13.1), 7000(33.8)
Neutralse	169000(74.6), 8700(4.8)
Protamex	95000(69.9)
Flavourzyme	252000(56)

Parenthesis represents area % of chromatographic peak.

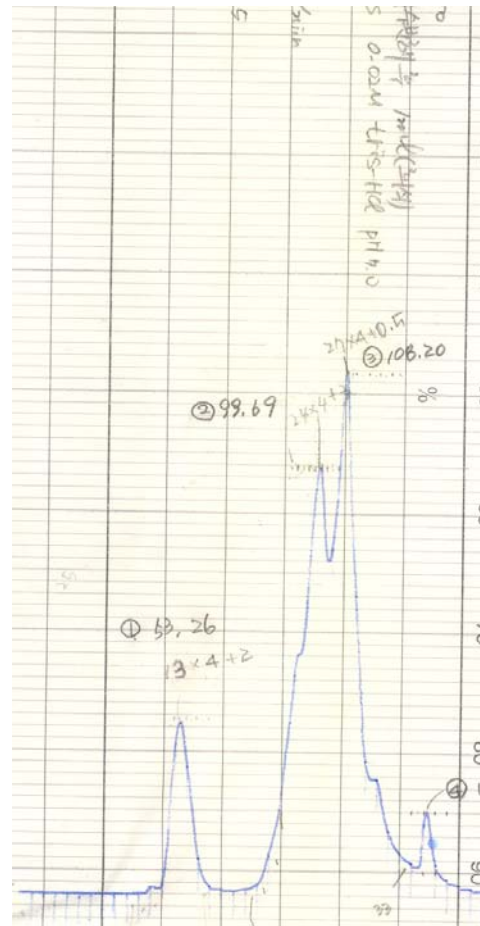
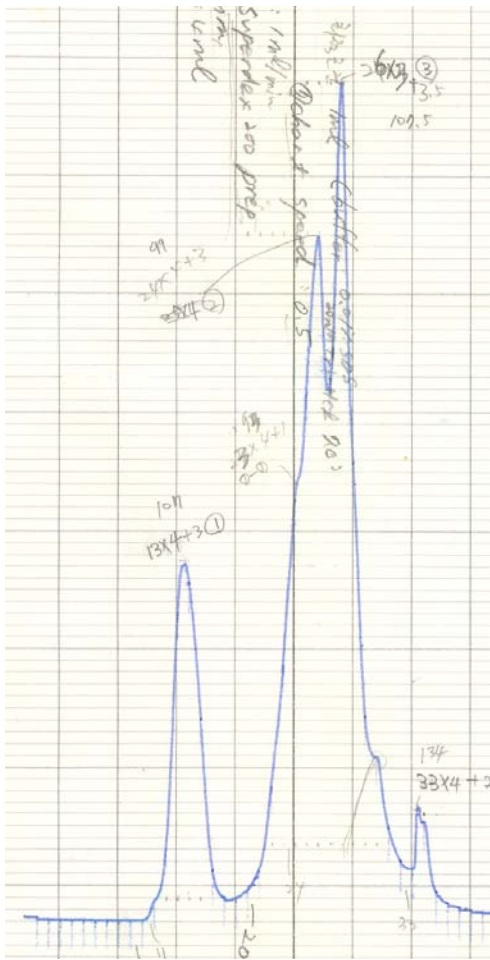
가수분해 효소의 종류에 따라 생성되는 단백질의 분자량은 많은 차이를 보이고 있었다. 이는 protease의 종류에 따라 기질의 특이성에 차이가 있기 때문인 것으로 보이며, SDS 용액을 사용하였음에도 불구하고 myosin heavy chain의 분자량인 약 200k dalton을 상회하는 분자량이 검출된 것은 근형질 단백질을 구성하는 단백질에 기인한 것으로 추정된다. 그리고 저분자량에 해당하는 분자량 10k dalton 이하의 peptide의 분포는 제 2절 “어육 가수분해물의 제조와 특성”에서 검토 할 것이다.

Alcalase를 사용하여 가수분해 시간별로 측정된 회수단백질의 분자량 분포를 Table 7에 표시하였으며, chromatogram의 변화를 Fig. 10에 나타내었다.

Table 7. Change of molecular weight of Alcalase hydrolysate with hydrolysis time by HiLoad Superdex 200 prep grade column (1.6 x 60 cm)

Hydrolysis time, min	Distribution of molecular weight (dalton)
10	325000(49.7), 12500(13.1), 7000(33.6)
20	203000(35.8), 7000(13.6)
30	123000(33.0), 7000(12.7)
40	121000(35.4), 7000(10.9)

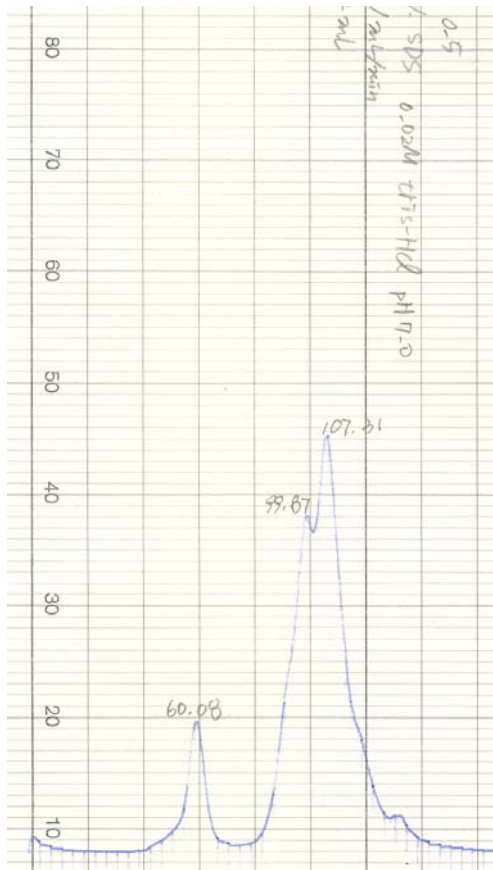
Parenthesis represents area % of chromatographic peak.



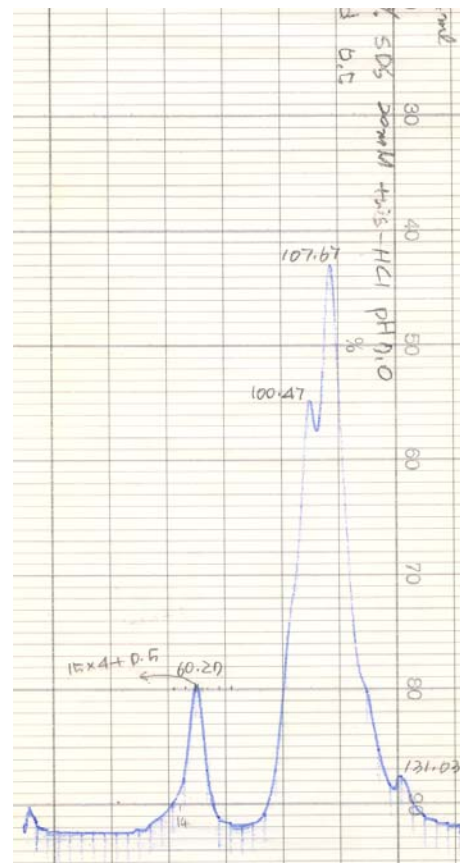
(A)

(B)

Fig. 10-1. Chromatographic profile of Alcalase hydrolysates with hydrolysis time. (A), 10 min; (B), 20 min; (C), 30 min, (D), 40 min.



(C)



(D)

Fig. 10-2. Chromatographic profile of Alcalase hydrolysates with hydrolysis time. (A), 10 min; (B), 20 min, (C), 30 min, (D), 40 min

가수분해 시간이 증가함에 따라 분자량 100k dalton과 7k dalton은 점차 감소하는 것으로 나타났으며, 이들의 polypeptide의 분해에 의해 분자량 1k-3k dalton의 저분자 물질이 다량 생산되는 것으로 확인되었다(제 2절).

효소 반응 중지 조건의 설정

가수분해도 5-10%와 20-30%의 부분 가수분해물은 가수분해물의 분자량 분포에서도 알 수 있듯이 다량의 고분자 단백질 혹은 polypeptide들을 가지기 때문에 가수분해 반응을 중지하기 위하여 일반적인 가열 방법을 사용하는 경우(Benjukul and Morrissey, 1997), 변성으로 인하여 기능성이 변할 가능성이 있다. 따라서 본 연구에서는 pH, 가열 온도 및 시간을 변수로 가장 적절한 효소 반응 중지 조건을 설정하였다. Table 2와 같은 실험 계획에 따라 반응 조건을 조합하여 반응 값은 azocasein을 기질로 효소 활성을 측정하였다. 효소 활성이 흡광도 0.05 이하로 되는 조건은 Protamex인 경우 pH 3, 55°C, 10분과 pH 3, 30°C, 35분으로 나타났으며, pH와 온도에 극히 민감함을 알 수 있었다(Fig. 11). Flavourzyme의 경우 효소 활성 값인 흡광도 0.05이하를 나타내는 조건은 pH 6.75, 80°C, 60분; pH 3, 80°C, 10분 및 pH 3, 55°C, 10분으로 나타났으며, Protamex와는 달리 pH에는 덜 민감하였으나, 가열 온도에 극히 민감함을 알 수 있었다(Fig. 12). 이 같은 결과를 근거로 Protamex 가수분해와 Flavourzyme 가수분해 반응에 공통적으로 적용할 수 있는 pH 3, 55°C, 10분을 반응 중지를 위한 조건으로 사용하였다.

protamex inhibition- Fit Least Squares

Response Activity

Effect Screening

Using estimates standardized to have equal variances

Using estimates orthogonalized to be uncorrelated

Lenth PSE

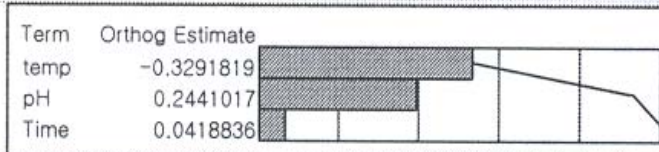
t-Test Scale 1.8214023

Coded Scale 0.3661525

Parameter Estimate Population

Term	Original	t Ratio	Orthog Coded	Orthog t Test	Prob> t
Intercept	0.684545	0.9586	0.771733	3.8389	0.0028
pH	0.116825	1.5511	0.244102	1.2143	0.2501
temp	-0.015257	-1.6426	-0.329182	-1.6375	0.1298
Time	0.002354	0.2083	0.041884	0.2083	0.8388

Pareto Plot of Transformed Estimates



Prediction Profiler

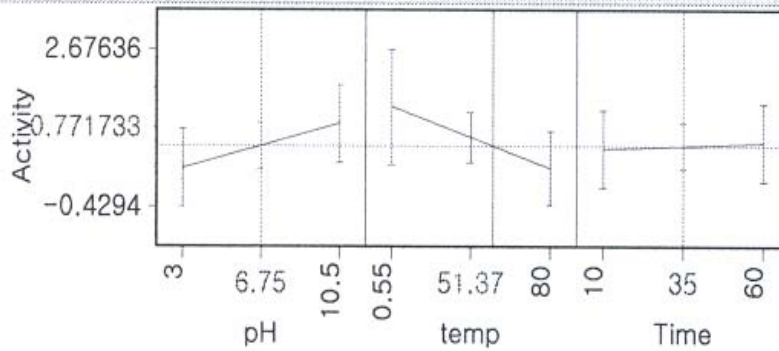


Fig. 11. Parameters estimate for inactivation of Protamex.

protamex inhibition- Fit Least Squares

Response Activity

Effect Screening

Using estimates standardized to have equal variances

Using estimates orthogonalized to be uncorrelated

Lenth PSE

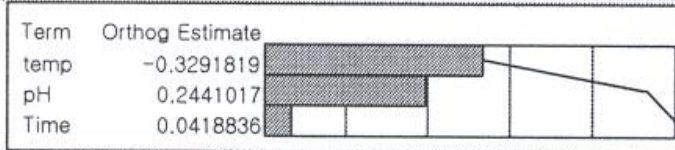
t-Test Scale 1.8214023

Coded Scale 0.3661525

Parameter Estimate Population

Term	Original	t Ratio	Orthog Coded	Orthog t Test	Prob> t
Intercept	0.684545	0.9586	0.771733	3.8389	0.0028
pH	0.116825	1.5511	0.244102	1.2143	0.2501
temp	-0.015257	-1.6426	-0.329182	-1.6375	0.1298
Time	0.002354	0.2083	0.041884	0.2083	0.8388

Pareto Plot of Transformed Estimates



Prediction Profiler

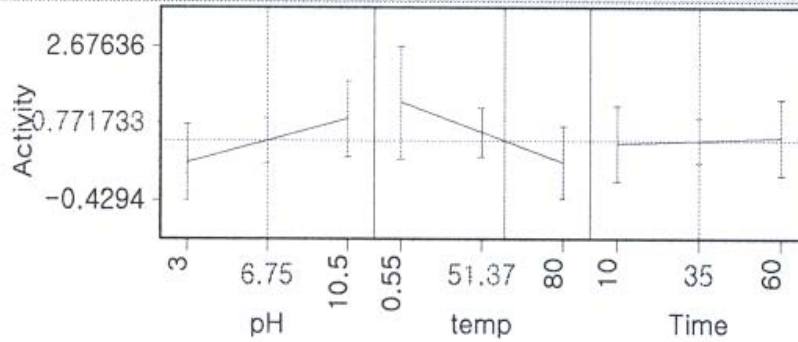


Fig. 12. Parameters estimate for inactivation of Flavourzyme.

가수분해도 조절을 위한 조건의 설정

가수분해도 약 5%와 20%의 부분 가수분해물 제조를 위하여 회수 단백질에 대한 Flavourzyme과 Protamex의 비, 가수분해 온도 및 시간을 Table 3과 4의 설계에 따라 실시한 결과는 Fig. 13, 14, 15 및 16과 같다.

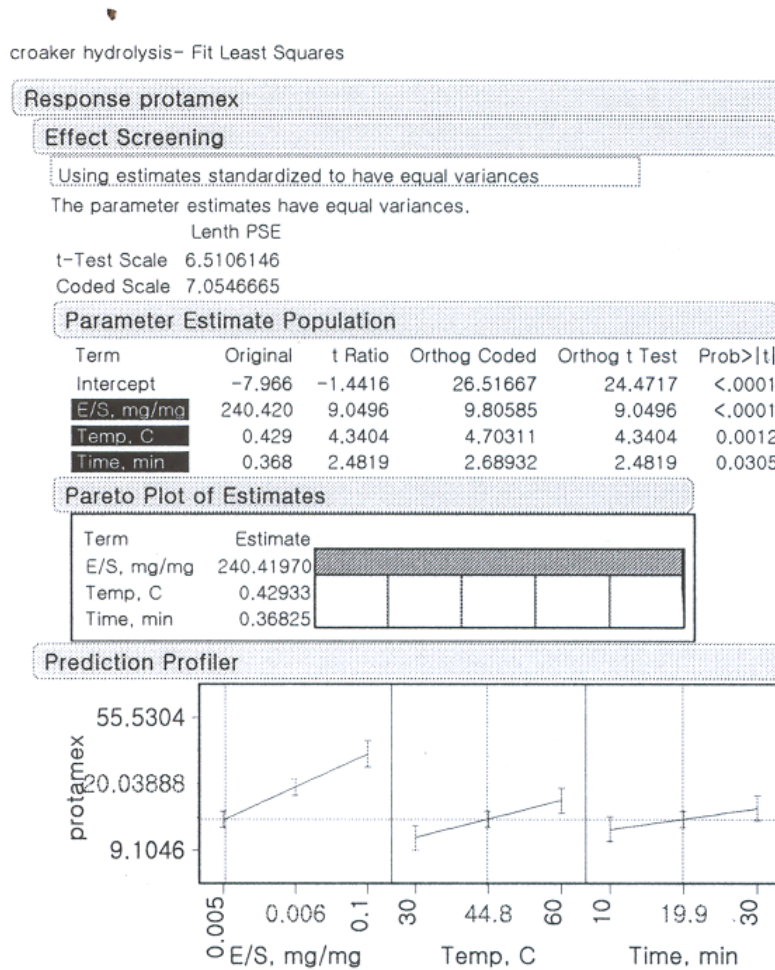


Fig. 13. Prediction profile to hydrolysis recovered protein from croaker in the range of 20% hydrolysis degree.

croaker hydrolysis- Fit Least Squares

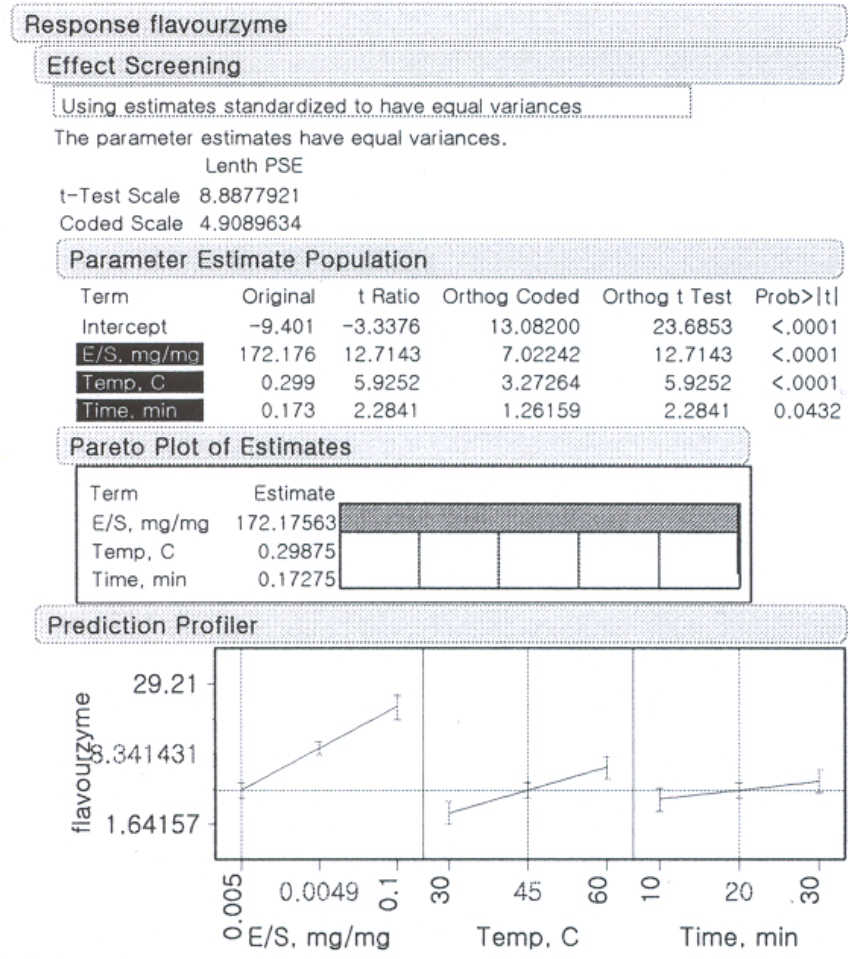


Fig. 14. Prediction profile to hydrolysis recovered protein from croaker in the range of 8 % hydrolysis degree.

Untitled 2 - Fit Least Squares

Response Protamex

Effect Screening

Using estimates standardized to have equal variances

The parameter estimates have equal variances.

Lenth PSE

t-Test Scale 2.9889635

Coded Scale 2.0964081

Parameter Estimate Population

Term	Original	t Ratio	Orthog Coded	Orthog t Test	Prob> t
Intercept	3.61381	1.0103	12.14800	17.3201	<.0001
E/S, mg/mg	74.78231	4.3487	3.05010	4.3487	0.0012
Temp, C	0.12758	1.9926	1.39761	1.9926	0.0717
Time, min	0.01838	0.1913	0.13419	0.1913	0.8518

Pareto Plot of Estimates

Term	Estimate
E/S, mg/mg	74.782310
Temp, C	0.127583
Time, min	0.018375

Prediction Profiler

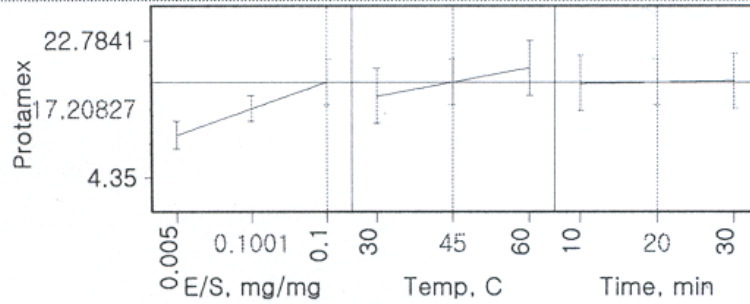


Fig. 15. Prediction profile to hydrolysis recovered protein from Jack mackerel in the range of 17 % hydrolysis degree.

Untitled 2- Fit Least Squares

Response Flavourzyme

Effect Screening

Using estimates standardized to have equal variances

The parameter estimates have equal variances.

Lenth PSE

t-Test Scale 4.2499245

Coded Scale 2.238816

Parameter Estimate Population

Term	Original	t Ratio	Orthog Coded	Orthog t Test	Prob> t
Intercept	-2.2737	-0.8464	7.732000	14.6776	<.0001
E/S, mg/mg	67.8927	5.2566	2.769098	5.2566	0.0003
Temp, C	0.1362	2.8333	1.492544	2.8333	0.0163
Time, min	0.0836	1.1593	0.610711	1.1593	0.2709

Pareto Plot of Estimates

Term	Estimate
E/S, mg/mg	67.892699
Temp, C	0.136250
Time, min	0.083625

Prediction Profiler

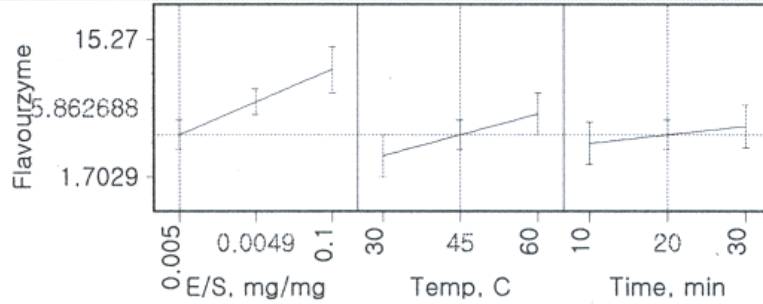


Fig. 16. Prediction profile to hydrolysis recovered protein from Jack mackerel in the range of 5 % hydrolysis degree.

예측 profile에서 알 수 있듯이 백조기와 전갱이 회수 단백질을 5% 범위로 부분 가수분해할 때의 조건은 회수 단백질에 대하여 단백질 농도로 계산하였을 때 0.005에 해당하는 Flavourzyme을 사용하여 45℃에서 20분 가수분해하는 것이 적당하였으며, 20% 범위의 부분 가수분해물을 제조할 때에도 동일 농도의 Protamex를 사용하여 45℃에서 20분 가수분해하는 것이 가장 적절한 것으로 나타났다.

요약

Alcalase, Neutrase, Protamex 및 Flavourzyme의 최적 pH는 각각 8.0, 9.0, 9.5 및 7.5이었으며, 최적 온도는 65℃, 60℃, 60℃ 및 55℃이었다. Alcalase, Neutrase, Protamex 및 Flavourzyme의 반응속도 정수 값은 각각 10.2, 15.7, 43.1, 5.1 mg이었고 최대속도는 각각 322.6, 384.6, 476.2, 91.74 uM Tyr/min/mg-protein 이었다. Protamex 가수분해와 Flavozyyme 가수분해 반응의 정지를 위해 공통적으로 적용할 수 있는 조건은 pH 3, 55℃, 10분 반응이었다. 백조기와 전갱이 회수 단백질을 5% 범위로 부분 가수분해할 때의 조건은 회수 단백질에 대하여 단백질 농도로 계산하였을 때 0.005에 해당하는 Flavourzyme을 사용하여 45℃에서 20분 가수분해하는 것이 적당하였으며, 20% 범위의 부분 가수분해물을 제조할 때에도 동일 농도의 Protamex를 사용하여 45℃에서 20분 가수분해하는 것이 가장 적절한 것으로 나타났다.

참고문헌

An H, Seymour TA, Wu J, Morrissey MT. 1994. Assay systems and characterization of Pacific whiting (*Merluccius productus*) protease. *J Food Sci* 59: 277-281.

- Benjakul S, Morrissey MT. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *J Agric Food Chem* 45: 3423-3430.
- Diniz FM, Martin AM. 1996. Use of response surface methodology to describe the combined effect of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle. *Int J Food Sci Technol* 31: 419-426.
- Gauthier SF, Paquin P, Pouliot Y, Turgeon S. 1993. Surface activity and related functional properties of peptides obtained from whey proteins. *J Dairy Sci* 76: 321-328.
- Hoyle NT, Merritt JH. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *J Food Sci* 59: 76-79,129.
- JMP. 2002. Statistics and graphics guide. Version 5.0, SAS Institute, Cary, NC. USA
- Kristinsson HG, Rasco BA. 2000a. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 40(1): 43-81.
- Kristinsson HG, Rasco BA. 2000b. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *J Agric Food Chem* 48: 657-666.
- Mullally MM, O'Callaghan DM, FitzGerald RJ, Donnelly WJ, Dalton JP. 1994. Proteolytic and peptidolytic activities in commercial pancreatic protease preparations and their relationship to some whey protein hydrolysate characteristics. *J Agric Food Chem* 42: 2973-2981.

- Nielsen PM. 1997. Functionality of protein hydrolysates. In Food Proteins and Their Applications, S Damodaran and A Paraf, eds, Marcel Dekker Inc, New York, p 443-472.
- Novo Nordisk. 1996. Alcalase food grade, B318-GB.
- Shahidi F, Han X-Q, Synowiecki J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry* 53: 285-293.
- Sugiyama K, Egawa M, Onzuke H, Oba K. 1991. Characteristics of sardine muscle hydrolysates prepared by various enzymatic treatments. *Nippon Suisan Gakkaihsi* 57: 475-479.
- 허민수. 1993. 멸치의 자가소화에 관여하는 단백질 분해효소의 특성. 부산수산대학교 대학원 이학박사 학위 청구논문.

제 2 절 산업적 규모로 제조한 부분 가수분해 어육 단백질의 기능 특성

서론

효소에 의한 식품 단백질의 가수분해는 영양가를 손실하지 않고 물리화학적, 기능 및 관능적 특성들을 개선할 수 있는 중요한 공정이며 (Kristinsson and Rasco, 2000), 최근에는 가공 식품의 품질을 개선할 목적으로 단백질 ingredients의 기능적인 특성에 관심을 집중하고 있다(Nielsen, 1997). 식품 단백질은 기원에 따라 다른 특성을 가지며 이들 특성은 가수분해에 사용하는 효소의 종류((Sugiyama et al.,1991), 가수분해도 (Kristinsson and Rasco, 2000; Martin and Jervis, 2002)은 물론 pH와 이온강도(Doucet et al. 2003), 가열(Feng and Xiong, 2003)등의 외부 환경에 따라 많은 차이를 보이지만, 효소에 의한 부분 가수분해물은 식품 단백질의 기능적 특성을 개선할 수 있는 많은 가능성을 가지고 있다 (Kristinsson and Rasco, 2000).

식품 소재로 활용하기 위해 효소를 이용한 어육 단백질의 가수분해에 관한 연구는 많이 이루어져 있지만, 대부분이 내장을 포함한 어류에 효소를 첨가하여 가수분해도를 높이거나 속성 발효를 통하여 어간장을 제조하기 위한 연구(Lee et al., 1988 Kim et al., 1999 Kim et al., 2002)와 가공 부산물의 소재 활용에 관한 연구(Benjukul and Morrissey, 1997; Kang et al., 2002)에 국한되어 있으며, 식품 첨가물로 활용하기 위한 어육의 효소 가수분해물 제조는 대서양 연어(Kristinsson and Rasco, 2000), 대구(Martin and Jervis, 2002), 갯장어 (Cho and Ahn, 2002)에 대하여 일부 이루어져 있을 뿐이다.

본 연구는 어육 단백질을 시판하는 상업용 효소로 부분 가수분해하여 기능성을 개선한 식품 구성 성분으로 활용하기 위해 시도하였다.

재료 및 방법

재료

경남 통영시에 소재한 활인 매장에서 구매한 냉동 백조기(*Pennahia argentata*)를 실온의 수도수에서 하룻밤 해동하여 두부, 내장, 꼬리를 제거하고 수도수로 세척한 다음 meat grinder로 3회 고기같이 한 후 효소 가수분해를 위한 시료로 사용하였다.

가수분해물의 제조

마쇄 육 6 kg에 대하여 12 L의 수도수를 가하고 호모게나이저(Ika 25T basic, Ika Works Inc, Willington, NC, USA)로 8000 rpm에서 충분히 균질화 한 후 육 중량에 대하여 7배량의 수도수를 가하고 육의 분산을 위해 다시 균질화 하였다. 균질물은 근기질 단백질을 제거하기 위해 그물망의 체를 이용하여 2회 걸렀다. 근형질 단백질과 근원섬유 단백질은 6 N HCl 용액으로 현탁액의 pH를 5.5로 조절하여 침전한 단백질을 2점의 가아제로 여과하여 회수하였다. 회수한 육에 약 25 mg/mL의 단백질 농도가 되도록 일정량의 수도수를 첨가하고, 30% NaOH 용액을 사용하여 pH 7.0으로 조절하여 가수분해를 위한 기질로 사용하였다. 기질 농도에 대하여 Protamex는 단백질 농도 1/100, Flavourzyme은 단백질 농도 1/215가 되도록 첨가하여 25℃의 가수분해 조에서 150 rpm의 속도로 교반기(MS-280D, Tops, Seoul, Korea)를 사용하여 저어주면서 2시간 동안 가수분해하였다. 가열에 의한 단백질 변성을 피하기 위하여 효소 반응의 정지 조작은 수행하지 않았으며, 반응이 끝난 즉시 원심분리(5000 x g, 15분)하여 가용성 가수분해물과 잔사를 분리하였다. 가용성 잔사는 50℃에서 Brix 25까지 농축한 후, 잔사는 그대로 121℃에서 드럼 건조하여, kitchen Aid (350 Watt, St. Joseph, Michigan, USA)로 분쇄하였다.

