

## 알칼리 처리하여 회수한 냉동갱치 어육 단백질의 Lysinoalanine 함량

김건배<sup>1</sup> · 이근우<sup>1</sup> · 허성익 · 최영준\*

<sup>1</sup>군산대학교 식품공학과, 경상대학교 해양생명과학부/해양산업연구소

### Lysinoalanine in Protein Recovered from Frozen Belanger's Croaker, *Johnius grypotus*, Using Alkaline Processing

Gun-Bae KIM<sup>1</sup>, Keun Woo LEE<sup>1</sup>, Sungik HUR and Yeung Joon CHOI\*

<sup>1</sup>Major in Food Biotechnology, Kunsan National University, Kusan 573-701, Korea  
Division of Marine Life Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University,  
Tongyeong 650-160, Korea

The formation of lysinoalanine (LAL) in protein recovered from the belanger's croaker, *Johnius grypotus*, using a pH shifting process was measured by amino acid analysis. The LAL peak was detected at 49.24 min, between phenylalanine and histidine peaks in the amino acid analyzer. LAL was not detected in the fish muscle or in protein recovered using the alkaline pH shifting process. LAL was not formed in protein recovered after storage for up to 9 hrs at pH 11, but was detected in the soluble protein fraction at pH 11, followed heating at 90 °C. The myosin heavy chain decreased with storage time at pH 11. The results suggest that the alkaline shifting process for recovering fish muscle protein is safe, and that no LAL forms.

Key words: Recovered protein, Lysinoalanine, Alkaline processing, Belanger's croaker, *Johnius grypotus*

#### 서 론

최근 pH 전이 공정으로 알칼리 pH 조건에서 어육 단백질을 용해하고, 등전점에서 침전시켜 회수함으로써 회수 단백질의 수율을 높이고, 세척수에 포함되어 유출되는 근형질 단백질을 최소로 함으로써 수질 오염을 최소로 하는 새로운 어육 단백질 회수 공정이 소개되었다 (Choi and Park, 2002; Park et al., 2003a; Park et al., 2003b; Kim et al., 2003). 그러나 알칼리 처리에 의한 어육 단백질의 회수 공정은 pH 10-11의 범위에서 어육 단백질을 용해시키는 단위 공정을 포함하고 있기 때문에 lysinoalanine (LAL)의 생성 가능성이 있으며, 이 같은 공정으로 회수한 어육 단백질을 식품의 중간 소재로 사용할 때 LAL로 인한 안전성 관련 논란이 발생할 가능성이 있다. 식품 단백질의 알칼리 공정은 단백질 농축물과 단리물의 생산, 섬유 생성과 같은 단백질 조직화, 거품과 같은 특별한 기능적 특성을 가진 단백질의 생산에 적용하고 있다 (Aymard et al., 1978). 식품 단백질의 알칼리 처리는 필수 및 비필수 아미노산의 화학적 수식의 원인이 될 수 있으며 (Whitaker and Feeney, 1977), 알칼리 처리는 LAL이라 불리는 가교 연결된 Nε (DL-2-amino-2-carboxyethyl)-L-lysine의 형성을 유도한다 (Bohak, 1964). LAL의 형성에 대한 단백질 혹은 단백질 희분의 감수성은 cystine의 함량에 크게 의존하며, 평지씨에서 LAL의 생성은 lysine, cystine 및 threonine의 손실과 상관이 있다고 하였다 (Savoie and Parent, 1983).

우리 LAL은 소장에서 흡수되지만 이용할 수 없기 때문에 단백질의 소화능을 감소시키고 필수 아미노산의 유효성을 감소시킨다 (Damodaran, 1996). 100 ppm의 순수한 LAL 혹은 3,000 ppm의 단백질에 결합한 LAL을 급이한 rat는 nephrocytomegaly를 보이지만 (Woodard and Alvarez, 1967; Woodard and Short, 1973) rat와 대사물질 형태에 차이가 있는 동물에서는 관측되지 않고, 식품에 포함된 수준의 함량과 단백질에 결합한 LAL은 인간에게 nephrotoxicity의 원인이 되지 않는다 (Damodaran, 1996). Miller et al. (1983)은 pH 10인 어육을 90 °C에서 60분 동안 가열하여도 LAL은 검출되지 않았지만, pH 12와 13에서 장시간 가열하면 LAL이 검출되기 때문에 수산가공 공정에서 LAL의 형성은 문제가 되지 않는다고 하였다. 그러나 알칼리 공정 중 LAL의 형성을 최소로 할 필요는 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

