

근원섬유단백질과 카제인 염의 교차결합을 촉매하는 Transglutaminase의 효과

황지숙 · 진구복*

전남대학교 동물자원학부 식육과학 연구실

서 론

최근 소비자들의 비만과 건강에 대한 관심이 커지면서 저지방, 저염 육제품을 선호하는 경향을 보인다. 그러나 저지방, 저염 제품의 경우 맛과 향미 조직감이나 저장안정성이 저하되어 기호성이 떨어지게 된다. 이를 보완하기 위한 방법으로 가장 많이 사용하는 방법은 단백질의 함량을 늘리고 이로써 가공품질, 향미, 조직감뿐만 아니라 가열감량과 생산비용을 절감하는 효과까지 얻을 수 있다. 육가공 제품에 가장 적합한 새로운 단백질 성분을 이용한 제품개발이 필요하다.

우유 단백질 특히 카제인 염은 식품첨가제로써 널리 사용되고 있다. 카제인 염을 구성하는 표면 단백질 분자는 유화되는 동안에 지방-물 표면에 급속하게 흡수되어 정전기와 입체 안정성의 결합을 통해 오랫동안 유화 안정성을 유지시켜준다. 이 뿐만 아니라 점도를 증진하고 보수력을 좋게 해주는 특성을 가진다. 그러나 점도가 높아 다량 사용시 작업성과 육중의 분산이 떨어지고 가령 겔화하지 않아 열안정성이 떨어지기는 단점을 가지고 있다.

효소 단백질의 변화는 식품가공산업에서 많이 보고되어 왔는데 이와 같이 다양한 효소는 조직감, 향미 또는 영양적인 가치 그리고 가공공정의 단순화하기 위하여 사용되어진다. Transglutaminase(TGase)는 밀, 난, 우유 및 대두단백질과 같은 몇몇의 단백질에서 내부 그리고 외부의 $\epsilon-(\gamma\text{-glutamyl})\text{lysine}$ 교차결합(G-L 결합)을 촉매시키는 작용을 한다. 이 효소와 식품단백질의 겔화와 중합반응은 물리화학적인 특징을 변경시킴으로써 많은 식품의 품질, 특히 물성에 영향을 준다. 따라서 본 연구는 근육단백질과 우유단백질간의 상호작용에 촉매제로써 TGase의 효과를 측정하기 위하여 근원섬유 단백질, 카제인 염 단백질 및 두 단백질의 혼합물에 TGase를 첨가하여 배양시간에 따른 단백질의 물성 변화를 측정하였다.

재료 및 방법

1. 시료 준비

Myofibrillar Protein(MFP)은 돈육의 뒷다리부위(도가니살)를 이용하여 4배의 0.1M NaCl, 50 mM Na_2HPO_4 buffer로 3번 원심분리시키고, 그 pellet을 다시 8배의 0.1M NaCl로 원심분리시켜서 추출하였다(Xiong, 1993). 그 추출된 MFP를 Lowry 정량을 이용해 단백질 함량을 구하였다. Sodium caseinate(SC)는 0.1 g을 10 mL 증류수에 녹여서 이용하였고, TGase는 0.01 g

을 0.99 mL의 증류수에 넣은 다음 그것을 다시 희석하여 0.5%로 만들어 이용하였다.

2. 열량 분석기를 이용한 가열 중 단백질의 열량 변화

MFP, SC, MFP:SC(1:1) (단백질 농도 4.5%)에 TGase를 첨가한 것과 첨가하지 않은 처리구의 열안정성의 변화를 살펴보기 위하여 Differential scanning calorimetry(DSC)를 이용하여 측정하였다. 시료의 열안정성 변화를 설명하기 위하여 시료를 37°C에서 0, 30분, 2시간 동안 배양하였다. 시료를 알루미늄 캡슐에 정확히 12 mg을 넣고 봉합한 후 빈 캡슐은 대조구로 이용하며 시료를 20~130°C까지 1분당 10°C씩 증가하면서 그 변화를 측정하였다.

