

博 士 學 位 論 文

鷄肉 및 豚肉의 低溫貯藏중 筋肉
蛋白質 特性變化에 관한 研究

濟州大學校 大學院

畜産學科



1986年 12月 日

鷄肉 및 豚肉의 低溫貯藏중 筋肉 蛋白質 特性變化에 관한 研究

指導教授 李 賢 鍾

金 斗 珍

이 論文을 農學 博士學位 論文으로 提出함

1986年 12月 日

金斗珍의 農學 博士學位 論文을 認准함

JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

審査委員長	鄭 昌 奉	
委員	宋 啓 淳	
委員	송 대 진	
委員	李 允 仁	
委員	李 賢 鍾	

濟州大學校 大學院

1986年 12月 日

A STUDY ON CHANGES IN CHARACTERISTICS OF MUSCLE
PROTEINS IN CHICKEN AND PORK DURING CHILLING
AND FREEZING STORAGE

Doo-Jin Kim

(Supervised by Professor Hyun-Jong Lee)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF AGRICULTURE

DEPARTMENT OF ANIMAL SCIENCE
GRADUATE SCHOOL,
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1986. 12.

目 次

Summary	3
I. 緒 論	5
II. 研究史	6
III. 實驗材料 및 方法	12
1. 實驗材料	12
2. 實驗方法	13
1) 筋漿蛋白質과 筋原纖維蛋白質의 調製 分離	13
2) 蛋白質 濃度の 測定	13
3) ATPase 活性的 測定	13
4) SDS-polyacrylamide gel 電氣泳動	14
IV. 結果 및 考察	14
1. 蛋白質 抽出性的 變化	14
1) 筋漿蛋白質 抽出性的 變化	14
A. 冷蔵期間중의 變化	14
B. 凍結貯藏중의 變化	15
C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化	16
2) 筋原纖維蛋白質 抽出性的 變化	17
A. 冷蔵期間중의 變化	17
B. 凍結貯藏중의 變化	17
C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化	18
2. 筋原纖維蛋白質의 ATPase 活性的 變化	19
1) Mg^{2+} - ATPase 活性的 變化	20
A. 冷蔵期間중의 變化	20
B. 凍結貯藏중의 變化	20
C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化	22
2) EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} - ATPase 活性的 變化	23
A. 冷蔵期間중의 變化	23
B. 凍結貯藏중의 變化	23
C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化	25

3) Ca^{2+} - ATPase 活性的 變化	25
A. 冷蔵期間중의 變化	25
B. 凍結貯藏중의 變化	26
C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化	27
4) EDTA-ATPase 活性的 變化	27
A. 冷蔵期間중의 變化	27
B. 凍結貯藏중의 變化	28
C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化	29
3. SDS-polyacrylamide gel 電氣泳動 pattern 의 變化	29
A. 冷蔵期間중의 變化	29
B. 凍結貯藏중의 變化	33
C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化	36
V. 摘要	36
VI. 參考文獻	38



Summary

A STUDY ON CHANGES IN CHARACTERISTICS OF MUSCLE PROTEINS IN CHICKEN AND PORK DURING CHILLING AND FREEZING STORAGE

Doo-Jin Kim

Study was conducted to evaluate the effects of chilling, freezing and storage temperatures on meat quality for prolonging shelf - life of chicken and pork. The extractability of muscle protein, ATPase activities and protein composition of myofibrils were evaluated during the chilling and freezing of chicken and pork. Breast meat from 7 to 8 weeks old hybro broiler chickens and loin from 5 to 7 months old landrace cross pigs were taken postmortem used for the analysis after connective tissues and fat being removed.

The meats samples were finely minced, made into small block to minimize sampling error between animals and parts. Samples were stored at 1°C and used for the determinations at 0, 1, 3, 5, or 7 days of storage. To evaluate the effect of freezing temperature on muscle proteins, samples stored at 1°C for 12 hours and frozen at -40°C or -20°C for 10 hours then stored at -20°C or -10°C for 20 weeks (2 freezing temperatures × 2 storage temperatures × 7 storage periods). To determine the effect of prefreezing on the muscle proteins, samples were stored at 1°C for 96 hours, and frozen at -40°C or -20°C for 1 hours (6 periods × 2 temperatures), and used for the determinations.