질소, 수분 함량과 TCA soluble index의 측정

질소 함량은 AOAC법에 따라 micro-Kjedahl법으로 측정하였으며, 수분 함량은 적외선 수분 측정계로 측정하였다. 가수분해도는 분말 가수분해물과 잔사 0.5 g을 10 mL의 증류수에 현탁하고 최종 농도가 5%되도록 TCA 용액을 첨가하여 실온에서 30분 동안 방치한 후, 원심분리(3000 x g, 15분)하여 단백질을 제거하고 상층액 중의 아미노태 질소 함량을 TNBS법으로 측정하여 가수분해 전후의 아미노태 질소 함량의 %로 TCA 가용성 지표를 표시하였다.

가수분해물의 분자량 측정

가용성 획분의 분자량 측정을 위하여 Protamex 가수분해물(2.94 mg/mL)와 Flavourzyme 가수분해물(2.26 mg/mL) 2 mL를 0.1 M NaCl을 함유한 0.05 M sodium phosphate (pH 7.0)에 평행시킨 Superdex 30 prep gel column(1.6 x 60 cm)에 주입하여 같은 완충액으로 1 mL/min의 속도로 용출하였다. 이때 용출되는 peptide는 206 nm에서 검출하였다. 검출된 peptide의 분자량은 같은 조건에서 젤 크로마토그래피한 표준 단백질, cytochrome (MW, 12400 dalton), aprotinin(MW 6500 dalton), vitamin B12(MW 1344) 및 carnosine (MW 226)으로 작성한 표준곡선에 따라 측정하였다. 그리고 잔사의 분자량 측정을 위해 1% SDS 용액에 불용성 잔사를 현탁하여 80°C에서 30분 동안 항온하여 녹인 후, 시료 단백질 농도를 증류수로 희석하여 1.25 mg/mL로 조절하고 Laemmli(1970)의 방법에 따라 12% 분리 젤에서 SDS-polyacrylamide 젤 전기영동하였다. 단백질 농도는 Lowry법(1951)에 따라 측정하였으며, 분리된 단백질의 분자량은 wide range marker protein(Sigma, M 4038)을 같은 조건에서 전개하여 작성한 표준곡선으로 구하였다.

용해도의 측정

가수분해물 50 mg을 5 mL의 용매에 녹인 후 거품이 일어나지 않도록 vortex mixer로 잘 교반한 후, 원심분리(3,000 x g, 15분)하여 상층액의 단백질 농도를 Lowry(1951)의 방법으로 측정하였다. 용해도는 시료 g 당 가용성 단백질의 양으로 표시하였다. 이온강도에 따른 용해도는 NaCl의 농도 별로 용해도를 측정하였으며, 용해도의 pH 의존성은 0.1 M HCl-KCl(pH 2.0), 0.1 M citrate-phosphate (pH 3.0-5.0), 0.1 M sodium phosphate (pH 7.0-8.0) 및 glycine-NaOH (pH 9.0-10.0)에 분말 시료를 녹인 후 같은 방법에 따라 측정하였다.

유화능과 안정성의 측정

유화능은 Pearce and Kinsella(1978)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 125 mg의 분말 시료를 0.6 M KCl을 함유한 20 mM sodium phosphate (pH 7.0)로 25 mL되게 정용하여 50 mL Falcon tube에 붓고, 6.7 mL의 옥수수 기름을 첨가하였다. Bio 호모게나이저(M 133/1281-0, Biospec products Inc, Bartiesville, OK, USA)로 8000 rpm에서 15초 동안 균질화한 후 유화액 0.017 mL를 5 mL의 0.1% SDS 용액에 첨가하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 유화능은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{유화능}(\text{m}^2/\text{g}) = 2 \times 2.303 \times \text{흡광도} \times \text{희석배수} / (\text{시료액 중 단백질 농도, g/mL}) \times (1 - \text{기름 부피획분}) \times 10000$$

유화안정성은 유화액 14 mL를 polyethylene tube에 넣고 냉장실에 보관하면서 기름과 수용상의 분리를 측정하여 전체 유화액 중 크림 층의 부피를 %로 표시하였다.

수분 및 기름의 흡착력 측정

정확히 무게를 단 50 mL의 Falcon tube에 분말 시료 1 g을 넣고 증류수와 대두유 20 mL를 각각 첨가하여 bio 호모게나이저(M 133/1281-0, Biospec products Inc, Bartiesville, OK, USA)로 30초 동안 균질화 하여 상온에서 20분 동안 방치하고 원심분리(3000xg, 10분)한 다음, 상층액은 버리고 여과지 위에 원심관을 뒤집어 잔여 상층액을 최대한 제거한 후 정확히 무게를 달았다. 흡착력은 시료 g 당 잔사물의 g수로 표시하였다.

통계분석

표준 편차, 회귀 분석 및 유의성 검정은 JMP 통계 프로그램으로 실시하였다.

결과 및 고찰

가수분해물의 수분, 질소함량 및 가수분해도

부분 가수분해물의 수율, 수분 함량, 총 질소 함량 및 가용성 단백질의 양은 Table 1과 같다. 수분 함량은 5.1-6.2%의 범위로 대체로 비슷하였고, 가수분해 잔사물이 상층액에 비하여 0.2% 정도 수분 함량이 더 높았다. 총 질소 함량은 12.91-13.74%의 범위였으며 상층액에 비하여 잔사의 총 질소량이 다소 높은 것으로 나타났다. 반면에 조 회분의 함량은 가수분해물 잔사가 다소 낮았으며 3.3-5.6%의 범위를 보였다. 증류수에 녹였을 때 가용성 단백질의 함량은 가수분해 상층액이 42-46.7%로 잔사물의 12.2-18.2%에 비하여 월등히 높은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 가수분해 후 회수한 상층액의 대부분은 저분자량의 가용성 물질이기 때문인 것으로 추정되며, 잔사는 가수분해 후에 용해하지 않은 물질로서 원심분리 시 pellet으로 회수된 물질이기 때문이다. Protamex와 Flavourzyme 가수분

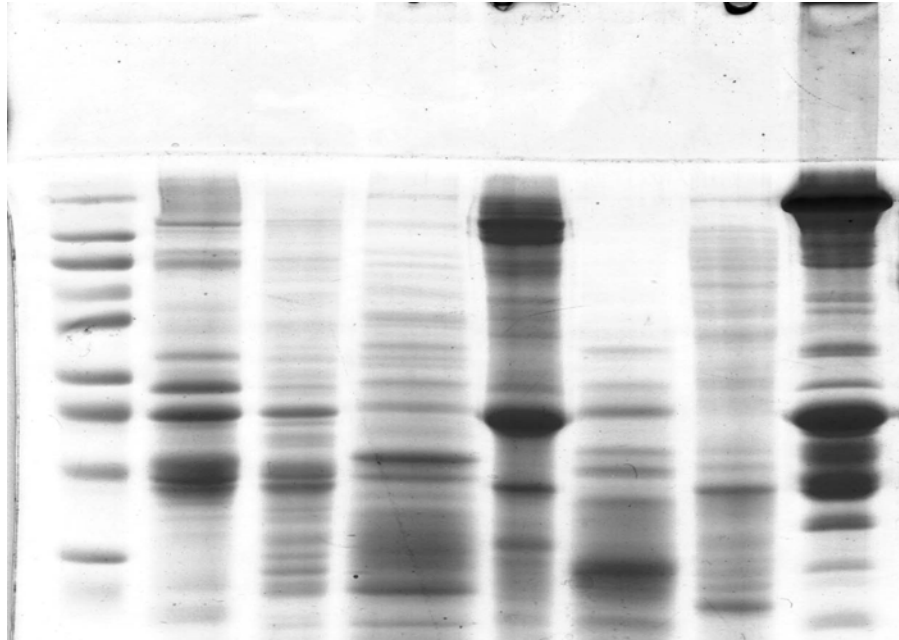
해물의 TCA soluble index는 각각 50.0%와 37.4%로 나타났다.

Table 1. Moisture content, crude protein and TCA soluble index of partial hydrolysates.

Hydrolysate	Moisture, %	Total nitrogen, %	Crude Ash. %	Soluble protein, g/100g
Protamex Residue	6.2	13.74	4.6	18.2
Protamex Supernatant	5.9	13.67	5.6	46.7
Flavourzyme Residue	5.3	13.43	3.3	12.2
Flavourzyme Supernatant	5.1	12.91	4.9	42.0

분자량의 분포

SDS-PAGE의 형태; 12%의 polyacrylamide 젤 농도에서 비가수분해물과 가수분해물을 전기영동한 결과(Fig. 1), 잔사물에서 고분자량의 단백질 띠가 다수 검출되었으며 검출된 단백질 띠의 수는 잔사물과 상층물 모두 Protamex로 가수분해한 것이 Flavourzyme으로 가수분해한 가수분해물에 비하여 작은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 Protamex의 가수분해도가 높기 때문에 분자량 10k dalton 이하의 물질들이 많이 생성되었기 때문으로 추정된다. Tris 완충계를 사용하는 SDS-PAGE로는 분자량 10k dalton 이하의 peptide를 검출 할 수 없기 때문에(Bollag, 1996) 10k dalton 이하에 분자량에 해당하는 peptide들의 분자량 분포를 확인하기 위하여 젤 크로마토그래피를 사용하였다.



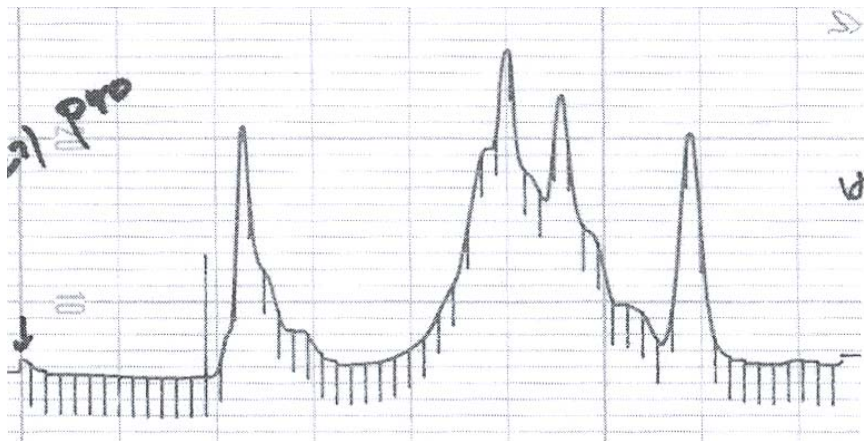
Croaker

Jack mackerel

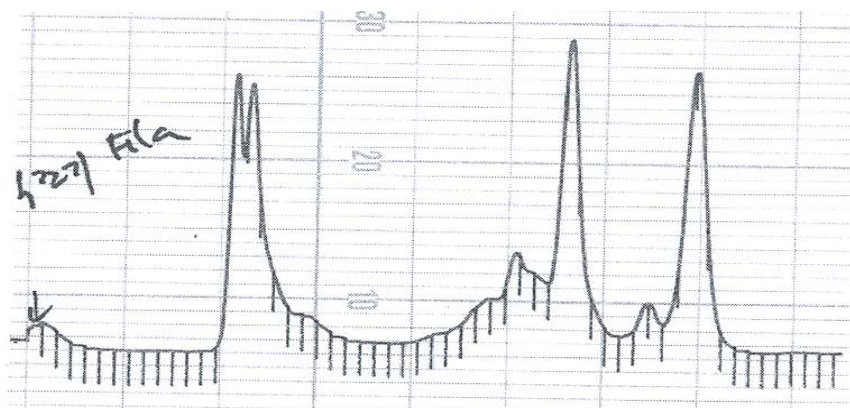
Fig. 1. SDS-PAGE pattern of recovered protein and partial hydrolysate. Left to right; wide range marker protein, unhydrolysed, residue of hydrolysate (Protamex, 1/100), supernatant of hydrolysates (Protamex), residue of hydrolysate (Flavourzyme, 1/215), hydrolysate (Flavourzyme), supernatant of hydrolysate (Protamex), supernatant of hydrolysate (Flavourzyme), unhydrolysed, residues of hydrolysate (Protamex), supernatant of hydrolysate (Protamex), residue of hydrolysate (Flavourzyme), supernatant of hydrolysate (Flavourzyme), supernatant of (Protamex), supernatant of (Flavourzyme)

*Gel chromatogram*의 형태; 분자량 10k dalton 이하에 해당하는 peptide의 분자량 분포를 확인하기 위하여 HiLoad Superdex 30 prep grade

column (1.6 x 60 cm)를 사용하여 Protamex와 Flavourzyme의 상층물을 젤 여과하였다(Fig. 2).



(A)



(B)

Fig. 2. Gel chromatogram in supernatant of hydrolysates by Protamex and Flavourzyme.

젤 chromatogram에서 확인할 수 있듯이 상층물의 주요 구성 물질의 분자량은 단백질 분해 효소의 종류에 따라 많은 차이를 보이고 있었고, Protamex 가수분해물은 Flavourzyme 가수분해물에 비하여 분자량 1k-800 dalton에 해당하는 아미노산 9-7 잔기에 해당하는 peptide가 다량 분포하는 것으로 나타났다.

용해도

부분 가수분해 후 회수한 상층액 건조물의 용해도는 NaCl의 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타난 반면, 잔사 건조물은 NaCl 농도가 증가함에 따라 다소 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3). 이 같은 결과는 잔사물에는 분해되지 않은 많은 다량의 염용성 단백질이 존재하기 때문인 것으로 추정된다. 그리고 상층물의 용해도가 잔사물에 비하여 높은 것은 가수분해도가 높기 때문이다.

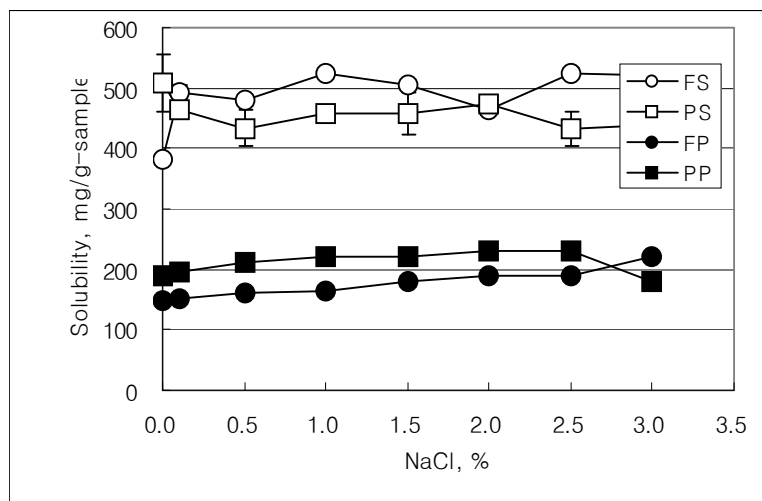


Fig. 3. Effect of NaCl on solubilities of partial hydrolysates. F, Flavourzyme; P, Protamex; S, supernatant of hydrolysate; P, residue of hydrolysates.

가수분해물의 용해도는 가수분해도가 증가함에 따라 증가하며, 이는 분자량의 감소와 극성기의 수가 증가하기 때문이고 단백질 용해도에 미치는 단백질 가수분해의 효과는 단백질의 구조에 달려있다(Nielsen, 1997).

가수분해물의 용해도에 미치는 pH의 영향을 측정한 결과(Fig. 4), 가수분해 상층물의 용해도는 pH의 영향을 받지 않는 반면, 잔사물은 pH 7 이상에서 용해도가 다소 증가하는 것으로 나타났다. 잔사물인 경우 분해하지 않은 다량의 고분자량의 단백질이 존재하고 있기 때문에 일반적인 단백질의 pH 의존성을 다소 보이기 때문인 것으로 추정된다. 이 같은 현상은 Protamex에 비하여 고분자의 비율이 높은 Flavourzyme의 가수분해 잔사물이 Protamex 가수분해 잔사물에 비하여 낮은 용해도를 보이고 있는 것을 통해 추정할 수 있다.

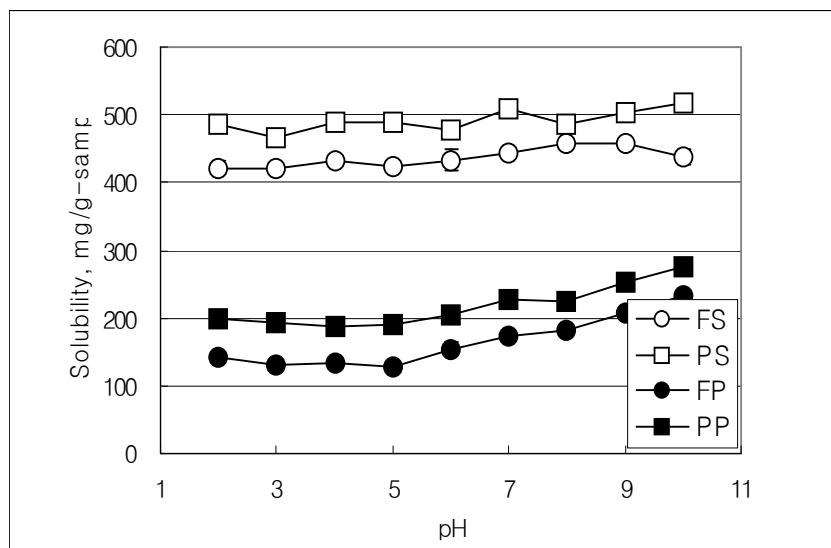


Fig. 4. Effect of pH on solubilities of partial hydrolysates. F, Flavourzyme; P, Protamex; S, supernatant of hydrolysate; P, residue of hydrolysates.

잔사물은 어육의 염용성 단백질의 등전점 부근인 pH 5.0 부근에서 가장 낮은 용해도를 보이지만 100 mg/g-sample 이상의 용해도를 보이고 있는 것은 잔사물도 부분적으로 가수분해 되었기 때문이다. 가수분해한 단백질의 pH별 용해도는 가수분해도에 영향을 받으며, casein은 등전점에서 0%의 용해도를 보이지만, 가수분해도 2%에서 24%, 가수분해도 6.7%에서는 53%의 용해도를 보인다고 하였다(Chobert et al., 1987).

유화능과 유화안정성

가수분해물의 유화능과 유화 안정성을 측정하여 식품의 소재로 널리 사용하고 있는 대표적인 비근육 단백질인 소 혈청 단백질, 난백 단백질, 대

두 단백질 및 유장 단백질과 비교하였다(Fig. 5, 6).

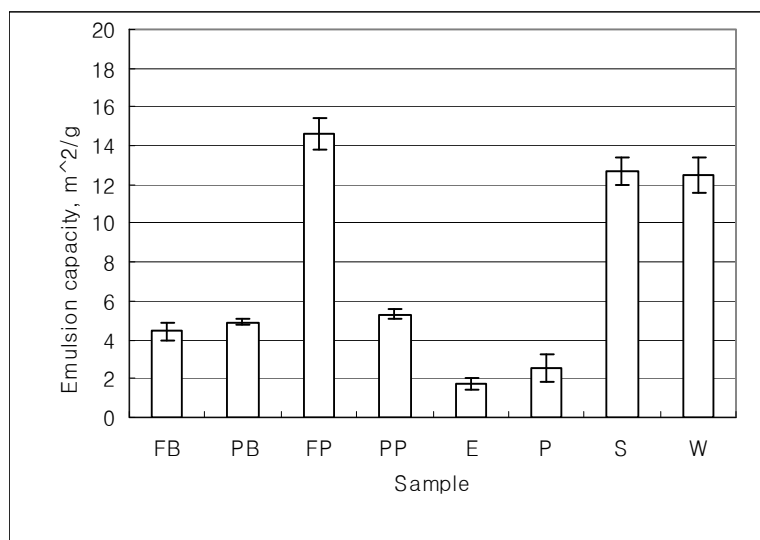


Fig. 5. Emulsion capacity of hydrolysates and non-muscle proteins at pH 6.0. FB, Flavourzyme supernatant; PB, Protamex supernatant; FP, Flavourzyme residues; PP, Protamex supernatant; E, egg white powder; P, bovine plasma protein; S, soy protein concentrate; W, whey protein.

Flavourzyme 가수분해 잔사물의 유화능은 대두 단백질과 유장 단백질보다 우수한 것으로 나타났으나, 다른 가수분해물은 4-6 m²/g의 유화능을 보여 Flavourzyme 가수분해 잔사물에 비하여 현저히 낮았다. 그러나 가수분해물 모두 난백과 소 혈청 단백질에 비하여 높은 유화능을 보였다. 가수분해물이 난백과 소 혈청 단백질에 비하여 높은 유화능을 보인 것은 가수분해물의 평균 분자량이 난백과 소 혈청 단백질에 비하여 낮기 때문인 것으로 추정된다. Alcalase와 Neutrase로 가수분해도 8.3%까지 가수분해한 대두 단백질의 단리물(SPI)의 유화능은 Alcalase 가수분해물의 경우 가수분해도 5%까지 유화능은 증가하나 그 이후에는 감소하는 것으로 나타났으며,

Neutrase 가수분해물은 가수분해도 2%까지 증가하였다가 2-7%까지는 유화능에 변화가 없다는 보고(Adler-Nissen and Olsen, 1979)에 미루어 유화능은 가수분해도와 효소에 영향을 받는 것으로 추정된다.

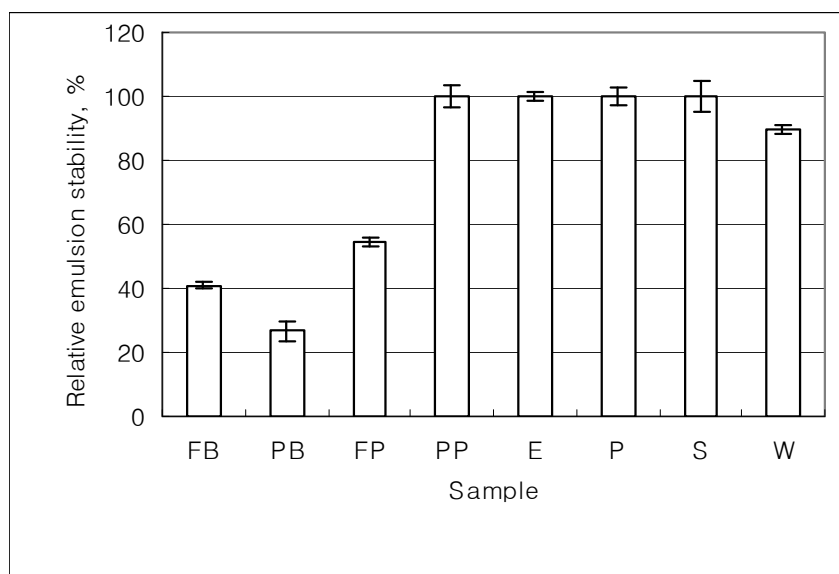


Fig. 6. Emulsion stability of hydrolysates and non-muscle proteins at pH 6.0 after 20 min. The abbreviations were the same as Fig. 5.

그러나 유화 개시 20분 경과 후 유화물의 안정성은 Protamex 가수분해 잔사물을 제외한 모든 가수분해물이 비근육 단백질에 비하여 낮은 것으로 나타났다. 가수분해물은 단백질에 비하여 다양한 가수분해물로 인해 극성 잔기의 수가 증가하여 하전 척력을 극복할 수 있는 인력이 약하고 계면 상에 단백질을 재배열 할 수 없기 때문인 것으로 추정된다. 유화 안정성을 확보하기 위해 지방 입자의 표면에서 단백질을 흡착하는 데 필요한 에너지가 중요한 것으로 보고하였다(Mangino, 1994).

가수분해물과 비근육 단백질의 상대적인 유화안정성은 100시간까지 변화가 거의 없는 것으로 나타났다(Fig. 7, 8).

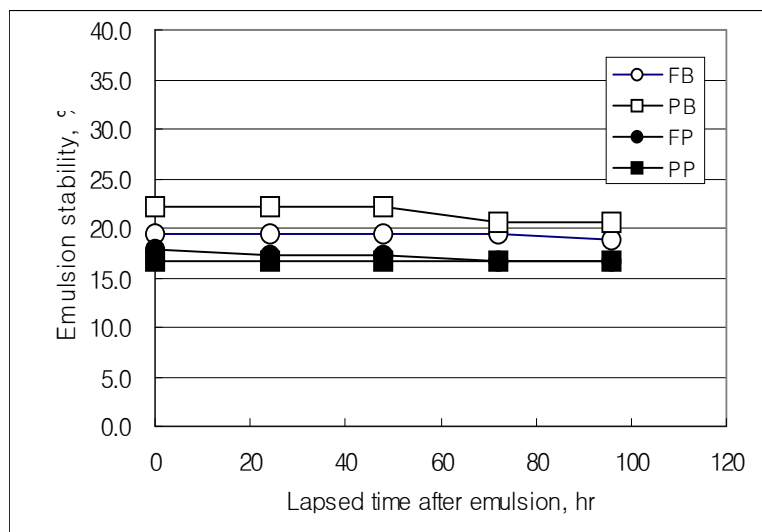


Fig. 7. Emulsion stability of partial hydrolysate with lapsed time. The abbreviations were the same as Fig. 5.

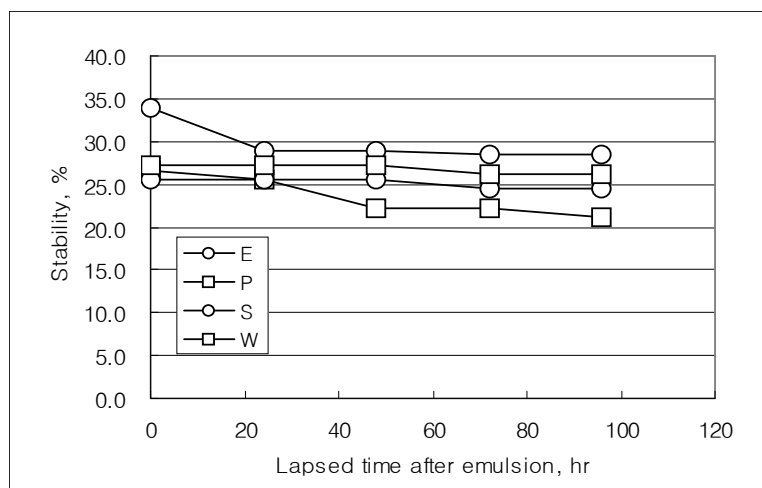


Fig. 7. Emulsion stability of non-muscle protein with lapsed time. The abbreviations were the same as Fig. 5.

수분과 지방 흡착력

식품 소재로 활용할 때 가수분해물의 수분과 지방 흡착 능력을 평가하기 위하여 수분과 기름 흡착 능력을 측정하였다. 수분의 흡착 능력은 비근육 단백질인 대두 단백질이 5.2 ± 0.1 g/g-sample로서 가장 우수하였으며, Flavourzyme 가수분해 잔사물, Protamex 가수분해 잔사물의 순이었다 (Fig. 8). 유장 단백질은 수분 흡착력을 전혀 나타내지 않았으며, Flavourzyme 및 Protamex 가수분해 상층물과 소 혈청 단백질 및 난백 단백질은 0.33 ± 0.0 g/g - 0.52 ± 0.0 g/g 범위의 수분 흡착능력을 보였다. 그리고 대두 단백질의 유지 흡착 능력은 Flavourzyme 가수분해 잔사물이 가장 높은 3.47 ± 0.00 g/g이었으며, Protamex 가수분해 잔사물과 대두 단백질 농축물은 각각 3.09 ± 0.07 g/g-sample과 2.93 ± 0.10 g/g-sample이었다 (Fig. 9). 가수분해 상층물의 유지 흡착능은 효소의 종류에 관계없이 같은 값을 나타내는 것에 미루어 가수분해물의 유지 흡착능은 구성 물질의 분자 크기와 상관이 있는 것으로 추정된다. 한편 소 혈청 단백질과 유장 단백질은 유지 흡착 능력을 전혀 보이지 않는 것으로 나타났다. 이 같은 결과에 미루어 부분 가수분해물의 잔사는 육류 patty 등에 소재로 활용할 수 있을 것으로 추정된다.

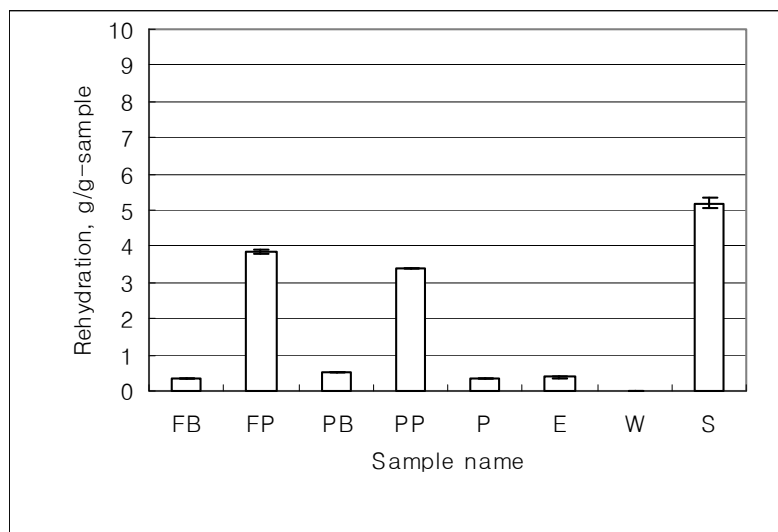


Fig. 8. Rehydration capacities of partial hydrolysates and non-muscle protein. The abbreviations were the same as Fig. 5.

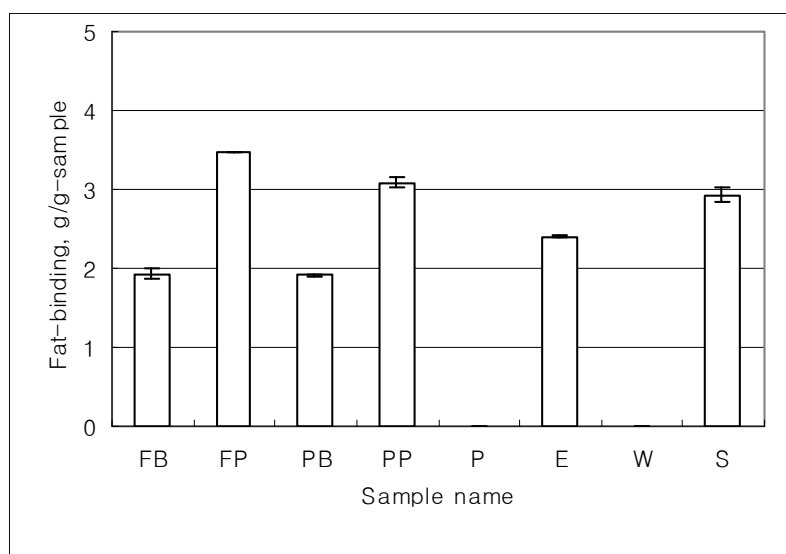


Fig. 9. Fat binding capacities of partial hydrolysates and non-muscle protein. The abbreviations were the same as Fig. 5.