3. 전기영동 (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)

Mini protein II electrophoresis assay unit(Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA)을 이용하여 Laemmli(1970) 방법에 준하여 separation gel과 stacking gel을 각각 12%, 3%의 polyacrylamide gel을 이용하여 단백질을 분리하였다. 추출한 단백질은 standard sample buffer와 혼합하고 불용성 단백질을 제거하기 위하여 100°C의 끓는 물에 5분 동안 가열한 후, standard marker(Bio-Rad, < 201 kDa)는 5 μ g, 추출한 단백질은 10 μ g을 loading하였다. Prestained SDS-PAGE standard marker는 201(myosin), 120 (β -galactosidase), 100(bovine serum albumin), 55(ovalbumin), 38(carbonic anhydrase), 29(soybean trypsin inhibitor), 20(lysozyme) 및 6 kDa(aprotinin)이었다. 시료를 loading 한 후 150 V에서 약 1시간 30분 동안 분리시킨 후, 겔을 떼어내서 1% Coomassie brilliant blue R-250을 넣은 염색용액에 넣고 Roker(Model RK-1020, New power ENG. Co., LTD)에서 가볍게 진동을 주면서 30분 동안 염색시켰다. 염색된 겔은 증류수로 1번 세척 후 30분 동안 탈색시킨 후 보관용액에 보관하였다.

결과 및 고찰

1. 열량분석기를 이용한 가열 중 열량의 변화

1) TGase 첨가 여부에 따른 비교(Fig 1)

TGase의 첨가여부에 따라 MFP, SC, MFP와 SC를 혼합한 액의 열량변화가 0.2 J/g이상의 peak를 골라내어 비교한 결과 배양하지 않을 경우 MFP는 TGase를 첨가하지 않았을 때 34, 64°C에서 0.2 J/g이상의 peak를 보인 반면 TGase를 첨가했을 때는 34°C의 peak는 감소되고 61, 76°C에서 0.2 J/g이상의 peak를 보였다. SC는 39와 60°C에 나타나던 peak가 39°C의 peak는 감소되고 65, 84°C에 peak가 생성되었다. 한편 MFP와 SC를 1:1로 섞은 혼합액에서 64, 70°C의 peak가 62, 73°C로 이동해갔다. 이러한 결과로 TGase첨가에 따른 열분석 측정온도가 차이가 있음을 보여준다.

TGase로 30분 배양했을 때 MFP는 30, 50, 63, 76, 96°C에 나타나던 peak(특히 30, 76°C의 peak는 4 J/g 정도의 큰 peak를 보임)가 30°C에서 나타난 peak는 감소되었고 63, 69°C로 이동해 갔으며 peak의 크기도 많이 줄었음을 알 수 있었다. TGase를 첨가하지 않았을 때는 0.2 J/g 이상의 peak가 나타나지 않은 반면, TGase를 첨가했을 때는 32, 56, 78°C에서 0.2 J/g 이상의

peak가 생성되었다. 혼합액에서는 60, 71°C에 나타나던 peak가 71°C의 peak는 감소되었고, 60°C에서 peak를 보였다. 이러한 결과로 근육단백질과 카제인 염을 혼합할 경우 두 단백질이 가지고 있는 열량의 변화에 대한 TGase의 결합력은 미미한 것으로 평가된다.

TGase로 2시간 배양했을 때 MFP는 TGase를 첨가하지 않았을 때는 62°C에서 peak를 보인 반면, TGase를 첨가했을 때에는 33, 55, 72°C의 peak가 생성되었고, SC는 33, 55, 75°C의 peak가 35, 52, 76°C peak로 약간 이동해갔다. 혼합액에서는 31, 49, 64, 91°C의 peak가 91°C의 peak는 감소되고 60°C에서 peak를 보였다. 따라서 식육단백질, 카제인 염 단백질과 그 혼합물은 각 배열시간에서 TGase의 첨가에 따라 차이를 보여주었다.