The results are summarized as follows:

1. The extractability of sarcoplasmic protein was increased during with the chilling or chilling prior to freezing. However, the extractability increased up to 8-12 weeks during the freezing and tended to decrease thereafter. The extractability of sarcoplasmic protein were not affected by freezing temperature but more by storage temperature.
2. The extractability of myofibrillar proteins from both chicken and pork increased during the chilling but decreased during the freezing storage. The storage temperature had a greater effect on the extractability of myofibrillar protein than the freezing temperature, the extractability decreas-

ing faster rate at -10°C than at -20°C . The extractability of myofibrillar proteins from chicken and pork has tended to increase during 24 hours of Chilling prior to freezing, and decrease gradually in the chicken but no change was observed in the pork. Both chicken and pork showed a greater extractability when frozen at -40°C than at -20°C .

3. Mg^{2+} -ATPase activity in myofibrils of chicken increased up to 3 days of chilling and tended to decrease thereafter, but the pork tended to increase during 7 days of chilling. Mg^{2+} -ATPase activity in myofibrils from pork decreased at a faster rate than that of chicken during the frozen storage. The storage temperature affected more on the Mg^{2+} -ATPase activity than the freezing temperature. Both chicken and pork showed a greater Mg^{2+} -ATPase activity when stored at -20°C than -10°C . Mg^{2+} -ATPase activity in chicken and pork myofibrils increased up to the first 24 hours of chilling prior to freezing and remained unchanged thereafter. A higher Mg^{2+} -ATPase activity was maintained when frozen at -40°C than at -20°C .

4. Addition of EGTA has slightly depressed Mg^{2+} -ATPase activity in the chicken myofibril during the chilling however, no depression was exhibited in the pork. Effect of EGTA decreased as freezing storage advanced, and decreased more rapidly at -10°C than at -20°C . EGTA did not affect the Mg^{2+} -ATPase activity in the pork during the chilling prior to freezing. In contrast, the Mg^{2+} -ATPase activity in the chicken decreased gradually with storage, regardless of the freezing temperature.

5. The activities of Ca^{2+} -ATPase and EDTA-ATPase increased during the first day of chilling and remained unchanged thereafter, and decreased more rapidly when stored at -10°C than at -20°C , regardless of freezing temperature. The activities of Ca^{2+} -ATPase and EDTA-ATPase increased up to 24 hours and 12 hours in the chicken respectively, and plateaued thereafter but did not change in the pork during the chilling prior to freezing.

6. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) patterns of myofibrils from chicken and pork indicated that the complex of tropomyosin and troponin-T was dissociated, and troponin-T gradually disappeared. The concentration of 27,000 dalton compound increased during the chilling in the chicken but a trace of 27,000 dalton compound was detected in the pork myofibrils at 7 days after storage. A similar pattern was observed during chilling prior to freezing. SDS-PAGE patterns show that during the freezing storage, the complex of tropomyosin and troponin-T were dissociated, and troponin-T gradually disappeared with frozen storage.

I. 結 論

우리나라 食肉 총생산량은 1985년 현재 587,311 %으로 그중 鷄肉(126,246 %)과 豚肉(345,206 %)의 생산량은 전체 肉 生産量의 80.27 %를 차지하고 있다. 이들 鷄肉과 豚肉의 생산량은 매년 증가 추세를 보여 1975년을 基點으로 할 때 1985년도에는 鷄肉 227 %, 豚肉 323 %의 급격한 증가를 나타내어 우리나라의 主宗 食肉인 牛肉의 생산량을 증가하고 있는 실정이다.

한편, 우리나라 국민 1인당 年間 肉類 消費量은 1985년도 현재 牛肉 2.9 kg, 豚肉 8.4 kg 및 鷄肉 3.1 kg으로 1975년도에 비해 牛肉은 145 %, 豚肉은 300 % 그리고 鷄肉은 194 %의 증가를 나타내고 있다. (農水産部 1986). 이와 같은 肉類의 소비 추세는 先進國의 소비 형태를 모방하고 있어 앞으로 豚肉과 鷄肉의 加工利用이 더욱 확대될 것으로 예상된다.

豚肉과 鷄肉은 精肉을 調理하여 이용하는 경우와 햄·소세지·베이컨 및 훈연통닭등 肉製品의 原料로 이용되고 있으며, 또한 이것들은 動物性 蛋白質 供給源으로서 중요하므로 食肉은 風味와 保水性이 높고 연한 것이 바람직하고, 햄·소세지 등 肉製品 原料로 利用되는 것은 結着性이 좋은 것이 요구된다.

食肉은 屠殺直後에 保水性이 높고 연하지만 일정기간 경과하면 수축하여 硬直現象을 일으키며, 硬直중에는 질기고 軟度 및 多汁性이 떨어져 調理 및 加工用 原料로서의 品質이 低下된다. 그러나 硬直狀態의 食肉을 더 오래 貯藏하면 解硬이 되어 다시 연하여지고 保水性도 증가하며 맛도 좋아지므로, 좋은 品質을 維持하기 위해서는 解硬이 될 때 까지 食肉을 貯藏할 필요가 있다.