요약

가수분해물의 총 질소함량은 12.91-13.74%의 범위였으며, Protamex와 Flavourzyme 가수분해물의 TCA soluble index는 각각 50.0%와 37.4%로 나타났다. 가수분해 상층물은 분자량 1k - 800 dalton에 해당하는 물질들이 다량 포함되어 있는 것으로 나타났다. 용해도는 가수분해 상층물이 잔사에 비하여 월등히 높았으며, NaCl은 용해도에 영향을 미치지 않았고 잔사의 용해도는 pH에 의해 다소 영향을 받는 것으로 나타났다. 유화능은 Flavourzyme 잔사물리 가장 높았으나, 유화안정성은 Protamex 잔사물이 높은 것으로 나타났다. 수분과 지방 흡착 능력은 가수분해 잔사물이 상층물에 비하여 높게 나타났다.

참고문헌

- Adler-Nissen J, Olsen HS. 1979. The influence of peptide chain length of taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. In *Functionality and Protein Structure*, A Pouel, ed, American Chemical Society, p 125.
- Benjakul S, Morrissey MT. 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *J Agric Food Chem* 45: 3423-3430.
- Bollag DM, Rozycki MD, Edelstein SJ. 1996. Protein method. John Wiley and Sons, Inc, New York, p.107-139.
- Cho H-Y, Ahn C-B. 2002. Production and characteristics of protein hydrolysate from sharp toothed eel (*Muraenesox cinereus*). *J Korean Fish Soc* 35: 97-104.
- Chobert JM, Sitohy M, Whitaker JR. 1987. Specific limited hydrolysis and phosphorylation of food proteins for improvement of

- functional and nutritional properties. *J Am Oil Chem Soc*, 64: 1704.
- Doucet D, Gauthier SF, Otter DE, Foegeding EA. 2003. Enzyme-induced gelation of extensively hydrolyzed whey proteins by Alcalase: Comparison with pepsin reaction and characterization of interactions. *J Agric Food Chem* 51: 6036-6042.
- Feng J, Xiong YL. 2003. Interaction and functionality of mixed myofibrillar and enzyme-hydrolyzed soy proteins. *J Food Sci* 68: 803-809.
- Kang S-T, Kong C-S, Cha Y-J, Kim J-T, Oh K-S. 2002. Processing of enzymatic hydrolysates from conger eel scrap. *J Korean Fish Soc* 35: 259-264.
- Kim I-S, YJ Choi, M-S Heu, Y-J Cho, Y-S Im, Y-S Gu, S-G Yeo, JW Park. 1999. Peptide properties of rapid salted and fermented anchovy sauce using various proteases. *J Korean Fish Soc* 32: 481-487.
- Kim W-J, Kim S-M, Lee S-K. 2002. Quality characteristics of the accelerate-fermented Northern sand lance, *Ammodytes personatus*, sauce. *J Korean Fish Soc* 35: 709-714.
- Kristinsson HG, Rasco BA. 2000. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1): 43-81.
- Kristinsson HG, Rasco BA. 2000. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *J Agric Food Chem* 48:

657-666.

Lee E-H, Jee S-K, Ahn C-B, Kim J-S. 1988. Studies on the processing conditions and the taste compounds of the sardine sauce extracts. *J Korean Fish Soc* 21: 481-487.

Mangino ME. 1994. Protein interactions in emulsions: Protein-lipid interactions. In Protein functionality in food systems. NS Hettiarachchy, GR. Ziegler, eds, Marcel Dekker, New York. p 147-179.

Nielsen PM. 1997. Functionality of protein hydrolysates. In Food Proteins and Their Applications, S. Damodaran and A. Paraf eds, Marcel Dekker Inc, New York, P 443-472.

Pearce KN, Kinsella JE. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation a turbidimeter technique. *J Agric Food Chem* 26: 716-723.

Sugiyama K, Egawa M, Onzuke H, Oba K. 1991. Characteristics of sardine muscle hydrolysates prepared by various enzymic treatments. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 475-479.

제 3 절 건조 분말 수리미의 제조와 식품학적 기능성

서론

수리미의 중요한 기능적 특성은 염을 첨가하여 고기같이하고 가열했을 때 탄성의 젤을 생성하는 것이다. 수리미 제조를 위한 원료어는 연중 어획 시기가 제한되어 있기 때문에 장기 저장 방법으로 동결 저장이 매우 중요하다. 동결 저장은 미생물의 발육에 의한 부패를 방지하고 육에서 일어나는 생화학적 반응을 최소화하지만 동결 저장과 관련된 어육 단백질의 기능적 특성의 손상은 피할 수 없다(Powrie, 1973; Matsumoto, 1979, 1980; Park et al., 1987). 동결 저장 기간의 연장은 육 단백질의 구조 및 화학적 특성에 큰 영향을 미쳐 육제품의 품질에 영향을 미친다(Park and Lanier, 1987).

단백질 기능성의 소실, 특히 동결어의 젤 형성능은 근원섬유 단백질의 동결 변성과 응집 때문이다(Grabowska and Sikorski, 1976; Sikorski et al., 1976; Masumoto, 1980; Suzuki, 1981). 동결과 동결 저장 중 단백질 변성에 영향을 미치는 인자는 염 농도, pH, 이온강도, 표면장력 및 얼음과 탈수의 물리적인 효과이다(Park, 1994).

건조에 의한 단백질 변성의 기구는 두 공정 모두 세포에 있는 물이 제거되기 때문에 냉동 변성의 기구와 동일하다(Park and Lanier, 1987). 그러나 수리미의 동결 안정성을 확보하기 위해 사용하는 당은 단백질을 건조하는 동안 변성으로부터 단백질을 안정시키는 데 유용하게 사용할 수 있다(Carpenter, 1989; 1991). 건조 단백질은 부피 감소로 인한 운반비용의 절감, 저장성의 용이함과 식품소재로서 혼합의 용이성과 같은 많은 장점을 지니고 있기 때문에(Niki et al., 1992) 어육 건조 단백질의 제조와 실용화에 관한 연구가 진행되어 왔다. 그러나 이들 어육 건조 단백질의 식품학적

기능성에 관한 연구는 부진한 실정이었다.

본 연구는 알칼리 처리 공정 단계에서 회수한 어육 단백질의 이용하여 건조 어육 단백질을 제조하고 이들 단백질의 몇 가지 기능적 특성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 냉동 깡치는 부산공동 어시장에서 구매하여 실험실로 운반한 다음 -20°C 의 냉동 창고에 보관하면서 두부와 내장을 제거한 후 분말 단백질 제조를 위한 시료로 사용하였다.

분말 어육 단백질의 제조

두부와 내장을 제거한 깡치를 meat grinder로 2회 마쇄한 후 9배량의 증류수를 첨가하고 8000 rpm에서 5분 동안 호모게나이즈하였다. 호모게나이즈한 마쇄 육에 6 N NaOH로 pH를 11로 조절하여 어육 단백질을 용해시키고 연속식 원심분리기로 원심분리(7000 rpm)하여 단백질이 용해한 상층액을 회수하였다. 회수한 가용성 단백질에 6 N HCl을 첨가하여 pH 5.5로 조절하여 30분 방치한 후, 침전한 단백질을 연속식으로 원심분리하여 회수하였다. 회수한 침전 단백질에 2 N HCl를 가하여 pH를 7.0으로 조절하고 건조 중 단백질 변성을 방지하기 위하여 5% sorbitol, 4% sucrose와 0.3% sodium polyphosphate를 첨가한 다음, 170°C 의 드럼 건조기에서 건조하였다. 건조한 어육 단백질을 분쇄하여 어육 분말 단백질을 제조하였으며 25 mesh 이하와 이상으로 입자의 크기를 구분하여 기능적 특성을 측정하였다.

용해도의 측정

건조 어육 단백질 50 mg을 5 mL의 용매에 녹인 후 거품이 일어나지 않도록 vortex mixer로 잘 교반한 후, 원심분리(3,000 x g, 15분)하여 상층액의 단백질 농도를 Lowry(1951)법으로 측정하였다. 용해도는 시료 g 당 가용성 단백질의 양으로 표시하였다. 이온강도에 따른 용해도는 NaCl의 농도별 용해도를 측정하였으며, 용해도의 pH 의존성은 0.1 M HCl-KCl(pH 2.0), 0.1 M citrate-phosphate (pH 3.0-5.0), 0.1 M sodium phosphate (pH 7.0-8.0) 및 glycine-NaOH (pH 9.0-10.0)에 분말 시료를 녹인 후 같은 방법에 따라 단백질의 농도를 측정하였다.

유화능과 안정성의 측정

유화능은 Pearce and Kinsella(1978)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 125 mg의 분말 시료를 0.6 M KCl을 함유한 20 mM sodium phosphate (pH 7.0)로 25 mL되게 정용하여 50 mL Falcon tube에 붓고, 6.7 mL의 옥수수 기름을 첨가하였다. Bio 호모게나이저로 8000 rpm에서 15초동안 균질화한 후 유화액 0.017 mL를 5 mL의 0.1% SDS 용액에 첨가하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 유화능은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

유화능(m^2/g) = $2 \times 2.303 \times \text{흡광도} \times \text{희석배수} / (\text{시료액중 단백질 농도, g/mL}) \times (1 - \text{기름 부피획분}) \times 10000$

유화 안정성은 유화액 14 mL를 polyethylene tube에 넣고 냉장실에 보관하면서 기름과 수용상의 분리를 측정하여 전체 유화액 중 크림 층의 부피를 %로 표시하였다.

수분 및 기름의 흡착력 측정

정확히 무게를 단 50 mL의 Falcon tube에 분말 시료 1 g을 넣고 증류수

와 대두유 20 mL를 각각 첨가하여 Bio 호모게나이저(M 133/1281-0, Biospec products Inc, Bartiesville, OK, USA)로 30초 동안 균질화 하여 상온에서 20분 동안 방치하고 원심분리(3000xg, 10분)한 다음, 상층액은 버리고 여과지 위에 원심관을 뒤집어 잔여 상층액을 최대한 제거한 후 정확히 무게를 달았다. 흡착력은 시료 g 당 잔사물의 g수로 표시하였다.

점도 측정

분말 어육 단백질에 최종 농도가 2%가 되도록 NaCl을 첨가한 후 호모게나이저로 8000 rpm에서 20초 동안 균질화 한후, small sample adapter를 장착한 Brook Field 점도계 (Model HV, Brook Field)로 25℃에서 측정하였으며, spindle은 No. 27을 사용하였다.

통계분석

표준 편차, 회귀 분석 및 유의성 검정은 JMP 통계 프로그램으로 실시하였다.

결과 및 고찰

용해도

건조 분말 단백질의 용해도는 pH 7.0으로 조절한 분말이 pH 5.5보다 용해도가 큰 것으로 나타나 건조 분말 단백질의 경우도 염용성 어육 단백질의 등전점 부근인 pH 5.5에서 용해도가 낮은 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 이 같은 결과는 건조 분말 어육 단백질의 용해도에 미치는 pH의 영향에서 더욱 뚜렷하게 관측되었다. 그러나 각 pH 별 분말 어육 단백질의 용해도는 염 농도에 의한 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타나 부분 가수분해물의 경우와 비슷한 결과를 보여주고 있었다. 그리고 pH 7.0인 건조 분

말 어육 단백질은 입자의 크기에 따라 유의적인 용해도의 차이를 보여 25 mesh 이상의 입자들이 25 mesh 이하의 입자에 비하여 용해도가 높은 것으로 나타났다.

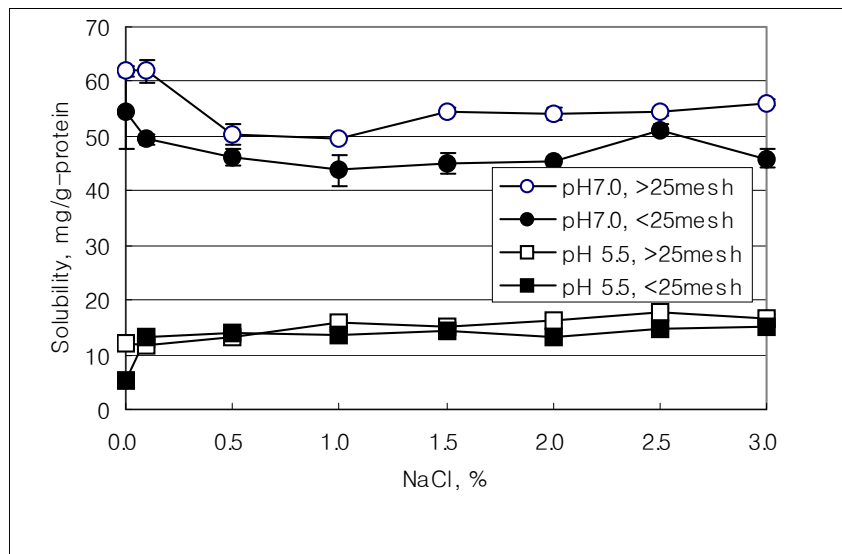


Fig. 1. Effect of NaCl on solubilities of dried fish muscle protein.

건조 분말 어육 단백질은 자체의 pH에 따라 pH 별 용해도에 큰 차이를 보여 pH 7.0으로 제조한 건조 분말 어육 단백질의 pH 별 용해도는 전형적인 단백질 용해도의 pH 의존성을 나타낸 반면, pH 5.5로 제조한 건조 분말 어육 단백질은 pH에 거의 영향을 받지 않았다(Fig. 2). pH 7.0으로 제조한 건조 분말 어육 단백질의 용해도는 pH 3 이하와 pH 6.0 이상에서 용해도가 급격히 증가하였다. 이 같은 결과는 어육 단백질이 pH 5.0-5.5 부근에서 최소의 용해도를 보이고 pH 4.0 이하와 pH 9.0 이상에서 용해도가 급격히 증가하는 것에 비하여 최소 용해도를 나타내는 pH의 범위가 3-6 사이로 다소 넓은 특징을 보이고 있다. 이 같은 결과는 건조 분말 어육 단

백질로도 알칼리 처리를 통하여 가용성이 높은 단백질의 제조가 가능하며, 식품 소재로 활용할 수 있음을 뜻한다.

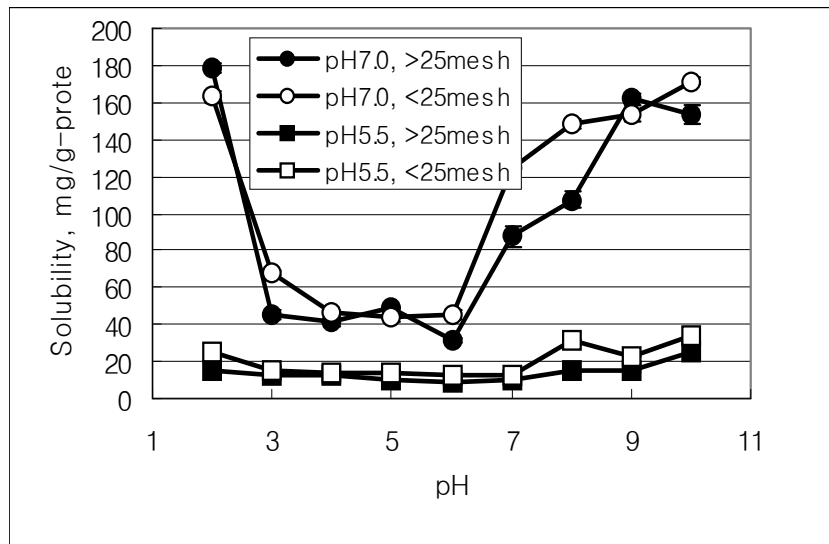


Fig. 2. Effect of pH on solubilities of dried fish muscle protein.

유화능과 유화안정성

건조 분말 어육 단백질의 유화능은 25 mesh 이상의 건조 분말 어육 단백질(pH 5.5)이 0.042 m²/g-sample이고, 나머지 단백질은 이보다 낮은 값을 나타내어 전반적으로 아주 낮았다(Fig. 3). 유화 안정성, 거품능 및 거품 안정성은 나타나지 않았다(데이터는 제시하지 않았음).

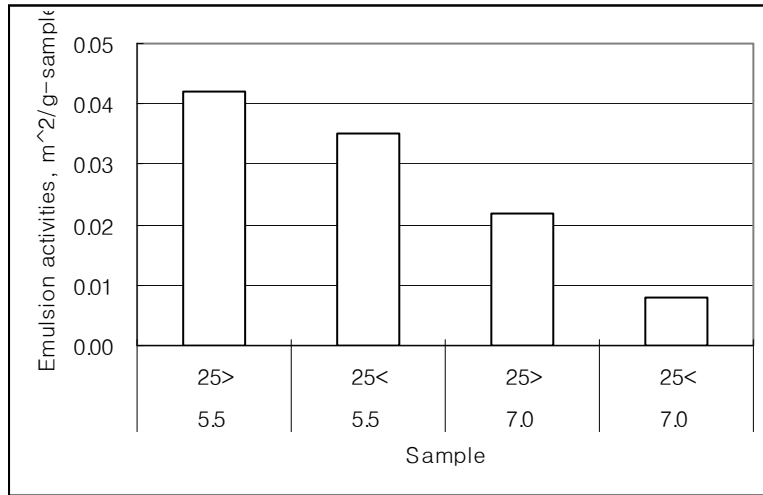


Fig. 3. Emulsion activities of dried fish muscle protein.

잉어 myosin 용액의 계면 현상은 45°C 부근에서 현저하게 변하며, 가열 온도가 60°C 이상일 때 유화는 분리(크리밍)와 coalescence의 방향으로 유화가 풀어진다(Kawai et al., 1987). 단백질의 기능성은 용해도만을 사용할 때 보다는 소수성 지표와 더 좋은 상관성을 보인다. 변성 단백질의 유화능, 유화 안정성 및 지방 결합 능력은 단백질이 변성하기 전의 소수성과 용해도와 밀접한 상관을 가지며, 거품능인 경우 단백질이 변성한 후 노출된 소수성과 점도가 중요한 역할을 수행한다(Nakai, 1983). 이 같은 보고에 미루어 분말 단백질의 낮은 유화능과 거품능은 단백질 변성으로 인한 낮은 용해도와 점도 저하에 기인하는 것으로 추정된다.

점도

시판 수리미인 Pacific whiting FA급, Pacific whiting A급 및 Jack mackerel KA급의 점도는 각각 613000 cP, 560000 cP 및 364000 cP로서 높을 뿐 아니라 등급이 낮을수록 점도 값도 낮은 정의 상관을 보인 반면,

건조 분말 어육 단백질의 경우는 수리미 단백질의 1/10에 불과한 50200-39000 cP의 점도 값을 보이고 있었다.

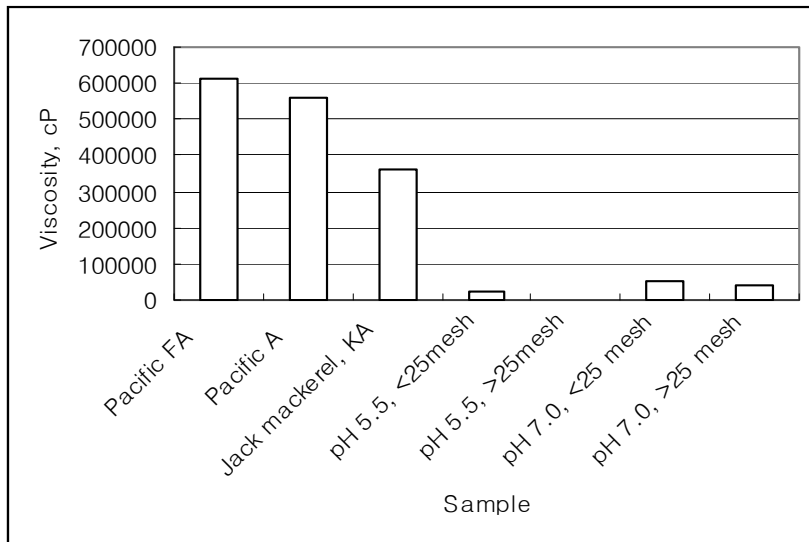


Fig. 4. Viscosity of commercial surimi and dried fish muscle protein.

50 mL의 Flacon tube에 2, 4, 6, 8 및 10%가 되도록 건조 분말 어육 단백질을 0.6 N NaCl을 포함하는 20 mM sodium phosphate(pH 7.0)에 현탁하여 90°C의 항온수조에서 15분 가열하고, 15분 동안 얼음물에서 냉각하여 tube를 거꾸로 하여 응고한 단백질이 흘러내리는지 확인한 결과, 6% 이상의 농도에서는 흘러내리지 않고 응고하는 현상을 보였다.

수분과 지방의 흡착능력

건조 분말 단백질의 수분과 지방 흡착 능력은 각각 2.63-2.89 g-water/g-sample과 2.13-2.17 g-oil/g-sample로서 건조 분말 단백질의 pH와 입자의 크기에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Fig. 5, 6).

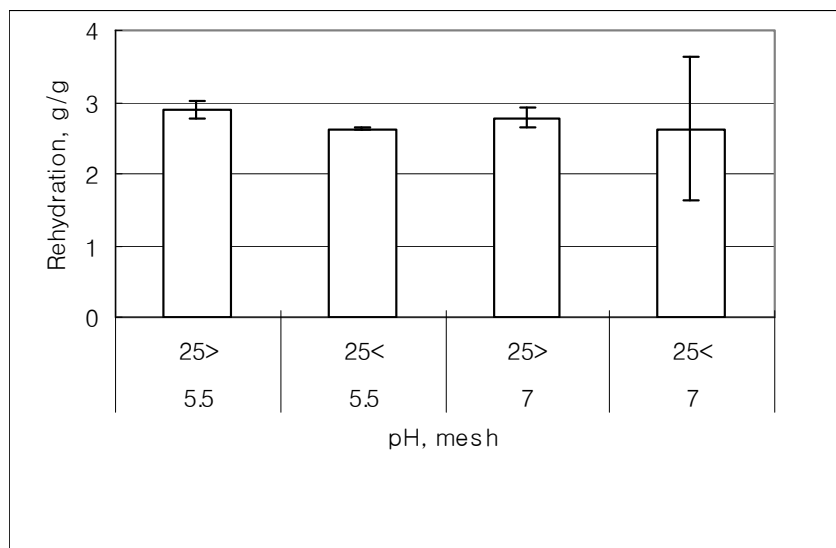


Fig. 5. Rehydration of dried fish muscle protein with pH and particle size.

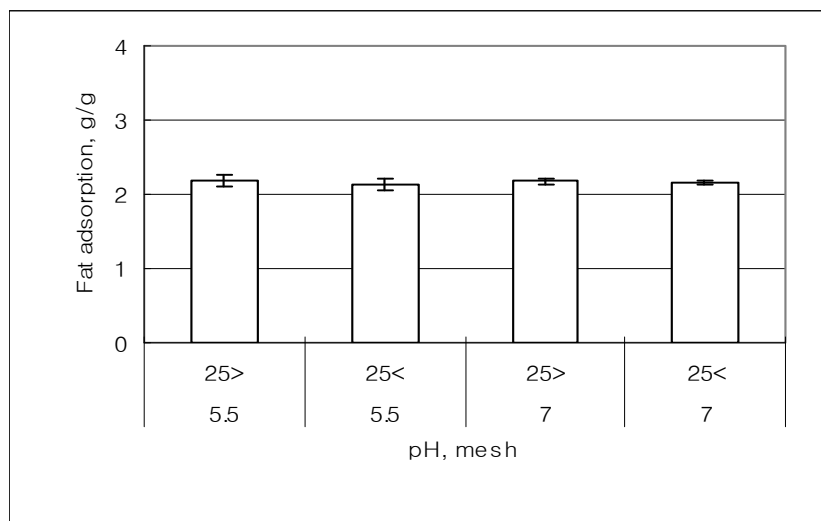


Fig. 6. Fat binding capacity of dried fish muscle protein with pH and particle size.

대두 단백질 단리물은 0.2 M NaCl 용액에서 용해도가 이들 단백질의 변성 정도에 대한 정보를 제공하며, 고도로 변성된 단백질, 높은 표면 소수성, 0.2 M NaCl 용액에서 낮은 용해도 및 낮은 SH기를 가진 단리물이 가장 높은 수분 흡착력을 나타낸다고 하였다(Wagner and Anon, 1990).

분말의 색

건조 분말 단백질의 황색도는 11.78-13.91의 범위로 시료에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다.

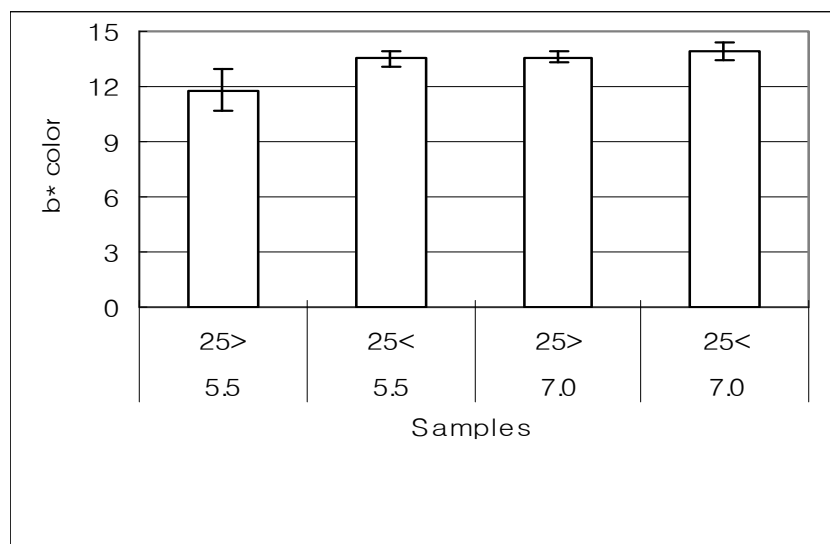


Fig. 7. Yellowness(b*) of dried fish muscle protein.

요약

알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정을 응용하여 건조 어육 단백질을 제조하고 이들 단백질의 몇 가지 기능적 특성을 측정하였다. 건조 분말 단백질의 용해도는 pH 7.0으로 조절된 분말이 pH 5.5보다 높았다. 건

조 분말 단백질의 유화능은 25 mesh 이상의 건조 분말 단백질(pH 5.5)이 0.042 m²/g-sample이고 나머지 단백질은 이보다 낮은 값을 나타내어 전반적으로 아주 낮은 값을 보였으며, 유화 안정성, 거품능 및 거품 안정성은 없었다. 건조 분말 단백질의 점도는 수리미 단백질의 1/10에 불과한 50200-39000 cP를 보이고 있었다. 건조 분말 어육 단백질의 수분과 지방 흡착 능력은 각각 2.63-2.89 g-water/g-sample과 2.13-2.17 g-oil/g-sample로서 건조 분말 단백질의 pH와 입자의 크기에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다

참고문헌

- Carpenter JF, Crowe JH, Arakawa T. 1989. Comparison of solute-induced protein stabilization in aqueous solution and the in the frozen and dried states. *J Dairy Sci*, 73: 3627-3636.
- Carpenter JF, Arakawa T, Crowe JH. 1991. Interactions of stabilizing additives with proteins during freeze-thawing and freeze-drying. *Develop Biol. Standard*, 74: 225-239.
- Grabowska J, Sikorski ZE. 1976. The gel-forming capacity of fish myofibrillar proteins. *Lebensm-Wiss-Technol* 9:33-35.
- Kawai Y, Hatano M, Zama K. 1987. Effect of heat treatment on the emulsifying properties of carp myosin. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53: 665-671.
- Matsumoto JJ. 1979. Denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. In Proteins at low temperature. Fennema OR, ed, American Chemical Society, Washington, D.C., p 205-226.
- Mastumoto JJ. 1980. Chemical deterioration of muscle proteins during

- frozen storage. In Chemical deterioration of proteins. JR Whitaker, M Fujimaki, ed, American Chemical Society, Washington, D.C., p 95-124.
- Nakai S. 1983. Structure-function relationships of food proteins with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity. *J Agric Food Chem*, 32: 676-683.
- Niki H, Matsuda Y, Suzuki T. 1992. Dried forms of surimi. In Surimi technology, TC Lanier and Lee CM, eds, Marcel Dekker, New York, p 209-242.
- Park JW. 1994. Cryoprotection of muscle proteins by carbohydrates and polyalcohols-a review. *J Aquatic Food Prod Technol* 3: 23-41.
- Park JW, Lanier TC. 1987. Combined effects of phosphate and sugar or polyol on protein stabilization of fish myofibrils. *J Food Sci* 52: 1509-1513.
- Park JW, Lanier TC, Keeton JT, Hamann DD. 1987. Use of cryoprotectants to stabilize functional properties of pre-rigor salted beef during frozen storage. *J Food Sci* 52: 537-542.
- Powrie WD. 1973. Characteristics of food myo-systems and their behavior during freeze-preservation. In Low temperature preservation of foods and living matter. OR Fennema, WD Powrie, EH Marth, eds, Marcel Dekker, New York. p 598
- Sikorski Z, Olley J, Kostuch S. 1976. Protein changes in frozen fish. *Crit Rev Food Sci Nutr* 8: 97.
- Suzuki T. 1981. Fish and krill proteins: processing technology. Applied Science Publishers, London p 260.

제 3 장 산업화를 위한 알칼리 공정의 pilot plant화와 제품 특성

제 1 절 Pilot plant 공정의 설계와 회수한 어육 단백질의 물성 특성

서론

실험실 규모에서 알칼리 처리 공정에 따라 회수한 어육 단백질의 수율 및 조직 특성은 어종에 따라 다소 차이는 있으나, 수세 처리 회수 단백질의 수율에 비하여 5% 이상의 증가와 파괴강도의 증가를 가져온 반면, 변형 값은 다소 낮은 것으로 보고하였다(Park et al., 2003). 그러나 실험실 수준의 결과는 재료 처리 방법의 차이, 제조 공정 규모의 크기, 실험 조건의 설정, 단위 공정에 있어서 대규모 제조 공정과는 다소 차이를 보일 수 있기 때문에 산업화 공정에 그대로 적용하기에는 어려움이 뒤따른다. 따라서 본 연구에서는 실험실 규모의 공정과 산업화 공정의 중간 단계로 pilot 규모로 알칼리 처리 공정에 따라 단백질을 회수하기 위한 최적의 단위 공정을 설계하고 회수한 단백질의 수율, 조직 특성, 색 및 제품의 특성을 측정하고, 시판 수리미 제품과 비교하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 냉동 깡치는 부산시 소재 공동 어시장에서 구입하여 실험실로 운반하고 -20°C 의 동결고 저장하면서 실험에 사용하였다. 냉동 깡치 20 Kg을 수도수에서 하룻밤 해동 시킨 후 두부와 내장을 제거하고 수도수로 2회 헹군 다음 단백질 회수를 위한 시료로 사용하였다. 깡치의 수분 함량은 76.8%, 조단백질 함량은 18.2%이었다.

