적소두단백질(Red Bean Protein)과 Transglutaminase를 첨가한 돈육 근원섬유 단백질의 물성 증진 효과

장호식 · 진구복*

전남대학교 동물자원학부 및 기능성 식품 연구센터

Effect of Red Bean Protein and Microbial Transglutaminase on Gelling Properties of Myofibrillar Protein

Ho Sik Jang and Koo Bok Chin*

Department of Animal Science and Functional Foods Research Institute, Chonnam National University,
Gwangju 500-757, Korea

Abstract

The effects of soy protein isolate (SPI) and red bean protein isolate (RBPI) on gelling properties of pork myofibrillar protein (MP) in the presence of microbial transglutaminase (MTG) were studied at 0.45 M NaCl. MP paste was incubated with MTG (0.1%) at various levels (0.1, 0.3, 0.5, and 1%) of SPI and RBPI before incubating at 4°C for 4 h. The rheological property results showed that MP gel shear stress increased with increasing RBPI concentration. Cooking yield (CY) of the MP gel increased with increasing RBPI and SPI, whereas gel strength (GS) was not affected by adding RBPI or SPI. Thus, effects of incubation time (0, 4, 8, 10, and 12 h) were measured at 0.1% SPI and RBPI. GS values of the MP gel at 10 and 12 h were similar and were higher than those of the others. CY values were highest when RBPI (0.1%) was added, regardless of incubation time. The protein patterns indicated that incubating the MP with MTG for 10 h resulted in protein cross-linking between MP and RBPI or SPI. Based on these results, RBPI and SPI could be used as an ingredient to increase textural properties and cooking yield of meat protein gel.

Key words: red bean protein isolate, soy protein isolate, myofibrillar protein, transglutaminase

서 론

식육의 근원섬유 단백질은 열처리를 통해 가열 겔(heat-induced gel)을 형성할 수 있는 매우 중요한 기능적 특징을 가지고 있다고 알려져 있다(Chin *et al.*, 2009). 근원섬유 단백질의 기능적 역할은 가열처리로 단백질간의 상호작용을 통해 단단한 겔을 형성할 수 있게 도와주며, 수분을 보유할 수 있는 능력을 가지고 있을 뿐만 아니라 지방과 결합하는 능력을 가지고 있다(Ionescu *et al.*, 2008). 따라서 열처리는 향미, 조직감, 유허 안정성 및 보수력 등 식육의 특성을 결정하는데 중요한 요소이다. 또한 향미, 조직감, 안정성 및 보수력 등의 기능성을 증진시키기 위해 근원섬유 단백질과 함께 비육류 단백질 및 기능성 첨

가물을 첨가하는 추세이다(Doerschler *et al.*, 2003; Ramirez-Suarez and Xiong, 2003).

대표적인 비육류 단백질 중 하나인 대두단백질은 영양학적 가치가 높고 필수 아미노산을 함유하고 있으며 값이 저렴하면서 우수한 기능적 특성을 가지고 있기 때문에 식품 첨가물로 많이 이용되어져 왔다(Alibhai *et al.*, 2006; Feng and Xiong, 2002; Renkema *et al.*, 2000). Chin(2002)은 총설논문에서 대두단백질이 지방 대체제로 사용가능하며 보수력, 가열수율, 다즙성 및 조직감을 증진시키는 다양한 이전 연구를 소개하였다. 또한 대두단백질은 분자구조를 변형함으로써 겔을 형성하는 가장 중요한 기능적 특성을 가지고 있는 비육류 단백질 중 하나이다(Hua *et al.*, 2005; Lin and Mei, 2000). 그리고 lysine 함량이 높아 효소인 Transglutaminase(TGase)와의 cross-linking이 가능하여 단단한 겔을 형성할 수 있다고 보고되었다(Alibhai *et al.*, 2006; Chin *et al.*, 2009).

TGase는 glutamine 잔기의 γ -carboxamide기와 아민간의

*Corresponding author: Koo Bok Chin. Department of Animal Science, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea. Tel: 82-62-530-2121; Fax: 82-62-530-2129, E-mail: kbchin@chonnam.ac.kr

acyl 전이반응을 촉매하여 단백질상호간의 ϵ -(γ -glutamyl) lysine isopeptide 결합을 형성하게 된다. 이러한 cross-linking 반응을 통해 식육의 다양한 기능적 특성들이 개선되어 진다고 보고되어졌다(Lee, 2005; Nio *et al.*, 1986; Ramirez-suarez and Xiong, 2002). 이미 많이 알려진 TGase의 대표적인 기능적 특징은 겔 강도를 증진시킬 뿐만 아니라 경도, 탄성 그리고 향미를 증진시킬 수 있다고 보고되었다(Hong and Chin, 2010). 또한 식품 단백질의 필수 아미노산과 협력적으로 관여하며 재구성 햄과 같은 식육 제품에서 육조직 입자간에 서로 결합시키는 능력을 가지고 있다(Chin *et al.*, 2009). 따라서, TGase는 식육 단백질의 기능적 특성을 개선시킬 수 있기 때문에 널리 응용되고 있다.

