

## 肉加工品중 단백질의 電氣泳動 패턴

李貞姬 · 李瑞來

이화여자대학교 식품영양학과

## Electrophoretic Pattern of Specific Proteins in Meat Products

Joung-Hi Lee and Su-Rae Lee

*Department of Food & Nutrition, Ewha Woman's University, Seoul*

### Abstract

The possibility of using sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis was studied to detect specific proteins and their content in meat products such as beef, pork, fish, soybean, fish paste, ham and fish sausage. Many complicated bands were observed in the total protein fractions of the tested samples. The number of protein bands in the low salt-soluble protein fractions was considerably lesser and showed more specific bands in comparison with total protein fractions. Actone-insoluble fractions of non-meat proteins showed different patterns from meat proteins. A heating procedure seemed to be a cause for the diminished number and quantity of resolved protein bands in sausages. The results suggest that the discgel electrophoresis can be used to detect specific proteins and their content in protein foods, if a selective extraction method is employed.

### 서 론

식품 가공기술의 발달로 인하여 점차 다양한 肉加工 제품이 생산되고 있다. Hand 등<sup>(1)</sup>은 육류 가공시 나오는 부산물을 이용하여 再構成肉을 만들 때 soy protein isolate, wheat gluten 과 같은 non-meat protein 의 혼합효과에 대하여 연구하였다. 또한 Hayden<sup>(2)</sup>은 쇠고기 소세지에 닭고기를 첨가한 제품을 생산하여 그 특성을 살펴보고, Terrell 등<sup>(3)</sup>은 non-meat protein 을 이용한 소세지 제조에 대한 연구를 보고하였다.

이와같은 식품가공기술은 저렴한 가격으로 생산품을 만들거나 보다 바람직한 제품을 만들기 위한 방향으로 발전되어 왔다. 이들 제품의 품질관리를 위해 Bunyan<sup>(4)</sup>, Ashworth<sup>(5)</sup> Udy<sup>(6)</sup>, Torten 등<sup>(7)</sup>은 여러가지 염료를 사용하여 dyebinding capacity 를 측정하는 방법을 연구하였고, 1970년대 이후 전기영동을 이용한 방법이 활발하게 연구되고 있다. 그러나 다양한 식품가공기술의 발달은 바람직한 방향과 함께 부정적인 측면인 식품의 變調에 이용되어 사회문제로 대두되고 있다.

따라서 본 연구에서는 변조식품(adulterated food)의 검출에 있어서 SDS polyacrylamide gel electrophoresis 의 사용 가능성을 뒷받침하기 위한 기초실험을 수행하였으며 이에 그 결과를 발표한다.

### 재료 및 방법

#### 분석용 식품원료의 준비

육류의 부위별 차이점을 고려하여 쇠고기의 경우는 양지머리를, 돼지고기의 경우는 삼겹살 부위를, 또 생선의 경우는 이용도가 높은 생태를 선택하였다. 이 중 돼지고기와 쇠고기는 脂肪부위를 제거하고 생선의 경우는 흰살 부위만을 만능분쇄기로 간 뒤 냉동, 보관하였다.

대두, 햄, 어묵과 어육혼합소세지(롯데: A, 백설표: B, 진주: C, 한냉: D)의 4개회사 제품도 만능분쇄기로 간 뒤 냉장 보관하였다. 카제인, 탈지분유(서울우유)와 달걀은 시판용을 구입하여 그대로 보관하였다.

## 시료의 전처리

### 1) Total protein fraction

Hames 등<sup>(8)</sup>의 방법을 조금 변형하여 total protein fraction을 얻었다. 즉, 시료 각 1g씩에 2% SDS (sodium dodecyl sulfate), 5% 2-mercaptoethanol, 10% glycerol, 0.002% bromphenol blue를 함유한 0.065M Tris-HCl buffer (pH 6.8) 10ml/씩을 각각 넣고, 5분간 흔들어 준 다음 boiling water bath에서 3분간 가열한 뒤 실온으로 냉각시켰다. 불용성물질은 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 제거하고 상정액은 vial에 보관하여 분석용 시료로 사용하였다.

