

# 식품에 미생물 유래 Transglutaminase의 이용 가능성

## - 식육 및 수산가공품을 중심으로 -

Potential Possibility of Microbial Transglutaminase to Food Applications Focused on Meat Products and Seafoods

홍근표<sup>1</sup> · 진구복<sup>2</sup>

Geun-Pyo Hong<sup>1</sup>, Koo Bok Chin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>세종대학교 식품공학과, <sup>2</sup>전남대학교 동물자원학부

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Sejong University

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Chonnam National University

### 1. 서론

저지방 및 저염 식육 가공제품 생산은 지난 1980년대 이래 식육과학 분야에서 많은 관심을 받아온 연구분야이다. 저지방 제품 개발은 최근 다양한 지방 대체제가 개발되어 성공적으로 식육가공 산업에 적용되고 있는 반면, 저염 식육 제품 개발은 여전히 성공적인 정착이 이루어지지 않고 있는 실정이다. 소금은 제품의 맛에 직접적으로 관여할 뿐만 아니라 식육가공품의 품질 유지에 중요한 역할을 담당하고 있으며, 따라서 소금 대체에 따라 발생하는 다수의 품질 저하를 보완할 수 있는 대체 소재에 관한 많은 연구가 진행 중에 있으나 여전히 이를 적용한 식품은 개발되지 않고 있는 상황이다.

소금은 식육단백질의 등전점을 낮은 pH영역으로 이동시키는 효과를 주어 식육의 보수력과 염용성 단백질 추출을 향상시키는 결과를 야기한다. 따라서 육제품 배합비에서 소금을 감소시키면, 가열처리과정에서 다수의 드립이 발생하여 제품의 수축이 심하게 야기되며, 염용성 단백질이 충분히 추출되지 않음으로 제품의 조직감이 저하되는 문제점이 수반된다(Hamm, 1986). 이를 효과적으로 해결하기 위한 방안으로 미생물 유래 transglutaminase(TGase) 이용에 많은 연구가 진행되어왔다.

TGase는 lysine과 glutamine간의 공유결합을 형성함으로써 단백질을 중합시키는 역할을 담당한다(Folk, 1980). TGase는 소금 함량을 낮춤에 따라 야기되는 제품의 조직감 저하를 효과적으로 제

\* Corresponding author: Koo Bok Chin  
Department of Animal Science and Biotechnology Research Institute,  
Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea  
Tel: +82-62-530-2121  
Fax: +82-62-530-2129  
E-mail: kbchin@chonnam.ac.kr



어할 수 있는 가능성이 제안되고 있다(Kuraish *et al.*, 1997). 반면 TGase에 의한 단백질 간의 결합 형성은 단백질과 수분간의 결합력을 약화시킴으로써 최종 제품의 수분 손실을 야기하는 것으로 보고되고 있다(Chin *et al.*, 2009). 이를 보완하기 위하여 다양한 hydrocolloid가 TGase와 함께 조합 형태로 활용되고 있다(Chin *et al.*, 2009; Hong and Chin, 2010a).

본 연구에서는 미생물 유래 TGase를 다양한 친수성 콜로이드와 단백질을 이용한 식품에 적용한 예를 살펴보고 이를 통하여 식육 및 수산가공품의 효과적인 활용 방안을 모색하기 위하여 수행되었다.

## 2. 본론

### 1) TGase의 작용 메커니즘

TGase를 활용한 식육가공품의 물성 향상을 위하여 TGase의 작용 기작에 대한 이해가 필요한데, 일반적으로 TGase는 단백질을 기질로 glutamine의  $\gamma$ -carboxamide 그룹과 lysine의  $\epsilon$ -아미노 그룹간의 아실 전이 반응을 촉매하는 기능을 가지고 있어서 가교결합(cross-linking)으로 표현되는 transamidation 현상을 보인다(Belitz *et al.*, 2009). 반면 기질에 아민이 존재하지 않을 경우 물분자가 아실 수용체로 작용하며, 그 결과 deamidation 현상을 나타낸다(Fig. 1) (Belitz *et al.*, 2009; Orrù *et al.*, 2003). TGase에 의한 단백질분자간의 공유결합은

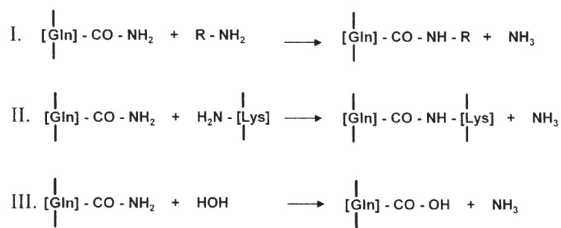


Fig. 1. Acyl-transfer reaction (I), transamidation (II) and deamidation (III) mediated by transglutaminase (Belitz *et al.*, 2009).

단백질간의 중합을 일으킴으로써 단백질 겔을 형성하게 된다. TGase 반응의 최적 기질은 커제 인염(sodium caseinate)으로 보고되고 있지만, 그 이외에도 근원섬유단백질, 젤라틴, 알부민 등 모든 식품단백질이 기질로 작용한다고 보고되었다(Han and Damodaran, 1996).

일반적으로 TGase의 등전점은 pH 9 영역이며, 최적 반응은 pH 5-9 영역에서 나타난다. Kashiwagi 등(2002)은 TGase의 1차구조에는 2개의 주요 반응 site(Cys<sup>64</sup>와 Asp<sup>255</sup>)를 보유하고 있다고 보고하였다. TGase에 의한 촉매 반응은 Cys<sup>64</sup>로부터 사이올 이온이 Asp<sup>255</sup>로 전달됨으로 인하여 개시되며, lysine으로부터 전달된 전자에 의해 Cys<sup>64</sup>는 원 구조를 회복하게 된다(Fig. 2). 이상의 반응 기작을 통하여 TGase에 의한 촉매반응은 deamidation, deprotonation을 거쳐 공유결합에 이르는 3단계 반응으로 설명된다(Fig. 3). 따라서 TGase의 반응은 기질의 pH에 의존하는 특성을 보이는데, 최적 활성을 보이는 pH 5-9 영역에서 단백질 기질은 음하전을 갖는 반면, TGase는 양하전을 갖게 되며, 기질과 효소간의 정전기적 인력에 의해 촉매반응이 발생된다. 반면, 기질의 pH가 기질의 등전점보다 낮은 경우, 기질의 protonation 반응이 우세하기 때문에 TGase의 반응은 공유결합에 이르지 못하고 1단계인 deamidation 단계에서 종료