적소두(Red bean) 단백질은 비육류 단백질 중 하나이며, 주로 중국, 일본, 한국 등 아시아에 분포 되어있다. 이전 연구에서는 이와 같은 적소두단백질 분말을 이용한 연구가 대두단백질 분말과 비교하여 기능적 특성 연구가 많이 진행 되었다(Chau and Cheung, 1997). 특히 적소두단백질은 FAO/WHO에서 요구하는 필수 아미노산의 함량을 많이 가지고 있다고 보고되었기 때문에 가공육제품 제조시 첨가하여 보수력, 조직감, 유화안정성, 겔 형성 능력 등 많은 기능적인 역할을 증진시킨다(Meng and Ma, 2001). 또한 적소두단백질은 대두단백질과 비교하여 넓은 pH 범위에서 높은 용해성을 보였을 뿐 아니라 대두단백질 보다 높은 유화력과 유화안정성을 나타냈다고 보고되었다(Meng and Ma, 2002).

이렇듯 적소두단백질은 대두단백질과 같이 많은 기능적 특성을 가지고 있기에 식육 제품을 통한 다양한 물성 연구가 가능할 것으로 사료된다. 특히 대두단백질과 마찬가지로 가열에 의한 겔을 형성하는 능력을 가지고 있고 lysine 함량이 대두단백질보다 많기 때문에 TG와의 cross-linking의 가능성이 대두단백질 보다 훨씬 높을 것으로 사료된다(Meng and Ma, 2002; Hwang *et al.*, 2005). 하지만 적소두단백질을 이용한 식육제품의 활용 및 물성 연구에 대해서는 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구의 목적은 대두단백질과 적소두단백질을 비교 평가하고 TGase 첨가에 따른 근원섬유 단백질과 비육류 단백질간의 상호작용을 평가하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

실험에 사용된 고기는 삼원교잡 된(Landrace×Yorkshire×Duroc) 거세돈 등심으로, 도축 후 24시간이 지난 것을 광주 현대유통에서 구입하였고, 결체조직과 외부지방을 제거한 다음 1-2 cm³ 크기로 잘라 200 g씩 나누어 진공포장하여 실험 전까지 -70°C에서 동결 저장하였다. Microbial

transglutaminase(TGase, Activa-TI, 1% TG with 99% maltodextrin)은 Ajinomoto에서 제공받았다(USA). 그리고 본 실험에 사용된 적소두는 새참들에서 2009년 생산된 유전자 변형콩이 혼합되지 않은 국내산으로 구입하여 4°C에서 증류수에 24시간 불린 후 외피를 제거한 다음 가루를 제조하였다. 그 후 분리적소두단백질은 Fig. 1과 같이 제조하여 실험에 사용되었다(Kim *et al.*, 1990). 분리 대두단백질은 정제된 제품(Ex 33, Dupont Protein Technologies International, USA)을 구입하여 사용하였다.

Myofibrillar protein(MP) 추출

동결된 돈육의 등심부위를 4°C에서 12시간 동안 해동한 다음 Chin 등(2009)의 방법에 따라 추출하였다. 돈육은 0.1 M NaCl, 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6.25)의 4배 비율(w/v)과 함께 분쇄 후 3회 원심분리한 다음 pellet을 8배의 0.1 M NaCl(pH 6.25)로 원심분리하여 추출하였다. 원심분리는 4°C에서 3,000 g, 15분 원심분리 하였다(J2-21, Beckman Inc., USA). 추출한 MP는 Biuret 방법에 의해 단백질 농도를 결정하였다(Gornall *et al.*, 1949).

실험 디자인(실험 1, 2)

비육류 단백질의 물성 증진 효과를 확인하기 위하여 두 가지 실험을 수행하였다. 실험 1에서는 pH 6.25, 염농도 0.45 M 조건에서 비육류 단백질의 함량(0, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0%)에 따라 TGase 0.1% 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 배양하여 가열 전 점성도와 전기영동을 측정하였으며 가열 후 가열감량, 겔 강도, 전기영동 그리고 Scanning Electron Microscopy(SEM)을 측정하였다. 실험 2에서는 pH 6.25, 염농도 0.45 M 조건에서 비육류 단백질의 함량을 0.1%로 고정시켜 TGase 0.1% 첨가에 따른 배양시간을 0, 4, 8, 10, 12시간으로 하고 항온수조에서 4°C(±1°C)부터 80°C가 될 때까지 가열 후 겔 강도와 가열감량을 측정하였으며 겔 강도에서 유의적으로 차이가 보인 10시간 배양 후의 가열 전 전기영동과 가열 후 전기영동을 비교 평가 하였다.

가열수율(Cooking yield)

각 처리구는 항온수조에서 약 4°C(±1°C)부터 80°C가 될 때까지 가열하였다. 가열온도에 도달하면 즉시 샘플을 꺼내 얼음 속에 넣어 급냉하였으며 그 후 냉장고에 보관하였다. 가열수율은 가열 후 유리되어 나온 수분의 양을 뺀 겔의 무게를 초기 겔의 무게에 대한 퍼센트(%)로 측정하였다.