### 2) Low salt-soluble protein fraction

만능분쇄기로 갈아 놓은 시료를 각각 20g씩 취하여 5% NaCl 용액을 60ml/씩 넣고, 20분간 homogenize한 뒤 10,000 rpm으로 20분간 냉동원심분리하여 상정액을 취하였다. 이 상정액을 dialysis tube에 넣어 투석을 끝낸 후 원심분리에 의해 얻어진 침전물에 증류수를 넣고 다시 원심분리하는 조작을 3회 반복하여 low salt-soluble protein인 globulin fraction을 얻었다. 이렇게 하여 얻은 각 시료에 0.0625M Tris-HCl buffer (1% SDS와 1%  $\beta$ -mercaptoethanol을 포함)를 적당량 넣어서 14mg protein/ml가 되도록 하였다.

이때 단백질 농도는 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Miller<sup>(9)</sup>의 방법으로 측정하였다. Tris-HCl buffer에 용해한 각 시료 5ml에 50% aqueous glycerol 1.25ml, 0.05% bromphenol blue 0.5ml를 넣고 잘 섞은 뒤 vial에 넣어 냉장 보관하였다.

### 3) Acetone-insoluble protein fraction

Lee 등<sup>(10)</sup>의 방법을 약간 변형한 아세톤 처리로 단백질을 침전시켰다. 이때 카제인과 탈지분유는 아세톤 처리 없이 그대로 사용하였으나 시료는 만능분쇄기로 간 시료 5g에 50ml/씩의 아세톤을 넣어 10분간 homogenize한 다음, 10,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 이러한 절차를 3회 반복하여 지방을 제거하고 침전물을 항온수조에서 60°C의 온도로 건조시켜 막자사발에서 간 뒤 desiccator에 보관하였다.

위와 같이 처리된 각 시료는 Prusa 등<sup>(11)</sup>의 방법을 약간 변형한 방법으로 처리하였다. 즉 단백질 시료 각 200mg에 3% SDS와 1%  $\beta$ -mercaptoethanol을 함유한 0.0625M Tris-HCl buffer (pH 6.8) 15ml/씩을 넣

어 잘 섞은 후 boiling water bath에서 15분간 끓였다. 이것을 실온으로 냉각시킨 뒤 10,000 rpm으로 30분간 원심분리하여 얻은 상정액을 각각 5ml씩 취하여 50% aqueous glycerol 1.25ml와 0.05% bromphenol blue 0.05ml/씩을 넣은 후, 잘 흔들어 혼합한 뒤 냉장보관하여 전기영동용 시료로 사용하였다.

또 소세시 제조과정중 단백질의 변화에 영향을 가장 많이 줄 수 있는 온도만을 고려하여 모델실험을 실시하였다. 즉 만능분쇄기로 간 쇠고기와 돼지고기를 3:1과 2:2의 중량비로 각각 혼합한 후 polyethylene casing에 충전시키고, 90°C 항온수조에서 1시간동안 보존시켰다. 이것을 상온으로 냉각시킨 후 위에서와 같이 아세톤 처리를 하여 전기영동용 시료로 사용하였다.

## 전기영동법

본 실험에 사용한 disc gel electrophoresis는 Hames 등<sup>(8)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 그리고 전개된 각 gel에 대하여 사진을 찍고 Densitometer (Beckman, Model R-112)를 이용하여 각 protein band의 정량을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### Total protein fraction

육류 가공품에 이용되며 주된 단백질 식품인 4가지 시료(쇠고기, 돼지고기, 생선, 대두)와 생선과 돼지고기를 주재료로 한 어묵, 햄 그리고 4회사의 어육혼합소세지에서 얻은 total protein fraction에 대하여 실시한 전기영동패턴은 그림 1과 같다. 이때 Rm(relative mobility)

$$R_m = \frac{\text{distance moved by protein}}{\text{distance moved by tracking dye}}$$

여기에 나타난 바와 같이 육류인 돼지고기와 쇠고기의 전기영동패턴 사이에는 상당한 차이가 있으며, 시료에서 보다 대두의 경우 비교적 많은 양의 단백질이 추출됨을 볼 수 있었다. 이때, 각 단백질시료에 대한 전기영동패턴이 상당히 복잡하고 많은 band수를 보이므로 변조식품을 검출하기 위한 방법으로 이용하기에는 제한점을 가진다.