2) 배양시간에 따른 TG를 첨가한 처리구의 비교

TGase를 첨가한 처리구가 0, 0.5, 2시간(37°C) 배양함에 따라 어떻게 변화하는지 MFP, SC, 혼합액을 종류별로 살펴본 결과 (Fig. 2) MFP의 경우 61, 76°C의 peak가 30분 배양함에 따라 61→63, 76→69°C로 peak생성온도가 변하였고, 2시간 배양하였을 때는 33, 63, 72°C 세 개의 peak가 생성되었는데 33°C의 peak는 새로 생성되고, 63°C의 peak는 그 크기가 2배로 증가하였으며, 69°C의 peak는 72°C로 이동해 갔으며 그 peak의 크기도 반으로 줄어들었음을 알 수 있었다. SC의 경우 65, 84°C의 peak가 30분 배양 시 32°C의 peak가 새로 생성되었고, 65→56, 84→78°C peak로 오히려 더 낮은 온도에서 열량변화를 나타내었으며 2시간 배양 시 32→35°C로 나타났고 그 peak의 크기도 줄어들었으며 56→52, 78→76°C으로 약간 변형하였다. 혼합액의 경우 62, 73°C의 peak는 30분 배양함에 따라 60°C의 peak만이 나타났으나 73°C의 peak는 감소되었고, 2시간 배양 시 30분 배양할 때와 동일한 60°C peak가 나타났으나 그 peak의 크기는 약간 커졌다.

2. 전기영동을 이용한 TGase 첨가에 따른 단백질 분획의 변화

1) TGase 첨가에 따른 비교

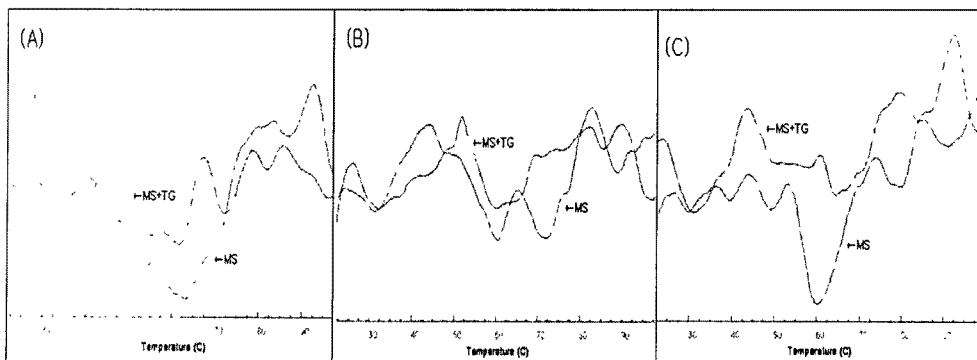


Fig. 1. Differential scanning calorimetry of myofibrillar protein/sodium caseinate mixture as affected by the addition of TGase. (A) No incubation (B) 30 min incubation (C) 2 hr incubation.

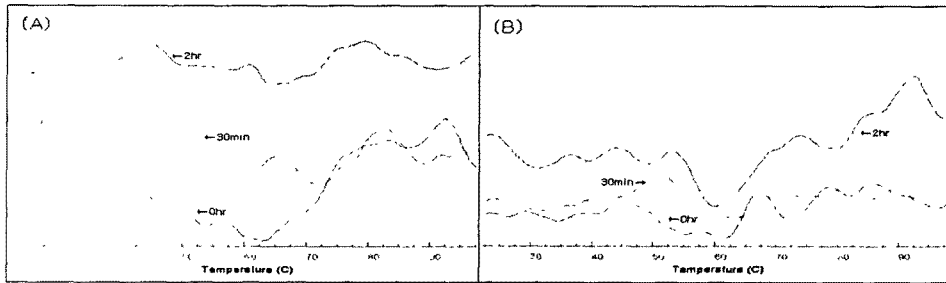


Fig. 2. Differential scanning calorimetry of myofibrillar protein/sodium caseinate mixture as affected by the incubation time.

(1) TGase를 첨가하지 않은 경우 (Fig 3, A)

Fig. 3에서 보는 바와 같이 MFP는 주로 고분자단백질로 구성되어 있는 반면, SC는 주로 저분자 단백질로 구성되어 있다. MFP와 SC를 1:1로 혼합한 혼합액에서는 MFP와 SC에서 나타난 단백질 밴드가 모두 나타났으나 44와 31 KDa의 분자량의 단백질 밴드는 나타나지 않았다. 그리고 희석에 의하여 MFP와 SC의 밴드보다 단백질 밴드가 희미하게 나타났다.