가열수율(Cooking yield, CY %)

= 유리 수분을 뺀 겔의 무게 × 100/초기 겔의 무게

겔 강도(Gel strength)

각 시료는 가열수율을 측정 한 후 Instron Universal Testing

Machine(3344, Instron Corporation, USA)를 사용하여 breaking force(gf) 값을 산출하였다. Head speed는 50 mm/min 으로 유지하였다.

점성도 측정(Viscosity)

가열 전 겔의 물성학적 변화는 점성도를 통해 확인하였다. 점성도 측정은 concentric cylinder type rotational rheometer(RC30, Rheotec Messtechnik GmbH, Germany) 기계를 사용하여 측정하였다. 각 시료는 약 3 mL를 넣고 0°C에서 10분간 동일한 조건을 유지한 다음 측정을 하였으며 shear rate는 60초 동안 0에서 300/s까지 일정하게 증가시켰다. Shear rate와 shear stress는 Rheo 3000(Rheotec Messtechnik GmbH, Germany) software를 사용하여 power law 법칙을 계산하였다.

전기영동(SDS-PAGE)

전기영동은 TGase 처리에 의해 가열 전과 후의 단백질 변화를 확인하기 위하여 수행하였다. 본 실험에서는 가열 전과 가열 후 비육류 단백질의 함량에 따른 단백질 변화를 확인하였으며 또한 유의적으로 겔 강도가 증가한 10시간 배양 후 전기영동 패턴을 조사하였다. 전기영동은 Mini-PROTEAN 3 Cell 기구(Bio-Rad Laboratories, USA)를 사용하여 실험을 수행하였다. Chin 등(2009)의 방법에 따라 10% acrylamide separation gel과 4% acrylamide stacking gel을 제조하여 단백질을 분리하였고 시료는 sample buffer와 혼합하여 1%의 단백질을 loading 하였다. 그 후 10% β -mercaptoethanol과 단백질 표준염색액(Prestained SDS-PAGE Standards, Broad Range 161-0318, Bio-Rad, USA)을 혼합하여 불용성 단백질을 제거하기 위해 100°C에서 5분간 가열한 다음 loading 하였다. 150 V 조건에서 약 1시간 30분 동안 분리시켰으며 그 후 겔을 떼어낸 다음 염색시키기 위하여 1% 염색용액(Coomassie Brilliant Blue R-250, Bio-Rad, USA)을 사용하여 약 1시간 30분 동안 Roker (Model RK-1020, New Power ENG, Co., Ltd., Korea)에서 염색시켰다. 염색된 겔은 탈색시키기 위해 destaining solution으로 1시간 간격으로 3회 탈색시킨 후 보관하였다. 단백질 변화의 확인은 사진을 찍은 후 포토샵을 활용하여 결과를 정리하였다.

주사전자 현미경(Scanning electron microscopy, SEM)

주사 전자 현미경은 가열 후 비육류 단백질 함량에 따른 3차원적인 조직학적 변화를 확인하기 위하여 TGase 처리 후 4°C에서 4시간 배양시킨 샘플을 가열시킨 후 Hega와 Ohashi(1984) 방법에 의해 전처리 하였다. 샘플 크기는 정육면체모양으로(3 mm³) 준비하여 4°C에서 24시간 동안 2.5% glutaraldehyde(pH 7.0)을 포함한 0.1 M sodium phosphate buffer를 사용하여 고정시켰다. 그 후 osmium tetroxide(pH 7.0)를 함유한 0.1 M phosphate buffer를 첨가하여 5시간 처리하였다. 5시간 후 샘플들은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)를 첨가하여 10분간 세 번 세척한 다음 10분 간격으로 ethanol 농도(50, 60, 70, 80, 90, 100%)를 증가시키면서 탈수시켰다. 마지막으로 10분간 acetone을 첨가하여 전처리 하였다. 건조된 시료는 코팅한 후 미세구조를 측정하였다(FE-SEM, JSM-7500F, JEOL Ltd., Japan).

phate buffer를 사용하여 고정시켰다. 그 후 osmium tetroxide(pH 7.0)를 함유한 0.1 M phosphate buffer를 첨가하여 5시간 처리하였다. 5시간 후 샘플들은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)를 첨가하여 10분간 세 번 세척한 다음 10분 간격으로 ethanol 농도(50, 60, 70, 80, 90, 100%)를 증가시키면서 탈수시켰다. 마지막으로 10분간 acetone을 첨가하여 전처리 하였다. 건조된 시료는 코팅한 후 미세구조를 측정하였다(FE-SEM, JSM-7500F, JEOL Ltd., Japan).

통계처리(Statistical analysis)

모든 실험은 3회 반복을 하였으며 반복 실험 결과에 따른 통계처리는 SPSS 18.0(2010) program을 이용하였다. 일원배치 또는 이원배치를 이용하여 분산분석(one-way or two-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였고 분산분석 결과 0.05% 수준에서 유의차가 발견되면 Duncan's의 다중검정법에 의하여 유의차를 검정하였다($p < 0.05$).