어육류가공품인 어묵(연육 80%)과 햄(돈육 85%, 대두단백 2%)의 경우는 100%의 어육류 단백질 시료에서 보다 분리된 band 수가 비교적 적었다. 그리고 주로 돼

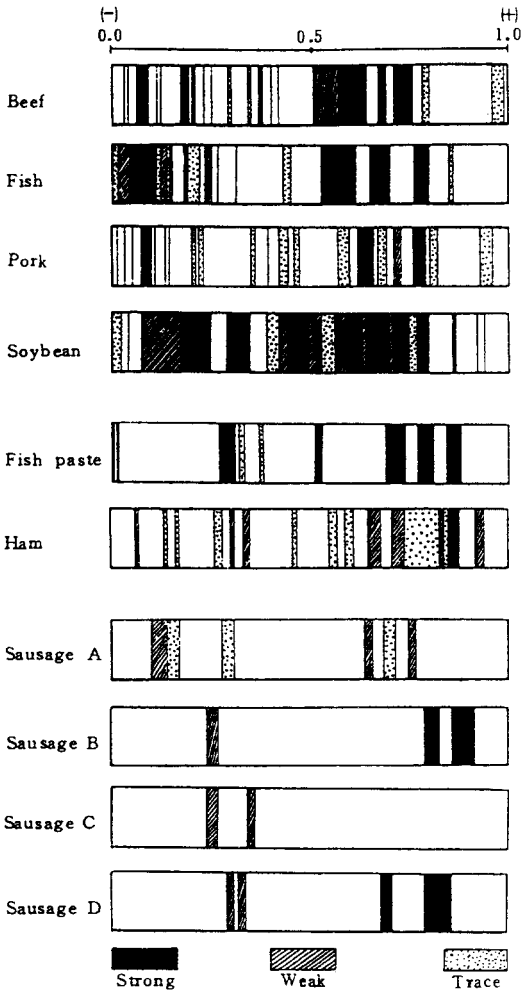


Fig. 1. Relative mobility of total protein fractions

지고기를 원료로 한 햄의 경우 순수한 돼지고기 시료와 전기영동패턴상 상당한 차이를 보여주고 있었다. 이와 같은 결과는 여러 사람이 발표한 육가공 공정중 일어나는 현상과 깊은 관련이 있다. 즉 Fukazawa 등<sup>(12)</sup>은 육류가공시 가열처리가 heat-induced binding을 일으키고 이러한 현상은 myofibrillar protein이 관계하는 복잡한 현상이라고 보고하였다. 또 Siegel 등<sup>(13)</sup>은 ham piece의 massaging 동안 myofibrillar protein이 변화된다고 보고하였다. 본 연구결과에서 돼지고기의 가공품인 햄의 경우 돼지고기와 상당히 다른 band pattern을 보이는 것은 햄 생산 공정중 단백질 사이에 매우 복잡한 변화를 일으킬 것이며 또 돼지고기 100%로 구성되지 않은 점등에 영향받았다고 생각된다.

Table 1. Unit price and constituents of sausage samples

Sausage	Unit price (Won/100 g)	Constituent (%)		
		Fish	Pork	Vegetable protein
A	250	45	21	-
B	310	45	35	-
C	250	40	20	-
D	230	58	20	2

또 4개 회사의 어육소세지의 경우 표1과 같이 가격 간의 차이를 보이며 성분표시를 보면 돈육은 20%정도를, 어육은 40%정도를 사용하지만 각 상표간에 상당한 양적 차이를 보인다. 이때 유사한 단백질 구성을 가진 소세지 A와 C제품의 경우 다소 유사한 band pattern을 보이고 있는 한편 B와 D제품의 경우, A와 C제품보다 전기영동패턴에서 더 많은 양의 단백질을 갖고 있는 경향을 보이고 있다. 각 소세지제품에서 나타난 특징적인 band가 어떤 단백질 source에 의한 것인가에 대한 연구가 좀 더 이루어 진다면, 전기영동패턴과 그의 정량분석을 함께 하여 이러한 가공어육제품의 변조여부를 판정하는 것이 가능하다고 생각된다.