食肉의 貯藏方法으로는 低溫貯藏法, 放射線 照射法, 乾燥法 및 鹽藏法등 여러가지 방법이 있으

나, 그 중 가장 많이 이용되는 것은 低溫貯藏法이다. 食肉의 맛을 改善하고 軟化시키는 수단으로서 氷結點 이상의 貯藏溫度를 이용하고 있으나, 貯藏溫度에서는 食肉을 오랫동안 貯藏하기가 곤란하여 氷結點 이하의 凍結溫度를 이용하여 長期貯藏의 목적을 달성하고 있다. 그러나, 凍結貯藏중에도 食肉은 物理化學的인 作用에 의하여 肉質이 變化를 일으키므로 食肉加工 産業에서 많은 研究가 수행되고 있다.

食肉은 貯藏 및 凍結貯藏중에 pH (Isogai, 1972; Hay 등, 1973), 筋漿蛋白質의 抽出性 (Khan 등, 1963. 1964; Awad 등, 1968; 金과 成, 1983), 筋原纖維蛋白質의 抽出性 (Khan 등, 1963; Davey와 Gilbert, 1968; McCready와 Cunningham, 1971), 筋原纖維蛋白質 結合力的 弱화 (Fujimaki 등, 1965; Culler 등, 1978; Yang 등, 1978), 筋原纖維의 小片化 (Takahashi 등, 1967; Olson 등, 1976), 蛋白質의 變性 (Wierbicki 등, 1954; Bendall과 Wismer-Pedersen, 1962), 酵素的 機能을 갖고 있는 蛋白質의 ATPase 活性의 變化 (Yamamoto 등, 1977; Cheng과 Parrish, 1978. a), 調節蛋白質의 遊離에 의한 SDS-polyacrylamide gel 電氣泳動像의 變化 (Ahmed 등, 1983; Koochmaraie 등, 1984. a) 및 맛 성분의 變化 (Stewart 등, 1945; Asghar와 Yeates, 1978) 등의 物理化學的, 生化學的 變化를 일으키며 이러한 일련의 변화는 食肉의 成分중 주로 蛋白質 變化가 그 原因이 되고 있다.

食肉의 蛋白質은 鹽溶液에 대한 溶解性의 차이에 의하여 筋漿蛋白質, 肉基質蛋白質 및 筋原纖維蛋白質로 나누어지며 그 構成比率은 각각 30 %, 20 % 및 50 % 정도로 되어 있다. 筋漿蛋白質은 일반적으로 鹽濃度 0.2 M 이하에서 可溶性인 區分으로 myoglobin, hemoglobin을 비롯

II. 研究史

하여 解糖系酵素 등 100 여개의 다양한 蛋白質이 함유되어 있다. 肉基質蛋白質은 食肉을 高濃度の 鹽溶液으로 충분히 抽出한 후 그 殘渣에 함유되어 있는 不溶性 蛋白質들로서 collagen, elastin 및 reticulin 등이 포함되어 있고, 食肉의 저장중 變化하지 않는 것으로 알려져 있으나 collagen 분자사이의 架橋結合은 그 강도와 양이 변화한다는 사실이 보고되어 있다. 筋原纖維蛋白質은 높은 이온강도에서 抽出되며 筋肉의 收縮과 弛緩의 주역할을 하는 收縮蛋白質과 이 운동을 직접 또는 간접으로 調節하는 調節蛋白質로 나누어진다.

食肉의 저장중에 일어나는 肉質의 변화는 대부분 筋原纖維蛋白質 변화에 의하는 것으로 알려져 왔으나 動物의 種類 (McIntosh, 1967; Miller 등, 1980), 部位 (Cassens와 Cooper, 1971; Sonaiya 등, 1982), 屠殺前後의 處理狀態 (Abban 등, 1975), 凍結方法 (Yano, 1968) 및 貯藏溫度 (Khan 등, 1963; Chaudhry 등, 1969; Isogai, 1972; Yamamoto 등, 1977) 등 그 變化要因이 많아, 이것을 규명하기 위하여 電子顯微鏡을 이용한 形態的 觀察과 物理化學的 實驗을 통해 그 原因이 解明되고 있으나, 肉質變化에 영향을 주는 그 밖의 要因에 대해서는 해결하여야 할 문제점이 많이 남아 있는 실정이다.