결과 및 고찰

실험 1 : TGase 첨가에 의한 근원섬유 단백질과 비육류 단백질 첨가량에 따른 상호작용 규명

가열수율

근원섬유 단백질의 겔화(gelation)는 보수력, 조직감, 유평특성 등 육제품의 품질특성을 부여한다. 특히 가열 후 보수력은 육제품의 이화학적 특성 중 가장 중요한 요소 중 하나이다. 저지방 육제품은 유평형 소시지에 비하여 수분이 많이 첨가되어 보수력이 급격히 떨어지게 되는데 그로 인해 가열감량이 많이 생기고 저장 중 유리수분의 양이 증가하게 된다. 이러한 가열감량 및 유리수분의 양을 감소시키기 위하여 지방대체재를 첨가하는데 지방대체재

Fig. 1. Preparation of red bean protein isolate.

의 첨가는 식육의 보수력을 증진시키며 지방대체제의 종류로는 비육류 단백질, 친수성 콜로이드, 수분, 탄수화물 대체제 등이 있다고 보고되었다(Chin, 2002). 그러므로 본 연구에서는 근원섬유 단백질의 보수력을 증진시키기 위해 비육류 단백질인 적소두단백질과 대두단백질의 함량에 따른 가열수율의 결과를 확인하기 위하여 실험을 수행하였다. 실험결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 가열수율 결과는 적소두단백질 또는 대두단백질을 첨가한 비육류 단백질 처리구가 근원섬유 단백질 단독처리구 보다 유의적으로 증가했다($p<0.05$). 이러한 결과는 적소두단백질 또는 대두단백질의 아미노산 구성 성분이 친수성 특성을 가지는 아미노산인 글루탐산(glutamic acid)과 아스파르트산(aspartic acid)이 주성분으로 구성되어 있기 때문이다(Meng and Ma, 2002). 즉 가열수율은 근원섬유 단백질 단독 처리구보다 친수성 아미노산을 함유하는 적소두단백질 또는 대두단백질을 첨가시 수분을 보유할 수 있는 능력이 증가된 것이다. 이렇듯 비육류 단백질과 근원섬유 단백질이 서로 상호작용 하여 구조적으로 안정화 되면서 보수력이 개선된 것으로 사료된다. 특히 가열수율은 비육류 단백질의 함량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈으며 적소두단백질 1% 첨가한 처리구에서 가장 높은 가열수율을 나타내었다. 이러한 결과는 추후 물성을 증진시키기 위해 적소두단백질 첨가 시 최적 함량의 지표가 될 것이다. 앞으로 식육의 기능성을 증진시키기 위한 첨가물로 적소두단백질 첨가는 대두단백질 보다 가열수율이 증가함에 따라 대두단백질을 대체 할 수 있을 것으로 판

단된다.

젤 강도

TGase 첨가에 따른 근원섬유 단백질과 비육류 단백질 첨가량(0.1, 0.3, 0.5, 1.0%)에 따른 젤 강도를 나타낸 결과는 Table 1과 같다. 젤 강도는 근원섬유만 단독 첨가한 처리구와 적소두단백질 또는 대두단백질을 첨가한 처리구와는 유의적 차이가 없었다($p>0.05$). 또한 비육류 단백질 첨가량에 따른 젤 강도 또한 유의적 차이를 보이지 않았다($p>0.05$). 이와 같은 결과는 적소두단백질 또는 대두단백질을 첨가하였을 때 단독으로 처리한 근원섬유 단백질과 젤 강도 부분에서는 유의적 차이를 보이지 않았지만 가열수율 면에서 증가한 것을 알 수 있다. 젤 강도는 식육가공에 조직감과 관련하여 육제품의 품질특성에 중요한 지표이다. TGase 첨가에 따른 식육 단백질과 대두단백질의 상호작용에 대한 물성에 관한 많은 연구가 수행되었다. Lin과 Mei(2000) 및 Pietrasik (2007)등의 연구에 따르면 TGase 첨가 시 대두단백질은 고기 단백질보다 경도가 증가한다고 보고하였다. 또한 대두단백질은 가공육제품에 일반적으로 많이 사용되며 보수력과 점성을 증가시키고 유평력을 증진시킨다고 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 TGase 첨가 시 고기 단백질과 대두단백질의 젤 강도는 유의적으로 차이가 나타나지 않았으며 적소두단백질 또한 다른 처리구와 유의적으로 차이가 나타나지 않았다($p>0.05$). 이것은 TGase 함량을 0.1% 처리하였기 때문에 효소의 함량이 불충분 했기 때문이라고 사료된다. 하지만

Fig. 2. Cooking yield (%) of TGase mediated MP gel in the various concentrations of RBPI (A) and SPI (B) at 0.45 M NaCl.

Table 1. Gel strength (gf) showing the specific ingredients in the gelling solutions and their mixtures treated with 0.1% transglutaminase (TGase) on 0.45 M ionic strength

parameter	Treatment			Content of non meat protein (%)			
	MP	RBPI	SPI	0.1	0.3	0.5	1.0
Gel strength (gf)	221±30	247±25.1	237±32.4	267±17	228±31	233±30	242±28

All values are mean±SD of three replications.