Low salt-soluble protein fraction

앞에서 본 바와 같이 total protein fraction에 대한 전기영동패턴으로 각 단백질식품의 고유하고 특징적인 band를 구별하기가 어려우므로 강등<sup>(14)</sup>의 방법을 조금 변형하여 low salt-soluble protein fraction을 얻었다. 시료로는 어육혼연제품에 사용 가능한 원료인 쇠고기, 돼지고기, 생선, 대두, 밀가루를 사용하였고 이에 대한 전기영동패턴과 densitogram은 그림 2~3과 같다. 이때 total protein fraction에서 보다 band수가 상당히 감소하여 각 시료마다 좀 더 고유하고 특징적인 band를 보여주는 경향이 있었다. 따라서 변조식품의 검출시 그 기준으로 사용이 가능하다고 생각된다.

Acetone-insoluble protein fraction

가공처리되지 않은 단백질시료에서 low salt-soluble protein fraction을 얻기는 용이하였지만 가공처리된 제품에서는 이 부분을 얻기가 어려웠다. 그러므로 좀 더 용이한 방법인 아세톤처리를 하여 침전시킨 여러가지 단백질시료에 대하여 실험을 실시한 결과는 그림 4와 같다.

이들 중 소세지 extender로서 사용 가능한 non-meat protein인 카제인, 탈지분유, 난백분, 대두단백

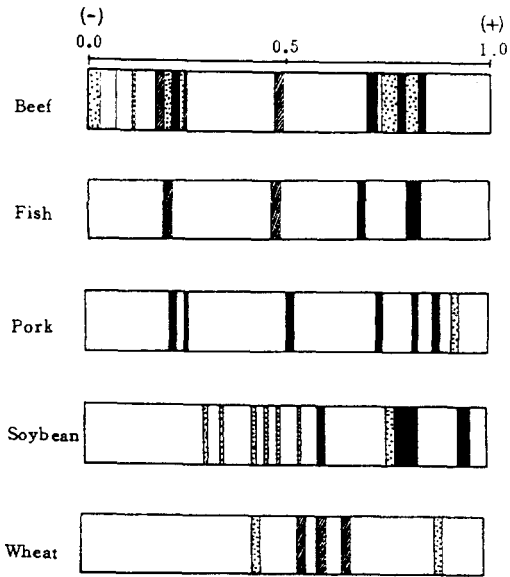


Fig. 2. Relative mobility of low salt-soluble protein fractions

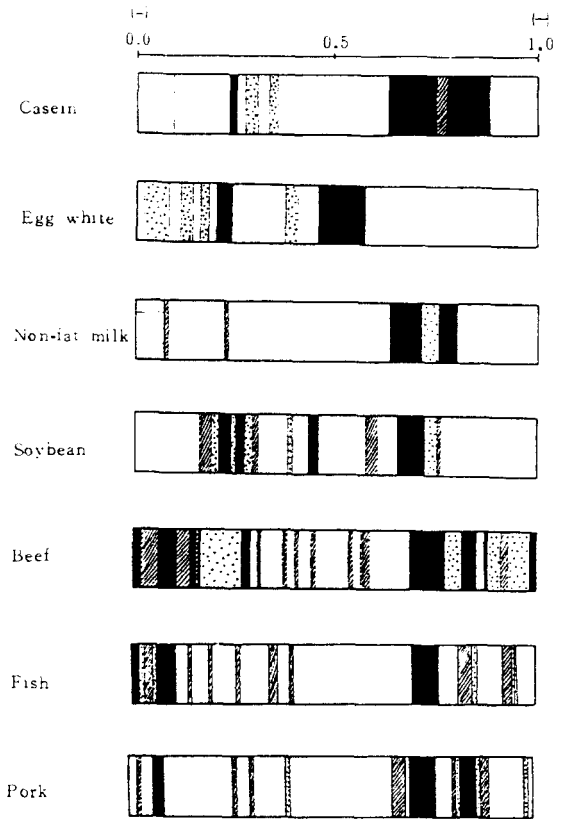


Fig. 4. Relative mobility of acetone-insoluble protein fractions

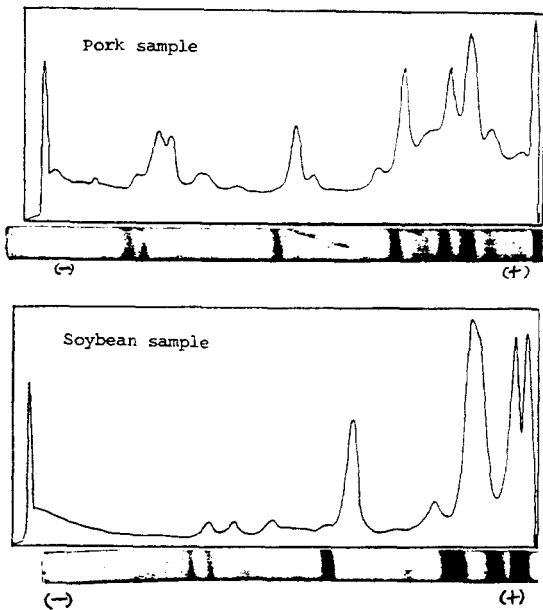


Fig. 3. Typical densitogram and electrophoretic pattern of low salt-soluble protein fractions in pork and soybean