그러므로 本 研究는 低溫貯藏중에 일어나는 鷄肉과 豚肉의 生化學的, 蛋白質化學的 特性變化를 규명하여 長期貯藏에 따른 肉質의 低下를 最小化시켜 原料肉의 加工適性を 維持하며 食肉의 流通過程에서 야기될 수 있는 變化를 抑制하기 위하여 冷蔵期間, 凍結貯藏期間 및 凍結前 冷蔵期間에 따른 筋漿蛋白質 抽出性, 筋原纖維蛋白質 抽出性, myofibril의 生物活性 및 電氣泳動像의 變化를 측정하였다.

食肉은 그 이용가치를 높이거나 長期貯藏을 위하여 低溫에 보존할 때 死後硬直과 熟成段階를 거치면서 여러가지 死後變化를 일으킨다.

食肉의 死後變化에 관한 Erdös (1943)의 研究에서 死後硬直 개시는 근육중의 ATP의 消失과 關聯이 있다고 보고하였으며 그 후 Bate-Smith와 Bendall (1947)에 의해 筋肉중의 glycogen은 嫌氣的 條件하에서 解糖作用에 의해 乳酸을 생성하며 그 과정에서 ATP를 再合成하므로 筋纖維 내의 ATP濃度を 一定하게 유지한다고 報告되면서부터 活發히 이루어졌다.

그 후 Bendall (1951)은 食肉이 硬直에 이르는 과정이 基本的으로 生筋과 같은 형태의 收縮이고, 이 경우 收縮의 속도는 느리고 不可逆的이지만 creatine phosphate가 ATP를 再合成하는데 기여하고 있는 것을 確認하고, 死後硬直 開始는 骨格筋肉의 ATP, glycogen 및 creatine phosphate 등 세가지의 농도에 따라 결정된다는 것이 확인된 후부터 死後硬直에 관한 연구가 多角度로 이루어져 왔다.

Bendall (1960)은 食肉이 硬直에 이르는 과정에서 가장 먼저 일어나는 변화는 creatine phosphate 및 glycogen 含量的 低下이며, glycogen 含量的 低下에 의하여 乳酸이 생성되고 그에 따라 死後 근육의 pH가 저하되어 최종적으로 5.5 정도까지 내려가게 된다고 하였으며, creatine phosphate 및 glycogen이 消失되는 段階에서 ATP含量이 減少됨에 따라 硬直이 일어난다는 ATP學說을 確立하였다.

Bate-Smith와 Bendall (1949)은 死後 筋肉의 物性は 伸展성이 풍부한 硬直 開始前期, 伸展성이 徐徐히 감소하는 硬直 進行期 및 伸展성을

喪失한 硬直 完了期 등의 단계를 거치는 동안 ATP濃도가 크게 달라진다고 하였다.

死後硬直은 Szent-Györgyi (1951) 에 의해서 actin, myosin 및 ATP 세 성분간의 相互作用에 기인된다고 報告되었고, 筋收縮 調節機構는 Ebashi와 Kodama (1965) 이 troponin을 발견한 뒤 解明되었으며, Ebashi와 Endo (1968)는 수축시에 일어나는 神經刺戟이 筋形質膜을 통하여 筋小胞體에 傳達되어 筋小胞體에서 Ca^{2+} 이 放出되고 筋纖維內的 遊離 Ca^{2+} 의 농도를 10^{-5} M이 되게하여 이 Ca^{2+} 이 thin filament에 존재하는 Ca^{2+} 受容 蛋白質인 troponin에 結合하여 actin과 myosin의 相互作用을 조절하게 된다고 하였다.

Nauss와 Davis (1966)는 生筋이 收縮하기 위해서는 刺戟에 의해서 筋小胞體에서 Ca^{2+} 이 放出되는 것이 必須인데 비하여, 死後 筋肉에서는 어떠한 刺戟이 없어도 硬直時와 같은 수축이 일어난다고 하였으며, 이와 같은 非生理的 조건에서는 筋小胞體가 내부에 Ca^{2+} 을 蓄積하는 機能을 喪失하기 때문에 筋小胞體로부터 流出한 Ca^{2+} 의 濃도가 10^{-6} M이상인 되면서 刺戟과 結合하여 thin filament와 thick filament간에 sliding이 일어난다고 하였다.

生體의 mitochondria에는 多量의 Ca^{2+} 을 蓄積하고 있지만 (Vasington과 Murpy, 1962), Carafoli와 Gazzotti (1970)는 調製한 mitochondria의 경우 經時的으로 Ca^{2+} 蓄積能力을 상실한다는 것을 보고하였으며, Buege와 Marsh (1975)에 의하여 이러한 Ca^{2+} 蓄積能力 喪失이 死後 근육에서도 일어나는 것을 確認하고, 筋小胞體 뿐만 아니라 mitochondria에서의 Ca^{2+} 流出이 myofibril 내의 遊離 Ca^{2+} 의 농도를 높이는 데 기여하는 것으로 알려지고 있다.