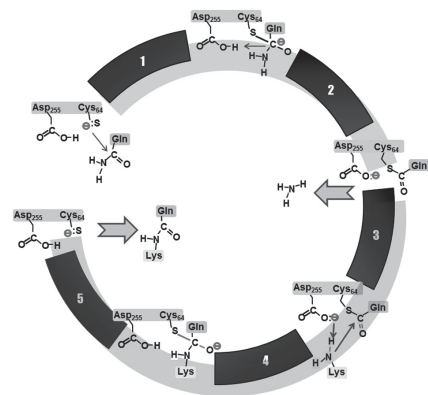


Fig. 2. Major reaction site and catalytic action mechanisms of transglutaminases. (Kashiwagi *et al.*, 2002).

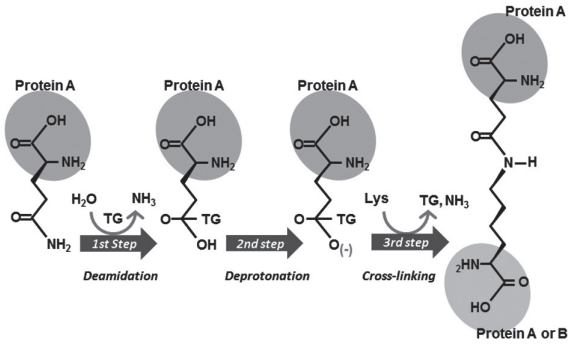


Fig. 3. Pathway to acyl transfer reaction mediated by transglutaminase. Cross-linking of heterologous proteins are mediated by deamidation and deprotonation steps (Hong and Xiong, 2012).

된다(Hong and Xiong, 2012). Deamidation이 발생되면 기질의 용해도가 증가하는 것으로 보고되고 있으며, 이는 기질의 glutamine이 glutamic acid로 전환되는 과정에서 생성되는 이화학적 특성 변화로 예측되고 있다(Hong and Xiong, 2012; Ramírez-Suárez and Xiong, 2003). 이온 강도는 기질의 용해도에 영향을 미치며, 따라서 촉매 반응의 강도에 관여한다(Fig. 4). 기질의 등전점 이상의 pH에서는 이온강도를 높여 기질 용해도를 높인 경우가 교결합반응이 효과적으로 발생하는 반면, 등전점 이하의 pH에서는 이온강도가 높을수록 기질의 용해도가 저하되어 deamidation 반응 강도가 저하되는 결과를 나타낸다. 따라서 TGase에 의한 식육가공 제품의 조직감 개선을 위하여 적정 pH 및 이온강도가 필요하다.

## 2) Alginate 를 이용한 식육가공품의 물성증진

### (1) Alginate와 TGase의 조합 활용

Sodium alginate (SA)는 갈조류에서 추출되는 다당류로 증점제, 젤화제 및 안정제로 이용되는 식품첨가물이다. SA는 칼슘이온의 존재 하에서 혹은  $pK_a$ 보다 낮은 pH 영역에서 겔을 형성할 수 있는 능력이 있다. 보편적으로 칼슘 조합을 통하여

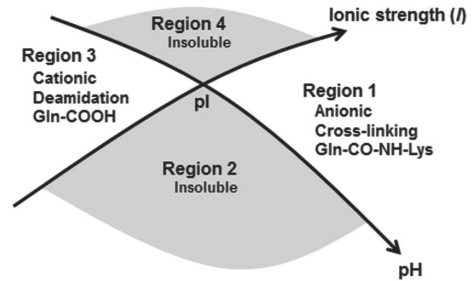


Fig. 4. Relationship of pH and ionic strength (or salt concentration) on catalytic action of transglutaminase. Region 2 and 4 reflect that the substrate protein is insoluble.

SA 겔을 형성하여 식품에 활용하고 있는데, 칼슘 제로 calcium chloride는 액상에서의 칼슘 해리 속도가 높아 불균일한 겔을 형성하는 문제점이 제기되고 있다. Calcium carbonate (CC)는 낮은 pH에서 칼슘이온을 해리시키는 특성이 있으며, 따라서 식품의 pH를 느리게 저하시키는 glucono- $\delta$ -lactone(GdL)과 system화하여 공동으로 활용할 수 있다(Means and Schmidt, 1986). GdL의 첨가에 따른 느린 pH 저하는 이를 cold-set binder로 활용할 수 있는 가능성을 보이지만, GdL에 의해 형성된 단백질 겔은 낮은 pH에 의한 다량의 수분손실을 나타낸다고 보고되고 있다(Ngapo, 1996). 따라서 Hong과 Chin (2010b)은 SA, CC 및 GdL 조합 첨가에 따른 근원섬유 단백질 겔 형성 속도를 GdL 단독 첨가구와 비교한 결과, 저염 농도(0.1 M NaCl) 하에서는 SA 조합 처리구의 겔 형성 속도가 우수한 반면, 고염 농도(0.3 M NaCl) 하에서는 SA 조합 처리구의 겔 형성 속도가 크게 감소하는 결과를 보고하였다(Fig. 5). 이는 고염 농도 하에서  $Na^+$ 이온과  $Ca^{2+}$ 이온이 경쟁적으로 SA에 작용하여 SA와  $Ca^{2+}$ 이온 간의 반응을 억제함에 기인한 것으로 판단된다. 반면 각 단백질 겔을 가열한 결과, GdL 단독 처리구에서는 첨가 수준의 증가에 따른 수분 손실이 유의적으로 높은 반면, SA 조합 처리는 수분손실을 효과적으로 억제할 수 있다고 보고하였다(Table 1). 따라서 SA의 첨가는 식육 가공품의 수율을 향상시키는 측면에서는