회수 단백질의 제조

두부와 내장을 제거하고 수도수에서 2회 행균 어체를 meat grinder(Model M-12S, Fufee Korea, Hwaseong, Korea)에서 2회 마쇄하고, 마쇄육에 9배량의 수도수를 첨가한 후 산업용 호모게나이저로 3000 rpm에서 5분 동안 균질화하였다. 균질화한 육에 6 N NaOH 용액을 첨가하여 pH 11.0으로 조절하고 연속식 원심분리기로 7500 rpm에서 원심분리하여 용해한 어육 단백질을 회수하였다. 회수 단백질에 약 6 N 의 HCl 용액을 첨가하여 pH 5.5로 조절하여 용해한 어육 단백질을 침전시킨 후 30분 동안 실온에서 방치하여 7500 rpm에서 연속 원심분리하여 침전 단백질을 회수하였다. 회수한 침전 단백질에 냉동변성 방지제(5% sorbitol, 4% sucrose, 0.3% polyphosphate)를 첨가하여 -20℃의 동결고 보관하면서 물성 측정 및 제품 제조를 위한 시료로 사용하였다.

수분, 조단백질 및 수율의 측정

수분 함량은 적외선 수분 측정기(FD-600, Kett Electric Laboratory, Tokyo, Japan)로 측정하였고, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl(AOAC, 1999)법으로 측정하였다. 수율은 처리 단계 별로 회수한 단백질의 고형물 함량을 중량비로 표시하였다.

용해도와 단백질 농도의 측정

pH 조절제의 농도에 따른 단백질의 용해도를 측정하기 위하여 마쇄육 3 g에 6배량에 해당하는 18 mL의 pH 조절제를 첨가하고 호모게나이저로 8000 rpm에서 20초 동안 균질화하여 용액의 pH를 측정한 다음 원심분리(2451xg, 10분)하였다. 원심분리하여 얻은 상층액의 단백질 농도는 Biuret 방법(Umemoto, 1966)에 따라 측정하였으며, bovine serum albumin으로 작성한 표준 곡선에 따라 단백질 농도를 계산하였다.

가열 젤의 조제

Pilot plant로 회수한 어육 단백질에 얼음물과 염을 고르게 살포하고 Stephan cutter/mixer(Model UMC 5, Universal Machine Inc, Hameln, Germany)로 저속에서 2분, 고속에서 3분 혼합하였다. 혼합물을 비닐 백에 넣어 진공포장기(Food Saver Ultra, Tilia International Inc, China)로 기포를 제거하고 소세지 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., New York, NY, USA)를 사용하여 비닐 tube(1.9 x 20 cm)에 충전한 후 90°C의 수조에서 15분 동안 가열하고, 15분 동안 0°C의 얼음물에서 충분히 냉각하여 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였다. 물성 측정 전에 충전물의 온도가 실온에 도달하도록 1시간 이상 방치하였다.

조직과 색의 측정

Okada의 방법(1964)에 따라 실린더 형의 시료(1.9 x 2.0 cm)위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 rheometer(Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴강도(g)와 변형 값(mm)을 측정하였다. 젤의 표면 CIE Lab color는 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색차계는 표준 색 plate($L^*=96.83$, $a^*=-0.36$, $b^*=0.62$)로 표준화하였으며, 백색도는 L^*-3b^* 로 계산하였다(Park, 1995).

보수력 측정

보수력 측정을 위하여 Kocher and Foegeding(1993)의 방법에 따라 시료를 보관할 수 있는 0.20 um nylon filter와 유리된 물을 모을 수 있는 1.5 mL의 micro-centrifuge 여과 tube를 사용하였다. 가열 젤을 잘게 잘라서 약 0.5 g을 정확하게 달아 여과막을 가진 내부의 tube에 넣고 Eppendorf

원심분리기로 10000 rpm(2500x g)에서 10분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후 유리된 물의 양을 측정하여 다음과 같은 식에 따라 보수력을 측정하였다.

보수력=(시료 중 전체 수분함량, g - 유리된 수분, g)/시료 중 전체 단백질, g

잔여 지질 함량의 측정

알칼리 처리 공정에 따라 pH 10.5로 조절된 용해 단백질에 1, 5, 10 및 20 mM이 되도록 CaCl₂를 첨가하여 잘 혼합한 후 원심관에 20 mL를 분취하고 원심분리(2500xg, 5000xg, 7500xg, 10000xg)하였다. 원심분리 후 상층액에 있는 지방을 여과지에(Toyo No. 2)에 모으고 105°C에서 12시간 건조하여 지방의 중량을 측정하였다.

결과 및 고찰

회수 단백질의 수율

깡치 1.031 kg을 사용하여 두부와 내장을 제거한 후 2회 세척한 처리어의 수분 함량을 포함한 어체의 중량은 500 g에 해당하여 47.55%가 회수되었다. 이때 원료어의 수분 함량은 77.2%로서 고형분의 중량은 239.86 g이었고, 알칼리 처리 공정을 통하여 최종적으로 회수한 단백질의 중량은 220 g에 수분함량 73.9%로서 고형물의 중량은 57.42 g로 수율은 원료어의 23.9%에 해당하였다. 회수 단백질 중량의 9.3%에 해당하는 냉동변성방지제를 첨가한 후 중량은 5.34 g이 증가하여 총 중량은 62.8 g에 해당하였다. 중량으로 계산한 원료어에 대한 수율은 26.2%에 해당한다. 그러나 불 가식부인 두부와 내장을 제거한 처리어에 대한 수율은 55.1%에 해당하였다. 이 같은 회수율은 실험실 규모에서 육과 수세수의 비율을 1:3로 하여 3회 수

세한 후 회수한 어육 단백질의 회수율인 25%와 백조기 알칼리 처리 회수 단백질의 수율인 32%에 비하여(Park et al., 2003) 현저히 높았다. 연속식 원심분리를 이용한 알칼리 회수 단백질의 수율이 증가한 것은 top형 원심분리기와 연속식 원심분리기의 원심력 차이에 기인하는 것으로 추정된다. 원심분리기의 원심력과 관련하여 같은 회전력일지라도 연속식 원심분리기의 원심력이 높다고 보고하였다(Ladisch, 2001).

균질화 속도와 시간의 영향

산업용 호모게나이저의 균질화 속도에 따른 단백질 용해 정도를 측정하기 위해, 100 g의 처리어에 900 mL를 수도수를 첨가한 후 산업용 호모게나이저의 속도 조절기를 5, 6, 7, 8, 9로 조정하여 균질화하고 균질물을 원심분리한 후, 상층액의 단백질 농도를 측정하였다. 상층액의 단백질 농도는 set 9에서 가장 높았으나, set 5에서 9까지 유의적인 차이는 보이지 않았다 (Fig. 1).

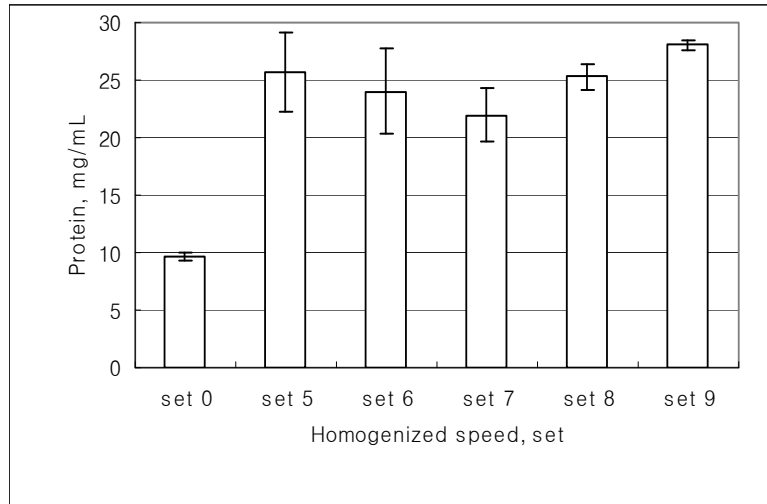


Fig.1. Effect of homogenized speed on solubilities of minced muscle.

균질화 속도를 set 9로 고정하고 균질화 시간에 따라 추출되는 단백질의 양을 측정한 결과(Fig. 2), 5 분 동안 균질화 했을 때 가장 단백질 농도가 높은 것으로 나타났으며, 20 분 동안 균질화 했을 때는 균질화하는 동안 발생하는 열로 인하여 타는 냄새가 확인되었다. Park et al. (2003b)은 백조기를 pH 10.5, 9500 rpm에서 균질화 했을 때 균질화 속도에 따른 차이는 유의적인 차이를 보이지 않는다고 보고하여 본 연구의 결과와 같았다.

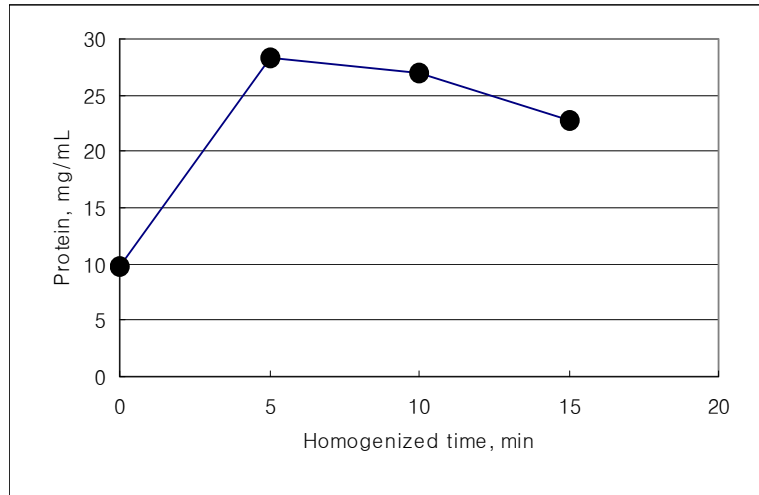


Fig. 2. Effect of homogenized time on solubilities of minced muscle.

연속원심분리 속도의 영향

단백질 회수에 미치는 연속 원심분리기의 회전 속도의 영향을 측정한 결과, pH 11.0에서 용해한 단백질을 2000, 4000, 6000 및 8000 rpm에서 원심분리하고 얻은 상층액의 단백질 농도는 4000 rpm 이상의 속도에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으며, pH 5.5에서 침전한 후 상층액의 단백질 농도를 측정한 결과, 2000 rpm이상에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3).

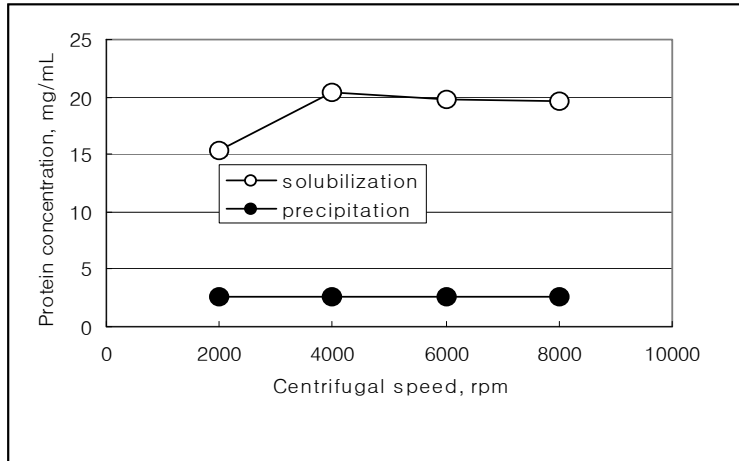


Fig. 3. Centrifugal force for recovery of solubilized and precipitated protein.

이 같은 실험의 결과는 용해한 단백질의 회수를 위해서는 4000 rpm 이상, pH 5.5에서 침전한 단백질의 회수는 2000 rpm 이상의 회전수에서 가능함을 제시하는 것이다. 그러나 본 연구에서는 용해 및 침전 단백질의 회수를 위하여 7000 rpm을 사용하였다.

회수 단백질의 조직과 색

Pilot plant 공정으로 회수한 어육 단백질의 파괴강도는 수분 함량 78% 일 때 224.4 ± 5.1 g에 해당하여 3회 수세하여 회수한 백조기 어육 단백질 가열 젤의 92.4 ± 5.6 g에 비하여 2배 이상 높았다. 그러나 2%의 염을 첨가한 경우 파괴강도는 113.8 ± 4.9 g로서 염을 첨가하지 않을 때의 1/2에 해당하였다. 이 같은 결과는 알칼리 처리하여 회수한 어육 단백질 가열 젤의 파괴강도는 염을 첨가했을 때 감소하였다는 보고(Park et al., 2003a)와 일치하였다. 2%의 염, 4%의 감자전분 및 5% bovine plasma protein을 첨가한 가열 젤의 파괴강도는 179.4 ± 5.7 g로서 회수 단백질만을 사용한 가열 젤

에 비하여 낮게 나타났다. 이 같은 결과는 첨가한 총 9%의 전분과 bovine plasma protein에 해당하는 양 만큼의 회수 단백질 함량이 감소하였기 때문이다.

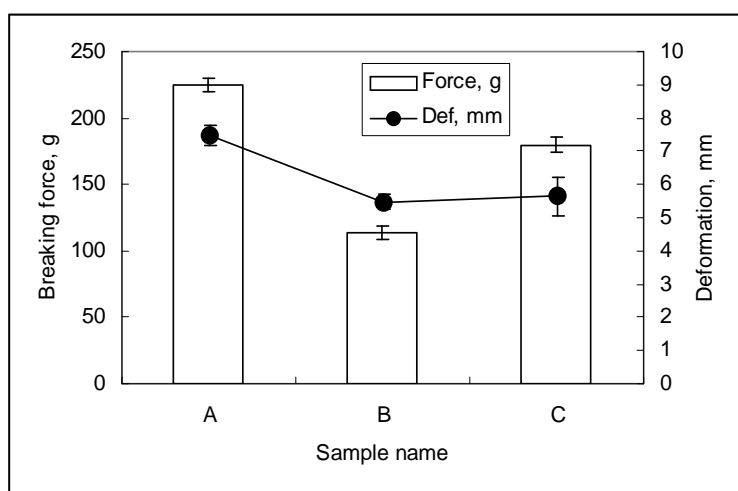


Fig. 4. Breaking force of heat-induced gel of recovered protein from small croaker. A, only recovered protein; B, addititon of 2% NaCl; C, addition of 2% NaCl, 4% potato starch and 5% bovine plasma protein.

가열 젤의 명도와 백색도는 염과 전분 및 bovine plasma protein을 첨가했을 때 증가하는 것으로 나타났으며, 염만을 첨가했을 때와 염, 전분 및 bovine plasma protein을 첨가하여 제조한 가열 젤의 명도와 백색도는 유의적인 차이가 없었다. 이 같은 결과는 염은 빛의 산란을 증가시키고, 전분 자체의 백색이 회수 단백질의 황색도를 감소시키기 때문인 것으로 추정된다. 수리미-전분 젤의 색은 전분의 농도 뿐 아니라 전분의 특성에 의존한다. 전분 입자가 젤에서 완전히 팽윤되지 않으면 젤은 더욱 불투명하게 되어 높은 명도와 황색도를 보이며, 전분 입자가 젤에서 완전히 팽윤되면 젤

은 투명하게 되어 명도가 낮아지고 다소 푸른색이 되어 황색도를 낮춘다 (Park, 2000).

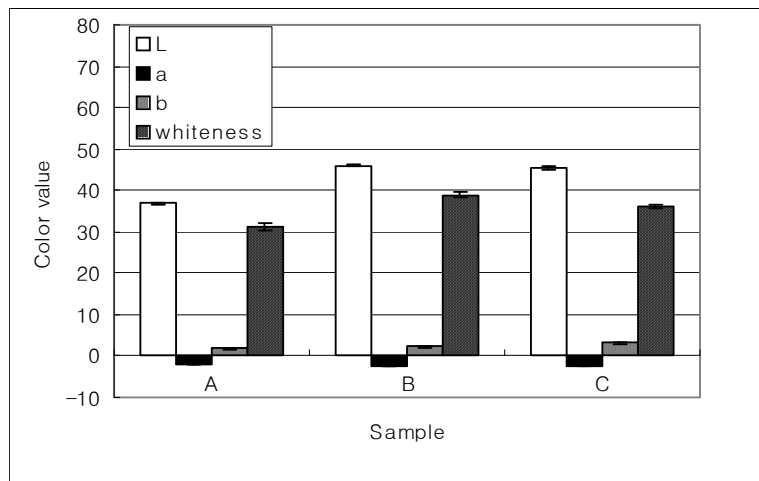


Fig. 5. Color of heat-induced gel of recovered protein from small croaker. A, only recovered protein; B, addititon of 2% NaCl; C, addition of 2% NaCl, 4% potato starch and 5% bovine plasma protein.

젤의 보수력

가열 젤의 보수력은 1.93 g/g-protein으로서 제품 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 6). 이 같은 결과는 첨가한 전분과 bovine plasma 단백질이 보수력의 증강에 영향을 미치지 않았음을 뜻한다. 이 같은 결과는 유리되는 수분의 함량을 시료 중에 포함된 단백질의 함량으로 나누었기 때문으로 추정된다. 즉 4%의 전분을 첨가한 경우는 상대적으로 4%의 단백질 함량이 줄었기 때문에 전분의 팽윤을 위해 흡수한 수분의 함량 증가를 상쇄했을 가능성이 있다. 전분은 수분 함량의 감소에 따른 젤 강도를

유지하거나 냉장 혹은 동결 제품의 저장 안정성을 보장하기 위해 사용한다 (Park, 2002).

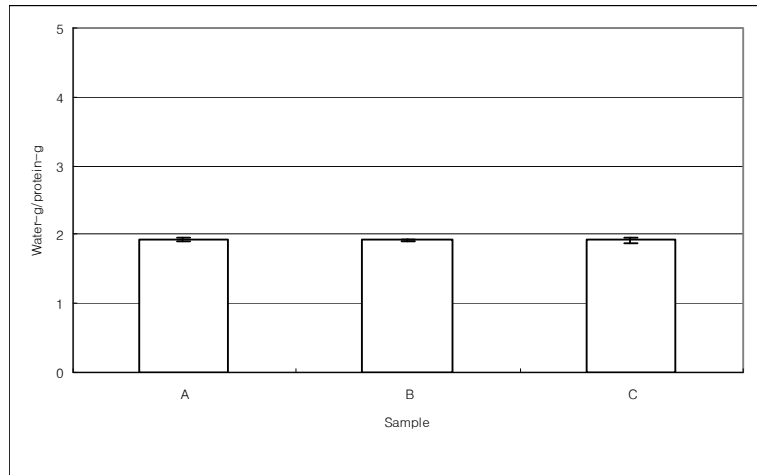


Fig. 6. Water-holding capacities of products, The abbreviations were the same as Fig. 5.

pH 조절제의 영향

식품급 HCl과 NaOH를 대체할 수 있는 pH 조절제를 조사할 목적으로 citric acid, sodium phosphate 및 calcium oxide를 농도별로 첨가하여 단백질의 용해도에 미치는 영향을 검토하였다. Citric acid는 5 mM 첨가 시 pH 5.56에서 첨가 농도가 증가함에 따라 pH는 감소하여 100 mM에서 pH 3.03를 나타내었고, sodium phosphate와 calcium oxide는 농도가 증가함에 따라 pH는 증가하여 50 mM 농도에서 pH 값은 각각 11.45와 10.07이었다 (Fig. 7).

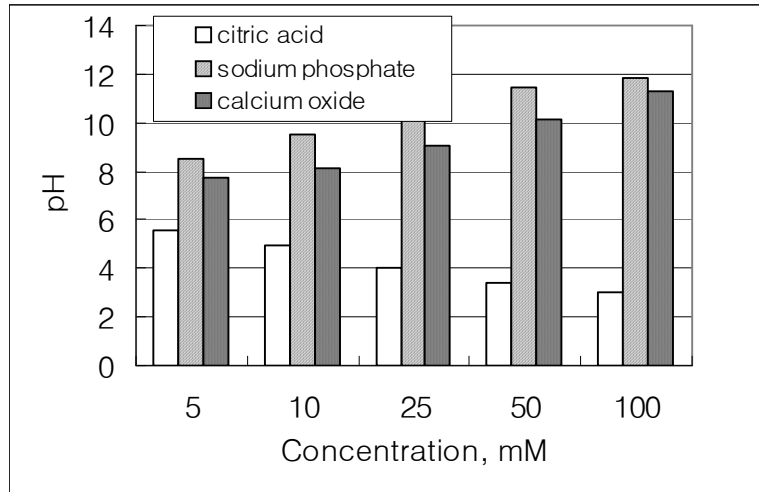


Fig. 7. pH of citric acid, sodium phosphate and calcium oxide with minced muscle.

Citric acid는 첨가 농도가 증가함에 따라 단백질의 용해도도 증가하여 100 mM에서 단백질 농도는 15.47 mg/mL이었다. Sodium phosphate 역시 농도가 증가함에 따라 단백질 용해도가 증가하는 것으로 나타났으나, 25 mM에서 단백질 용해도가 갑자기 증가하여 이후에는 첨가농도가 증가할 수록 오히려 감소하는 경향을 나타내고 있었다(Fig. 8). 이 같은 결과는 sodium phosphate 농도가 증가함에 따라 이온강도도 증가하기 때문인 것으로 추정된다. Park (2003a)는 알칼리 pH에서 단백질이 용해할 때 이온강도의 증가는 단백질의 용해도를 오히려 감소시킨다고 보고하였다.

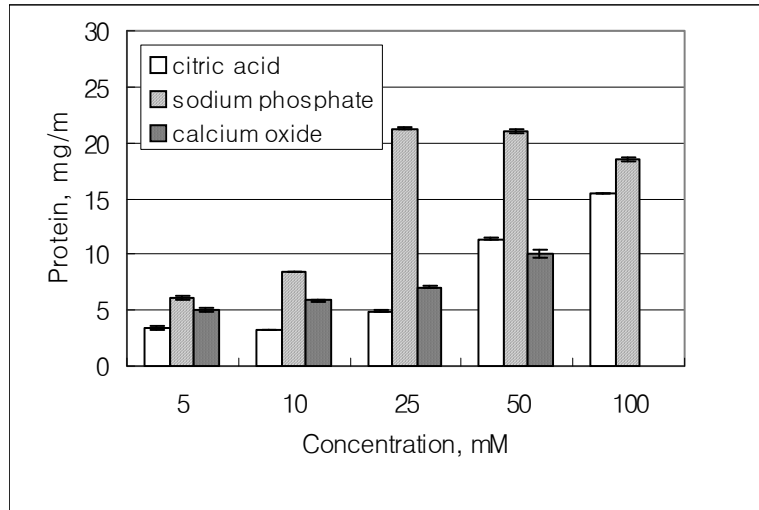


Fig. 8. Protein solubility of minced muscle in citric acid, sodium phosphate(tribasic) and calcium oxide.

Calcium oxide 역시 첨가 농도가 증가함에 따라 단백질의 용해도도 증가하였으나, 100 mM 첨가 시 단백질이 침전하는 현상을 보였다. Citric acid와 sodium phosphate(tribasic)는 각각 식품 급 HCl과 NaOH를 대체할 수 있지만, 잔여 citric acid는 관능적인 냄새에 큰 영향을 미쳤으며, sodium phosphate는 가열 젤 1 g 당 약 0.09 g이 잔존하는 것으로 나타나 식품 위생법상의 허용 기준인 0.9%는 만족시키지만 허용 기준과 거의 일치함으로써 허용 기준을 초과할 가능성이 매우 큰 것으로 나타났다.

Citric acid와 인산염을 pH 조절제로 사용하여 알칼리 처리 공정에 따라 회수한 어육 단백질의 가열 젤(2.0 x 2.0 cm) 물성을 측정한 결과, 파괴강도 값과 변형 값은 수분 함량 78%에서 각각 30 ± 4 g과 3.48 ± 0.31 로서 젤의 특성을 갖지 못하는 것으로 나타났다.

잔여 지질 함량에 미치는 CaCl₂의 영향

회수 단백질에 포함된 지질은 젤 형성능을 감소시키기 때문에 용해 단백질을 회수하는 중에 제거하는 것이 좋다. 따라서 알칼리 pH에서 단백질을 용해하는 단계에서 CaCl₂를 첨가하여 상층액에 부유하는 지질의 함량을 측정한 결과, 5 mM이 되게 CaCl₂를 첨가함으로써 육중에 포함된 상당량의 지질을 부유시켜 제거할 수 있었다(Fig. 9).

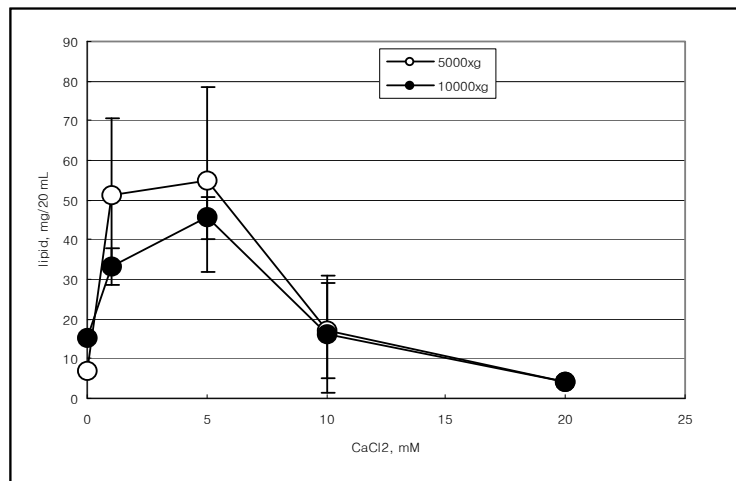


Fig. 9. Effect of CaCl₂ on separation of fish muscle.

폐수의 고형분, 총질소 함량 및 화학적 산소요구량

알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정 중 pH 5.5에서 어육 단백질을 침전한 후 배출되는 폐수의 고형분, 총질소 함량 및 화학적 산소 요구량을 측정하여 일반적인 수리미 제조 중에 유출되는 폐수와 비교하였다 (Table 1).

Table 1. Solid, total nitrogen (total -N) and chemical oxygen demand(COD) of waste water from alkali-treated pilot plant

Processing	Solid (g/L)	Total nitrogen (mg/L)	COD (mg/L)
Pilot processing	1.12±0.06	470±20	12.06±0.00
Conventional processing ¹⁾	0.15±0.01	999±318	1897.3±16.2

1) Conventional processing was performed in laboratory scale.

실험실 규모로 상법에 따라 제조한 수세수의 고형분 함량은 pilot 규모에 비하여 1/10 정도 낮았지만, 질소 함량과 화학적 산소요구량은 각각 약 2배와 150배로서 알칼리 공정이 수세 공정에 비하여 폐수 저감 효과가 월등히 우수함을 확인하였다. 수산가공 폐수의 주성분은 합질소 화합물이며, 명태 처리 폐수의 COD, 고형물 함량 및 총 질소함량은 각각 3699 ppm, 96 ppm 및 720 ppm이며, 명태 어체 세정폐수의 COD, 고형분 및 총 질소함량은 각각 4360 ppm, 325 ppm 및 920 ppm이라고 보고하였다(박 등, 1995). 냉동 연육 혹은 어육 연제품 제조업에서 배출하는 폐수의 BOD 값은 냉동 연육 제조업이 가장 많은 1000-7000 ppm이고, 선어와 냉동 연육을 사용하는 어육 연제품 제조업체는 100-5000 ppm의 폐수를 방출하여 어체의 세정, 수세 및 탈수 과정 중에 다량의 농후한 폐수가 방출되는 것을 알 수 있다(박 등, 2000). 이 같은 보고와 직접적인 비교는 다소 어려우나 알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정은 수세 공정에 비하여 폐수의 오염 부하량을 현저히 감소시킬 수 있을 것으로 판단된다.

요약

알칼리 공정을 이용하여 산업적 규모로 어육을 회수하기 위해, 두부와 내장을 제거한 어체를 수도수로 세척하고 meat grinder로 2회 마쇄하여 9배량의 수도수를 가하고 대형 호모게나이저로 3000 rpm에서 5분 동안 조직을 분쇄한 후 알칼리 용액으로 pH 11.0로 조절하였다. 용해 단백질을 연속식 원심분리기로 7500 rpm에서 원심분리하여 용해 단백질을 회수하고 이를 pH 5.5로 조절하여 침전단백질을 7500 rpm의 연속식 원심분리기로 회수하였다. Pilot plant 공정으로 회수한 어육 단백질의 회수율은 고형분 함량으로 계산했을 때 전어체와 마쇄육에 대하여 각각 26.2%와 55.1%이었으며, 질소 회수율은 각각 23.9% 및 47.5%였다. 가열 젤의 파괴강도와 변형 값은 수분함량 78%에서 각각 224.4 g과 7.46 mm였으며, 2%의 염을 첨가했을 때 파괴강도는 약 1/2로 감소하였고, 4%의 감자전분과 5%의 소혈청 단백질을 포함한 경우 파괴강도와 변형 값은 179.4 g과 5.64 mm로서 염을 첨가한 경우를 제외하고 Pacific whiting FA급 수리미의 2% 염 첨가 가열 젤에 비하여 우수하였다. 그리고 백색도와 보수력은 회수 단백질, 염 첨가, 전분 및 소혈청 단백질 첨가 가열 젤 사이에 유의적인 차이는 보이지 않았다. pH 조절제로서 citric acid, sodium phosphate 및 calcium oxide는 pH 조절 효과는 있었으나, 회수단백질의 가열 젤 물성을 만족시키지 못하기 때문에 식품 급 HCl과 NaOH를 대체할 수 없는 것으로 나타났다. 알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정은 수세 공정에 비하여 폐수의 오염 부하량을 현저히 감소시킬 수 있다.