Locker (1960)는 死後硬直 과정에서 myofi-

bril의 構造單位인 筋節의 길이와 근육의 수축 정도가 食肉의 物性を 좌우한다고 보고하였으며, Herring 등 (1965)은 수축의 정도가 클수록 식육은 단단하여 진다는 것을 確認하였다.

Goll 등 (1964)은 剪斷力 測定 實驗으로 식육의 굳기는 硬直 完了期에 최대가 된 후 徐徐히 감소한다고 하였고, Jungk 등 (1967)도 等尺性張力 (isometric tension) 測定으로 死後硬直時에 최대에 달했던 張力이 徐徐히 저하하여 最終적으로 0이 된다고 報告하였으며, Hill (1952)은 生筋의 筋原纖維에 존재하는 收縮要素 및 彈性要素들이 死後硬直 후에 弱화된다고 하였다.

Locker와 Hagyard (1963)는 屠殺 直後の 牛肉을 $10^{\circ}C$ 이하로 冷却하면 筋收縮이 일어나는 현상을 確認하고 冷却收縮 (cold shortening)이라 하였으며, 이러한 冷却收縮은 소 이외의 동물에서도 赤色筋에서 주로 일어나는 현상이며 (McCrae 등 1971) 白色筋에서는 볼 수 없다고 보고하였다. (Hill, 1972).

Cassens과 Newbold (1967) 그리고 Davey와 Gilbert (1974)는 식육의 pH 및 ATP 농도가 生筋에 가까운 조건하에서 冷却이 刺戟이 되어 筋小胞體에서 Ca^{2+} 이 放出되는 것이 冷却收縮의 要因이라 하였으며, Buege와 Marsh (1975)는 冷却刺戟에 의해서 mitochondria에서 放出되는 Ca^{2+} 도 여기에 관련할 것이라고 시사하였다.

冷却收縮이 食肉을 단단하게 하는 것이 밝혀진 후, 枝肉의 懸垂方法을 개선하여 筋肉組織을 구속하므로써 과도한 短縮을 防止하거나 (Herrin 등, 1965), 屠殺 후 枝肉을 $15\sim 20^{\circ}C$ 에 보관하여 死後硬直에 이르게하므로써 冷却收縮을 豫防하거나 (Smith 등, 1971; Locker와 Daines, 1976), 또는 屠體에 電氣刺戟을 가하여 筋肉內的 諸反應을 強制的으로 加速化하는 방법 (Carse, 1973) 등이 연한 식육을 얻는데 效果的이라고 報告되어

있다.

한편, Ramsbottom과 Strandine (1949) 그리고 Paul 등 (1952)은 死後硬直 상태의 식육은 시간의 흐름에 따라 硬直이 解除되어 軟化한다고 하였으며, 이 현상을 解硬이라 하였고, Zender 등 (1958)은 근육을 無菌적으로 저장하여도 식육이 軟化된다고 하였는데, Davey와 Gilbert (1966)은 牛肉을 2℃에서 30일 간 無菌적으로 저장할 때 근육내 protease의 작용에 의해 생긴 peptide와 아미노산은 全蛋白質量의 2.3%에 불과하다고 하였으며, Galloway와 Goll(1967)은 myofibril에 대한 protease의 작용이 25℃이하에서는 거의 일어나지 않는다고 보고하고, Hamm (1970)과 Goll 등 (1970)은 低溫에서 食肉을 熟成시킬 때 protease에 의한 단백질의 分解는 食肉 軟化의 큰 要因이 되지 않는다고 하였다.

Takahashi 등 (1967)은 解硬된 근육을 均質하여 myofibril을 調製하면 Z-line이 절단되어 1~4개의 筋節로 小片을 이루게 된다고 하였으며, Davey와 Gilbert (1967)은 死後 時間이 경과한 근육에서 調製한 myofibril에서는 Z-line의 光學密度가 低下하였다고 보고하고, Fukazawa와 Yasui (1967)는 저장중에 근육의 Z-line의 微細構造가 變化한다고 하였다. 이러한 小片化는 Takahashi 등 (1967) 그리고 Hattori와 Takahashi (1979)에 의하여 myofibril의 Z-line 構成 蛋白質이 變性 혹은 分解에 의하여 脆弱化되기 때문에 機械的인 힘에 대한 抵抗性を 喪失하여 발생된다고 하였다.

Parrish 등 (1973)과 Olson 등 (1976)에 의하여 Z-line의 脆弱化는 熟成중에 일어나는 肉 軟化의 主要因이라고 보고되어 식육의 熟成度の 指標로 삼고 있다.