##### 재 료

냉동 갱치 (*Johnius grypotus*: 체장, 11.5±0.4 cm; 체중, 17.6±2.4 g)는 부산공동 어시장에서 구입하여 실험실로 운반하고 수도수에서 하루밤 해동시킨 후 두부, 내장 및 꼬리지느러미를 제거하고 meat grinder에서 뼈째로 마쇄한 육에 10%의

\*Corresponding author: yjchoi@gnu.ac.kr

sorbitol을 냉동변성 방지제로 첨가하여 -20℃의 동결고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

#### 알칼리 및 가열 처리

약 30 g의 시료에 9배량의 증류수를 첨가한 후 Ultra Turrax (IKA T25 basic, IKA Works Inc, Wilmington, NC)로 8,000 rpm에서 30초 동안 마쇄하고 1 N NaOH로 pH를 11.0으로 조절하여 1, 3, 5, 10시간 동안 4℃의 저온실에서 방치 한 후, 각각 원심분리 (SUPRA 22K PLUS, Hanil, Korea; 10,000×g, 20분)하여 회수한 상층액을 1 N HCl로 pH 5.0-5.5로 조절하고 원심분리 (10,000×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℃에서 15분, 30분, 1시간 및 2시간 가열한 후 LAL 분석을 위한 시료로 사용하였다.

#### Lysinoalanine (LAL)의 분석

알칼리 및 가열 처리한 회수 단백질을 acetone으로 씻고 원심분리 (3,000×g, 15분)하는 조작을 2회 반복하여 탈수하고, 60℃의 전기항온기에서 하룻밤 건조하였다. 건조한 시료를 mortar로 잘 마쇄한 다음, 이중에서 10 mg을 정확히 달아서 시험관 (13×250 mm)에 넣고 6 N HCl 1 mL를 가하여 탈기하면서 봉한 다음, 110℃에서 24시간 가수분해하였다. 가수분해된 용액을 3G-4 glass filter로 여과하고 60℃에서 감압 농축한 후, 0.01 N HCl로 10 mL로 정용하고 0.20 μm의 membrane filter로 여과하여 40 μL를 아미노산 자동 분석기에 주입하였다. 아미노산 분석은 Biochrom 아미노산 자동분석기 (Biochrom, 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 (9.0 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 8,000 rpm에서 20초 동안 균질화하고 80℃의 항온조에서 30분 동안 흔들어서 가용화시켰다. 용해한 단백질을 원심분리 (3,000×g, 15분)하여 불용성 물질을 제거하고 상층액의 단백질 농도는 Lowry 등의 방법 (1951)에 따라 단백질 농도를 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 겔과 7.5%의 분리 겔에서 실시하였다. 전기영동이 끝난 겔은 Coomassie brilliant R-250 용액에서 하룻밤 염색한 후, ethanol: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 44.850분)과 histidine (retention time, 51.327분) 사이 (retention time 49.243분)에서 검출되었다. 구성 아미노산 분석을 위한 18개 아미노산 표준물질의 크로마토그램 상에는 phenylalanine과 histidine 사이에 어떤 peak도 존재하지 않으며, 검출 시간도 상당한 차이를 갖기 때문에 가수분해물에 있는 다른 아미노산의 방해없이 LAL의 정량이 가능하였다. Raymond (1980)는 LAL을 결합한 단백질은 산 가수분해에 의해 유리되어 고압의 양이온 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 처리한 어육을 6 N HCl로 110℃에서 24시간 가수분해하여 아미노산 자동분석기로 측정하였으며 (Miller et al., 1983), Savoie and Parent (1983)은 평지씨와 대두 단백질을 0.2% 3-(2-aminoethyl) indole을 포함하는 4 N methanesulfonic acid로 110℃에서 24시간 가수분해하여 아미노산 자동 분석기로 LAL를 정량하였다. 그리고 LAL은 산 가수분해에 의해 분해되지 않는다고 보고하였다 (Friedman et al., 1981; 1984).