MP: myofibrillar protein; RBPI: red bean isolates; SPI: soy protein isolates

가열 후 전기영동을 보면 TGase와 교차결합에 의한 myosin heavy chain(MHC)이 사라지는 현상을 볼 수 있을 뿐만 아니라 biopolymer가 생기는 현상을 볼 수 있다. 이와 같은 결과는 적소두단백질은 대두단백질과 마찬가지로 TGase와 교차결합이 가능하며 근원섬유 단백질과도 상호작용이 가능하다는 것을 알 수 있다. 그러므로 적소두단백질은 대두단백질과 마찬가지로 가공육에 기능적 특성을 증진시키기 위한 첨가물로 활용 가능할 것으로 사료된다.

점성도

가열 전 TGase 처리에 따른 근원섬유 단백질과 비육류 단백질 간의 상호작용에 대한 점성도 측정의 결과는 Fig. 3에서 보여준다. 가열 전 점성도 측정은 가열 후 겔 강도 측정 결과와 마찬가지로 모든 처리구에서 유의적 차이가 없었다($p>0.05$). 가열 전 TGase 처리 후 4시간 배양한 전기영동 결과는 적소두단백질 또는 대두단백질에서 TGase

와의 상호작용을 나타내는 MHC 밴드가 사라지는 현상과 biopolymer가 생기지 않았다(Fig. 4). 이와 같은 결과 또한 TGase함량이 상대적으로 적었기 때문에 기질로써 작용이 불충분 했을 것으로 사료된다. Ramirez-Suarez과 Xiong (2003) 연구에 따르면 TGase 첨가에 의한 근원섬유 단백질과 대두단백질에 대한 점성도 결과는 근원섬유 단백질과 대두단백질을 같이 처리한 처리구가 근원섬유 단백질 단독 처리구보다 점성도가 낮은 결과를 나타내었다고 보고되었다. 하지만 본 실험에서 점성도는 적소두단백질 뿐만 아니라 대두단백질 또한 근원섬유 단백질과 유의적으로 차이가 나지 않았던 이유는 TGase 함량이 0.1%로 상대적으로 적었기 때문이라고 판단되며 TGase와의 반응 시간(4시간)이 비육류 단백질과 상호작용에 대한 반응 시간으로 부족했기 때문이라고 사료된다. 따라서 실험 2에서 TGase 첨가의 반응시간에 따른 물성 특성을 규명하였다.

Fig. 3. Rheological properties of MP paste incubated with TGase (0.1%) at 4°C for 4 h with various concentrations of RBPI (A) and SPI (B) at 0.45 M NaCl.

Fig. 4. SDS-PAGE of MP paste (A) treated with TGase (0.1%) at 4°C for 4 h with various concentrations of RBPI and SPI, and MP gel (B) obtained after heating the gels from 5 to 80°C.

전기영동

TGase 첨가 후 4시간 반응시간에 따른 근원섬유 단백질과 비육류 단백질의 단백질 간의 상호작용을 규명하기 위한 전기영동의 결과는 Fig. 4와 같다. 전기영동은 적소두단백질 0.1와 1%, 대두단백질 0.1와 1%를 선택하여 TGase와 상호작용 결과를 보았으며 또한 TGase를 처리하지 않은 근원섬유 단백질과 TGase를 처리한 근원섬유 단백질을 비교 평가하였다. Fig. 4(A), (B)는 4시간 반응시간에 따른 가열 전과 후의 단백질 변화를 평가하였다. 가열 전 전기영동 결과는 TGase 처리한 근원섬유 단백질에서 약간의 겔 상단에 biopolymer 밴드가 나타났으며 MHC 밴드가 TGase를 처리하지 않은 MHC보다 약하게 나타난 결과를 볼 수 있다. 이와 같은 결과는 가열 전 4시간 반응시간에 따른 근원섬유 단백질이 TGase와 약간의 교차결합이 가능했을 것으로 사료된다(Chin *et al.*, 2009; Kumazawa *et al.*, 1997). 반면에 가열 전 TGase를 처리한 적소두단백질 또는 대두단백질 전기영동 결과는 MHC가 없어지지 않고 보존되어 있음을 알 수 있다. 하지만 10시간 동안 배양시킨 전기영동 결과는 TGase를 처리한 모든 처리구에서 MHC 밴드가 사라짐에 따라 biopolymer 밴드가 나타났다

(Fig. 6(A)). 그러므로 가열 전 TGase(0.1%)와 비육류 단백질간의 상호작용을 위해서는 적어도 10시간 이상 배양한 것이 필요한 것으로 사료된다. 또한 TGase 첨가 후 4시간 배양에 따른 가열 후 전기영동 결과는 MHC 밴드가 모두 사라졌음을 확인 할 수 있었을 뿐만 아니라 모든 처리구에서 biopolymer를 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 Aktas과 Kilic(2005) 및 Kilic(2003) 연구결과에 의해 뒷받침 될 수 있으며, 즉 가열 후 TGase를 처리하지 않은 근원섬유 단백질 전기영동 결과에서는 MHC 밴드의 변화를 볼 수 없었다. 즉 TGase와 비육류 단백질간의 결합 능력은 가열 후에 글루타민과 라이신 잔기 사이의 공유결합을 통한 cross-linking 결합에 촉매작용을 하여 물성 증진이 가능할 것으로 사료된다.