Davey와 Gilbert (1969)는 근육을 均質液

에 EDTA를 添加하면 Z-line의 光學密度가 低下하지 않는것을 보고, 2價 ion의 관여를 제시하였으며, Busch 등 (1972. b)은 EDTA存在하에서는 硬直時에 발생하는 張力이 높은 수준을 유지하는데 비하여 Ca^{2+} 존재하에서는 급격히 저하하는 현상으로 보아 Ca^{2+} 이 熟成中 食肉의 軟化 현상에 중요한 역할을 한다고 하였다.

Nakamura (1972)와 Busch 등 (1972. b)는 Ca^{2+} 이 筋纖維 強度를 弱하게 한다고 하였으며, Arnold 등 (1956)과 Nakamura (1973)는 肉組織으로 부터 抽出되는 Ca^{2+} 의 량은 熟成期間 동안에 漸次的으로 증가한다고 하였다.

또한, Cheng과 Parrish (1977)는 Ca^{2+} 으로 處理된 근육에서 分離한 myofibril은 oxalate 處理 또는 無處理한 試料보다 熟成期間 중 troponin-T의 消失과 同時에 30,000 dalton 成分의 出現이 더 빠르게 일어나며, 이는 CAF (Ca^{2+} -activated factor)가 Ca^{2+} 에 의하여 活性化되기 때문이라 하였다. (Koochmarie 등, 1984.b).

Suzuki 등 (1975)은 myofibril에 CASF (Ca^{2+} -activated sarcoplasmic factor)를 작용시키면 α -actinin을 크게 變性시키지 않고 解離시키는 特有的 蛋白質의 分解能力이 있어서 myofibril의 Z-line을 除去하는 것으로 보인다고 하였다.

Dayton 등 (1976. a,b)에 의하면 CAF는 筋漿蛋白質 分劃에 存在하며 最大活性은 1mM Ca^{2+} , pH 7.5에서 나타나고 0.1mM Ca^{2+} 일지라도 활성을 感知할 수 있으나 10mM Ca^{2+} 농도에서는 CAF에 의한 myofibril의 加水分解는 阻害받는다 고 하였으며, Nakamura (1973)도 非生理的 조건하에서는 筋纖維내에 Ca^{2+} 농도가 서서히 上昇하여 最終 농도가 약 2×10^{-4} M이 되면 이 Ca^{2+} 농도에서의 CASF는 거의 活性이 없고, 筋肉의 最終 pH인 5.5附近에서는 活性이 抑制되어 活

성을 나타내지 않는다고 Mellgren 등 (1979) 이 보고하였다.

그리고, Dayton 등 (1975, 1976, a, b)은精製된 CAF가 myofibril에서 α -actinin을分離하고 Z-line을除去하는能力이 매우強하여 tropomyosin, troponin-T, troponin-I 및 C-protein은加水分解할 수 있으나, myosin, actin, α -actinin 및 troponin-C에는 영향을주지 못한다고 하였다.

한편, 食肉은 貯藏되는 동안 筋漿蛋白質중에 creatine kinase가 變性되기 쉬운것으로 알려져있고, Bendall과 Wismer-pedersen (1962)은 筋漿蛋白質이 低溫處理에 의하여 沈澱되면 myofibril 위에 있게 되어서 筋原纖維蛋白質의 抽出性を 阻害하고 保水性을 낮게 한다고 하였다.

低溫貯藏中 食肉의 筋漿蛋白質 抽出性 變化에 관한 研究에서, 金과 成 (1983)은 産卵 老鷄肉을 0℃에 7일간 냉장할 경우 筋漿蛋白質의 抽出性 變化는 거의 없어서 pH의 변화와 같은 차이를 인정할 수 없다고 하였으며, 成 (1983)은 兎肉을 3℃에 냉장하면서 筋漿蛋白質의 抽出性を 經時的으로 측정한 결과 냉장 1일에 抽出性이 증가하다가, 그 이후에는 서서히 감소하여 냉장 7일째에는 거의 新鮮肉 수준이 되었다고 하였으며, 崔 (1980)는 鷄肉의 다리부위를 0℃에 냉장할 때 筋漿蛋白質 抽出性的 經時的인 변화는 1주째에 다소 증가한 후에 점차 감소한다고 하였다.

Chaudhry 등 (1969)은 兎肉과 牛肉의 筋漿蛋白質 抽出性を 貯藏 溫度別로 조사하여, 抽出性的 變化樣相은 동물의 種類 및 貯藏溫度에 따라 다르다고 하였으며, Khan과 Van den Berg (1964)도 鷄肉의 가슴부와 다리부위를 0.2 및 5℃에서 冷蔵하면서 經時的으로 筋漿蛋白質의 抽出性を 검토한 결과, 部位 및 冷蔵溫度에 따라

서로 다른 樣相을 보인다고 하였다.