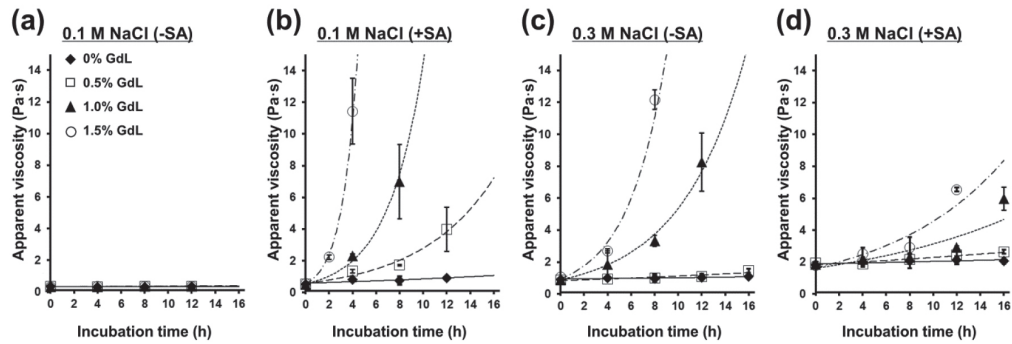


Fig. 5. Effects of glucono- $\delta$ -lactone (GdL) concentrations on the apparent viscosity of myofibrillar sol as a function of time. Myofibrillar protein was consisted of 0.1 M (a, b) and 0.3 M NaCl (c, d) without (a, c) and with sodium alginate (b, d) (Hong and Chin, 2010b).

긍정적인 역할을 제공하는 반면, 일반적으로 식육 가공품은 1.5% 내외의 소금을 첨가하므로, 제품의 조직감 형성 측면에서는 부정적인 역할을 제공할 수 있다. 이를 보완하기 위하여 Hong과 Chin(2010a)은 TGase와 SA를 조합으로 첨가하여 다양한 염농도 하에서 근육단백질의 겔 형성 특성을 평가한 결과, TGase와 SA를 조합 첨가하는 경우 겔 형성 속도가 염농도에 영향을 받지 않음이 관찰되었다(Fig. 6). 특히 TGase 단독 처리시 야기되는 가열수율의 저하를 SA와 조합 사용함으로써 일부 억제할 수 있었다(Table 2). 따라서 TGase에 의한 식육 가공품의 조직감 향상과 더불어 함께 첨가된 SA에 의한 수분 결합을 효과적으로 유도할 수 있었으며, 이는 향후 다양한 식육

가공제품 생산에 적용 될 수 있는 효과적인 결착제로 적용이 가능하였다.

(2) Binder로서 SA와 TGase의 최적 첨가비 산출

단백질 겔의 이화학적 특성 향상 측면에서 TGase에 의한 조직감 개선과 SA 첨가에 의한 수율 향상이 기대된다. 따라서 TGase와 SA는 근원섬유 단백질과 다양한 결합력을 유도하는데, TGase는 근원섬유 단백질의 공유결합을 야기하는데 반하여, SA system은 SA 자체에 의한 수소결합, system에 포함된 CC에 의한 정전기적 작용, GdL에 의한 pH 저하로 소수성 결합을 유도하여 단백질 겔의 물리적 특성에 영향을 미친다(Belitz *et*

Table 1. Influences of sodium alginate (SA) system, salt and glucono- $\delta$ -lactone (GdL) concentrations on cooking yields of myofibrillar protein gels

GdL (%)	0.1 M NaCl		0.3 M NaCl	
	-SA1)	+SA	-SA	+SA
0	55.6 ± 4.34 <sup>w,c</sup>	99.3 ± 1.03 <sup>w,a</sup>	95.7 ± 3.44 <sup>w,b</sup>	99.7 ± 0.82 <sup>w,a</sup>
0.5	53.7 ± 2.94 <sup>w,c</sup>	99.0 ± 1.67 <sup>wx,a</sup>	87.0 ± 1.10 <sup>x,b</sup>	96.3 ± 5.13 <sup>wx,a</sup>
1.0	48.7 ± 3.01 <sup>w,c</sup>	97.0 ± 1.10 <sup>w,a</sup>	82.3 ± 2.94 <sup>y,b</sup>	92.7 ± 6.15 <sup>xy,a</sup>
1.5	48.7 ± 3.93 <sup>x,c</sup>	89.7 ± 3.44 <sup>y,a</sup>	72.7 ± 4.68 <sup>z,b</sup>	90.0 ± 5.66 <sup>y,a</sup>

1) SA, 0.5% sodium alginate and 0.2% calcium carbonate; -SA, without SA; +SA, with SA.

<sup>w-z</sup> Means with different superscript within same column are significantly different (p<0.05).

<sup>a-c</sup> Means with different superscript within same row are significantly different (p<0.05).

(adopted from Hong and Chin, 2010b)

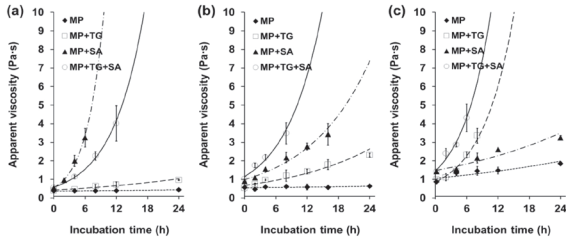


Fig. 6. Effects of microbial transglutaminase (TG) and sodium alginate (SA) system on the apparent viscosity of myofibrillar protein sol at 0.1 M (a), 0.2 M (b) and 0.3 M NaCl (c) (Hong and Chin, 2010a).

al., 2009; Neiser et al., 1999).

따라서 Hong과 Chin (2009)은 TGase와 SA system의 개별 최적 배합비를 반응표면분석 기법(Response Surface Methodology)을 이용하여 산출하였다. TGase는 촉매 기질로 소량의 caseinate (CS)를 활용하였고, SA system은 SA, CC 및 GdL의 농도를 조절하여 최적 배합비를 산출하였다. SA system은 GdL과 SA 농도 겔 형성에 중요한 역할을 담당하고 있으며, 두 성분의 첨가량을 증가시키면 따른 겔강도 증가 효과가 관찰되었다(Fig. 7). 반면, SA system에 의한 겔 강도는 0.1 M 염 농도에서는 높게 평가된 반면, 0.3 M 염농도에서는 저하되는 결과가 나타나게 되었고, 특히 GdL을 고농도로 사용하는 경우 가열 감량의 저하가 현저함이 관찰되었다. TGase는 첨가 수준의 증가에 따른 겔강도 증가가 현저한 반면, 가