#### LAL 형성에 미치는 pH 전이공정의 영향

백조기와 깡치 육에서 알칼리 공정 (Park et al., 2003a)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 lysine의 함량도 근육 단백질과 알칼리 회수 단백질 사이에 거의 차이가 없는 것에 미루어 본 연구에서 사용한 알칼리 처리 공정은 LAL을 생성하지 않는 것으로 추정된다. LAL의 형성과 동시에 threonine과 serine은 51%은 감소하며, arginine,

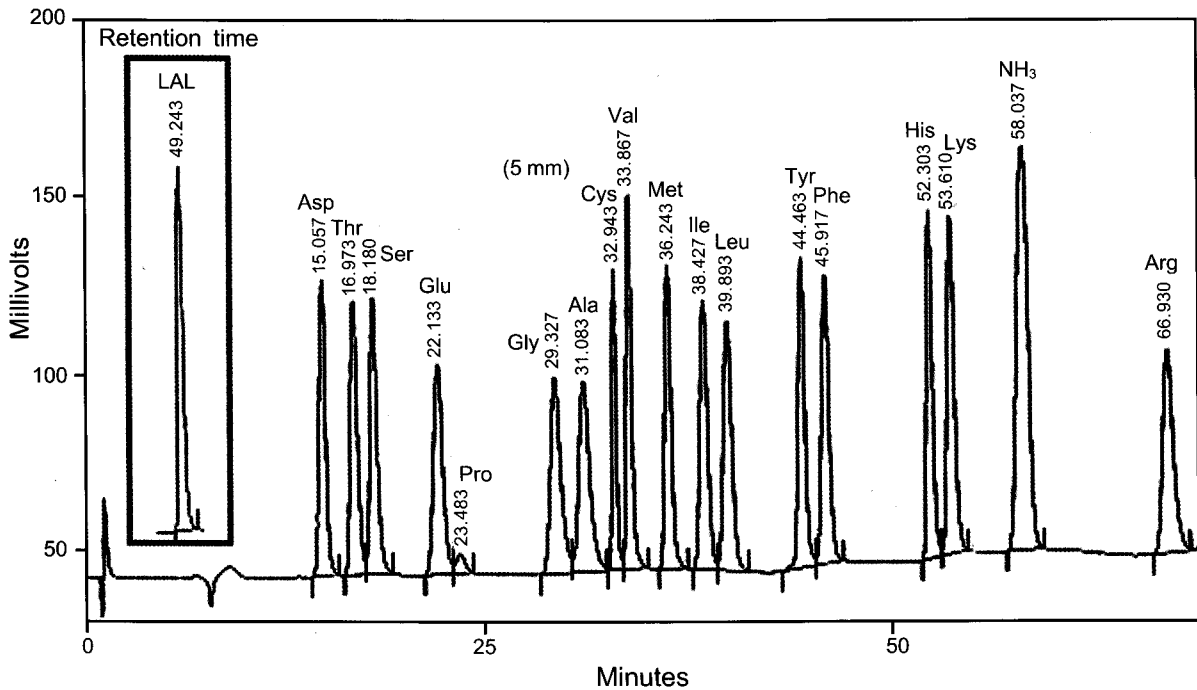


Fig. 1. Retention time of lysinoalanine (LAL) and amino acid profile of sample in amino acid analyzer. Standard LAL of 7 nmol was injected in amino acid analyzer.

Table 1. Amino acid composition of muscle and alkaline recovery protein from white croaker and belanger's croaker (unit: g/100 g-sample)

Amino acid	Muscle		Recovery protein	
	White croaker	Belanger's croaker	White croaker	Belanger's 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
Tyr	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

\*Protein content (total nitrogen×6.25) in sample.

lysine 및 histidine은 각각 40%, 25% 및 28% 감소한다고 보고하였다 (Miller et al., 1983). Cysteine, cystine 및 phosphoserine의

carbanion 유도체는 β-삭제 반응을 겪고 극히 반응성인 dehydroalanine (DHA)을 형성한다. DHA 형성은 carbanion의 형성 없이도 한 단계의 기작을 통해 일어날 수 있다. 반응성이 큰 DHA 잔기는 lysyl 잔기의 ε-아미노기, cysteine 잔기의 thiol기, ornithine 혹은 histidyl 잔기의 δ-아미노기와 같은 친핵성 기와 반응하여 단백질에 lysinoalanine, lanthionine, ornithoalanine 및 histidylalanine 가교결합의 형성을 초래한다 (Damodaran, 1996).