참고문헌

AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Washington, D.C., Association of Official Analytical Chemist. p 937.

- Kocher PN, Foegeding EA. Microcentrifuge-based method for measuring water-holding of protein gels. *J Food Sci* 58: 1040-1046.
- Ladisch MR. 2001. Sedimentation, centrifugation, and filtration. In *Bioseparations engineering: Principles, practice, and economics*. MR Ladisch, ed, Wiley-Interscience, New York, p 16-51.
- Park JW. 1995. Surimi gel colors as affected by moisture content and physical conditions. *J Food Sci* 60: 15-18.
- Park JW. 2000. Ingredient technology and formulation development. In *Surimi and surimi seafood*. JW Park, ed, Marcel Dekker, New York, p 343-391.
- Park JD, Yoon S-S, Jung CH, Cho MS, Choi YJ. 2003a. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from fish muscle surimi prepared by acid and alkaline processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 567-573.
- Park JD, Jung CH, Kim J-S, Cho DM, Cho MS, Choi YJ. 2003a. Surimi processing using acid and alkali solubilization of fish muscle protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 32: 400-405.
- Umemoto. 1996. A modified methods for estimation fish muscle protein by Biuret method. *Nippon Suisan Gakkaishi* 32: 427-435.
- 박영호, 장동석, 김선봉. 1995. 수산가공이용학. 형설출판사. 서울 p 1043-1053
- 박희열, 조영제, 오광수, 구재근, 이남걸. 2000. 응용수산가공학. 수협문화사. 서울, p 366-381.

제 2 절 회수단백질의 백색도 개선을 위한 탈색 공정

서론

수리미의 등급은 수분, 협잡물의 혼입 정도, 가열 시 파괴강도와 변형 값의 크기뿐만 아니라 백색도에 의해 결정되기 때문에(Lanier, 1992), 최종 수리미의 색은 아주 중요하다. 혈합육의 비율이 낮은 백색육 어류인 참돔의 myoglobin과 hemoglobin의 합은 6 mg/100g인데 반하여 고등어 혈합육은 890-980 mg/100g로서 현저히 높고(변과 전, 1994), 수리미 제조 과정에서 수세 공정에 의해 완전히 제거되지 않기 때문에 혈합육을 다량 함유한 적색육 어류로 만든 수리미 제품의 백색도는 백색육 어류로 만든 수리미의 백색도에 비하여 현저히 떨어진다(Shimizu et al., 1992). 어류 myoglobin의 등전점은 동물의 종에 따라 차이가 있지만 고등어 5.9, 정어리 5.8, 눈다랑어 6.8로 대부분이 산성 쪽이다(변과 전, 1994).

최근 알칼리 용액에서 마쇄 어육을 용해하고, 어육 단백질의 용해도가 가장 낮은 pH 5.0-5.5에서 용해단백질을 회수하는 새로운 어육 단백질 회수 공정이 소개되었다(Choi et al., 2002; Park et al., 2003a). 이 공정으로 회수한 단백질은 어종에 따라 다소 차이는 있으나, 가열 젤의 물성 값은 수세 수리미와 비교하여 손색이 없을 뿐 만 아니라 회수 단백질의 수율을 획기적으로 개선하였고, 염을 첨가하지 않아도 가열 젤을 형성하는 특성을 보였다(Park et al., 2003a; Park et al., 2003b). 그러나 이 공정은 어육에 있는 myoglobin과 hemoglobin이 알칼리 처리 과정에서 어육 단백질과 같이 용해하고, pH 5.0-5.5로 조절하여 회수하는 과정에서 어육 단백질과 같이 침전하여 회수된다. 따라서 이 공정으로 회수한 단백질의 백색도는 수세 수리미 제조 공정으로 회수한 단백질에 비하여 낮은 단점을 지니고 있기 때문에(Choi et al., 2003) 다양한 식품에 첨가하기 위해서는 백색도를

개선할 필요가 있다.

수세 수리미 공정을 적용하는 경우 수세 횟수, 수세 시간 및 수량을 증가시켜 색을 개선하거나(Lin and Park, 1997; Park et al. 1997), 알칼리 수세와 오존 처리(Chen et al., 1997; Jiang et al., 1998) 및 air-flotation 수세(Chen, 2002)를 통해 탈색을 시도하였다. 그러나 알칼리 처리에 의한 단백질 회수 공정은 원심분리 단계를 포함하고 있기 때문에 단백질 용해 시에 첨가하는 물의 양을 무제한으로 사용할 수 없고 용해 횟수를 증가시키기가 어렵기 때문에 탈색을 위한 공정의 개선이 극히 제한적이다.

본 연구에서는 알칼리 용해 전과 후에 공기를 주입하여 회수한 단백질의 탈색 정도를 비교하였다.

재료 및 방법

재료

냉동 깡치는 부산공동 어시장에서 구입하여 실험실로 운반하고 수도수에서 하룻밤 해동시킨 후 두부, 내장 및 꼬리지느러미를 제거하고 meat grinder에서 뼈째로 마쇄한 육에 10%의 sorbitol을 냉동변성 방지제로 첨가하여 -20℃의 동결고 보관하면서 시료로 사용하였다.

탈색 공정

약 50g의 시료에 9배량의 증류수를 첨가한 후 Ultra Trrux(IKA T25 basic, IKA Works Inc, Wilmington, NC)로 8000 rpm에서 30초 동안 마쇄하고 1 N NaOH로 pH를 11.0으로 조절하기 전과 후에 air blower로 0, 5, 10, 15, 20 및 30 분 동안 공기를 불어 넣어 부유하는 거품과 과편들을 체에 거른 후 원심분리(10,000 x g, 20분) 하였다. 원심분리 후 회수한 상층액은 1 N HCl로 pH 5.0-5.5로 조절하고 원심분리(10,000 x g, 20분)하여

침전한 단백질을 회수하였다. 회수한 단백질을 1겹의 가아제로 싸서 약간의 물을 짜내고 색차 측정과 myoglobin 추출을 위한 시료로 사용하였다.

수분함량이 색에 미치는 영향을 측정하기 위해 pH 5.0-5.5에서 회수한 단백질을 1 N NaOH를 사용하여 pH 7.0으로 조정하고, 냉동변성방지제(4% sucrose, 5% sorbitol, 0.3% polyphosphate)를 첨가한 회수 단백질에 증류수를 첨가하여 수분함량을 단계별로 증가시킨 후 색차를 측정하였다. 회수 단백질의 수분 함량은 적외선 수분 측정계(FD-600, Kett Electric Laboratory, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, 수율은 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{수율(\%)} = \text{회수 단백질의 고형물 함량/시료어의 고형물 함량} \times 100$$

가열 젤의 조제

Pilot plant로 회수한 어육 단백질에 얼음물과 염을 고르게 살포하고 Stephan cutter/mixer(Model UMC 5, Universal Machine Inc, Hameln, Germany)로 저속에서 2분, 고속에서 3분 혼합하였다. 혼합물을 비닐 백에 넣어 진공포장기(Food Saver Ultra, Tilia International Inc, China)로 기포를 제거하고 소세지 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., New York, NY, USA)를 사용하여 비닐 tube(1.9 x 20 cm)에 충전한 후 90℃의 수조에서 15분 동안 가열하고, 15분 동안 0℃의 얼음물에서 냉각하여 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였다. 물성 측정 전에 충전물의 온도가 실온에 도달하도록 1시간 이상 방치하였다.

색도의 측정

CIE Lab color는 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)으로 측정하였다. 색차계는 표준 plate로 L=96.83, a= -0.36, b=0.62로 표준화

하였으며, 백색도는 L-3b로 계산하였다(Park, 1994).

물성 측정

Okada의 방법(1964)에 따라 실린더 형의 가열 젤(2.0 x 2.0 cm)위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도를 올리면서 rheometer(Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴장도(g)과 변형 값(mm)를 측정하였다.

Myoglobin의 분석

깡치 마쇄육과 회수 단백질의 myoglobin은 Chen의 방법(2002)으로 추출하였다. 즉 시료 5 g에 15 mL의 0.01 M phosphate 완충액(pH 6.3)을 가하고 tissue homogenizer로 8000 rpm에서 20초 동안 마쇄하였다. myoglobin을 추출하기 위해 균질물을 4°C에서 1시간 방치한 후 원심분리(7,000 x g, 30분)하였다. 잔사에 10 mL의 phosphate 완충액을 가하여 같은 방법으로 myoglobin을 추출하고 상층액을 모두 모아 25 mL로 정용하였다. 정용한 용액을 차례로 Whatman No. 44 여과지, 0.20 um의 membrane filter에서 여과하였다. 여액의 흡광도를 분광광도계(Herios)로 525 nm, 572 nm 및 700 nm에서 각각 측정하여 아래의 식에 따라 myoglobin 농도, 잔여 myoglobin 및 met myoglobin의 함량을 계산하였다(Krzywick, 1979).

$$\text{Mb(mg/g)} = (A_{525} - A_{700}) \times 2.303 \times \text{dilution factor}$$

$$\text{RMb(\%)} = (\text{Mb in recovered protein} / \text{Mb in minced muscle}) \times 100$$

$$\text{metMb(\%)} = [1.395 - ((A_{572} - A_{700}) / (A_{525} - A_{700}))] \times 100$$

pH 및 가열 변성

Myoglobin 분석을 위해 제조한 시료 용액 1 mL에 완충액 (pH 2.0,

Clark and Lubs; pH 3.0-7.0, McIlvaine; pH 7.0-8.0, Sorensen; pH 8.0-10.5) 1 mL를 가하여 30분 동안 실온에서 방치한 후, 원심분리(3000xg, 15분)하여 침전물을 제거하고 흡광도를 측정하여 myoglobin의 농도를 계산하였다. myoglobin의 변성에 미치는 온도의 영향은 시료 용액 1 mL를 30-80°C의 온도 구간에서 10°C 간격으로 10분 동안 가열 한 후 즉시 얼음 물에서 냉각하고 원심분리(3,000xg, 15분)하여 침전물을 제거한 다음 흡광도를 측정하여 잔여 myoglobin의 함량을 측정하였다.

결과 및 고찰

Myoglobin에 미치는 pH의 영향

깡치와 고등어 등쪽 육에 포함된 myoglobin의 함량은 각각 1.44 ± 0.01 mg/g-muscle과 2.00 ± 0.03 g/g-muscle로 고등어 육에 다량의 myoglobin이 있었으며, met화율은 각각 79.3 ± 0.9 와 $88.1 \pm 1.2\%$ 로서 고등어 육의 met화가 깡치 육에 비하여 높았다.

Sodium phosphate(pH 6.3)로 추출한 crude myoglobin에 같은 비율의 각 pH에 해당하는 완충액을 첨가하여 30분 동안 방치한 후 원심분리하여 상층액에 남아있는 myoglobin 함량을 측정하였다(Fig. 1). 깡치 육의 myoglobin은 pH 5-6사이에서 검출되지 않았으며, 고등어는 pH 6-7사이에서 검출되지 않았다. 이 같은 결과는 각 육에 있는 myoglobin의 등전점이 이들 pH 구간 내에 있음을 지적한다. 어류 myoglobin의 등전점은 동물의 종에 따라 차이가 있지만 고등어 5.9, 정어리 5.8, 눈다랑어 6.8이라고 보고하였다(변과 전, 1994). Myoglobin의 제거 효율(MRE)에서도 알 수 있듯이(Fig. 2) pH 6.0부근에서 MRE가 가장 낮은 것으로 나타나 깡치와 고등어는 pH 6.0으로 처리함으로써 myoglobin을 쉽게 제거할 수 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 알칼리 처리 후 어육 단백질을 침전시켜 회수하기 위해

서 어육 단백질의 등전점 부근인 pH 5.5 부근에서 처리해야 하기 때문에 어육 단백질 중에 분포하는 myoglobin도 함께 침전되어 회수되어 회수 단백질의 황색도는 주로 myoglobin에 의해 증가하는 것으로 추정된다.

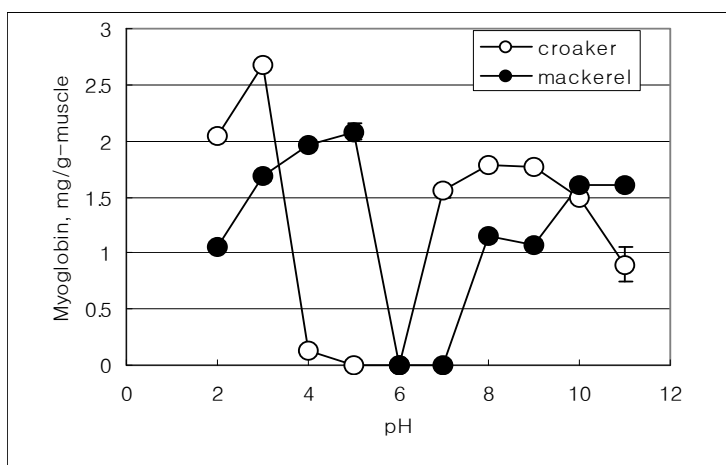


Fig. 1. Myoglobin content after adjusting indicated pH of extracted myoglobin using sodium phosphate buffer pH.

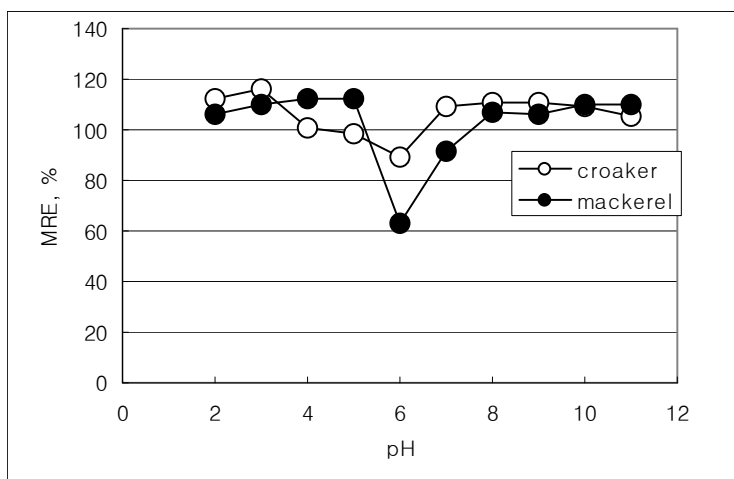


Fig. 2. Myoglobin removing efficiency (MRE%) with pH.

Mb에 미치는 가열 온도의 영향

pH 2와 11에서 myoglobin의 함량은 온도에 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타났으나, pH 5는 60°C, pH 7은 50°C에서 가장 높은 myoglobin 함량을 보이고 있었다. 이 같이 pH 5-7의 범위에서 myoglobin의 함량이 온도의 영향을 받는 것을 분명히 설명할 수는 없었다.

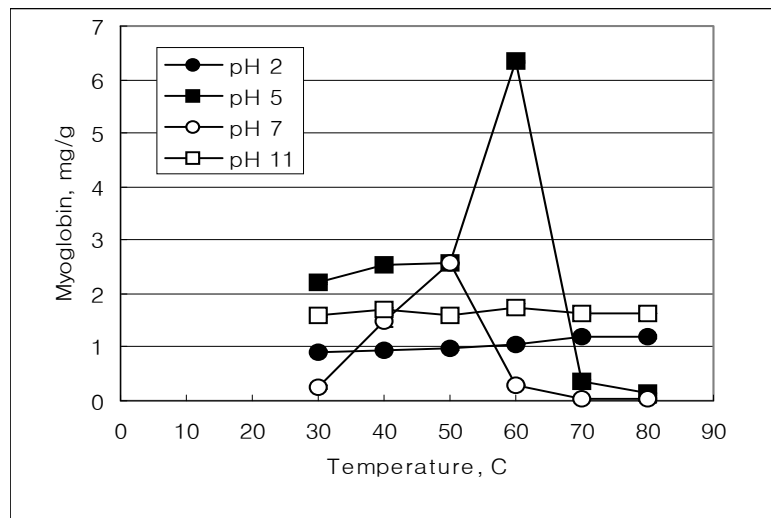


Fig. 3. Effect of heating temperature on mackerel myoglobin in indicated pH.

수율의 변화

마쇄한 깡치 육 50 g에 9배량의 증류수를 가하여 8000 rpm에서 30초 동안 마쇄하고 air-blower로 5, 10, 15, 20 및 30분 동안 공기를 불어넣은 후 기포와 거품에 붙은 물질을 체로 거르고 알칼리 처리 공정을 통해 회수한 단백질의 수율은 13.4-20.0%였으며, 알칼리 처리 후 공기를 불어넣은 다음 단계별 공정에 따라 회수한 단백질의 수율은 17.2-29.5%로서 알칼리 처리 전에 공기를 불어 넣는 공정에 비하여 높은 수율을 보였다(Fig. 4). 이 같

은 수율은 깡치의 알칼리 처리 회수 단백질의 수율인 21.3-23.9%와 비교할 때 상당히 폭 넓은 수율의 분포를 보였다. Park et al. (2003)이 빙장 전갱이, 냉동 부세, 냉동 백조기의 알칼리 처리 회수단백질의 수율은 31, 30 및 33%였다고 보고한 것에 비추어 깡치의 수율은 다소 낮은 편으로 이 같은 결과는 깡치 회수 단백질 제조 시에는 뼈를 포함하고 있기 때문에 고형물의 함량에 영향을 미쳐 수율이 다소 낮게 계산된 것으로 추정된다.

공기를 불어 넣는 단계 (pH 처리 전후)에 관계없이 공기를 불어넣는 시간이 경과함에 따라 수율은 다소 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 기포 생성에 따른 부유 물질의 증가에도 불구하고 수율이 증가하는 현상에 대하여 분명히 설명할 수 없었다.

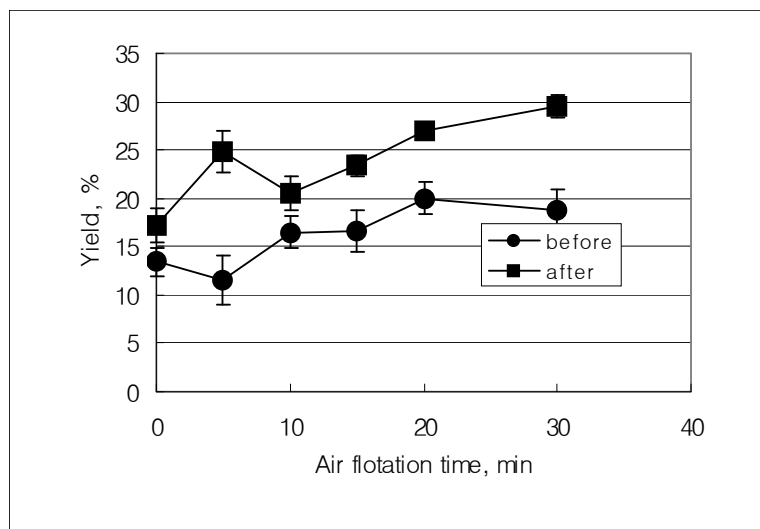


Fig. 4. Yield of recovered protein from minced croaker with air flotation after before pH adjustment.

수분함량이 색에 미치는 영향

수리미 형 회수 단백질의 CIE 명도 (L^*)값은 회수 단백질의 수분 함량

이 74-84%의 범위 내에서 증가함에 따라 선형적으로 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 5). 일반적으로 시판 수리미의 수분 함량은 75% 내외이며, 가열 젤 제조 시 수리미의 수분 함량이 85%를 상회하면 정상적인 제품을 만들 수 없다. 그리고 회수 단백질의 수분 함량이 증가함에 따라 CIE a* (적색도)와 b*(황색도)는 감소하는 경향을 보였다(Fig. 6). 이 같은 실험 결과는 Park (1995)이 수리미에 첨가한 물의 양, 시료의 크기, 어종, 가열 및 시험 온도와 냉동/해동은 명도와 황색도에 영향을 미치며, 북양 명태와 Pacific whiting 수리미의 수분함량의 증가는 명도를 증가시키는 반면 적색도와 황색도는 감소시킨다는 보고와 일치하였다.

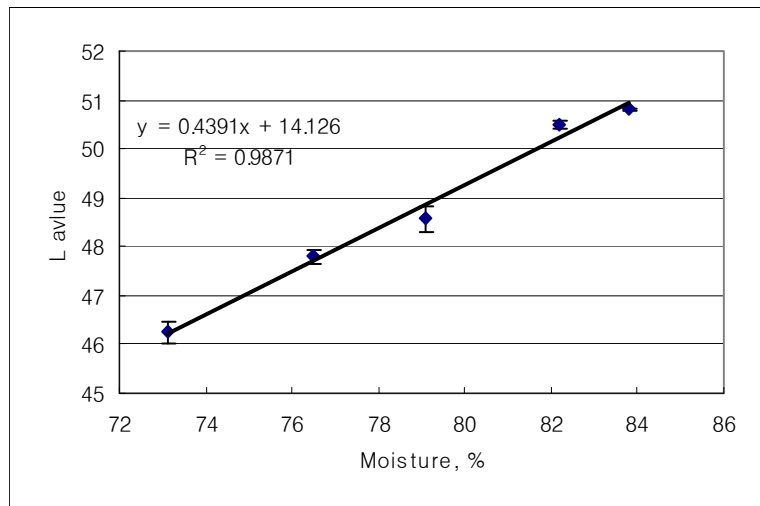


Fig. 5. Effect of moisture content of recovered protein on lightness.

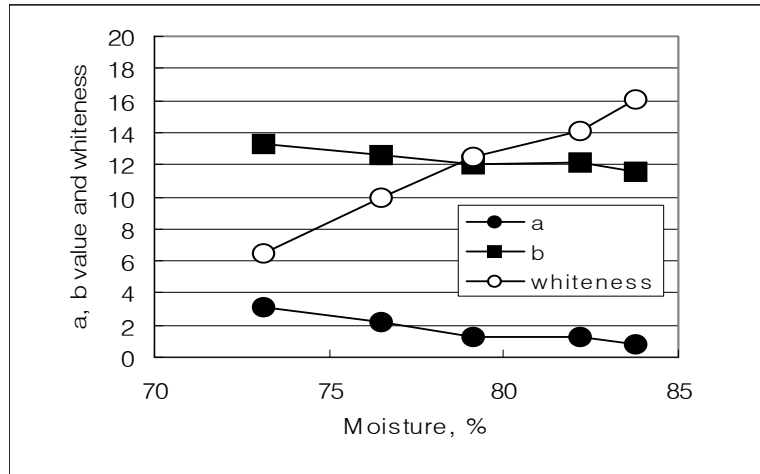


Fig. 6. Effect of moisture content of recovered protein on Lab color(a* and b*) and whiteness

Air flotation이 회수 단백질의 색에 미치는 영향

pH를 11.0으로 조절하기 전에 공기를 불어넣은 경우 회수 단백질의 색은 공기를 불어 넣은 시간에 관계없이 명도 값과 적색도에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, ($p > 0.05$), 황색도는 10분까지 감소하였다가 이후에 다소 증가하는 경향을 보였다(Fig. 7).

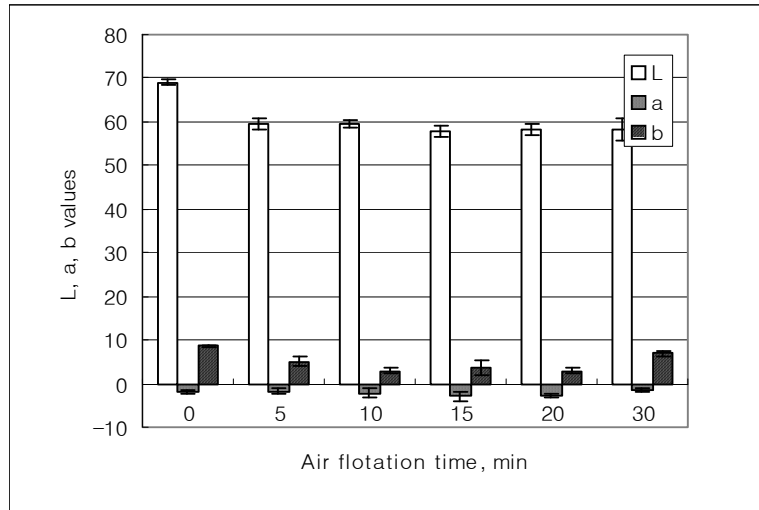


Fig. 7. CIE color (L^* , a^* and b^*) of recovered protein (pH 5.5) from croaker with time of air flotation before adjustment of pH 11.

백색도는 공기의 주입과 더불어 증가하여 10에서 20분까지 약 50에 해당하는 값을 보였으며, 유의적인 차이는 없었다($p < 0.05$, Fig. 8). 이 같은 결과는 백색도는 황색도가 증가함에 따라 현저히 감소함을 뜻한다. Chen(2002)은 찬물과 알칼리 용액으로 수세한 전갱이(horse mackerel)에 남아있는 myoglobin의 함량은 공기 주입하는 수세법에 비하여 높았으며, 분 당 20 L의 공기를 불어 넣은 경우 30분까지 수세 시간이 증가함에 따라 백색도가 증가한다고 보고하였다. 알칼리 처리에 의한 어육 단백질 회수 공정에서도 백색도를 개선하기 위해 공기 주입이 유용한 것으로 예상된다.

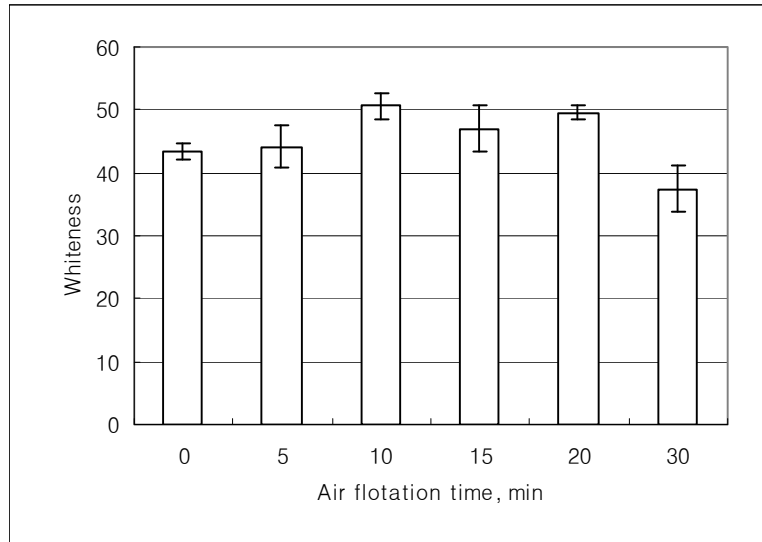


Fig. 8. Whiteness of recovered protein (pH 5.5) from croaker with time of air flotation before adjustment of pH 11.

pH를 조절한 후 공기를 불어 넣은 경우의 명도는 약 50 부근으로서 pH 조절 전에 공기를 불어 넣은 경우에 비하여 10 정도 낮은 값을 보였다 (Fig. 9). 적색도는 공기 주입 시간과 유의적인 차이가 없었으며($p>0.05$), 황색도는 공기주입 5분에 가장 낮았고, 10분에 증가하여 15, 20, 및 30분 사이에 유의적인 차이는 보이지 않았다($p>0.05$). 따라서 백색도는 공기 주입 5분에 가장 높은 값을 보였으며(Fig. 10), 공기 주입 시간이 증가하여도 백색도는 개선되지 않았다.

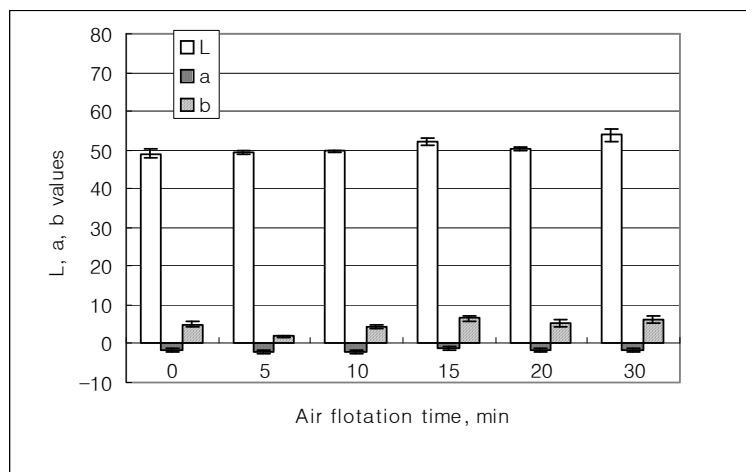


Fig. 9. CIE color (L^* , a^* and b^*) of recovered protein (pH 5.5) from croaker with time of air flotation after adjustment of pH 11.

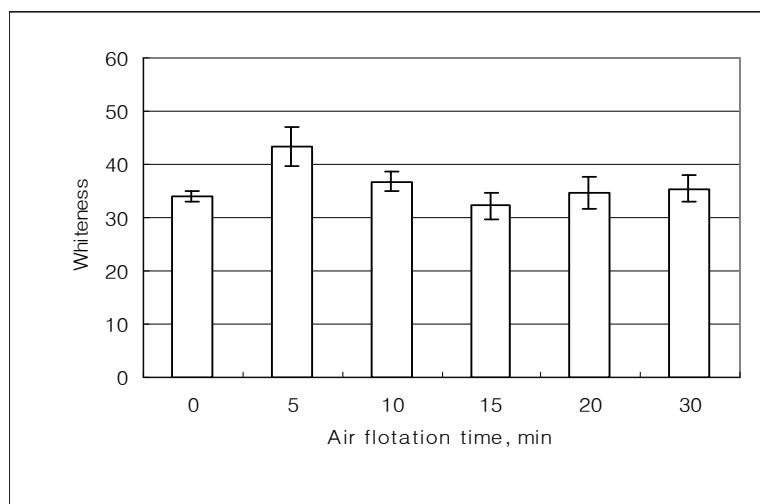


Fig. 10. Whiteness of recovered protein (pH 5.5) from croaker with time of air flotation after adjustment of pH 11.

이 같은 실험의 결과는 회수 단백질의 백색도를 개선하기 위해서 어육을 마쇄하고 pH를 11.0으로 조절하기 전에 공기를 주입하는 방법이 효과적임

을 확인하였다.

가열 젤의 물성

어육 단백질을 용해하기 전후에 20분 동안 공기 부양한 후 알칼리 공정
에 따라 회수한 어육 단백질의 가열 젤의 조직감과 백색도를 측정하였다
(Table 1). 단백질 용해를 위한 pH 조절 전에 공기 부양한 회수 단백질은
pH 조절 후에 공기 부양하여 회수한 단백질의 가열 젤에 비하여 파괴강
도, 변형 및 백색도가 낮은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 단백질 용해
를 위해 pH 11.0으로 조절한 후 공기 부양하는 조작이 필요함을 지적한다.