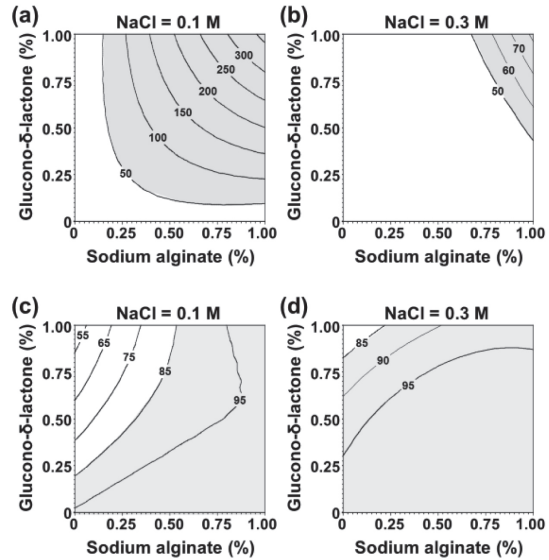


Fig. 7. Effects of component concentrations on the gel strength (a, b) and cooking yield (c, d) of myofibrillar protein gel. The myofibrillar protein gel contained 0.1 M (a, c) and 0.3 M NaCl (b, d), respectively (Hong and Chin, 2009).

열감량의 증가도 현저하게 평가되었다(Fig. 8). 본 연구를 통하여 최적 TGase 농도는 0.6%로 산출된 반면, SA system은 0.25% SA, 0.08% CC 및 0.25% GdL이 최적 배합비로 확립되었다(Fig. 9). 따라서 TGase와 SA system의 조합 첨가를 통한 최적 배합비 산출이 가능하였으며, 각 성분 에 따른 근육단백질의 상도해도를 산출할 수 있었다(Fig. 10). 결국 TGase와 SA system의 조합 사용은 이들이 근원섬유 단백질에 작용하는 작

Table 2. Individual and combination effects of transglutaminase (TG) and sodium alginate (SA) system with different salt levels on cooking yield (%) of myofibrillar protein (MP)

NaCl (M)	Treatment			
	MP	MP+TG	MP+SA	MP+TG+SA
0.1	76.4 ± 5.43 <sup>Cc,1)</sup>	57.1 ± 3.82 <sup>Dc</sup>	94.7 ± 1.85 <sup>Ab</sup>	88.4 ± 5.56 <sup>Bb</sup>
0.2	92.9 ± 2.07 <sup>Cb</sup>	60.9 ± 3.62 <sup>Db</sup>	98.7 ± 1.01 <sup>Aa</sup>	96.5 ± 1.81 <sup>Ba</sup>
0.3	98.2 ± 1.40 <sup>Aa</sup>	67.5 ± 3.59 <sup>Ca</sup>	99.3 ± 1.01 <sup>Aa</sup>	93.5 ± 3.24 <sup>Ba</sup>

<sup>1)</sup>Mean ± S.D. in six replicate determinations.

<sup>A-D</sup>Means with different superscript within the same column are significantly different (p<0.05).

<sup>a-c</sup>Means with different superscript within the same row are significantly different (p<0.05).

(adapted from Hong and Chin, 2010a)

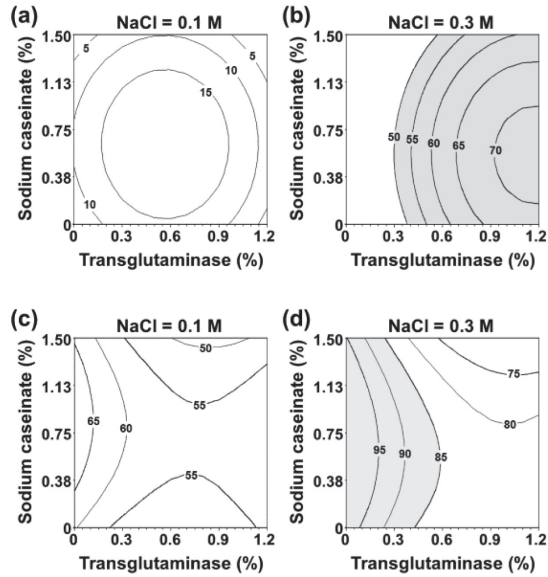


Fig. 8. Effects of component concentrations on the gel strength (a, b) and cooking yield (c, d) of myofibrillar protein gel. The myofibrillar protein gel contained 0.1 M (a, c) and 0.3 M NaCl (b, d), respectively (Hong and Chin, 2009).

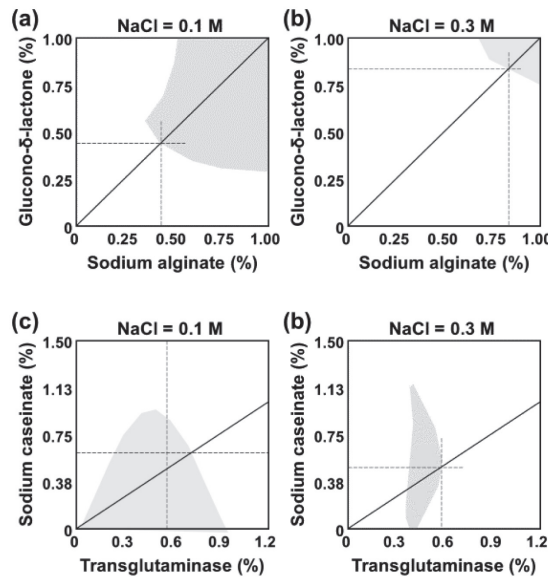


Fig. 9. Optimization of sodium alginate (SA) system and microbial transglutaminase (TGase) system. SA system was consisted of SA, glucono- $\delta$ -lactone and calcium carbonate, while TGase system was composed by TGase and sodium caseinate (Hong and Chin, 2009).

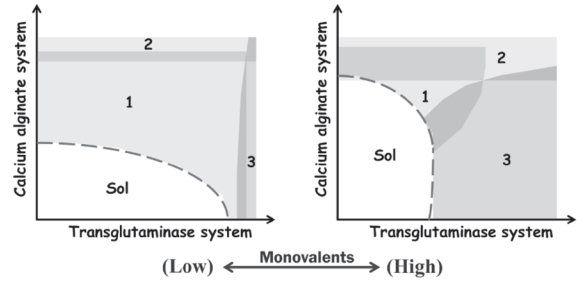


Fig. 10. Phase diagram of myofibrillar protein. Outer of boundary (dashed line) reflects that myofibrillar protein exists as gel. Each region indicates alginate gel (1), acidic gel induced by glucono- $\delta$ -lactone (2) and cross-linked gel (3) (Hong and Chin, 2009).