한편, 氷結點 이하의 溫度에서 凍結貯藏할 때의 研究으로써 Khan 등 (1963)은 鷄肉의 가슴 및 다리 부위를 -80, -18, -10 및 -4℃에서 長期間 貯藏한 결과 貯藏初期에는 筋漿蛋白質 抽出性的 變化가 없었으나, 長期貯藏時 점차 감소되었다고 하였으며, Awad 등 (1968)도 牛肉을 -4℃에 8주 동안 貯藏할 때 筋漿蛋白質의 抽出性是 貯藏期間이 경과되면서 減少되는 현상을 보였다고 하였다.

그러나 成 (1982)은 兎肉을 -20℃에 12주 동안 凍結貯藏하면서 筋漿蛋白質의 抽出性を 經時的으로 비교한 결과, 1~2주까지는 약간 增加하였으나 그 後에는 서서히 減少하는 경향이였으며, 특히 4주 이후에 급격한 減少를 나타내었다고 하였다.

이와 같이 筋漿蛋白質의 抽出性是 食肉의 死後變化를 규명하려는 수단으로 실험되어지고 있지만, 抽出方法 및 貯藏溫度 등 여러가지 要因들이 同一하여야 食肉의 死後變化에 대한 蛋白質의 化學的 特性 變化의 解明을 충족시켜 줄 수 있을 것으로 생각된다.

食肉을 貯藏하면서 死後變化의 特徵을 규명하기 위하여 筋原纖維蛋白質의 特性 變化에 대하여 研究가 수행되고 있으며, 이 때 筋原纖維蛋白質을 個別的으로 抽出하여 실행하기도 하고 (Okitani 등, 1967; Ebashi와 Endo, 1968; Ito 등, 1978), 筋原纖維蛋白質을 모두 함유한 myofibril을 조제하여 조사하기도 하지만 (Yang 등, 1970; Yang 등 (1972); Suzuki와 Goll, 1974; Ikeuchi 등, 1978), Yang 등 (1970)은 後者の 경우에 더욱 死後變化의 原因을 잘 규명할 수 있다고 하였다.

食肉의 貯藏中에 일어나는 變化를 解明하기 위한 方法의 하나로 筋原纖維蛋白質의 抽出性 變化를 비교하고 있으며 (Goll 등, 1970; Yang 등,

1970; Asghar 와 Yeates, 1978) Locker(1960)에 의하여 筋原纖維蛋白質의 抽出性은 死後硬直以前에는 높은 상태이나, 死後硬直時에는 減少하고 熟成期間에는 다시 增加한다고 알려져 있다.

또한, Davey 와 Gilbreth (1968)는 牛肉 및 兔肉을 2℃에 冷蔵하였을 때 筋原纖維蛋白質의 抽出性은 經時的으로 7일까지 增加된다고 하였으며, 成(1983)도 兔肉을 3℃에서 冷蔵할 경우 冷蔵 7일까지 같은 현상을 보였다고 하였다.

한편, 金과 成(1983)은 0℃에서 産卵 老鷄肉을 貯藏할 경우 筋原纖維蛋白質의 抽出性은 전반적으로 서서히 減少하는 경향을 보였으나 有意性은 인정할 수 없다고 하였으며, Chaudhry 등, (1969)은 兔肉을 2℃에 冷蔵할 경우 1일째에는 新鮮肉에 비하여 약 2배의 筋原纖維蛋白質이 抽出되고 그 이후 5일까지는 점차 增加되며, 牛肉의 경우는 冷蔵 13일까지 筋原纖維蛋白質의 抽出性은 계속 增加하였다고 하였다.

Khan 등 (1963)은 鷄肉을 다리부위와 가슴부위로 나누어서 여러가지 동결온도에 貯藏하면서 筋原纖維蛋白質의 抽出性의 變化를 조사한 결과, 낮은 溫度에 貯藏할수록 그 抽出性은 높았고, 貯藏期間에는 큰 차이가 없다고 보고하였으며, Iso-gai (1972)는 豚肉을 -5, -15 및 -25℃에 동결저장하면서 鹽溶性 蛋白質의 抽出性을 비교한 결과, 전반적으로 동결온도가 낮을수록 抽出性의 變化는 적었으며, -15℃ 및 -25℃에 貯藏할 경우 높은 抽出性을 나타내었다고 하였다.