Table 1. Breaking force, deformation and whiteness of heat-induced of
recovery protein from air-flotation before and after adjustment of pH 11

Air-flotation	Braking force (g)	Deformation (mm)	Wjiteness
Before	86.6±3.2	4.86±0.26	34.3±0.5
After	138.8±7.8	5.26±0.37	36.0±0.7

요약

깡치 육과 고등어 육의 myoglobin 함량은 각각 1.44±0.01 mg/g-muscle
과 2.00±0.03 mg/g-muscle이었고, met화는 각각 79.3%와 88.1%였다. 어육
단백질 용해를 위해 pH 11.0으로 조절 전 공기 부양을 사용한 경우는 pH
조절 후 공기 부양한 경우에 비하여 낮은 수율을 보였으며, 공기 부양 시
간이 증가함에 따라 수율은 증가하였다. pH 11.0 처리 전에 20분 동안 공
기 부양한 회수 단백질의 명도와 황색도 값은 각각 58.22와 2.87로서 pH
11.0 처리 후 20분 동안 공기 부양하여 회수한 단백질의 명도와 황색도 값

인 50.26과 5.21에 비하여 명도 값은 높았고 황색도 값은 낮았다. 10-20분 동안 공기 부양한 것이 가장 높은 백색도 개선 효과를 보였다. 회수 단백질의 수분 함량이 증가함에 따라 명도 값은 증가하고 황색도는 감소하여 결과적으로 백색도를 개선하였다. 알칼리 처리 전에 공기 부양하여 회수한 단백질의 가열 젤은 알칼리 처리 후 공기 부양하여 회수한 어육 단백질의 가열 젤에 비하여 백색도를 개선하였으나, 파괴강도와 변형 값은 떨어지는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Chen HH. 2002. Decoloration and gel-forming ability of horse mackerel mince by air-flotation washing. *J Food Sci*, 67: 2970-2975.
- Chen H-H, Chiu E-M, Huang J-R. 1997. Color and gel-forming properties of horse mackerel (*Trachurus japonicus*) as related to washing conditions. *J Food Sci*, 62: 985-991.
- Choi YJ, Park JD, Kim J-S, Cho Y-J, Park JW. 2002. Rheological properties of heat-induced gels of surimi from acid and alkali process. *J Korean Fish Soc*, 35:309-314.
- Jiang S-T, Ho M-L, Jiang S-H, Lo L, Chen H-C. 1998. Color and quality of mackerel surimi as affected by alkaline washing and ozonation. *J Food Sci*, 63: 652-655.
- Krzywick K. 1979. Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Sci*, 3: 1-10.
- Lanier TC. 1992. Measurement of surimi composition and functional

- properties. In Surimi technology, Lanier TC, Lee CM, eds, Marcel Dekker, Inc., New York, p 123-163.
- Lin TM, Park JW. 1997. Effective washing conditions reduce water usage for surimi processing. *J Aquatic Food Product Technol*, 6: 65-79.
- Park JD, Jung C-H, Cho DM, Cho MS, Choi YJ. 2003a. Surimi processing using acid and alkali solubilization of fish muscle protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 32: 400-405.
- Park JD, Yoon S-S, Jung CH, Cho MS, Choi YJ. 2003b. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from fish muscle surimi prepared by acid and alkaline processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 32: 567-573.
- Park JW. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J Food Sci*, 59: 525-527.
- Park JW. 1995. Surimi gel colors as affected by moisture content and physical conditions. *J Food Sci*, 60: 15-18.
- Park JW. 1997. New developments in manufacturing of surimi and surimi seafood. *Food Rev Int*, 13: 577-610.
- Shimizu Y, Toyohara H, Lanier TC. 1992. Surimi production from fatty and dark-fleshed fish species. In Surimi technology, Lanier TC, Lee CM, eds, Marcel Dekker, Inc., New York, p 181-207.
- 변재형. 전중균. 1994. 수산이용화학, 수학사, 서울, p143-164.

제 3 절 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질의 안전성

서론

식품 단백질의 알칼리 처리 공정은 단백질의 농축물과 단리물의 생산, 섬유 생성과 같은 단백질의 조직화(Anon, 1967), 거품과 같은 특별한 기능적 특성을 가진 단백질의 생산(Aymard 등, 1978)에 적용하고 있다. 식품 단백질의 알칼리 처리는 필수 및 비필수 아미노산의 화학적 수식의 원인이 될 수 있으며(Whitaker and Feeney, 1977), 알칼리 처리는 lysinoalanine(LAL)이라 불리는 가교 연결된 $N\epsilon$ (DL-2-amino-2-carboxyethyl)-L-lysine의 형성을 유도한다(Bohak, 1964). LAL의 형성에 대한 단백질 혹은 단백질 획분의 감수성은 cystine의 함량에 크게 의존하며, 평지씨에서 LAL의 생성은 lysine, cystine 및 threonine의 손실과 상관이 있다고 하였다(Savoie and Parent, 1983). 유리 LAL은 소장에서 흡수되지만 이용할 수 없기 때문에 단백질의 소화능을 감소시키고 필수 아미노산의 유효성을 감소시킨다(Damodaran, 1996). 100 ppm의 순수한 LAL 혹은 3000 ppm의 단백질에 결합한 LAL을 급이한 rat는 nephrocytomegaly를 보이지만(Woodard and Alvarez, 1967; Woodard and Short, 1973) rat와 대사물질의 형태에 차이가 있는 동물에서는 관측되지 않고, 식품에 포함된 수준의 함량과 단백질과 결합한 LAL은 인간에게 nephrotoxicity의 원인이 되지 않는다(Damodaran, 1996). Miller 등(1983)은 pH 10인 어육을 90°C에서 60분 동안 가열하여도 LAL은 검출되지 않으며, pH 12와 13에서 장시간 가열해야 LAL이 검출되기 때문에 수산가공 공정에서 LAL의 형성은 문제가 되지 않는다고 하였다. 그러나 알칼리 공정 중 LAL의 형성을 최소로 할 필요는 있다.

알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정은 pH 10-11의 범위에서

어육 단백질을 용해시키는 단위 공정을 포함하고 있기 때문에 LAL의 생성 가능성이 있으며, 이 같은 공정으로 회수한 어육 단백질을 식품의 중간 소재로 사용할 때 LAL로 인하여 안전성에 관한 논란이 발생할 가능성이 있다.

본 연구는 알칼리 공정으로 회수한 어육 단백질의 안전성을 검토할 목적으로 알칼리 처리 단위 공정에서 어육 단백질의 체류 시간과 최종 회수 단백질의 가열 조리 시간에 따른 LAL의 생성 정도를 아미노산 자동분석기로 측정하였다.

재료 및 방법

재료

냉동 깡치는 부산공동 어시장에서 구입하여 실험실로 운반하고 수도수에서 하룻밤 해동시킨 후 두부, 내장 및 꼬리지느러미를 제거하고 meat grinder에서 뼈째로 마쇄한 육에 10%의 sorbitol을 냉동변성 방지제로 첨가하여 -20℃의 동결고 보관하면서 시료로 사용하였다.

알칼리 및 가열 처리

약 30g의 시료에 9배량의 증류수를 첨가한 후 Ultra Trrux(IKA T25 basic, IKA Works Inc, Wilmington, NC)로 8000 rpm에서 30초 동안 마쇄하고 1 N NaOH로 pH를 11.0으로 조절하여 1, 3, 5, 10 시간 4℃의 저온실에서 방치 한 후, 각각 원심분리(10,000 x g, 20분)하여 회수한 상층액을 1 N HCl로 pH 5.0-5.5로 조절하고 원심분리(10,000 x g, 20분)하여 침전한 단백질을 회수하였다. 회수한 단백질은 0.1 N NaOH로 pH 7.0-7.5로 조정하여 LAL 측정을 위한 시료로 사용하였다. 그리고 가열 처리를 위한 회수 단백질은 알칼리 처리 단계에서 3시간 방치한 후 회수한 단백질을 수리미

젤 가열 표준 방법(Lanier 등, 1991)을 참고하여 90°C에서 15분, 30분, 1시간 및 2 시간 가열한 후 LAL 분석을 위한 시료로 사용하였다.

LAL 분석

알칼리 및 가열 처리한 회수 단백질을 acetone으로 씻고 원심분리(3000 x g, 15분)하는 조작을 2회 반복하여 탈수하고, 60°C의 전기항온기에서 하루 밤 건조하였다. 건조한 시료를 mortar로 잘 마쇄한 다음, 10 mg을 정확히 달아서 시험관(13 x 250 mm)에 넣고 6 N HCl 1 mL를 가하여 탈기하면서 봉한 다음, 110°C에서 24시간 가수분해하였다. 가수분해한 용액을 3G-4 glass filter로 여과하고 60°C에서 감압 농축한 후, 0.01 N HCl로 10 mL로 정용하고 0.20 µm의 membrane filter로 여과하여 20 µL를 아미노산 자동 분석기에 주입하였다. 아미노산 분석은 Biochrom 아미노산 자동분석기(Cambridge, UK)로 수행하였으며, 결과는 회수 단백질 g 당 각 아미노산의 g수로 표시하였다. LAL 정량을 위해 0.2 M Nε-DL-(2-amino-2-carboxyethyl)-L-lysine dihydrochloride(Sigma A1170, approx. 95%)의 표준물질을 동일한 조건으로 아미노산 자동 분석기에 40 µL(8.0 nM 상당량) 주입하여 retention time을 확인하였다. 아미노산의 회수율을 계산하기 위해 아미노산 분석에 사용한 시료의 질소 함량을 semi-micro Kjeldahl법으로 측정하였다.

SDS-polyacrylamide gel 전기영동

알칼리 및 가열 처리한 회수 단백질 1 g에 9 mL의 5% sodium dodecyl sulfate (SDS) 용액을 첨가하여 Bio homogenizer(M 133/1281-0, Biospec products Inc, Bartlesville, OK, USA)로 8000 rpm에서 20초 동안 균질화하고 80°C의 항온조에서 30분 동안 흔들어주면서 가용화시켰다. 용해한 단백

질을 원심분리(3000 x g, 15분)하여 불용성 물질을 제거하고 상층액의 단백질 농도는 Lowry 등의 방법(1951)에 따라 측정하였다. 전기영동을 위한 시료의 최종 단백질 농도는 모두 1.25 mg/mL가 되도록 증류수로 조절한 후, 전기영동 시료 1 mL에 대하여 전기영동용 시료 완충액 0.25 mL를 첨가하여 최종 농도는 1.00 mg/mL이 되도록 하였다. 전기영동은 Laemmli의 방법(1970)에 따라 5%의 농축 젤과 7.5%의 분리 젤에서 실시하였다. 전기영동이 끝난 젤은 Coomassie brilliant R-250 용액에서 하룻밤 염색한 후 methanol:acetic acid:증류수(1:1:8, v/v/v) 용액에서 배경이 깨끗해 질 때까지 탈색하였다. 분자량 측정을 위한 표준단백질은 고분자량 표준 단백질 혼합물(SDS-6H, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA)를 사용하였다.

통계분석

표준편차와 유의성 검정은 JMP program(2002)의 standard least square로 실시하였으며 유의차는 $p < 0.05$ 수준에서 검토하였다.

결과 및 고찰

LAL의 크로마토그램

단백질 가수분해물에 있는 LAL를 검출하기 위해 사용한 외부 LAL의 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. LAL의 peak는 아미노산 정량을 위한 표준물질인 phenylalanine(retention time 44.850 분)과 histidine(retention time, 51.327분) 사이인 retention time 49.243 분에서 검출되었다.

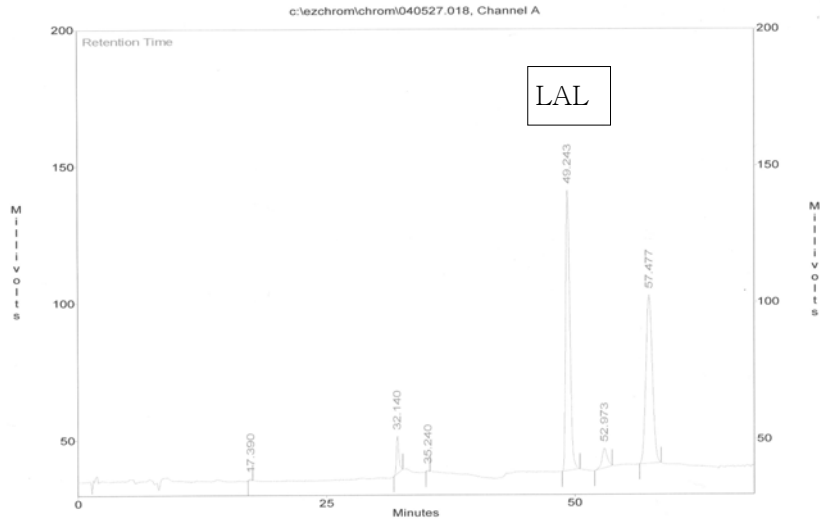


Fig. 1. Chromatogram of lysinoalanine(LAL) standard in auto amino acid analyzer.

구성 아미노산 분석을 위한 18개 아미노산 표준물질의 크로마토그램 상에는 phe과 his 사이에 어떤 peak도 존재하지 않으며, 검출 시간도 상당한 차이를 갖기 때문에 가수분해물에 있는 다른 아미노산의 방해없이 LAL의 정량이 가능하였다. Raymond (1980)는 LAL과 결합한 단백질은 산 가수분해에 의해 유리되어 고압의 cation 교환 칼럼 상에서 sodium citrate 완충액으로 분리하여 ninhydrin 반응을 통해 검출할 수 있기 때문에 식품 단백질에 있는 LAL의 정량은 아미노산 자동 분석기로 가능하다고 하였다. 어육의 LAL 형성에 미치는 가열 및 알칼리 처리 효과를 검토하기 위해 어육을 6 N HCl로 110°C에서 24시간 가수분해하여 아미노산 자동분석기로 측정하였으며(Miller 등, 1983), Svoie and Parent (1983)은 평지씨와 대두 단백질을 0.2% 3-2-aminoethyl indole을 포함하는 4 N methanesulfonic acid로 110°C에서 24시간 가수분해하여 아미노산 자동 분석기로 LAL를 정량하였다. 그리고 LAL은 염산 가수분해에 의해 분해되지 않는다

(Friedman et al., 1981; 1984).

알칼리 공정이 구성단백질과 LAL의 형성에 미치는 영향

백조기와 갯치 육과 알칼리 공정 (Park 등, 2003)으로 회수한 어육 단백질의 LAL 및 아미노산 조성을 아미노산 자동 분석기로 분석하였다(Table 1). 근육과 알칼리 회수 단백질에서 LAL은 검출되지 않았으며, LAL의 형성과 더불어 감소하는 아미노산으로 알려진 threonine, serine, arginine 및 lysine (Miller 등, 1983)의 함량도 근육 단백질과 알칼리 회수 단백질 사이에 거의 차이가 없는 것에 미루어 본 연구에서 사용한 알칼리 처리 공정은 LAL을 생성하지 않는 것으로 추정된다.

Table 1. Amino acid composition of muscle and alkaline recovery protein from white croaker and small croaker

(Unit: g/100g-sample)

Amino acid	Muscle		Recovery protein	
	White croaker	Small croaker	White croaker	Small croaker
Asp	8.96	9.41	11.59	10.14
Thr	4.70	4.43	5.41	4.44
Ser	4.08	4.17	4.64	4.09
Glu	13.61	15.18	17.62	15.26
Pro	0.17	-	0.20	-
Gly	3.28	4.67	3.82	2.63
Ala	5.39	5.46	6.02	3.89
Cys	1.40	1.75	1.50	1.92
Val	5.43	5.44	6.54	5.04
Met	2.46	2.64	3.08	3.38
Ile	4.61	4.18	2.64	4.59

Leu	7.90	7.73	9.11	8.17
Try	4.06	3.22	4.25	3.66
Phe	3.91	3.10	4.02	3.02
His	0.75	0.68	0.89	0.70
Lys	9.44	9.29	10.64	9.48
ammonia	7.14	12.67	9.22	12.83
Arg	3.52	5.43	6.22	8.18
LAL	-	-	-	-
Total	91.93	99.44	107.41	101.43
g/100 g-sample	83.31*	94.19	95.94	90.06
Recovery(%)	110.3	105.6	112.0	112.6

알칼리 처리 시간이 LAL 형성에 미치는 영향

어육 단백질 용해 공정과정에 사용하는 알칼리 (pH 11.0) 처리 시간이 LAL의 형성에 미치는 영향을 측정된 결과 (Table 2), 단백질 용해를 위해 pH 11.0에서 1 시간, 3 시간, 5 시간 및 9 시간 방치한 후 pH 5.5로 가용성 단백질을 침전시켜 회수한 단백질에서 LAL은 검출되지 않았다. 이 같은 결과는 LAL의 생성 조건은 높은 알칼리 조건 뿐 아니라 단백질의 종류와 가열 조건도 크게 영향을 받는 것을 의미한다. 0.1 N NaOH로 처리한 카제인과 대두 단백질의 LAL 형성은 가열 온도가 증가함에 따라 거의 선형으로 증가하는 것으로 나타났으나(Friedman et al., 1981; 1984), 어육을 pH 10.0에서 처리하고 90°C에서 60분 동안 가열했을 때 LAL이 형성되지 않았다는 보고(Miller et al., 1983)에 미루어 LAL의 생성량은 단백질의 종류에 따라 차이를 보이는 것으로 추정된다. Friedman et al(1981)과 Liener (1994)는 LAL의 형성에 영향을 미치는 인자들로 pH, 알칼리 처리 시간과 가열 온도 뿐 아니라 단백질의 종류도 관여한다고 보고하였다.

Table 2. Amino acid composition of recovered protein from small croaker after treating in pH 11 during 1, 2, 5 and 9 hrs

(Unit: g/100 g-sample)

Amino acid	1 hr	3 hr	5 hr	9 hr
Asp	9.99	10.36	9.16	9.48
Thr	4.98	4.88	4.20	4.76
Ser	4.47	4.47	4.04	4.38
Glu	16.19	16.10	14.14	14.88
Pro	-	-	-	0.07
Gly	3.45	3.64	3.07	3.22
Ala	5.55	5.56	4.50	5.04
Cys	1.12	1.10	1.15	0.74
Val	5.45	5.67	4.72	4.96
Met	2.78	2.98	3.13	3.57
Ile	4.93	4.78	3.80	4.40
Leu	8.69	8.47	7.16	7.97
Tyr	4.31	4.12	3.65	3.80
Phe	4.36	4.16	3.55	3.69
His	0.85	0.78	0.64	0.81
Lys	9.55	9.32	7.98	8.69
ammonia	7.14	8.70	14.43	6.56
Arg	6.38	5.66	4.54	6.02
LAL	-	-	-	-
Total	100.21	100.73	93.88	93.03

g/100 g-sample	90.69	89.69	87.63	86.88
Recovery(%)	110.5	112.3	107.1	107.1

가열 처리 시간이 LAL의 형성에 미치는 영향

어육을 용해하기 위하여 pH 11.0으로 어육을 처리한 후, 3시간이 경과한 육으로 회수한 단백질을 95℃에서 시간별로 처리한 후, LAL의 함량 변화를 측정하였다(Table 3).

Table 3. Amino acid composition of recovered protein cooked at 90℃ after treating in pH 11 for 3 hrs

(Unit: g/100 g-sample)

Amino acid	20 min	30 min	45 min	70 min
Asp	9.30	9.41	9.74	9.47
Thr	4.65	4.25	4.43	4.46
Ser	4.23	3.84	4.09	4.26
Glu	14.53	14.52	14.60	15.09
Pro	0.46	-	-	0.07
Gly	31.9	2.95	3.21	3.26
Ala	5.27	4.57	4.89	4.93
Cys	1.19	1.21	0.83	0.87
Val	5.32	5.12	4.84	4.89
Met	3.83	3.21	3.33	3.63
Ile	4.74	4.39	4.19	4.15
Leu	8.26	7.75	7.80	7.75

Tyr	4.13	3.83	3.89	3.44
Phe	4.01	3.53	3.69	3.37
His	0.80	0.74	0.68	0.73
Lys	8.69	8.80	8.53	8.49
ammonia	6.59	8.56	9.45	10.49
Arg	5.88	5.75	5.30	5.11
LAL	-	-	-	-
Total	95.06	92.43	93.52	94.46
g/100 g-sample	85.88	86.56	85.75	84.88
Recovery(%)	110.7	106.8	109.1	111.3

알칼리 및 가열 처리 시간이 회수단백질의 조성에 미치는 영향

가열 시간에 따른 회수 단백질의 분해와 조성의 변화를 SDS-PAGE 상에 나타난 단백질 band의 변화로 추정하였다(Fig. 2). Myosin heavy chain의 양은 알칼리 처리 시간과 가열처리 시간이 증가할수록 감소하는 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 알칼리 처리 후 방치 시간을 최소로 하고, 가열젤 조제시 최소한의 가열 시간을 준수하는 것이 myosin heavy chain의 붕괴를 감소시켜 탄력적인 젤을 형성할 수 있음을 뜻한다.

M Mf Sar 1 3 5 9 20 30 45 70

Fig. 2. SDS-PAGE profile of recovered protein with pH treatment and cooking time. M, wide range marker protein; Mf, myofibrillar protein; Sar, sarcoplasmic protein; 1, 1 hr in pH 11; 3, 3 hr in pH 11; 5, 5 hr in pH 11; 9, 9 hr in pH 11; 20, cooked for 20 min; 30, cooked for 30 min, 45, cooked for 45 min; 70, cooked for 70 min. The capped stainless steel tube (2.0 x 20 cm) stuffed recovery protein was used for cooking.

Undeland et al.(2002)은 산성 조건(pH 2.7)에서 용해한 청어의 단백질 균질물은 저온에서 저장하는 동안 근원섬유 단백질의 붕괴를 보였으나, 알칼리 균질물(pH 10.8)은 가수분해 현상이 거의 나타나지 않았다고 보고하였

다. Kim et al.(2003)은 Pacific whiting 산성 균질물이 알칼리 균질물에 비하여 근원섬유 단백질의 붕괴는 훨씬 컸으나, 알칼리 균질물에서도 근원섬유 단백질의 붕괴가 다소 일어난다고 보고하였다. 본 연구에서는 알칼리 균질물을 상온에서 보관하였기 때문에 Undeland et al.,(2002)의 보고와 다소 차이가 있는 것으로 추정된다.

알칼리 처리 후 가열 처리 순서가 LAL형성에 미치는 영향

알칼리 처리(pH 11.0)로 어육 단백질을 용해한 후 가열 처리 단계가 LAL의 생성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 pH 5.0으로 침전하여 어육 단백질을 회수하기 전과 후에 90℃에서 1시간 가열 처리했을 때 LAL의 생성을 측정하였다. LAL은 알칼리 조건에서 어육 단백질을 용해시키고 이어서 가열하는 조건에서만 생성되었으며, 알칼리에서 방치 시간이 24시간에서 66시간으로 증가함에 따라 201 mg/100g-sample에서 229 mg/100g-sample로 증가하는 것으로 나타났다(Table 4). 이 같은 결과는 단백질의 알칼리 처리에 이은 가열 처리 조건이 LAL 생성에 기여함을 뜻한다. 그리고 알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정인 pH 11.0에서 어육 단백질을 용해하고 pH 5.5에서 침전 단백질을 회수한 후, 제품을 만들기 위해 가열 처리하는 공정에서는 LAL이 형성되지 않음을 뜻한다. 따라서 알칼리 처리 공정으로 회수한 어육 단백질은 LAL의 생성 측면에 있어서는 안전하다.

Table 4. Amino acid composition of recovered protein with heating step after 24 hr and 66 hr of alkaline treatment (pH 11.0)

(Unit: g/100 g-sample)

Amino acid	After 24 hr			After 66 hr		
	A	B	C	D	E	F
Asp	9.62	10.50	9.13	10.45	9.83	9.25
Thr	4.80	5.10	4.39	5.14	4.84	4.45
Ser	4.72	4.82	4.15	4.80	4.57	4.23
Glu	15.42	16.45	13.63	16.52	15.49	14.70
Pro	3.67	4.03	0.00	3.95	2.88	2.65
Gly	3.40	3.69	3.10	3.56	3.49	3.20
Ala	5.22	5.94	4.95	5.50	5.57	5.12
Cys	0.70	0.82	0.55	0.74	0.64	0.62
Val	5.03	5.52	4.58	5.21	5.11	4.75
Met	3.16	3.52	2.30	3.49	3.16	3.48
Ieu	4.36	4.87	4.05	4.82	4.50	4.12
Leu	7.71	8.49	7.32	8.73	8.07	7.60
Tyr	4.06	4.40	3.38	4.19	4.05	3.38
Phe	3.88	4.78	3.82	4.19	4.27	3.81
His	0.79	0.80	0.66	0.86	0.77	0.67
Lys	8.80	9.45	8.03	9.31	8.86	8.10
ammonia	9.73	8.59	7.56	8.04	7.88	8.20
Arg	5.97	6.41	5.38	6.40	6.09	5.40
LAL	0.00	0.00	0.20	0.00	0.00	0.23
Total	101.40	108.18	87.17	105.89	100.06	93.97
g/100g-sample	92.69	93.15	88.12	83.86	87.42	84.29
Recovery (%)	109.0	116.1	98.92	126.3	114.5	111.5

A and B was solubilized at pH 11.0 and precipitated at pH 5.5.

B and E was solubilized at pH 11, precipitated at pH 5.5, and, heated at 90C for 1 hr

C and F was solubilized at pH 11.0, heated at 90C for 1 hr, and then precipitated at pH 5.5.

요약

SDS-PAGE 상에서 myosin heavy chain의 양은 알칼리 조건(pH 11.0)에서 방치 시간과 가열 시간이 길어질수록 감소하는 것으로 나타났고, LAL의 생성은 알칼리 균질물의 조제에 이어서 가열했을 때만 생성하는 것으로 나타났다. pH를 전이시켜 어육 단백질을 용해하고 침전하여 회수한 다음 가열 젤을 제조하는 본 연구의 조건 하에서 LAL은 생성되지 않는 것으로 나타나 안전성에 문제가 없었다.

참고문헌

- Aymard C, Cuq JL, Cheftel JC. 1978. Formation of lysinoalanine and lanthionine in various food proteins, heated at neutral or alkaline pH. *Food Chem*, 3: 1
- Borak Z. 1964. N ϵ -(DL-2-amino-carboxyrthyl)-L-lysine, a new amino acid formed on alkaline treatment of proteins. *J Biol Chem*, 239: 2878.
- Chang H-M, Tsai C-F, Li C-F. 1999. Inhibition of lysinoalanine formation in alkali-pickled duck egg (Pidan). *Food International* 32, 559-563.
- Damodaran S. 1996. Amino acids, peptifdes, and proteins. In Food chemistry, Fennema OR, ed, Marcel Dekker Inc., New York, p 321-429.
- Friedman M, Levin CE, Noma AT. 1984. Factors governing lysinoalanine formation in soy proteins. *J Food Sci* 49:1282-1288.
- Friedman M, Zahnley JC, Masters PM. 1981. Relationship between in

- vitro digestibility of casein and its content of lysinoalanine and D-amino acids. *J Food Sci* 46:127-131, 134
- JMP. 2002. Standard least squares. In *Statistics and Graphics Guide*. SAS Institute, Cary, NC. p 179-209.
- Kim YS, Park JW, Choi YJ. 2003. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fisheries Science* 69: 1231-1239.
- Miller R, Spinelli J, Babbitt JK. 1983. Effect of heat and alkali on lysinoalanine formation in fish muscle. *J Food Sci*, 48: 296-297.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lanier TC, Hart K, Martin RE. 1991. A manual of standard methods for measuring and specifying the properties of surimi. University of North Carolina Sea Grant College Program, Raleigh, NC, USA.
- Liener IE. 1994. Implications of antinutritional components in soybean food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43:31-67.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193:256-275.
- Park JD, Jung C-H, Kim J-S, Cho D-M, Cho M-S, Choi YJ. 2003. Surimi processing using acid and alkali solubilization of fish muscle protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:400-405.
- Savoie L, Parent G. 1983. Susceptibility of protein fractions to lysinoalanine formation. *J Food Sci*, 48: 1876-1877.
- Undeland I, Kelleher SD, Hultin HO. 2002. Recovery of functional

proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. *J Agric Food Chem* 50: 7371-7379.

Whitaker JR, Feeney RE. 1977. Behavior of o-glycosyl and o-phosphoryl proteins in alkaline solution. In *Advances in experimental medicine and biology*, vol. 86B, Plenum Press, New York, p 155

Woodard JC, Alvarez MT. 1967. Renal lesions in rat fed diets containing alpha protein. *Arch Path*, 84:153-

Woodard JC, Short DD. 1973. Toxicity of alkali-treated soy proteins in rats. *J Nutri* 103: 569-

제 4 절 신제품 개발을 위한 회수 단백질, 가수분해물 및 분말 단백질의 formulation과 제품 특성

서론

어육 단백질은 중요한 식품 자원이며 보수력, 지방 결합능, 젤화능, 유화 및 거품 특성과 같은 식품학적 기능성 때문에 식품 제조 시에 주요 구성분으로 사용할 수 있다(Xiong, 1997). 그러나 전 세계적인 어획량의 감소와 함께 주요 수리미 자원도 감소함에 따라 연간 30만톤 이상이 어획되는 다획성 어류 중 약 56.7%를 차지하는 크기가 작고, 다량의 지방, 육색소, 근형질 단백질 및 엑스분 함량을 지니기 때문에 가공 적성이 떨어지는 적색육 어류의 유효 이용에 관한 관심이 고조되고 있다(Davis, 1988; Jiang et al., 1998; Hultin and Kelleher, 2000; Undeland, 2002).

일시에 대량 어획되는 백색육 어류를 주로 수리미 가공에 사용하고 있으나, 장기간 냉동한 어류와 24 시간이 경과한 빙장 어류는 어육 단백질의 변성과 효소에 의한 육 단백질의 붕괴(MacDonald et al, 1992; Simpson et al., 1994; Park et al., 1997)로 인하여 적절한 가열 젤을 형성할 수 없기 때문에 빙장 상태로 빠른 시간 내에 육상 공장에 운반하거나 어획 장소 근처의 공모선을 이용하여 선상에서 가공하고 있다(Toyoda et al., 1992; Park and Morrissey, 2000). 그리고 적색육 어류는 단백질의 변성 속도가 빠르고(Watabe et al, 1983), 근형질 단백질과 엑스분이 어육 젤의 형성을 방해하기 때문에 알칼리 수세법을 이용하여 수리미를 제조하고 있지만(Shimizu et al., 1992; Jiang et al., 1998), 수율과 젤 형성능은 감소한다(MacDonald et al., 1992; Hultin and Kelleher, 2000).