용력의 균형에 따라 효과적으로 젤을 형성할 수 있었으며, 이는 식육가공품의 염 농도에 크게 영향을 받는 것으로 판단되었다.

### 3) TGase로 유도된 어육근원섬유단백질의 근장단백질 첨가효과

#### (1) 보수성 증진효과

수리미(surimi)는 기계로 채육한 어육을 수세한 후 냉동변성 방지제를 넣고 동결시킨 어육 반가공품으로 어묵류, 어육햄 및 어육소시지와 햄버거 등 다양한 수산가공품에 사용되고 있다(Choi, 2003). 수리미 가공공정에서 수세에 의하여 지방, 혈액, 색소, 향미 및 수용성 단백질이 제거되고 근원섬유 단백질의 함량이 농축되어 단백질의 겔 강도와 탄성을 향상시키는 매우 중요한 공정이다. 수세되어 씻겨나가는 어육 근장단백질(fish sarcoplasmic protein)은 주로 물에 녹거나 저이온 강도에서 용해되는 단백질로서 총 100 kg에 약 1.6 kg의 단백질만이 수리미 단백질로 남음으로써 그 손실은 막대하기 때문에 이러한 씻겨나가는 어육의 수용성 단백질을 이용한 재활용은 그 경제적 가치가 크다고 하겠다(Lin *et al.*, 1995). 또한 대부분의 경우에 있어서 근장단백질의 첨가로 인해 근원섬유단백질의 겔강도가 약해지지만

(Hashimoto *et al.*, 1985) 고등어류(mackerel)는 근장단백질이 첨가함에 따라 오히려 겔강도가 증가한다고 보고하였다(Morika and Shimizu, 1990). 특히 milkfish로부터 추출한 근원섬유단백질의 겔이 약해지는 모도리(modori) 현상은 근장단백질을 첨가함에 의하여 일부 제어될 수 있다고 보고하였다(Ko and Hwang, 1995). 또 한편으로 Threadfin bream종을 이용한 수리미 제조에서 잉어로부터 추출한 근장단백질의 첨가는 겔을 더욱 강하게 만들었고, Rockfish로부터 추출한 근장단백질은 겔 강도에 좋은 영향을 주었다고 보고하였다(Kim *et al.*, 2005). 따라서 첨가하고자 하는 근장단백질의 종류와 함량에 따라서 겔강도에 미치는 영향은 달라질 수 있다.

(2) 겔강도 증진효과

Hemung과 Chin(2013)은 약 30에서 35 cm 크기의 도미(red sea bream) 살코기를 발라내어 Xiong (1993)의 방법으로 근원섬유단백질을 추출하였으며 근장단백질은 증류수로 계속 수세 한 후 원심분리 후 상등액을 취하여 동결건조 후 분말화시켰고 분말의 단백질 함량은 약 74~75% 정도이었다. pH 6.25에서 0.3~0.6 M의 식염농도로 약 4%의 근원섬유단백질에 근장단백질의 함량을 0.1~1.0% 달리하며 겔 강도를 측정하였다. TGase를 첨가하여 어육 근원섬유 단백질과 근장단백질을 첨가하여 점성을 비교한 결과 shear rate이 증가할수록 shear stress가 낮아지는 shear thinning behavior 특성을 가지게 되고 각각의 shear rate에서는 근장단백질의 첨가량이 많을수록 오히려 낮은 stress를 보이고 있으며 식염농도(0.3 vs 0.6 M)에 따라서는 큰 차이를 보이지 않았다. 한편 전기영동에 의한 어육의 근원섬유 단백질과 근장단백질을 이용한 단백질의 패턴을 살펴보면 일반적인 근원섬유단백질에서는 200 KDa의 어육 myosin 단백질과 43 kDa의 어육 액틴 단백질이 존재하고(Fig. 11 a), 근장단백질은 약 10여 개가 존재하며 대부분의 근장 단백질은 분자량이

30~40 kDa 범위내로 존재한다(Fig. 11b) (Nakagawa *et al.*, 1988). 한편 Fig. 11c는 식염농도 0.3과 0.6 M에서 근장단백질의 첨가량에 따른 단백질의 패턴을 보여주는 것으로 저 식염농도(0.3 M)가 고 식염농도(0.6 M)에 비하여 오히려 근원섬유단백질의 용해도가 좋았으며 따라서 TGase에 좋은 기질로 작용하여 겔 형성에도 좋은 영향을 주었다. 하지만 단백질분해효소가 일부 함유되어 있는 근장단백질의 분해로 인해 겔 강도를 감소시킬 것으로 예상하였으나 근장단백질의 함량에 상관없이 유사한 함량을 보임으로써 근장단백질의 첨가는 예상한 것만큼 그렇게 나쁜 영향을 주지는 않았다(Park and Park, 2007). 또 하나의 주목할 사실은 TGase 첨가에 의하여 고분자의 단백질화합물이 생성되었고 근장단백질의 함량에 따라서 50 kDa 분획의 단백질 물질도 점차 생성되어 근장단백질의 경우 근원섬유 단백질의 가

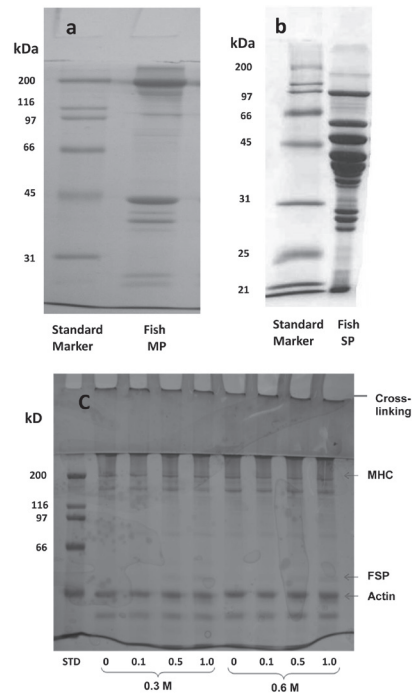


Fig. 11. SDS-PAGE patterns of MP only (a), SP only (b), and MP paste incubated at 4°C for 6 h with MTG and different SP concentrations (c). (Hemung and Chin, 2014)



교결합의 형성을 저해하지 못한 것으로 분석된다(Fig. 11).