주사 전자 현미경(Scanning electron microscopy, SEM)

TGase를 첨가한 근원섬유 단백질과 적소두단백질(0.1, 1.0%), 대두단백질(0.1, 1.0%)을 첨가한 미세구조 결과는 Fig. 5와 같다. 비육류 단백질을 첨가한 처리구는 근원섬유 단백질 처리구 보다 팽윤된 현상을 볼 수 있다. 이것은 근원섬유 단백질 처리구 보다 좀 더 섬세한 구조를 나

Table 2. Gel strength (gf) effect incubation time of showing the specific ingredients in the gelling solutions and their mixtures treated with 0.1% transglutaminase (TGase) on 0.45 M ionic strength

parameter	Time (h)					Treatment		
	0	4	8	10	12	A	B	C
Gel strength (gf)	246±40.6 ^b	264±12.2 ^b	282±36.0 ^b	365±78.4 ^a	387±41.8 ^a	314±75.8	291±77.9	321±66
Cooking yield (%)	72.2±2 ^{ab}	71.6±3.7 ^b	71.8±2.2 ^b	73.9±1.9 ^{ab}	74.6±2.6 ^a	70.7±2.2 ^c	75.1±1.7 ^a	72.7±2.1 ^b

All values are mean±SD of three replications

^{a-c}Means with same superscript in a same row (time or temperature) are not different ($p < 0.05$)

A: Myofibrillar protein; B: Myofibrillar protein + Red bean isolate (0.1%); C: Myofibrillar protein + Soy bean isolate (0.1%)

Fig. 5. Scanning electron micrographs (magnification, 1000×) of TGase mediated MP gels with RBPI and SPI. (A), MP; (B), MP+RBPI (0.1%); (C), MP+RBPI (1%); (D), MP+SPI (0.1%); (E), MP+SPI (1%).

타낸 것일 뿐만 아니라 비육류 단백질 처리구는 근원섬유 단백질 보다 높은 친수성 잔기를 가지며 높은 수분 함량을 나타내는 겔 구조를 형성하였다(Chin *et al.*, 2009). Trespalacious과 Pla(2007)는 계육에서 TGase를 첨가하지 않은 겔 구조는 불규칙적인 공극과 느슨하게 풀어진 구조를 형성하지만 반면에 TGase를 첨가할 경우는 좀 더 많은 공극을 형성하고 균질화 되어 있다고 보고되었다. 하지만 본 연구 결과는 TGase를 처리한 모든 처리구에서 가열 후 cross-linking을 통해 공극을 줄였으며 swelling된 현상을 나타낸다. 그러나 본 연구 결과만으로 TGase첨가가 근원섬유 단백질과 비육류 단백질 모두 cross-linking에 의한 gel의 물성 특성이 개선되었다고 평가하기에는 불충분하다.

실험 2 : TGase 반응시간에 따른 근원섬유 단백질 또는 비육류 단백질의 물성 평가

가열수율

실험 1에서 가열수율은 적소두단백질 또는 대두단백질 첨가에 따라 가열수율이 증가 하였다(Fig. 2). 실험 2에서는 TGase 첨가에 따른 반응시간(0, 4, 8, 10, 12)을 달리 하여 최적 조건을 규명하고자 실험을 수행하였다. 실험 결과 가열수율은 반응시간과 상관없이 근원섬유 단백질을 단독으로 처리한 대조구 보다 비육류 단백질인 적소두단백질 또는 대두단백질을 처리한 처리구에서 가열수율이 증가하였으며(Table 2), 이와 같은 결과는 실험 1에서 유사한 경향을 나타냈음을 시사한다.

겔 강도

실험 1에서 겔 강도는 모든 처리구에서 유의적으로 차이가 나타나지 않는 결과를 보였다(Table 1). 이와 같은 결과는 전기영동 결과에서도 알 수 있듯이 TGase(0.1%) 첨

가에 의한 반응시간(4시간)에서는 가열 전 TGase와의 반응이 일어나지 않았음을 보여준다(Fig. 4(A)). 그러므로 TGase(0.1%) 첨가에 따라 반응시간을 달리하여 겔 강도를 측정하였다(Table 2). TGase 반응시간에 따른 겔 강도는 처리구와 상관없이 반응시간 10시간 후에 유의적으로 증가하는 결과를 보였다. 이와 같은 결과를 통해 TGase(0.1%) 첨가에 따른 겔 강도가 증가하는 최적 반응 시간은 10시간으로 판정하였다. Chin 등(2009)의 보고에 따르면 TGase와 배양시간(0, 2, 4, 8, 24시간)에 따라 4시간이 배양을 실시하지 않은 것에 비하여 유의적으로 증가하였고, 4시간 이후 반응시간이 경과할 수록 겔 강도 또한 증가한다고 보고하였다. 본 연구 결과에서 최적 반응시간이 10시간으로 나타난 까닭은 TGase 첨가량이 0.1%로 비교적 낮은 양을 첨가하였기 때문으로 사료된다. 또한 Kuraishi 등(1997)의 연구에 따르면 TGase(0.05%) 첨가와 caseinate (0.5%) 첨가가 5°C 조건에서 재구성 식품제품의 반응시간에 따른 binding strength 최적 반응시간은 적어도 2시간 이상은 필요하다고 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 적소두단백질과 대두단백질 특성상 10시간 이상 반응시간이 필요한 것으로 평가되었다. 그럼에도 불구하고 10시간 이상 배양시간은 산업적으로 이용하기에는 다소 부적합함으로 앞으로의 연구는 TGase 함량을 0.5%로 증가하여 효소와 단백질간의 최적 반응시간을 평가하고 비육류 단백질과의 상호작용을 통해 물성을 증진시키는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