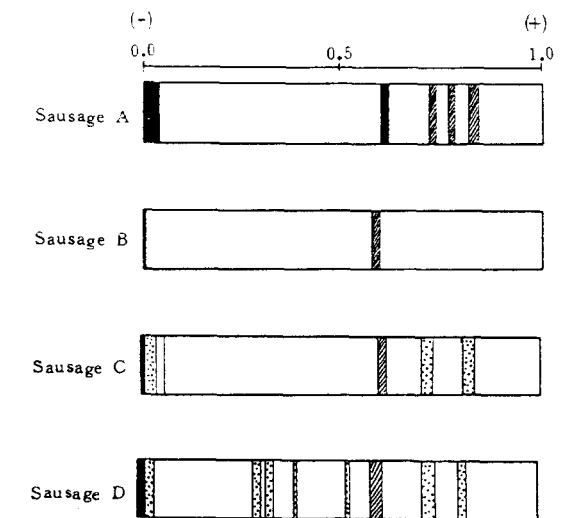


Fig. 5. Relative mobility of acetone-insoluble protein fractions in 4 sausage samples

과 쇠고기의 전기영동패턴은 Lee 등<sup>(10)</sup>의 연구 결과와 거

의 일치함을 보이고 있다. 그리고 여러가지 non-meat protein의 경우 어육류단백질과 상당히 다른 특징적인 전기영동패턴을 볼 수 있었다.

한편 4개 회사의 어육혼합 소세지제품의 분석결과는 그림 5와 같다. 이때 4가지 제품의 전기영동패턴은 각기 다르지만 Rm 0.03 및 0.60에서 어느 정도 공통적인 band가 있었다. 비슷한 원료를 사용했으므로 이러한 결과를 나타낼 수 있다고 생각되나 어떤 단백질 원료가 이러한 공통적인 band를 형성하는지에 대한 후속 연구가 요구된다.

또한 그림 6은 우육 : 돈육을 각각 3 : 1과 2 : 2의 비율로 배합하여 전술한 방법과 같이 소세지모델 실험을 한 결과이다. 3 : 1배합의 경우 2 : 2 배합보다 Rm 0.05와 0.45부분에서 좀 더 진한 band를 보인다. 이러한 결과가 단순히 쇠고기의 양이 더 많아서 오는 것인지, 또는 쇠고기의 특징적인 band인지 규명되어야 할 것이다.

한편 90°C에서 1시간 가열시킨 온도효과를 보기 위해 우육 : 돈육을 2 : 2의 비율로 배합한 두 시료중 하나는 90°C에서 1시간 가열시켰고 다른 하나는 온도처리없이 시료로 준비하였다. 이때 가열한 시료의 경우 각 band의 양이 조금씩 감소되었다. 이러한 결과는 Caldironi 등<sup>(15)</sup>의 연구에서와 같이 가열온도가 높아짐에 따라 분리되는 band수와 양이 점차 감소된 결과와 일치한다.

결론적으로 보아 가공되지 않은 단백질시료의 경우 total protein fraction의 전기영동패턴은 매우 복잡하고 수많은 band를 보였으나 5% NaCl 용액으로 처리한 low salt-soluble protein fraction의 경우 보다 적은

수의 band를 보였으므로, 가공하지 않은 단백질 식품중 특정단백질 검출에 그 이용이 가능하다고 생각된다.