근장 단백질 첨가에 따른 가열감량과 겔강도를 살펴보면 식염농도가 낮을수록 가열감량이 높았고 근장단백질의 첨가량이 증가 할수록 가열감량은 감소함을 알 수 있었다(Table 3). 이러한 사실은 근장 단백질 자체가 수분을 보유하는 성상을 일부 가지고 있으며 특히 TGase에 의한 가교결합으로 인하여 나타날 수 있는 수분의 유리현상을 일부 방지할 수 있음을 시사하고 있다. 어육 근원섬유 단백질과 근장단백질을 이용하고 TGase를 일정량 첨가하여 반응한 3차원적인 구조는 주사현미경으로 관찰할 수 있으며 특히 근장단백질의 첨가는(Fig. 12b, c, d) 단백질 3차구조에 영향을 주지는 못했고 근장단백질의 첨가량이 많아짐에 따라 첨가하지 않은 구조(Fig. 12a)에 비교하여 외부구조가 촘촘하고 부드러운 느낌을 주었으며 이러한 현상은 식염농도가 높아짐에 따라 더욱 두드러짐으로써 구조적으로 안정감을 주는 것으로 판단된다.

4) 산과 알칼리로 처리한 어육 근장단백질이 근원섬유 단백질 겔특성에 미치는 영향

근장단백질의 특성을 결정짓는 특성 중에 pH가 중요한 역할을 하고 있는데 왜냐하면 pH에 따라서 기능이 달라지기 때문이다. Tadpitchayangkoon 등(2010)은 어육 근장 단백질을 산과 알칼리 처리하여 변성시키면 오히려 근원섬유 단백질과

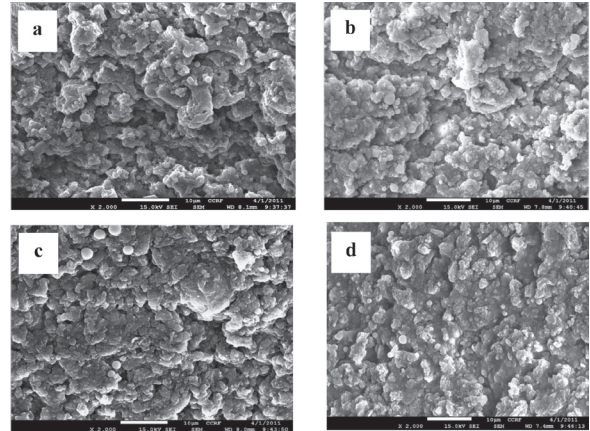


Fig. 12. Microstructure (magnification x 2000) of MTG-mediated MP gels prepared with/without SP (1 g/100 g). (a) = 1.8 g/100 g NaCl/without SP, (b) = 1.8 g/100g NaCl/with SP, (c) = 2.6 g/100 g NaCl/without SP, and (d) = 2.6 g/100 g NaCl/with SP. (Hemung and Chin, 2014)

의 반응을 저해함으로써 근원섬유단백질의 겔 특성을 잘 유지시킬 수 있도록 하였다고 보고하였다. 따라서 수리미 제조시 부산물로 처리하는 근장 단백질의 성상을 조절하여 겔 특성을 높이고 보수성을 증진할 수 있는 방법이 시도되었다.

도미(Red sea bream)를 이용하여 근원섬유단백질과 근장단백질을 추출하였고 TGase를 이용하여 가교결합을 유도하였다. 특별히 추출한 근장 단백질의 분말을 산과 알칼리를 이용하여 각각 pH 3과 12로 변환시킨 후 다시 중성부분으로 조정 한 후 동결 건조시켰다. 이전 방법(Xiong, 1993)과 동일하게 어육 근원섬유 단백질 농도를 4%로,

Table 3. Cooking loss (%) of MTG-mediated MP gels prepared at different NaCl and SP concentrations

NaCl (M)	SP concentration (g/100g)			
	0	0.1	0.5	1.0
0.3 M	38.77 ± 1.73 <sup>Aa</sup>	35.81 ± 1.14 <sup>Ab</sup>	32.64 ± 0.22 <sup>Ac</sup>	28.08 ± 0.07 <sup>Ad</sup>
0.6 M	31.92 ± 1.76 <sup>Ba</sup>	28.86 ± 0.72 <sup>Bb</sup>	26.91 ± 0.68 <sup>Bc</sup>	25.11 ± 0.23 <sup>Bd</sup>

Mean ± SE was calculated based on 5 replicates.

<sup>A,B</sup> Different letters in the same column (salt concentrations) are statistically different (P < 0.05).

<sup>ab</sup> Different letters in the same row (SP concentrations) are statistically different (P < 0.05).

(adapted from Hemung and Chin, 2013)



식염농도 약 0.3 M로 조정하고 pH가 6.25인 상태에서 준비한 산성 및 염기성 근원섬유단백질을 각각 0.5%과 TG를 1% 첨가하고 냉장상태에서 약 6시간 배양 후 가열 겔 특성을 조사하였다.