최근 산(pH 2.5 부근)과 알칼리(pH 11.0 부근) 용액에서 어육 단백질을 용해시키고 pH 5.5 부근에서 단백질을 침전시켜 회수하여 중성으로 pH를

다시 조절하여 어육 단백질을 회수하는 방법이 개발되어 여러 가지 어종으로부터 어육 단백질을 회수하고 가열 젤의 조직 특성을 검토하였지만(Choi and Park, 2002; Undeland et al., 2002; Park et al. 2003a; Park et al., 2003b; Kim et al., 2003; Perez-Mateos et al., 2004) 회수 단백질을 이용한 제품 개발에 관한 연구는 이루어져 있지 않다.

어육 단백질의 가수분해는 1960년대 이래 계속적으로 관심을 가진 분야이지만 대부분의 연구는 동물 사료 혹은 발효를 위한 기질로 사용하는 비식용 방향으로 진행되었다(Sen et al., 1962; Sripathy et al., 1962; Moorjani et al., 1968;). 어육 단백질의 효소 가수분해물은 영양가를 손상하지 않고 원형 단백질의 물리화학, 기능 및 관능적 특성을 개선할 뿐 아니라 산과 알칼리 가수분해에서 관측되는 racemization 반응을 통한 가수분해 산물을 생성하지 않고 비교적 온화한 조건에서 가수분해 할 수 있기 때문에(Adler-Nissen, 1986) 최근에는 식품의 소재로 활용하기 위한 분말 가수분해물의 잠재성에 관한 연구가 일부 수행되고 있다. 즉 정어리 근원섬유 가수분해물의 항산화 활성(Hatate et al., 1990), 정어리 육(Sugiyama et al., 1991), capelin (Shahidi et al., 1995), 대서양 연어 (Kristinsson and Rasco, 2000), 가수분해물의 기능특성, Thresher (*Alopias pelagicus*)육 (Nomura et al., 2002), chum salmon(Ono et al., 2003) 가수분해물의 angiotensin -converting 효소 저해 효과, krill 가수분해물의 탈수에 의한 근원섬유 단백질의 변성 방지 효과(Zhang et al., 2002), 근원섬유 단백질의 냉동 변성 방지 효과(Hossain et al., 2004) 등, 우수한 기능적 특성들을 가진 어육 가수분해물에 관한 보고가 이루어지고 있다. 그러나 이들 가수분해물을 식품 소재로 활용하여 제품을 개발한 보고는 거의 이루어져 있지 않다.

건조 단백질은 수리미 단백질에 비하여 수송비용의 절감, 간편한 저장,

건조 분말의 응용의 측면에서 장점을 가지고 있어서 어육 단백질과 식품 ingredient로서 활용할 수 있는 잠재성을 가지고 있다. 그러나 건조 분말은 건조와 가공 공정 중에 일어나는 단백질 변성으로 인하여 기능적 특성이 떨어지기 때문에 식품에 적용하는 데 제약을 지니고 있다. 그러나 어획량이 풍부한 다획성 어류를 이용하여 마쇄 쇠고기, 돼지고기 및 닭고기를 대체할 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구는 회수한 어육 단백질에 각종 ingredient를 첨가하여 kamaboko 형의 제품 개발을 시도하였으며, 시판 수리미 단백질과의 blend 효과를 가열 젤의 조직 값의 변화로 측정하였다. 그리고 어육 단백질을 회수하기 위한 알칼리 공정의 중간 단계에서 취하여 제조한 어육 단백질 가수분해물과 건조 단백질의 식품 ingredient로서 활용성을 검토하기 위하여 각 시제품을 제조하고 그 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 냉동 깡치는 부산시 소재 공동 어시장에서 구입하였으며, 갈고등어, 원양산 냉동 꼬마민어, 닭 가슴살 및 돼지 후지 육은 통영시 소재의 대형 마트에서 구입하였다. 냉동 깡치와 꼬마민어는 수도수에서 해동한 후 두부와 내장을 제거하고 세척한 후, 닭 가슴살과 돼지 후지 육은 그대로 meat grinder로 2회 마쇄하여 알칼리 처리에 의한 어육 단백질 회수용 시료로 사용하였다. Pacific whiting 및 전갱이 수리미는 (주) 한성기업에서 입수하였다.

회수단백질의 제조

마쇄 육에 9배량의 수도수를 첨가한 후 산업용 호모게나이저로 3000

rpm에서 5분 동안 균질화하였다. 균질화한 육에 6 N NaOH 용액을 첨가하여 pH 11.0으로 조절하고 연속식 원심분리기로 7500 rpm에서 원심분리하여 용해한 어육 단백질을 회수하였다. 회수 단백질에 약 6 N HCl 용액을 첨가하여 pH 5.5로 조절하여 어육 단백질을 침전시킨 후 30분 동안 실온에서 방치하고 7500 rpm에서 연속 원심분리하여 침전단백질을 회수하였다. 회수한 침전 단백질에 냉동변성 방지제(5% sorbitol, 4% sucrose, 0.3% polyphosphate)를 첨가하여 -20℃의 동결고 보관하면서 물성 측정 및 제품 제조를 위한 시료로 사용하였다.

가수분해물의 제조

마쇄육 6 kg에 대하여 12 L의 수도수를 가하고 호모게나이저(Ika 25T basic, Ika Works Inc, Willington, NC, USA)로 8000 rpm에서 충분히 균질화 한 후 육 중량에 대하여 7배량의 수도수를 가하고 육의 분산을 위해 다시 균질화 하였다. 근기질 단백질을 제거하기 위해 그물망의 체를 이용하여 2회 걸렀다. 근형질 단백질과 근원섬유 단백질을 회수하기 위해 6 N HCl 용액으로 현탁액의 pH를 5.5로 조절하여 침전한 단백질은 2겹의 가아제로 여과하여 회수하였다. 회수한 육에 약 25 mg/mL의 단백질 농도가 되도록 일정량의 수도수를 첨가하고, 30% NaOH 용액을 사용하여 pH 7.0으로 조절하여 가수분해를 위한 기질로 사용하였다. 기질 농도에 대하여 Protamex는 단백질 농도 1/100, Flavourzyme은 단백질 농도 1/215가 되도록 첨가하여 25℃의 가수분해 조에서 150 rpm의 속도로 교반기(MS-280D, Tops, Seoul, Korea)로 저어주면서 2시간 동안 가수분해하였다. 가열에 의한 단백질 변성을 피하기 위하여 효소 반응의 정지 조작은 행하지 않았으며, 반응이 끝난 즉시 원심분리(5000 x g, 15분)하여 가용성 가수분해물과 잔사를 분리하였다. 가용성 잔사는 50℃에서 Brix 25까지 농축한 후, 잔사

는 그대로 121℃에서 드럼 건조하여, kitchen Aid (350 Watt, St. Joseph, Michigan, USA)로 분쇄하였다.

분말 어육 단백질의 제조

두부와 내장을 제거한 깡치를 meat grinder 2회 마쇄한 후 9배량의 증류수를 첨가하고 3000 rpm에서 5분 동안 호모게나이즈하였다. 호모게나이즈한 마쇄육에 6 N NaOH를 가하여 pH 11로 조절하여 어육 단백질을 용해시키고 연속식 원심분리기로 원심분리(7500 rpm)하여 단백질이 용해한 상층액만을 회수하였다. 회수한 가용성 단백질에 6 N HCl을 첨가하여 pH 5.5로 조절하여 30분 방치한 후, 침전한 단백질을 연속식으로 원심분리하여 회수하였다. 2 N NaOH로 회수한 침전 단백질의 pH를 7.0으로 조절하고 건조 중 단백질 변성을 방지하기 위하여 5% sorbitol, 4% sucrose와 0.3% sodium polyphosphate를 첨가하고, 170C의 드럼 건조기에서 건조한 어육 단백질을 분쇄하여 어육 분말 단백질을 제조하였으며 25 mesh 이하와 이상으로 입자의 크기를 구분하여 기능적 특성을 측정하였다.

국수 제조

국수는 Table 1과 같은 formulation에 따라 각 ingredients를 혼합하여 기포가 보이지 않을 때까지 반죽한 다음 밀대로 균일하게 편 후 국수 성형기에서 성형하였다. 성형한 국수는 끓는 물에서 익힌 후 찬물에 식혀 소비자 기호도 판정을 위한 시료로 제공하였다.

Table 1. Formulation for preparation of noodle including partial hydrolysate (unit; %)

Ingredients	1	2	3	4
wheat flour	60.3	63.5	64.7	64.7
salt	0.3	0.3	0.4	0.4
soda	2.6	2.4	2.1	2.1
olive oil	0.0	0.8	0.8	0.8
sake	1.2	1.1	1.0	1.0
hydrolysate	3.7	2.5	2.5	2.5
cold water	31.9	30.4	28.4	0.0
hot water	0.0	0.0	0.0	28.4
total	100	101	99.9	99.9

수분과 조단백질 함량의 측정

수분 함량은 적외선 수분 측정기(FD-600, Kett Electric Laboratory, Tokyo, Japan)으로 측정하였고, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl (AOAC, 1999)법으로 측정하였다.

단백질 농도의 측정

단백질 농도는 Biuret법(Umemoto, 1966)의 방법에 따라 측정하였으며, bovine serum albumin으로 작성한 표준 곡선에 따라 단백질 농도를 계산하였다.

가열 젤의 조제

Pilot plant로 회수한 어육 단백질에 얼음물과 염을 고르게 살포하고 Stephan cutter/mixer(Model UMC 5, Universal Marchine Inc, Hameln, Germany)로 저속에서 2분, 고속에서 3분 혼합하였다. 혼합물을 비닐 백에 넣어 진공포장기(Food Saver Ultra, Tilia International Inc, China)로 기포를 제거하고 소세지 충전기(Sausage Maker, Buffalo Co., New York, NY, USA)를 사용하여 비닐 tube(1.9 x 20 cm)에 충전한 후 90°C의 수조에서 15분 동안 가열하고, 15분 동안 0°C의 얼음물에서 냉각하여 하룻밤 냉장 보관한 후 물성 측정에 사용하였다. 물성 측정 전에 충전물의 온도가 실온에 도달하도록 1시간 이상 방치하였다.

조직과 색의 측정

Okada의 방법(1964)에 따라 실린더 형의 시료(1.9 x 2.0 cm)위에 지름 5 mm의 구형 plunger를 장착하고 60 mm/min의 속도로 올리면서 rheometer(Model CR-100D, Sun Scientific Co., Tokyo, Japan)로 파괴강도(g)와 변형 값(mm)을 측정하였다. 젤의 표면 CIE Lab color는 색차계(ZE-2000, Nippon Denshoku, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 색차계는 표준 색 plate($L^*=96.83$, $a^*=-0.36$, $b^*=0.62$)로 표준화하였으며, 백색도는 L^*-3b^* 로 계산하였다(Park, 1995).

보수력의 측정

보수력을 측정하기 위하여 Kocher and Foegeding(1993)의 방법에 따라 시료를 보관할 수 있는 0.20 μ m nylon filter와 유리된 물을 모을 수 있는 1.5 mL의 micro-centrifuge 여과 tube를 사용하였다. 가열 젤을 잘게 잘라

서 약 0.5 g을 정확하게 달아 여과막을 가진 내부의 tube에 넣고 Eppendorf 원심분리기로 10000 rpm(2500xg)에서 10분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후 유리된 물의 양을 측정하여 다음과 같은 식에 따라 보수력을 측정하였다.

보수력=(시료 중 전체 수분함량, g - 유리된 수분, g)/시료 중 전체 단백질, g

가열 젤의 미세구조 관측

가열 젤을 1 mm³의 크기로 세절하고 2.5% glutaraldehyde와 1% osmium tetroxide로 각각 2시간 동안 1차 및 2차 고정하였다. 고정한 시료를 0.1 M phosphate 완충액(pH 7.2)로 세척한 후 50, 70, 80, 85, 90 및 99% ethyl alcohol로 실온에서 20분 동안 탈수하였다. Propylene oxide로 30분 동안 2회 치환하고 Epon 혼합물과 Epon A+B 혼합물로 2시간 침투시킨 후 Epon 812로 포매하였다. 포매한 시료를 37°C에서 12시간 열중합한 후 microtome (LKB-Biotech, Nova, Sweden)으로 0.5-1 μm의 두께로 절단하여 toluidine blue로 단염색하고 광학현미경으로 관찰 부위를 다듬었다. 이를 200 mesh의 copper grid에 부착시키고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과 전자현미경(JEM 1200EX-II, JEOL, Tokyo, Japan)으로 관측하였다.

통계분석

표준편차, 유의성 검정 및 ingredient formulation을 위한 실험 설계와 통계분석은 JMP 통계 프로그램(2002)으로 실시하였다.

결과 및 고찰

어묵 제품의 특성

어묵 형태의 제품을 제조하기 위하여 Table 1과 같은 formulation으로 ingredients를 혼합하여 가열 젤을 제조하였다.

Table 2. Formulation of ingredients for kamaboko products (unit: g)

Ingredients	control (A)	cheese in center (B)	blend with cheese (C)	add crab flavor (D)	Ak-mok (E)
recovered protein	68.22	65.12	35.12	31.92	129.83
water	19.78	14.08	14.08	34.15	10.00
salt		0.80	0.80	1.20	4.26
cheese			8.84		
crab flavor				2.16	
bovine plasma protein					14.22
egg white powder				6.96	
potato starch				3.44	14.22
mono sodium glutamate				0.72	0.15
sugar					0.57
glucose					0.57
soy oil					2.00
Total	88.0	80	58.8	80.55	174.47
moisture(%)	77.0	69.0	70.0	66.7	62.7
protein(%)	12.1	14.6	15.0	16.7	16.8

제품의 수분 함량에 차이가 있기 때문에 조직감을 상대적으로 비교하기

는 어려우나, cheese를 첨가함에 따라 조직은 다소 mushy하는 경향이 있었으며, 소 혈청 단백질, 난백 및 전분을 첨가한 경우의 젤은 brittle하게 되는 경향이 있었다(Fig. 1).

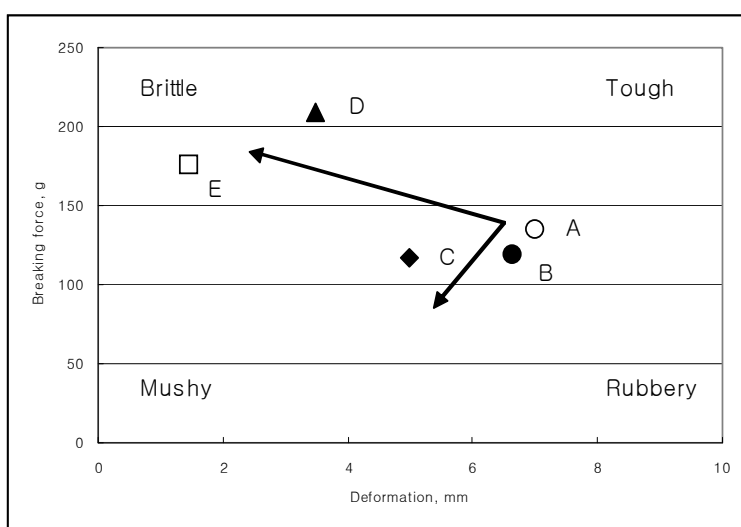


Fig. 1. Texture map between sensory textural descriptors and rheological properties of products. Symbols were the same as Table 1.

수리미 젤의 조직 특징은 전단응력과 전단변형 값을 기준으로 brittle, rubbery, tough 및 mushy의 4가지로 크게 대별할 수 있으며(Lanier, 1986), Kim and Park(2000)은 전분과 난백 및 소 혈청 단백질을 첨가하는 경우 tough하게 되는 경향이 있고, fillers를 사용할 때 brittle하게 되는 경향이 있다고 하였다. 본 연구에서 사용한 난백, 전분, 소 혈청 단백질은 단순히 filler로 작용한 것과 같은 결과를 나타내고 있었다.

Ingredient의 함량이 증가함에 따라 조직이 부서지기 쉬운 형태(brittle)로 변하는 것은 보수력의 감소를 통해 확인할 수 있었다. 제품의 보수력은

제품 A가 가장 높은 6.24 ± 0.05 g-water/g-protein을 나타내고 있었으나 회수 단백질을 제외하고 ingredients를 가장 많이 포함하고 있는 제품 E의 보수력은 2.34 g-water/g-protein으로서 현저히 감소하는 것으로 나타났다 (Fig. 2). 보수력의 감소는 관능적인 조직의 특징에서 부서지기 쉬운 상태로 나타난다(Kim and Park, 2000).

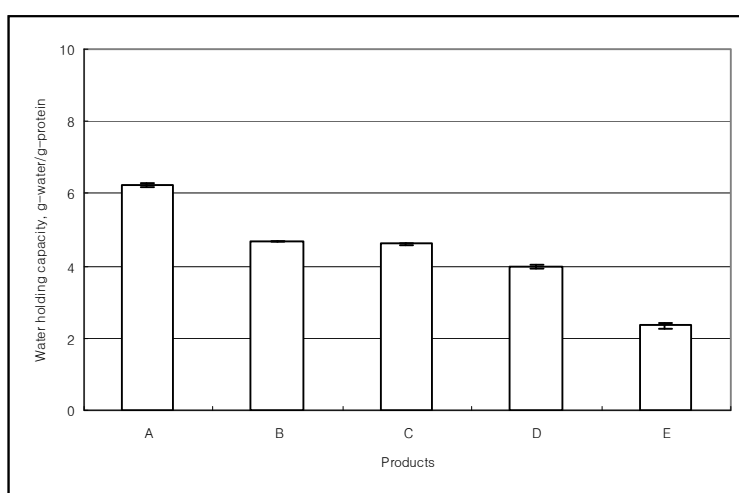


Fig. 2. Water-holding capacities of products. Symbols were the same as Table 1.

제품의 명도와 황색도는 치즈를 포함하고 있는 제품이 비교적 높게 나타나 치즈가 제품의 황색도에 큰 영향을 미치고 있음을 확인하였다(Fig. 3). 제품 E의 경우 명도는 ingredients를 첨가하지 않은 제품 A와 유의 수준 내에서 비슷하였으나, 황색도는 비교적 높은 것으로 나타나 첨가한 감자전분, 혈청 단백질 및 난백 분말이 황색도의 증가에 기여했음을 확인할 수 있었다. 1%의 건조 분말을 수리미 젤에 첨가했을 때 소 혈청 단백질, 난백, 대두단백질, 유장 단백질 농축물과 유장단백질 단리물은 황색도를 증가

시킨다는 보고(Park, 1994)와 일치하는 결과를 나타내고 있었다.

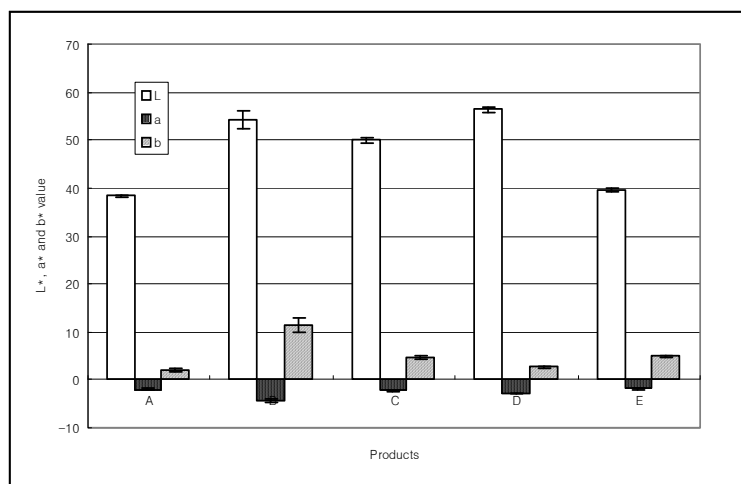


Fig. 3. L*, a* and b* values of products. Symbols were the same as Table 1.

조직 특성에 미치는 시판 수리미 혼합의 영향

시판 수리미를 혼합했을 때 알칼리 회수 단백질의 가열 젤의 조직감에 미치는 영향을 측정하기 위하여 Table 2와 같은 formulation을 사용하여 가열 젤 제품을 제조한 후 조직의 파괴강도와 변형 값을 측정하고 파괴강도와 변형 값에 미치는 회수 단백질 및 시판 수리미의 영향을 통계 프로그램(JMP, 2002)으로 검토하였다.

파괴강도 값은 Pacific whiting 수리미 만을 사용한 것이 198.0 ± 6.4 g로 가장 높았으며, 회수 단백질을 사용한 젤이 56.4 ± 2.6 g로 가장 낮았다. 이 같은 결과는 변형 값에서도 동일하게 나타나 Pacific whiting 수리미와 회수 단백질이 각각 9.18 mm와 4.09 mm이었다. 파괴강도와 변형 값은 Pacific whiting이 가장 크게 증가시키는 반면, 회수 단백질과 전갱이 수리미는 이들 값을 순서대로 감소시키는 것으로 나타났다(Fig. 4, 5).

Table 3. Formulation for products blended of recovered protein, Pacific whiting and Jack mackerel surimi.

Ingredients	1	2	3	4	5	6	7
recovery protein	91	0	272	136	0	0	136
Pacific whiting FA grade	91	272	0	0	136	0	136
Jack mackerel surimi	91	0	0	136	136	272	0
Potato starch	15	15	15	15	15	15	15
Bovine plasma protein	6	6	6	6	6	6	6
Glucose	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Sugar	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Mono sodium glutamate	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Salt	6	6	6	6	6	6	6
Total	301.35	300.35	300.35	300.35	300.35	300.35	300.35

과괴강도 값 약 100 g과 변형 값 5.0 mm 이상을 얻기 위해서 알칼리 회수 단백질 90 g 이상, Pacific whiting surimi 90 g 이상, 전갱이 surimi 90 g로 formulation하는 것이 적절한 것으로 추정되었다.

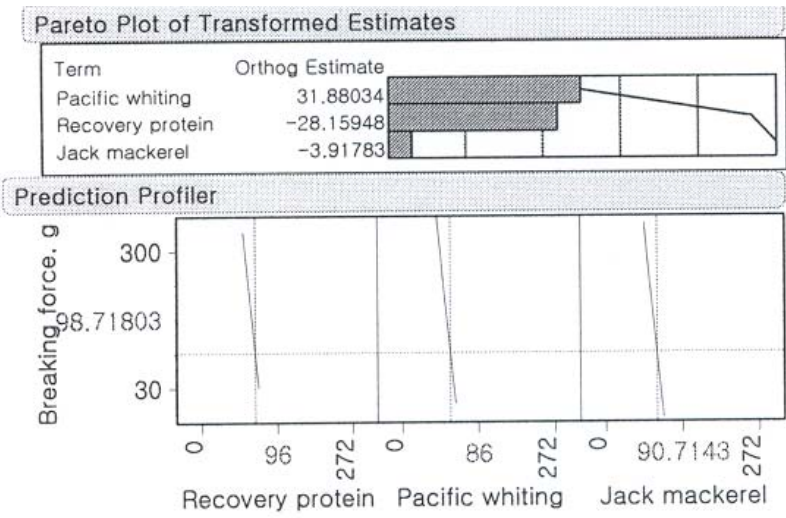


Fig. 4. Pareto plot and prediction profiler of breaking force in blended gel from recovered protein, Pacific whiting, and Jack mackerel surimi.

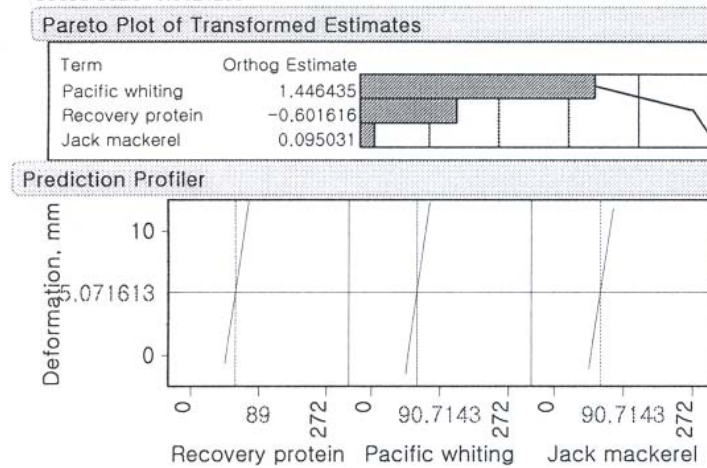


Fig. 5. Pareto plot and prediction profiler of deformation in blended gel from recovered protein, Pacific whiting, and Jack mackerel surimi.

회수단백질의 젤에 미치는 pH의 영향

기능성 단백질의 용해에 미치는 pH의 영향과 회수 단백질의 가열 물성의 변화를 측정하였다(Fig. 6,7,8). 갈고등어 육에서 회수한 회수 단백질은 근원섬유 단백질과는 달리 가열 젤을 형성하는 것으로 나타났으며, 알칼리 처리한 갈고등어와 돼지 후지 육은 회수 단백질의 파괴강도 값이 근원섬유 단백질에 비하여 높은 반면, 알칼리 처리한 냉동 꼬마민어와 닭 가슴살 회수 단백질의 파괴강도 값은 근원섬유 단백질에 비하여 낮게 나타났다. 변형 값은 알칼리 처리한 갈고등어 회수 단백질은 알칼리 pH 값에 따른 차이를 보이지 않았고, 냉동 꼬마민어는 회수 단백질이 근원섬유 단백질에 비하여 높은 값을 보였으며, 돼지 후지 육 및 닭 가슴살에서는 근원섬유와

회수단백질 사이에 큰 차이를 보이지 않았다. 이 같은 결과는 근형질 단백질이 많은 육인 경우는 근형질 단백질이 근원섬유 단백질의 pH 변성을 보호하는 것으로 판단된다. 가열 젤에 미치는 근형질 단백질의 영향과 관련하여 어육을 가열할 때 응집한 근형질 단백질은 근원섬유 단백질에 점착하여 어육 paste의 젤 형성을 방해한다고 하였으나(Shimizu and Nishioka, 1974), 가열 젤 형성 중 actomyosin과 근형질 단백질의 상호작용 형태는 가열 조건에 따라 큰 차이가 있다고 하였다(Okazaki et al., 1986). 그리고 알칼리 용액으로 처리한 냉동 백조기의 회수 단백질은 근형질 단백질을 첨가했을 때 파괴강도와 변형 값은 첨가하지 않은 것에 비해 증가하였으나, 1-7% 첨가 수준에서 유의적인 차이를 보이지 않는다고 하였다(Park et al, 2003b). 본 실험에서 육의 종류에 따라 근원섬유 단백질과 회수 단백질 사이에 상이한 결과를 보이는 것은 근형질 단백질의 함량과 종류에 기인하는 것으로 판단된다. 가열 젤 강도의 증강 효과는 열 응고 단백질 중 94 kDa, 40 kDa 및 26 kDa의 높은 함량에 기인한다고 하였다(Morioka and Shimizu, 1990; Park et al., 2003c).

백색도는 모든 육에 대하여 근원섬유 단백질이 회수 단백질에 비하여 높은 것으로 나타났으며, 산성 pH에서 보다 알칼리 pH 영역에서 유의적인 차이를 보였다. 백색도는 고등어의 근원섬유 단백질과 회수 단백질 사이에 큰 차이를 보여 근형질 단백질의 함유량에 크게 의존하는 것으로 판단된다. 인위적으로 첨가한 근형질 단백질의 함량이 증가함에 따라 백색도는 감소하는 것으로 나타났다(Park et al., 2003b).

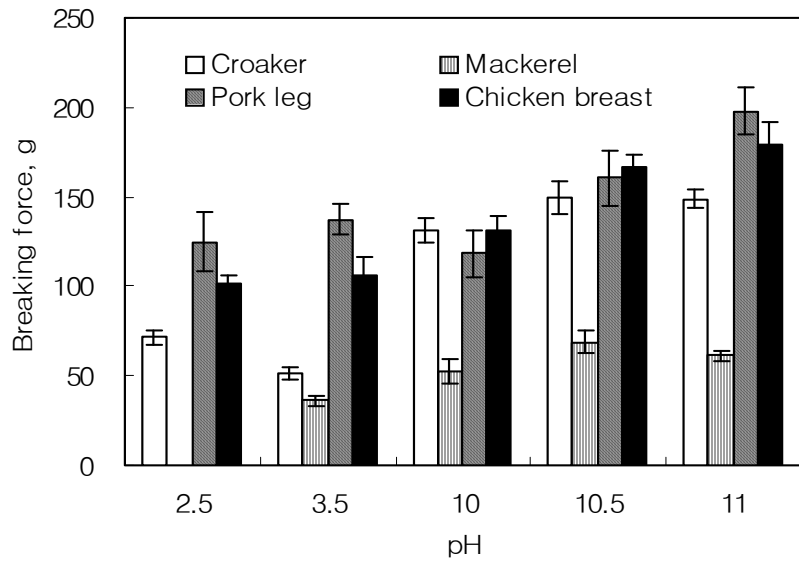


Fig. 6. Effect of pH on breaking force of functional protein gel from functional protein of mackerel, croaker, pork leg and chicken breast by acid and alkali processing.

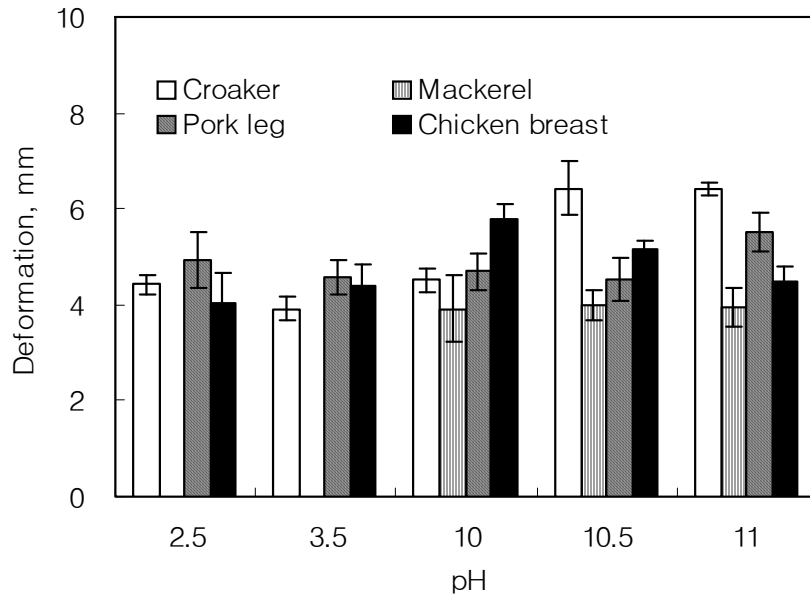


Fig. 7. Effect of pH on deformation of functional protein gel from functional protein of mackerel, croaker, pork leg and chicken breast by acid and alkali processing.