LAL 형성에 미치는 알칼리 및 가열 처리의 영향

어육 단백질 용해 공정과정에 사용하는 알칼리 (pH 11.0) 처리 시간이 LAL의 형성에 미치는 영향을 측정한 결과 (Table 2), 단백질 용해를 위해 pH 11.0에서 1시간, 3시간, 5시간 및 9시간 방치한 후 pH 5.5로 가용성 단백질을 침전시켜 회수한 단백질에서 LAL은 검출되지 않았으며, pH 11에서 처리하여 3시간이 경과한 후 90°C에서 가열한 회수단백질에서도 검출되지 않았다 (Table 3). 이 같은 결과는 LAL의 생성 조건은 높은 알칼리 조건 뿐 아니라 단백질의 종류와 가열 조건도 크게 영향을 미치는 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 형성량은 단백질의 종류에 따라 차이를 보이는 것으로 추정된다. Friedman et al. (1981)과 Liener (1994)는 LAL의 형성에 영향을 미치는 인자들은 pH,

Table 2. Amino acid composition of recovered protein from belanger's croaker after treating in pH 11 during 1 hr, 3 hr, 5 hr and 9 hr (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

\*Protein content (total nitrogen×6.25) in sample.

Table 3. Amino acid composition of recovered protein cooked at 90°C after treating in pH 11 for 3 hr (unit: g/100 g-sample)

Amino acid	Cooking time at 9°C			
	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

\*Protein content (total nitrogen×6.25) in sample.

알칼리 처리 시간과 가열 온도 뿐 아니라 단백질의 종류도 관여한다고 보고하였다. 이 같은 보고에 미루어 pH 전이공정으로 회수한 단백질은 LAL의 형성에 대하여 상당히 안정함을

확인하였다. pH 11에서 용해한 단백질을 각각 24시간과 66시간 경과시킨 후 90°C에서 1시간 가열하고, 등전점 침전 (pH 5.5) 과정을 통해 회수한 단백질에서는 각각 201 mg/100 g-시료와 229 mg/100 g-시료의 LAL이 검출되었다 (Table 4). 이 같은 결과는 단백질을 알칼리 조건에서 가열할 때 LAL이 생성될 수 있음을 지적한다. 따라서 알칼리 pH에서 어육 단백질을 용해시켜 불용성인 근기질 단백질을 제거하고, 2시간 이내에 pH 5.0-5.5의 범위에서 근원섬유 및 근형질 단백질을 침전시켜 회수하는 pH 전이공정은 LAL 형성으로부터 안전함을 확인하였다.

Table 4. Amino acid composition of recovered protein with heating step after storage for 24 hr and 66 hr (unit: g/100 g-sample). A and D 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, followed by heating at 90°C for 1 hr. C and F was solubilized at pH 11, heated at 90°C for 1 h, and then precipitated at pH 5.5

Amino acid	24 hr			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
leu	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/100 g-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

\*Protein content(total nitrogen×6.25) in sample.

알칼리 및 가열처리 시간이 회수단백질 조성에 미치는 영향

가열 시간에 따른 회수 단백질의 분해와 조성의 변화를 SDS-PAGE상에 나타난 단백질 band의 변화로 추정하였다 (Fig. 2). pH 11.0에 용해한 단백질은 시간이 경과함에 따라 myosin heavy chain의 함량이 감소하는 것으로 나타났으며, 중합체 형성은 관측 할 수 없었으나, 근원섬유 단백질에 비하여 actin에 상당하는 분자량 이하에서 뚜렷한 새로운 단백질 띠가 관측되었다. 이 같은 결과는 본 연구의 알칼리 처리 조건이 가교결합의 형성을 유도하지 않았다는 사실을 보여준다.

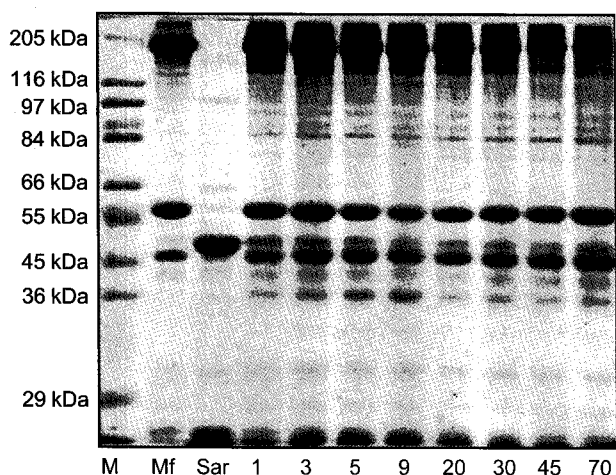


Fig. 2. SDS-PAGE profile of recovered protein with pH treatment and different cooking time. M, wide range marker protein (Sigma, Germany); Mf, myofibrillar protein; Sar, sarcoplasmic protein; 1, 1 hr in pH 11; 3, 3 hr in pH 11; 5, 5 hr in pH 11; 9, 9 hr in pH 11; 20, cooked for 20 min in pH 11; 30, cooked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