(2) TGase를 첨가한 경우 (Fig 3. B)

TGase를 첨가하지 않은 경우 마찬가지로 MFP와 SC를 1:1로 혼합한 액에서 MFP와 SC에 나타난 밴드가 거의 대부분 나타났으나 SC에 나타난 79, 42, 36 KDa 그리고 MFP에 나타난 46 KDa의 밴드가 사라졌고 MFP와 SC의 밴드보다 희미하게 나타난 것을 알 수 있었다.

2) TGase 첨가 여부에 따른 비교

TGase를 첨가하지 않은 처리구와 첨가한 처리구를 비교했을 때 (Fig 3, A and B), TGase를

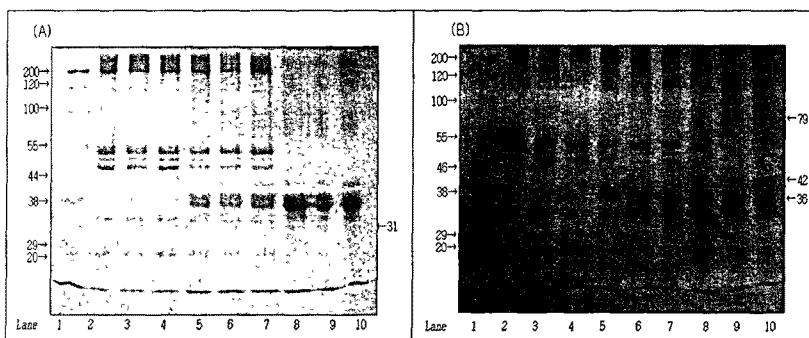


Fig. 3. SDS-PAGE profiles of myofibrillar protein(MFP), sodium caseinate (SC) and the mixture of MFP and SC at the ratio of 1:1 (A= No TGase B= TGase, Lane 1=standard 2=MFP 0 hr, 3=MFP 30 min, 4=MFP 2 hr, 5=MS 0 hr, 6=MS 30 min, 7=MS 2 hr, 8=SC 0 hr, 9=SC 30 min, 10=SC 2 hr).

첨가한 처리구의 MFP, SC, 혼합액 모두 더 고분자 polymer를 형성했으며 혼합액의 경우 TGase를 첨가한 처리구의 저분자 밴드들이 소멸됨으로써 고분자의 polymer 단백질이 생성되었음을 예측할 수 있었다.

요 약

근원섬유 단백질에 카제인염을 첨가함으로써 유화안정성이나 보수력을 증진시킬 수 있으나 카제인염은 열에 안정성이 떨어지는 단점을 가지고 있다. TGase가 이러한 카제인염의 단점을 보완해주는지 알아보기 위해 열량분석기와 전기영동을 이용하여 단백질의 변화를 측정하였다. 열량분석기의 경우 근원섬유 단백질과 카제인 염 단백질의 상호교차결합을 TGase의 첨가유무에 따라 실시하였으며 그 결과 TGase의 첨가는 각 단백질 열량변화가 나타나는 온도를 변화시켰으며 배양시간을 증가할수록 각 단백질별 열량변화의 차이를 보였고 peak의 크기에도 차이를 보였다. 또한 전기영동의 경우 MFP, SC, MFP:SC의 1:1 혼합액을 각각을 TGase 첨가한 것과 하지 않은 것을 비교한 결과, TGase의 첨가는 고분자 polymer를 만들어줌으로써 두 단백질간의 상호작용에 촉매제로써 작용한다는 것을 확인하였다.

참 고 문 헌

1. Xiong, Y.L. (1993). *J. Food Biochem.*, 16, 217-227.
2. Laemmli, K. E. (1970). *Nature*, 227, 680-685.
3. J. C. Ramirez-Suárez, Y. L. Xiong.(2003). *Meat Sci.*, 65,899-907.
4. M. Muguruma, K. Tsuruoka et al.(2003). *Meat Sci.*, 63,191-197.
5. J. C. Ramirez-Suárez, Y. L. Xiong.(2002). *J. Food Sci.*, 67(8),2885-2891.
6. C.-S. TSENG, H.-M. LAI. (2002). *J. Food Sci.*, 67(2),750-755.