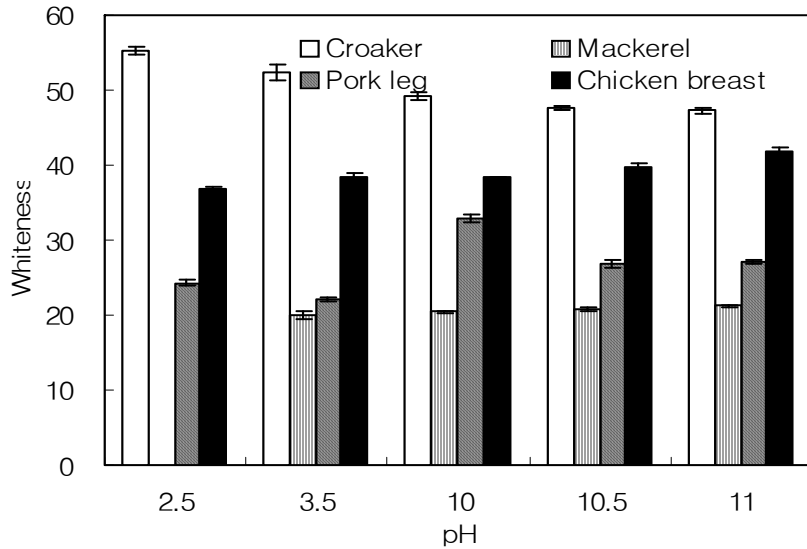


Fig. 8. Effect of pH on whiteness of functional protein gel from functional protein of mackerel, croaker, pork leg and chicken breast by acid and alkali processing.

육의 혼합이 조직에 미치는 영향

갈고등어 근원섬유 단백질의 물성에 미치는 닭고기와 돼지 후지 육 근원섬유 단백질의 혼합 효과를 측정된 결과(Fig. 9a), 갈고등어 근원섬유 단백질의 양이 증가함에 따라 파괴강도, 변형 값 및 백색도는 떨어지고 원료 단가는 상승하는 반면, 닭고기 근원섬유 단백질은 첨가량이 증가함에 따라 파괴강도, 변형 값 및 백색도를 현저히 개선하고 원료 단가를 감소시키는 것으로 나타났다. 그리고 돼지 후지 육 근원섬유 단백질은 파괴강도와 변형 값은 다소 감소시키지만 백색도는 다소 개선하였고 원료 단가도 다소 감소시키는 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 갈고등어 근원섬유 단백질에 비하여 닭고기 근원섬유 단백질의 파괴강도와 변형 값이 현저히 높으며, 원료 단가는 갈고등어 근원섬유 단백질이 4100원/kg인데 반하여 닭고기 근

원섬유 단백질의 단가는 1600원/Kg으로 현저히 저렴하기 때문이다. 그리고 갈고등어 근원섬유 단백질도 돼지 후지 육을 첨가했을 때 파괴강도와 백색도에 거의 영향을 미치지 않는 경향을 제외하고는 근원섬유 단백질의 결과와 비슷한 경향을 보이고 있었다(Fig. 9b).

한편 갈고등어 회수 단백질은 단독 사용 시 파괴강도와 변형 값 및 백색도를 현저히 다소 감소시키고 단가는 현저히 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 10a). 그러나 닭고기 회수 단백질은 파괴강도와 백색도를 개선하였으며, 단가를 현저히 감소시키는 경향으로 나타나 닭고기의 회수 단백질의 첨가가 파괴강도를 증가시키고 갈고등어 회수 단백질 혼합육의 생산 단가를 현저히 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다. 냉동 원양 꼬마민어 회수 단백질의 조직과 단가에 미치는 닭고기와 돼지 후지 육 회수단백질의 첨가 효과는 근원섬유 단백질에서와 유사하였으나, 백색도는 근원섬유단백질처럼 크게 개선하지 않는 것으로 나타났다(Fig. 10b). 이 같은 결과는 회수 단백질이 근형질 단백질을 함유하고 있기 때문에 닭고기에 의한 백색도 증가가 크게 일어나지 않았기 때문으로 판단된다.

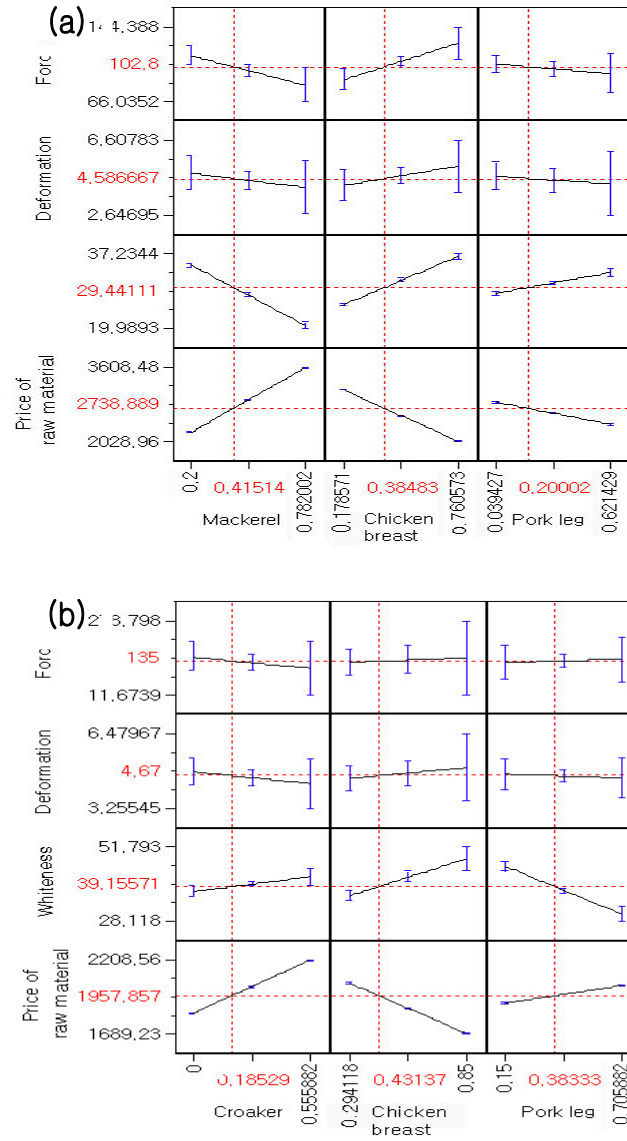


Fig. 9. Prediction profiler of myofibrillar protein on breaking force, deformation, whiteness and price of raw material from mackerel, chicken breast and pork leg(a) and croaker, chicken breast and pork leg(b).

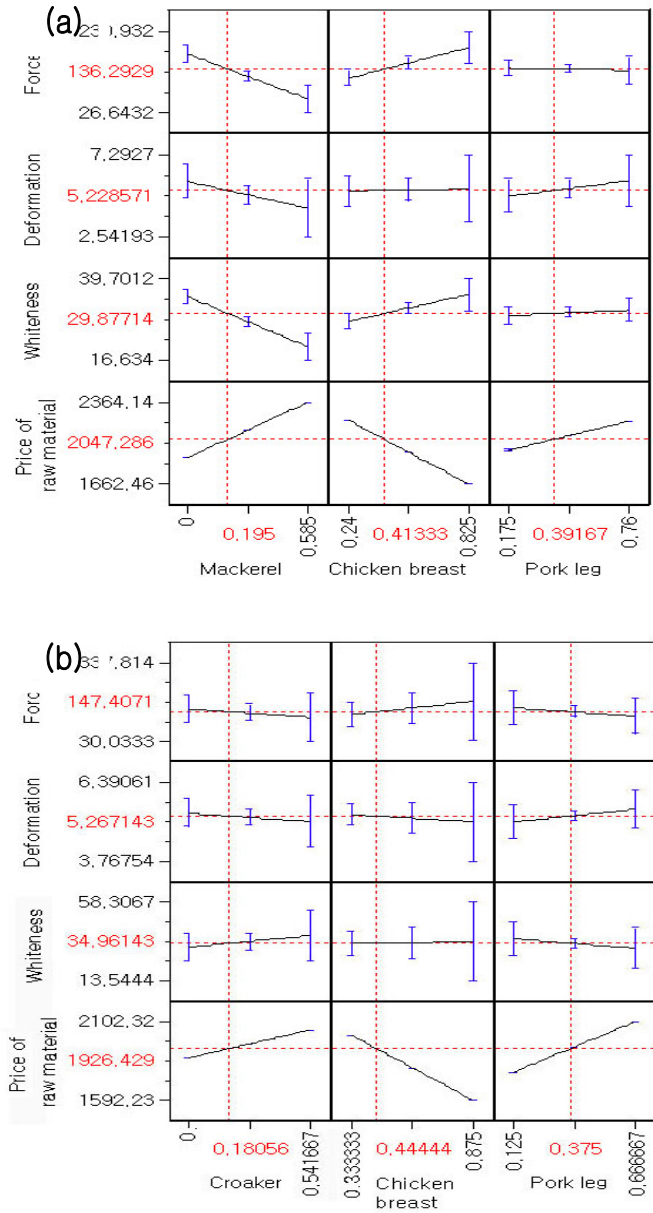


Fig. 10. Prediction profiler of recovered protein on breaking force, deformation, whiteness and price of raw material from mackerel, chicken breast and pork leg(a) and croaker, chicken breast and pork leg(b).

갈고등어, 냉동 원양 꼬마민어, 닭고기 및 돼지 후지 육의 혼합육 제조를 위한 최적화

파괴강도 110 g 이상, 변형 값 4.5 mm 이상, 알칼리 회수 단백질의 단가 2500 원 이하/Kg의 범위를 만족하는 갈고등어, 닭고기 및 돼지 후지 육 회수 단백질의 최적 혼합 비율은 갈고등어 24-35%, 닭고기 28-52%, 돼지 후지 육 18-47%로 나타났다(Fig. 11a). 이 같은 혼합 비율은 냉동 백조기인 경우 파괴강도 100 g 이상, 변형 값 4.6 mm 이상, 백색도 25.5 이상을 보이는 회수 단백질, 감자전분, 소 혈청의 최적 혼합 비율이 각각 89.4-90.0%, 4.5-5.2%, 5.3-5.8%라고 보고한 것(Park et al., 2003b)에 비하여 각 육의 첨가 범위가 상당히 넓게 나타났다. 그리고 냉동 원양 꼬마민어의 회수단백질인 경우, 파괴강도 110 g 이상, 변형 값 4.5 mm 이상 및 회수단백질 원료 단가 2000 원이하/kg을 만족하는 각 육의 최적 혼합 비율은 냉동 꼬마민어 36-50%, 닭 가슴살 34-40%, 돼지 후지 육 14-25%로서(Fig. 11b) 갈고등어 회수 단백질을 기준으로 혼합했을 때와 같이 넓은 범위의 혼합 비율을 보이고 있었다. 갈고등어 회수 단백질에 비하여 냉동 꼬마민어의 원료 단가 제한 값을 500원 낮춘 것은 갈고등어에 비하여 냉동 원양 꼬마민어의 원료 가격이 낮았기 때문이었다. 이 같은 결과는 냉동 꼬마민어의 회수 단백질이 갈고등어의 회수 단백질에 비하여 높은 파괴강도, 변형 값, 백색도, 제조 단가 및 혼합 물성에 유리한 것에 비추어 냉동 꼬마민어 회수단백질은 혼합육 제품의 생산 원료로 사용 가능한 것으로 판단된다.

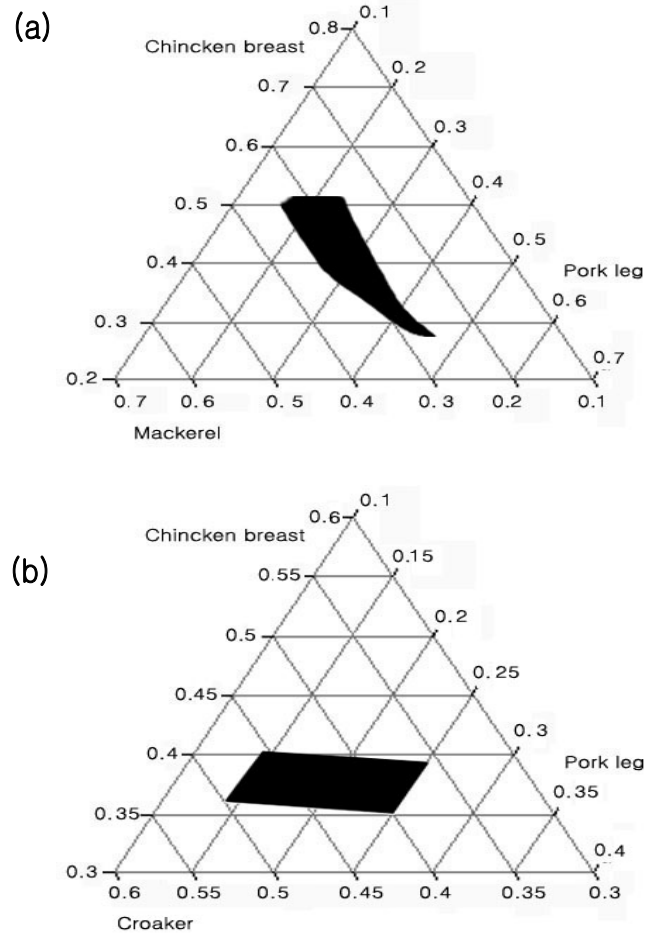


Fig. 11. Ternary plot of functional protein for optimum formulation from mackerel, chicken breast and pork leg(A) and croaker, chicken breast and pork leg(B).

(a) The breaking force, deformation, whiteness and price of raw material were set above 110 g, 4.5 mm, 28.3 and 2,000 won, respectively.

(b) The breaking force, deformation, whiteness and price of raw material were set above 110 g, 4.5 mm, 37.3 and 1,940 won, respectively.

가열 젤의 미세구조

전자현미경을 이용하여 가열 젤의 미세구조를 관찰하였다(Fig. 12). pH 10.5에서 제조한 회수단백질 중 가장 치밀한 구조를 가진 가열 젤은 냉동 꼬마민어인(Fig. 12b) 반면 갈고등어 젤의 치밀도가 가장 낮았고(Fig.12a), 닭 가슴살(Fig. 12c)과 돼지 후지 육(Fig. 12d)은 비슷한 치밀도를 보였다. 이 같은 치밀도의 결과는 가열 젤의 파괴강도와 변형 값의 순서와 거의 일치하였다. Choi and Choi(2003)는 전갱이 알칼리 회수 단백질에 최적 함량의 전분과 소 혈청 단백질을 포함시켜 제조한 가열 젤은 수세 회수 단백질과 알칼리 회수 단백질에 비하여 높은 치밀도를 보이고 파괴강도는 증가하였다고 보고하였다. 최적의 범위 내에서 갈고등어, 닭 가슴살 및 돼지 후지 육 회수 단백질을 혼합하여 제조한 혼합육 젤의 미세구조(Fig. 12e)는 냉동 꼬마민어, 닭 가슴살 및 돼지 후지 육 회수단백질을 혼합하여 제조한 젤의 미세구조에 비하여 많은 공간을 보이고 있었고 치밀하지 못했다. 이 같은 결과는 냉동 꼬마민어를 주축으로 혼합한 육의 파괴강도, 변형 값이 163 g과 5.11 mm인데 반하여 갈고등어를 주축으로 혼합한 육의 파괴강도가 116 g과 4.79 mm로 낮은 것을 반영한다.

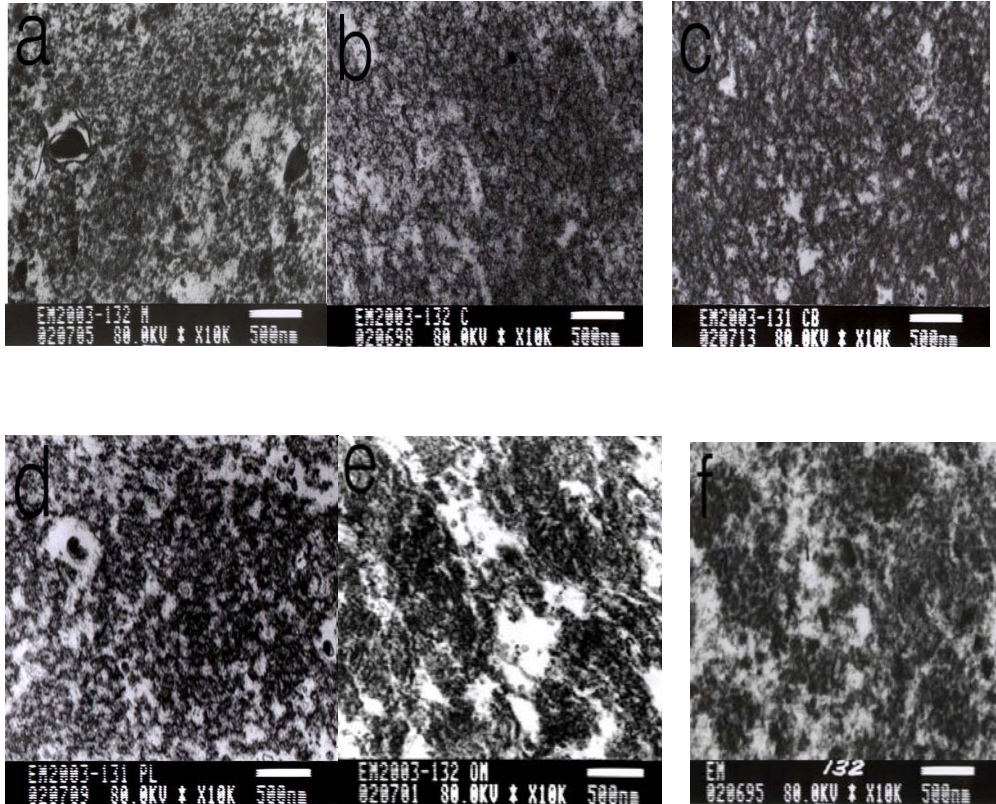


Fig. 12. Electron micrographs of mackerel (a), croaker (b), chicken breast (c), pork leg (d), optimum formulated mackerel functional protein gel (e) and optimum formulated croaker functional protein gel (f) from alkali processing.

시판 어육제품과 물성의 비교

시판 햄류의 수분 함량, 파괴강도, 변형 값 및 백색도는 각각 58.6-62.9%, 294-338 g, 5.32-5.51 mm 및 19.7-22.1의 범위였으며, 어육 소세지의 수분 함량, 파괴강도, 변형 값 및 백색도는 각각 58.3-61.8%, 124-210 g, 4.63-5.90 mm 및 0-19.7의 범위였다(Table 4). 이 같은 결과는

냉동 꼬마민어 회수 단백질의 제한 값으로 설정한 파괴강도 110g, 변형 값 4.5 mm에 비하여 높은 값을 나타내고 있으나, 수분 함량이 냉동 꼬마민어 회수 단백질의 수분 함량 78%에 비하여 약 20% 정도까지 낮기 때문에 파괴강도와 변형 값이 높게 나타난 것으로 판단된다. Park(1994) 은 수분 함량의 감소는 파괴강도와 변형 값을 크게 증가시키는 것으로 보고하였다.

Table 4. Formulation, texture and whiteness of commercial products

Products	Major ingredients	Force, g	Deformation, mm	Whitene ss	Moisture, %
A	pork 51.56%, chicken 26.88%, corn starch, egg white	294±18	5.32±0.25	19.7±0.9	63.1±0.2
B	pork 72.15%, chicken 7.46%, wheat starch, soy protein	409±48	5.35±0.2	21.4±1.5	58.6±0.0
C	pork 43.75% chicken 31.25%	338±9.0	5.51±0.22	22.1±1.0	62.9±0.5
D	pork 20.78% surimi 42.14%	210±7	5.90±0.49	14.5±0.4	60.3±0.4
E	pork 16.9% surimi 47.33%	165±6	5.88±0.38	13.9±0.3	61.8±0.7
F	pork 12% surimi 48.06%	190±8	6.48±0.08	19.7±0.4	57.3±1.6
G	pork 23.74% surimi 40.7	124±5	4.88±0.19	9.1±0.6	59.0±0.3
H	pork 12% surimi 60% cheese 4.2%	203±10	4.63±0.20	0	58.3±0.4

국수의 소비자 기호도

부분 가수분해물을 식품 소재로 활용하기 위하여 Table 1와 같이 각 ingredients를 혼합하여 국수를 제조한 후 관능검사를 통하여 소비자 기호도를 측정하였다. 이때 관능검사는 5단계 평점법으로 실시하였으며 대조군으로는 라면을 제시하였다. 색깔과 향기가 가장 좋은 제품은 1번인 반면 맛과 조직이 가장 좋은 제품은 4번이었고 전체적으로 제품 4가 가장 우수한 것으로 나타났다 (Table 5). 색은 황색이 진할수록 낮은 평가를 받은 것으로 나타났으며, 향은 개인적인 호감도에 따라 점수 차이가 크게 나타났다. 조직감에서 국수의 상대적인 점수가 낮게 나타난 것은 라면에 비하여 국수의 퍼지는 속도가 상대적으로 빨라 조직감에 큰 영향을 미친 것으로 추정된다. 그러나 라면과 상대적인 비교에서 전체적으로 3.5점의 평가를 받은 것은 가수분해물의 ingredients로서 활용 가능성을 시사하는 것으로 판단하였다.

Table 5. Consumer acceptability of noodle products including hydrolysate

Sensory items	1	2	3	4	Ramyeon
color	4	2	1	3	5
flavor	4	2	1	3	5
taste	3	1	2	4	5
texture	2	4	1	4	5
total	3.25	2.25	1.25	3.5	5.0

요약

치즈를 첨가함에 따라 조직은 다소 mushy하는 경향이 있었으며, 소 혈청 단백질, 난백 및 전분을 첨가한 경우의 젤은 brittle하게 되는 경향이 있었다. 치즈는 제품의 황색도에 큰 영향을 미쳤다. 감자전분, 혈청 단백질 및 난백 분말은 황색도를 증가시켰다. 수리미와 회수 단백질의 혼합에서 Pacific whiting은 파괴강도와 변형 값을 크게 증가시키는 반면, 회수 단백질과 전갱이 수리미는 이들 값을 순서대로 감소시키는 것으로 나타났다.

갈고등어의 근원섬유 단백질은 산 및 알칼리 처리에 의해 가열 젤을 형성하지 못하였으나, 회수 단백질은 가열 젤을 형성하였다. pH 10.5에서 처리 후 회수단백질의 가열 젤의 파괴강도는 갈고등어가 가장 낮았고, 변형 값은 냉동 꼬마민어>닭 가슴살>돼지 후지 육>갈고등어의 순으로 높았으며, 백색도는 냉동 꼬마민어 회수 단백질이 가장 높았다. 갈고등어의 첨가는 파괴강도, 변형 값, 백색도를 감소시키고 가격을 상승시키는 반면, 닭 가슴살의 첨가는 파괴강도와 백색도를 다소 증가시키고 가격을 현저히 감소시켰다. 냉동 꼬마민어 회수 단백질인 경우, 파괴강도 110 g 이상, 변형 값 4.5 mm 이상 및 원료 단가 2000 원이하/kg을 만족하는 각 육의 최적 혼합 비율은 냉동 꼬마민어 36-50%, 닭 가슴살 34-40%, 돼지 후지 육 14-25%이었다. 냉동 꼬마민어 회수 단백질의 가열 젤의 구조가 가장 치밀하였다. 냉동 꼬마민어를 축으로 닭고기, 돼지 후지 육의 적절한 혼합비율의 조절은 다양한 물성 값을 가지는 연제품에 활용 가능할 것으로 판단된다. 라면과 비교한 가수분해물을 포함한 국수의 소비자 기호도는 가수분해물의 ingredient로서 활용 가능성을 제시하였다.

참고문헌

- Choi YJ, Park JW. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J Food Sci* 67: 2962-2967.
- Choi J-D, Choi YJ. 2003. Optimum formulation of starch and non-muscle protein for alkali surimi gel from Jack mackerel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1032-1038.
- Davis N. 1988. Fatty fish utilization: upgrading from feed to food. UNC Sea Grant Publication 88-04, Raleigh, NC, USA.
- Hatate H, Numata Y, Kochi M. 1990. Synergistic effect of sardine myofibril protein hydrolysates with antioxidants. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56: 1011.
- Hossain MA, Alikhan MA, Ishihara T, Hara K, Osatomi K, Osaka K, Nazaki Y. 2004. Effect of proteolytic squid protein hydrolysate on the state of water and denaturation of lizardfish (*Saurida wanieso*) myofibrillar protein during freezing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5: 73-79.
- Hultin HO, Kelleher SD. 2000. Surimi processing from dark muscle fish. In surimi and surimi seafood, JW Park, ed., Marcel Dekker, New York. p 59-77.
- Jiang S-T, Ho M-L, Jiang S-H, Lo L, Chen H-C. 198. Color and quality of mackerel surimi as affected by alkaline washing and ozonation. *J Food Sci* 63: 652-655.
- JMP. 2002. Statistics and Graphics Guide. SAS Institute, Cary, NC. USA.
- Kim BY, Park JW. 2000. Rheology and texture properties of surimi

- gels. In Surimi and surimi seafood. JW Park, ed, Marcel Dekker Inc, New York. p 267-324.
- Kristinsson HG, Rasco BA. 2000. Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline protease. *J Agric Food Chem* 48: 657-666.
- MacDonald GA, Lelievre J, Wilson NDC. 1992. Effect of frozen storage on the gel-forming properties of hoki (*Macruronus novaezelandiae*). *J Food Sci* 57: 69-71.
- Moorjani MN, Nair RB, Lahiry NL. 1968. Quality of fish protein concentrate prepared by direct extraction of fish with various solvents. *Food Technol* 22: 1557.
- Morioka K, Shmizu Y. 1990. Contribution of sarcoplasmic proteins to gel formation of fish meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56: 929-933.
- Lanier TC. 1986. Functional properties of surimi. *Food Technology* 39: 107-114.
- Nomura A, Noda N, Maruyama S. 2002. Purification of angiotensin I-converting enzyme inhibitors in pelagic thresher *Alopias pelagicus* muscle hydrolysate and viscera extracts. *Fisheries Science* 68: 954-956.
- Okazaki E, Kanna K, Suzuki T. 1986. Effect of sarcoplasmic protein on rheological properties of fish meat gel formed by retort-heating. *Nippon Suisan Gakkaishi* 52: 1821-1827.
- Ono S, Hosokawa M, Miyashita K, Takahashi K. 2003. Isolation of peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory effect

- derived from hydrolysate of upstream chum salmon muscle. *J Food Sci* 68: 1611-1614.
- Park JD, Jung C-H, Kim J-S, Cho D-M, Cho MS, Choi YJ. 2003a. Surimi processing using acid and alkaline solubilization of fish muscle protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 400-405.
- Park JD, Yoon S-S, Jung CH, Cho MS, Choi YJ. 2003b. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from fish muscle surimi prepared by acid and alkaline processing. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 567-573.
- Park JD, Kim J-S, Cho Y-J, Choi J-D, Choi YJ. 2003c. Optimum formulation of starch and non-muscle protein for alkali surimi gel from frozen white croaker. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1026-1031.
- Park JW. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *J Food Sci* 59: 525-527.
- Park JW, Lin TM, Yongsawatdigul J. 1997. New developments in manufacturing of surimi and surimi seafood. *Food Reviews International* 13: 577-610.
- Park JW, Morrissey MT. 2000. Manufacturing of surimi from light muscle fish. In *Surimi and Surimi Seafood*. JW Park, ed, Marcel Dekker Inc, New York. p 23-58.
- Perez-Mateos M, Amato PM, Lanier TC. 2004. Gelling properties of Atlantic croaker surimi processed by acid or alkaline solubilization. *J Food Sci* 69: FCT328-FCT333.
- Sen DP, Sripathy NV, Lahiry NL, Sreenivasan A, Subrahmanyam V.

1962. Fish hydrolysates I. Rate of hydrolysis of fish flesh with papain. *Food Technology*. 5: 138-141.
- Shahidi F, Han X-Q, Synowiecki J. 53. Production and characteristics of protein hydrolysates from mackerel (*Scomber japonicus*). *Food Chemistry* 53: 285-293.
- Shimizu Y, Nishioka F. 1974. Interactions between horse mackerel actomyosin and sarcoplasmic proteins during heat coagulation. *Nippon Suisan Gakkaishi* 52: 1821-1827.
- Simpson R, Kolbe E, MacDonald G, Lanier TC, Morrissey M. 1994. Surimi production from partially processed and frozen Pacific whiting (*Merluccius productus*). *J Food Sci* 59: 272-276.
- Sripathy NV, Sen DP, Lahiry NL, Sreenivasan A, Subrahmayan V. 1962. Fish hydrolysates II. Standardization of digestion conditions for preparation of hydrolysates rich in peptones and proteoses. *Food Technology* 5: 141-142.
- Sugiyama K, Egawa M, Onzuka H, Oba K. 1991. Characteristics of sardine muscle hydrolysates prepared by various enzymic treatments. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 475-479.
- Toyoda K, Kimura L, Fujita T, Noguchi SF, Lee CM. 1992. The surimi manufacturing process. In *Surimi technology*, TC Lanier and CM Lee (eds), Marcel Dekker Inc, New York. p 79-112.
- Underland I, Kelleher SD, Hultin HO. 2002. Recovery of functional proteins from herring (*Clupea harengus*) light muscle by an acid or alkaline solubilization process. *J Agric Food Chem* 50: 7371-7379.

Zhang N, Yamashita Y, Nozaki Y. 2002. Effect of protein hydrolysate from Antarctic krill meat on the state of waste and denaturation by dehydration of lizard fish myofibrils. *Fisheries Science* 68: 672-679.