전기영동

근원섬유 단백질과 비육류 단백질 첨가에 따른 최적의 TGase와 반응시간은 10시간으로 평가되었다. 이와 같은 결과를 바탕으로 10시간 반응시간에 따른 전기영동 결과는 Fig. 6과 같다. 전기영동은 적소두단백질 0.1과 1.0%,

Fig. 6. SDS-PAGE of MP paste (A) treated with TGase (0.1%) at 4°C for 10 h with various concentrations of RBPI and SPI, and MP gel (B) obtained after heating the gels from 5 to 80°C.

대두단백질 0.1과 1.0%를 선별하여 TGase와 상호작용 결과를 보았으며 또한 TGase를 처리하지 않은 근원섬유 단백질과 TGase를 처리한 근원섬유 단백질을 비교 평가하였다. 가열 전 전기영동 결과는 TGase를 10시간 반응 시킴에 따라 모든 처리구에서 biopolymer가 나타났음을 확인 할 수 있었을 뿐만 아니라 MHC 밴드가 약화되는 현상을 확인 할 수 있었다(Fig. 6(A)). 반면에 TGase를 처리하지 않은 근원섬유 단백질 밴드는 MHC 밴드가 선명하게 나타났으며 TGase를 처리한 처리구와는 확연히 다르게 biopolymer 밴드를 찾아 볼 수 없다. 이와 같은 결과는 실험 1에서 TGase 처리 후 4시간 반응시킨 결과와 상이하게 10시간 반응시킨 결과에서는 biopolymer가 생겨서 시간이 지날수록 TGase는 단백질간의 cross-linking 반응을 유도할 수 있다는 점을 시사하고 있다. 그러므로 이러한 결과를 바탕으로 10시간 반응 시켰을 때 겔 강도가 유의적으로 증가했다는 것을 뒷받침 할 수 있다. 그리고 가열 후 전기영동 결과는 TGase를 처리한 모든 처리구에서 MHC 밴드가 사라지는 현상을 확인할 수 있었을 뿐만 아니라 가열 전과 마찬가지로 biopolymer 현상을 확인할 수 있었다(Fig. 6(B)). 그러므로 가열 후에는 TGase 반응시간과는 상관없이 동일한 전기영동 결과를 보여준다(Fig. 4(B)과 6(B)). 이와 같은 결과를 바탕으로 가열 후에는 TGase 반응시간과 상관없이 단백질과 TGase가 상호작용하여 물성을 증진시킨 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 TGase 첨가에 따른 근원섬유 단백질과 비육류 단백질인 적소두단백질 또는 대두단백질간의 상호작용을 비교 평가하기 위해 수행되었다. 실험 1에서는 비육류 단백질 함량에 따른 물성 변화를 평가하였으며 실험 2에서는 TGase 반응시간에 따른 최적 조건을 평가하였다. 가열수율은 비육류 단백질을 첨가한 처리구에서 유의적으로 증가하였으며 특히 적소두단백질 1%를 첨가하였을 때 가장 높은 가열수율을 나타내었다($p < 0.05$). 반면에 겔 강도 및 점성도는 근원섬유 단백질 단독 처리구와 비육류 단백질을 첨가한 처리구와 비교하였을 때 유의적으로 차이가 나타나지 않았다($p > 0.05$). 또한 전기영동 결과는 가열 전 TGase 첨가 후 4시간 반응시켰을 때는 모든 처리구에서 변화를 보이지 않았지만(실험1), TGase 첨가 후 10시간 반응시킨 모든 처리구에서는 biopolymer 밴드가 나타났다(실험2). 또한 TGase 반응시간에 따른 겔 강도는 10시간 켜에 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 하지만 10시간의 반응시간은 배양시간이 너무 길어 산업적으로 이용하기 부적합 하기 때문에 TGase함량을 0.5%로 증가시켜 효소와 단백질간의 최적 반응시간을 평가하고 비육류 단백질과의 상호작용을 통한 물성을 증진시키는 연구가 앞으로 필요