청어의 근원섬유 단백질은 pH 2.7에서 분해되나 pH 10.8에서는 분해되지 않는다는 보고 (Underland et al., 2002)와 pH 10.5, pH 11 및 pH 12에서 처리한 어육 단백질의 myosin heavy chain은 양의 변화가 거의 없었다는 보고 (Kim et al., 2003)에 미루어 알칼리 조건에서 myosin heavy chain의 분해는 처리 시간과 밀접한 상관성이 있는 것으로 보인다.

## 사 사

본 연구는 한국해양수산개발원에서 지원한 수산기술개발 사업과제 (관리번호: 20010251) 결과의 일부이며, 연구비의 지원에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Aymard, C., J.L. Cuq and J.C. Cheftel. 1978. Formation of lysinoalanine and lanthionine in various food proteins, heated at neutral or alkaline pH. *Food Chem.*, 3, 1-5.
- Borak, Z. 1964. Nε-(DL-2-amino-carboxyethyl)-L-lysine, a new amino acid formed on alkaline treatment of proteins. *J. Biol. Chem.*, 239, 2878-2887.
- Choi, Y.J. and J.W. Park. 2002. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich Pacific whiting. *J. Food Sci.*, 67, 2962-2967.
- Damodaran, S. 1996. Amino acids, peptifdes, and proteins. In *Food Chemistry*, Fennema, O.R., ed, Marcel Dekker Inc., New York, 321-429.
- Friedman, M., J.C., Zahnley and P.M. Masters. 1981. Relationship between in vitro digestibility of casein and its content of lysinoalanine and D-amino acids. *J. Food Sci.*, 46, 127-131.
- Friedman, M., C.E. Levin and A.T. Noma AT. 1984. Factors governing lysinoalanine formation in soy proteins. *J. Food Sci.*, 49, 1282-1288.
- JMP. 2002. Standard least squares. In *Statistics and Graphics Guide*. SAS Institute, Cary, NC. 179-209.
- Kim, Y.S., J.W. Park and Y.J. Choi. 2003. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fish. Sci.*, 69, 1231-1239.
- Miller, R., J. Spinelli and J.K. Babbitt. 1983. Effect of heat and alkali on lysinoalanine formation in fish muscle. *J. Food Sci.*, 48, 296-297.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lanier, T.C., K. Hart and R.E. Martin. 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, I.E. 1994. Implications of antinutritional components in soybean food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 43, 31-67.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.I. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 256-275.
- Park, J.D., C.H. Jung, J.S. Kim, D.M. Cho, M.S. Cho and Y.J. Choi. 2003a. Surimi processing using acid and alkali solubilization of fish muscle protein. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 400-405.
- Park, J.D., S.S. Yoon, C.H. Jung, M.S. Cho and Y.Y. Choi. 2003b. Effect of sarcoplasmic protein and NaCl on heating gel from fish muscle surimi prepared by acid and alkaline processing. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 567-573.
- Raymond, M.L. 1980. Studies concerning the determination of lysinoalanine in food proteins. *J. Food Sci.*, 45, 56-59.
- Savoie, L. and G. Parent. 1983. Susceptibility of protein fractions to lysinoalanine formation. *J. Food Sci.*, 48, 1876-1877.
- Undeland, I. S.D., Kelleher and H.O. Hultin. 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, J.R. and R.E. Feeney. 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, 1-155.
- Woodard, J.C. and M.T. Alvarez. 1967. Renal lesions in rat fed diets containing alpha protein. *Arch Path.*, 84, 153-162.
- Woodard, J.C. and D.D. Short. 1973. Toxicity of alkali-treated soy proteins in rats. *J. Nutr.*, 103, 569-574.
- 
- 2007년 9월 7일 접수  
2007년 11월 20일 수리