가열 전 측정된 점성은 알칼리로 변성시킨 근장단백질을 4%의 근원섬유 단백질에 첨가한 경우 높았으나 산으로 처리한 경우 최고치를 보였다. 이러한 결과는 산이나 알칼리로 처리한 경우 근장단백질의 분말에 흡수에 의한 보수성에 증가를 가져왔으며 이어서 점성의 증진의 결과를 초래하였다. 따라서 수화된 단백질의 분자간의 상호결합은 농축된 단백질의 점성에 크게 기여하는 것으로 알려졌다(Bonisch *et al.*, 2007). 가열 전과 후의 겔 특성을 비교하기 위한 방법으로 주사열량분석(Differential scanning calorimetry)법이 있으며 이는 가열 중에 나타나는 peak의 시간과 크기에 따라 달라지는데 일반적으로 육 단백질 내의 3개의 피크로 나누어 지는데 3개의 피크는 각각 76°C(actin), 63°C(myosin tail), 52°C(myosin head)으로 구분되는데 이러한 3개의 peak는 식염 농도나 pH, 외부의 환경에 따라 변화한다(Deng *et al.*, 2002). 하지만 동일한 조건에서의 피크의 위치나 크기의 변화는 그 단백질이 가지고 있는 상이 바뀌게 되는 것이다. 본 실험에서 변성시키지 않은 순수 어육 근장단백질을 어육 근원섬유단백질에 첨가할 때 높은 열 안정성을 보였고 이것은 근장단백질이 근원섬유 단백질 중 myosin 꼬리부분과 일부 결합하여 열안정성이 높아진 것으로 해석된다. 반면 pH에 의하여 변성된 근장단백질을 첨가할 경우 세번째 피크가 좀 더 낮은 온도부분에서 발견되었는데(Fig. 13) 이는 알칼리 처리가 오히려 열안정성을 낮추어진 것으로 판단된다. 즉 pH를 산이나 알칼리로 일부 변성된 근장단백질의 사용은 근장단백질과 근원섬유단백질의 반응을 취소화하여 열안정성을 낮추는 결과를 초래하였다.

가열 후 측정된 가열감량은 근장 단백질을 첨가할수록 낮았고 산이나 염기를 처리한 근장 단백질과 그렇지 못한 단백질간의 차이는 보이지

않았다(Table 4). Ramirez 등(2007)은 수리미로부터 유리되는 유리수분은 불용성물질의 첨가로 일부 감소되거나 복원될 수 있다고 보고하였다. 이는 TGase의 반응으로 유리된 수분이 변성되거나 변성되지 않은 근장단백질에 흡수되어 점성이 높아짐으로써 일부 팽윤된 것으로 유추할 수 있다. 반면 겔강도에 있어서는 산이나 알칼리로 변성시킨 것은 그렇지 않은 근장단백질을 근원섬유단백질에 혼합하여 TGase로 반응시킨 것에 비하여 높았고 근장 단백질을 첨가하지 않은 대조구와 유사함으로써 변성을 시킨 단백질의 겔강도는 그렇지 않은 근장 단백질보다 겔강도가 높았다(Table 4).

### 3. 결론

TGase는 근육 단백질 겔을 형성하는데 효과적이며, 따라서 cold-set binder로 활용이 가능하며, 소량의 TGase 첨가는 식육가공품의 조직감을 개선하기 위한 대표적인 첨가물이다. 반면 TGase에 의한 단백질간의 작용 강화는 부가적으로 단백질과 수분간의 작용을 약화시키며, 이는 최종 제

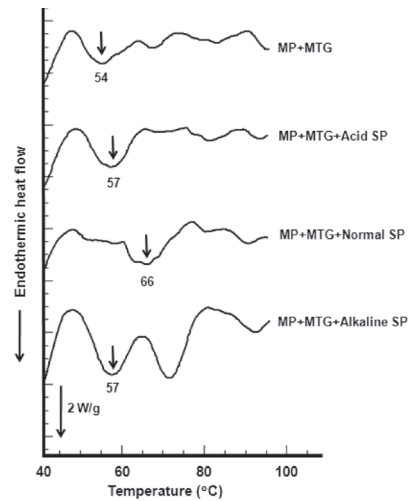


Fig. 13 Thermogram from the differential scanning calorimetry of fish MP mixture incubated at 4°C for 6 h with MTG and different types of SP at 0.30 M NaCl. (Hemung and Chin, 2014)



Table 4. Hunter color values and gelling properties of MTG mediated MP gels prepared with different types of SP

Properties	Treatments			
	MTG	MTG+Acid SP	MTG+Normal SP	MTG+Alkaline SP
Hunter <i>L</i> value	82.5 ± 1.5 <sup>b</sup>	83.5 ± 0.7 <sup>a</sup>	82.8 ± 0.4 <sup>a</sup>	83.3 ± 0.5 <sup>a</sup>
Hunter <i>a</i> value	1.0 ± 0.4 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.2 <sup>a</sup>
Hunter <i>b</i> value	5.2 ± 0.5 <sup>c</sup>	-4.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	-4.9 ± 0.3 <sup>c</sup>	-4.5 ± 0.2 <sup>b</sup>
Cooking loss (%)	32.65 ± 2.0 <sup>a</sup>	28.55 ± 0.3 <sup>b</sup>	26.35 ± 0.4 <sup>c</sup>	26.65 ± 0.3 <sup>bc</sup>
Breaking force (gf)	622.2 ± 102 <sup>a</sup>	561.0 ± 83 <sup>a</sup>	435.2 ± 73 <sup>b</sup>	573.4 ± 74 <sup>a</sup>

Mean ± SE was calculated based on 4 replications.

<sup>a,b</sup> Different letters in the same row are different ( $P < 0.05$ ).

(adapted from Hemung and Chin, 2014)

품의 수율을 저하시키는 결과를 초래한다. 이를 해결하기 위하여 첨가한 SA는 자체 겔 형성 능력을 보유하고 있으며, CC 및 GdL과 조합하여 cold-set binding system으로 적용이 가능하다. 따라서 SA system에 의한 조직감 개선이 기대되며, 수분과의 결합을 통한 가열수율 저하를 방지함으로써 TGase와 SA system은 상보적으로 식육제품 제조에 활용할 수 있었다. 또한 TGase에 의한 공유 결합으로 유리되는 수분의 삼출을 방지하기 위하여 친수성 콜로이드 뿐만 아니라 단백질도 사용되는데 특히 수리미의 제조 중에 버려지는 어육 근장단백질을 이용하였으며 어육 근장단백질의 첨가는 가열수율을 방지하여 보수성을 좋게 하였으며 특히 저 식염농도(0.3 M)에서 고 식염농도(0.6 M)에 비하여 용해성이 높아서 나타나는 현상으로 사료된다. 한편 근장단백질을 산이나 알칼리로 변성시킨 후 다시 pH를 중성으로 조절하여 이용하면 단백질의 변성으로 인한 근원 섬유단백질과의 반응을 최소화하여 겔 특성을 향상시키며 기존의 근장 단백질을 첨가 하였을 때에는 보수성만 좋아졌지만 이와 같이 산과 알칼리를 이용한 단백질 변성기술로 근원섬유단백질과 반응을 최소화하여 보수성 뿐만 아니라 겔강도 향상시킬 수 있었다. 따라서 본 연구를 통하여 TGase 사용에 따라 나타날 수 있는 보수력의 감소를 SA system의 활용으로 일부 복원할 수 있으며, 수리미 제조시에 버려지는 어육 근장단백질

을 보수성 및 겔강화 소재로 최대한 활용함으로써 우수한 품질의 식육 및 수산제품개발에 적용이 가능할 것으로 기대된다.