한편 가공어육제품의 total protein fraction과 acetone-insoluble protein fraction의 전기영동패턴을 살펴본 결과 각 단백질 시료마다 어느 정도 특징적인 band pattern을 보였으므로, 이들 가공어육제품의 변조 여부를 판정하는데 disc SDS-polyacrylamide gel electrophoresis의 사용이 가능하다고 생각된다.

요 약

여러가지 肉加工品중 특정 단백질 원료의 첨가여부를 판정하여 變造食品을 검출하는 한 방법으로서, 각종 어육류단백질, non-meat protein, 魚肉가공품을 대상으로 disc SDS-polyacrylamide gel electrophoresis의 사용 가능성을 실험하였다.

Total protein fraction에 대한 전기영동 결과 복잡하고 많은 band를 보여 각 시료에 고유한 특성을 찾아보기 어려웠다. Low salt-soluble protein fraction에서는 total protein fraction에서 보다 band수가 상당히 감소함을 보였고 각 단백질 원료에 대하여 보다 고유한 band pattern을 나타내었다. Acetone-insoluble protein fraction에서는 non-meat protein의 경우 어육류단백질과 상당히 다른 경향을 나타내었고, 소세지 원료의 가열처리에 의하여 단백질의 band수와 양이 감소하였다. 따라서 적당한 단백질 抽出條件을 설정하여 전기영동을 실시하면, 特定 단백질을 첨가한 변조식품의 검출이 가능해질 것으로 생각된다.

문 헌

1. Hand, L.W., Crenwelge, C.H. and Terrell, R.N.: *J. Food Sci.*, **46**, 1004(1981)
2. Hayden, A.R.: *J. Food Sci.*, **42**, 1189(1978)
3. Terrell, R.N., Brown, J.A., Carpenter, Z. L., Mattil, K.F. and Monagle, C.W.: *J. Food Sci.*, **44**, 865(1979)
4. Bunyan, J.: *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 425(1959)
5. Ashworth, U.S.: *J. Food Sci.*, **36**, 509(1971)
6. Udy, D.C.: *J. Am. Oil Chemist Soc.*, **48**, 29A(1971).
7. Torten, J. and Whitaker, J.R.: *J. Food Sci.*, **29**, 168(1964)
8. Hames, B.D. and Rickwood, D.: *Gel Electrophoresis*

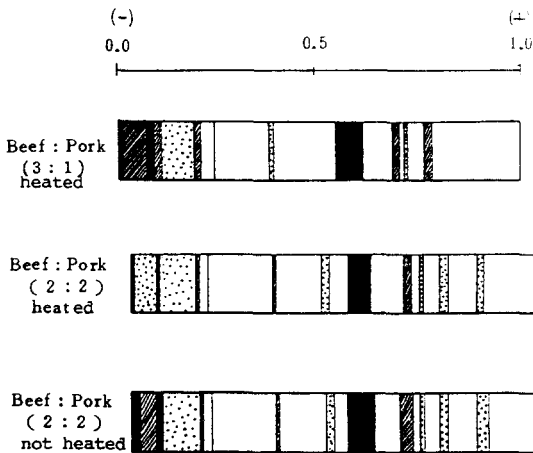


Fig. 6. Relative mobility of acetone-insoluble protein fractions in simulated sausages

- of *Proteins*, IRL Pres, oxford, Washington D.C., pp.23-27, 36-40(1981)
9. Miller, G.L.: *Anal. Chem*, **31**, 964(1959)
10. Lee, Y. B., Rickansrud, D.A., Hagberg, E.C. and Forsythe, R.H.: *J. Food Sci.*, **41**, 589(1976)
11. Prusa, K.J. and Bowers, J.A.: *J. Food Sci.*, **49**, 709 (1984)
12. Fukazawa, T., Hasimoto, Y. and Yassi, T.: *J. Food Sci.*, **26**, 541 (1961)
13. Siegel, D.G., Theno, D.M. and Schmidt, G.R.: *J. Food Sci.*, **43**, 327 (1978)
14. 강명희, 이서래 : 한국식품과학회지, **10**, 415(1978)
15. Caldironi, H.A. and Banzan, N.G.: *J. Food Sci.*, **45**, 901 (1980)
- 
- (1987년 6월 23일 접수)