할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2010 전남대 학술연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Aktas, N. and Kilic, B. (2005) Effect of microbial transglutaminase on thermal and electrophoretic properties of ground beef. *Swiss Soci. Food Sci. Technol.* **38**, 815-819.
2. Alibhai, Z., Mondor, M., Moresoli, C., Ippersiel, D., and Lamarche, F. (2006) Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. *Desalination*. **191**, 351-358.
3. Chau, C. F. and Cheung, P. C. K. (1998) Functional properties of flours prepared from three Chinese indigenous legume seeds. *Food Chem.* **61**, 429-433.
4. Chin, K. B., Go, M. Y., and Xiong, Y. L. (2009) Konjac flour improved textural and water retention properties of transglutaminase-mediated, heat-induced porcine myofibrillar protein gel: Effect of salt level and transglutaminase incubation. *Meat Sci.* **81**, 565-572.
5. Chin, K. B. (2002) Manufacture and evaluation of low-fat meat products (A review). *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **22**, 363-372.
6. Chin, K. B., Go, M. Y., and Xiong, Y. L. (2009) Effect of soy protein substitution for sodium caseinate on the transglutaminase-induced cold and thermal gelation of myofibrillar protein. *Food Res. Int.* **45**, 941-948.
7. Doerscher, D. R., Briggs, J. L., and Lonergan, S. M. (2003) Effects of pork collagen on thermal and viscoelastic properties of purified porcine myofibrillar protein gels. *Meat Sci.* **66**, 181-188.
8. Feng, J. and Xiong, Y. L. (2002) Interaction of myofibrillar and preheated soy protein. *Food Chem. Toxicol.* **67**, 2851-2856.
9. Gornall, A. G., Bardawill, C. J., and David, M. M. (1948) Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* **177**, 751-756.
10. Haga, S. and Ohashi, T. (1984) Heat-induced gelation of a mixture of myosin B and soybean protein. *Agric. Biol. Chem.* **48**, 1001-1007.
11. Hong, G. P. and Chin, K. B. (2010) Effects of microbial transglutaminase and sodium alginate on cold-set gelation of porcine myofibrillar protein with various salt levels. *Food Hydrocol.* **24**, 444-451.
12. Hua, Y., Cui, S. W., Wang, Q., Mine, Y., and Poysa, V. (2005) Heat induced gelling properties of soy protein isolates prepared from different defatted soybean flours. *Food Res. Int.* **38**, 377-385.
13. Hwang, C. S., Jeong, D. Y., Kim, Y. S., Na, J. M., and Shin, D. H. (2005) Effects of enzyme treatment on physicochemi-

- cal characteristics of small red bean percolate. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 189-193.
14. Ionescu, A., Aprodu, I., Daraba, A., and Porneala, L. (2008) The effects of transglutaminase on the functional properties of the myofibrillar protein concentrate obtained from beef heart. *Meat Sci.* **79**, 278-284.
 15. Kamazawa, Y., Sano, K., Seguro, K., Yasueda, H., Nio, N., and Motoki, M. (1997) Purification and characterization of transglutaminase from Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Agric. Food Chem.* **45**, 604-610.
 16. Kilic, B. (2003) Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken doner kebab. *Meat Sci.* **63**, 417-421.
 17. Kim, H. J., Sohn, K. H., and Park, H. K. (1990) Emulsion properties of small red bean protein isolates. *Korean J. Soc. Food Sci.* **6**, 9-14.
 18. Kuraishi, C., Sakamoto, J., Yamazaki, K., Susa, Y., Kuhara, C., and Soeda, T. (1997) Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. *J. Food Sci.* **62**, 488-490.
 19. Lee, D. S. (2005) Improvement of emulsion stability of food proteins by microbial transglutaminase. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 164-170.
 20. Lin, K. W. and Mei, M. Y. (2000) Influences of gums, soy protein isolate, and heating temperatures on reduced-fat meat batters in a model system. *Food Chem. Toxicol.* **65**, 48-52.
 21. Meng, G. T. and Ma, C. Y. (2001) Flow property of globulin from red bean (*Phaseolus angularis*). *Food Res. Int.* **34**, 401-407.
 22. Meng, G. T. and Ma, C. Y. (2002) Characterization of globulin from *Phaseolus angularis* (red bean). *Int. J. Food Sci. Technol.* **37**, 687-695.
 23. Nio, N., Motoki, M., and Takinami, K. (1986) Gelation mechanism of protein solution by transglutaminase. *Agric. Biol. Chem.* **50**, 851-855.
 24. Pietrasik, Z., Jarmoluk, A., and Shand, P. J. (2007) Effect of non-meat proteins on hydration and textural properties of pork meat gels enhanced with microbial transglutaminase. *Swiss Soc. Food Sci. Technol.* **40**, 915-920.
 25. Ramirez-Suarez, J. C. and Xiong, Y. L. (2003) Effect of transglutaminase-induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures. *Meat Sci.* **65**, 899-907.
 26. Ramirez-Suarez, J. C. and Xiong, Y. L. (2003) Rheological properties of mixed muscle/nonmuscle protein emulsions treated with transglutaminase at two ionic strengths. *Int. J. Food Sci. Technol.* **38**, 777-785.
 27. Ramirez-Suarez, J. C. and Xiong, Y. L. (2002) Transglutaminase cross-linking of whey/myofibrillar proteins and the effect on protein gelation. *Food Chem. Toxicol.* **67**, 2885-2891.
 28. Renkema, Jacoba M. S., Lakemond, Catriona M. M., de Jongh, Harmen H. J., Gruppen, H., and Vliet, T. V. (2000) The effect of pH on heat denaturation and gel forming properties of soy proteins. *J. Biotechnol.* **79**, 223-230.
 29. Trespacios, P. and Pla, R. (2007) Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels. *Food Chem.* **100**, 264-272.
-
- (Received 2011.8.5/Revised 1st 2011.9.10, 2nd 2011.10.13/
Accepted 2011.10.14)