### 참고문헌

1. Belitz, H. D., Grosch, W., and Schieberle, P. (2009) *Food Chemistry* (4th ed.). Springer, Munich, pp. 93-157.
2. Bonisch, M.P., Huss, M., Weitz, K., and Kulozik, U. (2007) Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yogurt gel properties. *International Dairy J.* **17**, 1360-1371.
3. 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.
4. Choi, S. H. (2003) Seafood Processing. In: *The Science and Technology of Meat Science and Technology*. Park, H. K *et al.* (ed). Sun Jin Mun Wha Sa, Seoul Korea. pp. 430-442.
5. Deng, Y., Rosenvold, K., Karlsson, A. H., Horn, J., hedegard, J., Steffensson, C. L. *et al.* (2001) Relationship between thermal denaturation of porcine muscle proteins and water holding capacity. *J. Food Sci.* **67(5)**, 1642-1647.
6. Folk, J. E. (1980) Transglutaminase. *Ann. Rev. Biochem.* **49**, 517-531.
7. Hamm, R. (1986) Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In: *Muscle as food*. Bechtel, P. J. (ed) Academic Press, Inc., NY, pp. 135-199.
8. Han, X. Q. and Damodaran, S. (1996) Thermodynamic compatibility of substrate proteins affects their cross-linking by transglutaminase. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 1211-1217.
9. Hashimoto, A., Katoh, N., Nozaki, H., and Arai, K. (1985) Inhibiting effect of various factors in muscle of pacific mackerel on gel forming ability. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, 425-432.

10. Hemung, B. and Chin, K. B. (2013) Effects of fish sarcoplasmic proteins on the properties of myofibrillar protein mediated by microbial transglutaminase. *LWT-Food Sci. and Technol.* **53**, 184-190.
11. Hong, G. P. and Chin, K. B. (2009) Optimization of calcium alginate and microbial transglutaminase systems to form a porcine myofibrillar protein gel. *Korean J. Food Sci. An.* **29**, 590-598.
12. Hong, G. P. and Chin, K. B. (2010a) Effects of microbial transglutaminase and sodium alginate on cold-set gelation of porcine myofibrillar protein with various salt levels. *Food Hydrocolloid.* **24**, 444-451.
13. Hong, G. P. and Chin, K. B. (2010b) Evaluation of sodium alginate and glucono- $\delta$ -lactone levels on the cold-set gelation of porcine myofibrillar proteins at different salt concentrations. *Meat Sci.* **85**, 201-209.
14. Hong, G. P. and Xiong, Y. L. (2012) Microbial transglutaminase-induced structural and rheological changes of cationic and anionic myofibrillar proteins. *Meat Sci.* **91**, 36-42.
15. Kashiwagi, T., Yokoyama, K. I., Ishikawa, K., Ono, K., Ejima, D., Matsui, H., *et al.* (2002) Crystal structure of microbial transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *J. Biol. Chem.* **277**, 44252-44260.
16. Kim, Y. S., Yongsawatdigul, J., Park, J. W., and Thawomchinsombut, S. (2005) Characteristics of sarcoplasmic proteins and their interaction with myofibrillar proteins. *J. Food Biochem.* **29**, 517-531.
17. Ko, W. C., and Hwang, M. S. (1995) Contribution of milkfish sarcoplasmic proteins to thermal gelation of myofibrillar protein. *Fishery Sci.* **61**, 75-78.
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. Lin, T. M., Park, J. W., and Morrissey, M. T. (1995) Recovered proteins and reconditioned water from surimi processing waste. *J. of Food Sci.* **50**, 4-9.
20. Means, W. J. and Schmidt, G. R. (1986) Algin/calcium gel as a raw and cooked binder in structured beef steaks. *J. Food Sci.* **51**, 60-65.
21. Morioka, K., and Shimizu, Y. (1993) Relationship between the heat-gelling property and composition of fish sarcoplasmic proteins. *Nippon Suisan Gakkaishi* **59**, 1631-1638.
22. Nakagawa, T., Watabe, S., and Hashimoto, K. (1988) Electrophoretic analysis of sarcoplasmic proteins from fish muscle on polyacrylamide gels. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 993-998.
23. Neiser, S., Draget, K. I., and Smidsrød, O. (1999) Interactions in bovine serum albumin-calcium alginate gel systems. *Food Hydrocolloid.* **13**, 445-458.
24. Ngapo, T. M., Wilkinson, B. H. P., and Chong, R. (1996) 1,5-Glucono- $\delta$ -lactone-induced gelation of myofibrillar protein at chilled temperature. *Meat Sci.* **42**, 3-13.
25. Orrù, S., Caputo, I., D'Amato, A., Ruoppolo, M., and Esposito, C. (2003) Proteomics identification of acyl-acceptor and acyl-donor substrates for transglutaminase in human intestinal epithelial cell line. *J. Biol. Chem.* **278**, 31766-31773.
26. Park, J. D., and Park, J. W. (2007) Extraction of sardine myoglobin and its effect on gelation properties of Pacific whiting surimi. *J. Food Sci.* **72**, C202-206.
27. Ramírez-Suárez, 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.
28. Ramirez, J. A., Velazquez, G., Echevarria, G. L. and Torres, J. A. (2007) Effect of adding insoluble solids from surimi wash water on the functional and mechanical properties of pacific whiting grade A surimi. *Bioresource Technol.* **98**, 2148-2153.
29. Tadpitchayangkoon, P., Park, J.W., and Yongsawatdigul, J. (2010) Conformational changes and dynamic rheological properties of fish sarcoplasmic proteins treated at various pHs. *Food Chem.* **121**, 1046-1052.
30. Xiong, Y. L. (1993) A comparison of the rheological characteristics of different fractions of chicken myofibrillar proteins. *J. Food Biochem.* **16**, 217-227.