이와 같이 食肉은 低溫 貯藏中 筋原纖維蛋白質의 抽出性이 變化하고 아울러 그 生物活性도 變化하는 것으로 알려지고 있다.

筋原纖維蛋白質의 生物活性 變化는 ATPase 活性의 變化로 표시되는데, myosin의 ATPase 活性은 Ca^{2+} 에 의하여 活性化되고 Mg^{2+} 에 의하여 저해되지만 食肉이 死後硬直 現象을 일으킬 때

myosin과 actin이 결합되어 actomyosin이 形成되면 Ca^{2+} 에 의해 ATPase 活性은 增大된다고 하였으며 (Gergely, 1970; Yang 등, 1974), Bowen과 Kerwin (1954)은 myosin ATPase 活性이 EDTA에 의해서도 增大된다고 하였다.

Actin에 의해서 活性化되는 myosin의 Mg^{2+} -ATPase 活性을 actin-myosin 간 결합의 지표로 할 경우, 筋肉에서 經時的으로 抽出한 actomyosin에서는 어떠한 변화도 발견할 수 없었다고 Hay 등 (1972)과 Yang 등 (1970)이 보고하였다. 또한 Goll과 Robson (1967)은 牛肉을 2℃에서 冷蔵할 때 經時的으로 調製한 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性은 硬直時에는 硬直 後의 값보다 60%정도 增加하고, 熟成完了時에는 屠殺直後의 값과 거의 같은 수준까지 저하하기 때문에 硬直復合體가 형성되면 actin-myosin 간 결합은 강해지지만 그 후 熟成期에는 脆弱化되는 것이라고 하였다.

한편, Busch 등 (1972. a)은 CASF를 短時間 處理할 때 또는 短期間 貯藏時에는 筋原纖維蛋白質의 Mg^{2+} -ATPase 活性을 增加시키지만, 더 긴 時間의 CASF 處理와 長期間 貯藏할 때에는 Mg^{2+} -ATPase 活性을 減少시킨다고 하였으며, Suzuki와 Goll (1974)도 兔肉에서 分離된 CASF는 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性을 增加시킨다고 보고하였다.

成(1983)은 兔肉을 3℃에 冷蔵하면서 經時的으로 抽出한 筋原纖維蛋白質의 ATPase 活性을 비교한 결과 Mg^{2+} -ATPase 活性은 冷蔵 1일에 상승하였다가 그 후 冷蔵 7일까지 서서히 減少하였으나 新鮮肉 수준을 유지하였으며, Ca^{2+} -ATPase 活性은 貯藏 7일까지 점진적으로 높아졌다고 하였다.

또한, Yamamoto 등 (1977)은 鷄肉의 가슴부위를 4℃ 및 -20℃에 冷蔵 및 凍結貯藏하면서

調製한 筋原纖維蛋白質의 ATPase 活性을 조사하여, 冷蔵의 경우 Mg^{2+} -ATPase 活性은 新鮮肉에 비하여 冷蔵 1주째에 약 140%의 높은 活性을 보이고 그 이후에는 變化가 거의 없었으며, 凍結貯藏의 경우 Mg^{2+} -ATPase 및 Ca^{2+} -ATPase 活性은 모두 凍結貯藏 1주째에 높아져서 2주까지 그 수준을 유지하다가 그 이후 점차 減少하여 16주 이후에는 新鮮肉 수준보다도 낮아졌다고 하였다.

Ahmed 등 (1983)은 牛肉과 豚肉을 利用하여 冷蔵期間에 따른 筋原纖維蛋白質의 ATPase 活性 變化는 鹽濃度에 의존하지만 그 變化 樣相은 비슷하다고 하였다.

Cheng 과 Parrish (1978. a)는 豚肉의 赤色肉과 白色肉을 2℃에 冷蔵하면서 經時的으로 調製한 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 및 EDTA-ATPase 活性을 조사하여 白色肉이 赤色肉보다 活性이 높았다고 하였으며, Mg^{2+} -ATPase에 대한 EGTA의 영향은 비슷하게 나타났다고 하였다. 또한 이러한 현상은 pH에 의해서도 크게 좌우된다고 하였다.

姜 (1981)은 鷄肉을 -20℃에 동결저장하면서 調製한 myofibril의 Ca^{2+} -ATPase 活性을 검토한 결과, 貯藏 2주째에 신선육의 130%에 해당하는 最大 活性을 나타내다가 凍結貯藏 期間이 길어짐에 따라 活性은 점차 減少하여 5개월째부터는 新鮮肉보다 낮아졌다고 하였다. 成 (1982)은 豚肉을 -20℃에서 12주 동안 凍結貯藏할 경우 myofibril의 Ca^{2+} -ATPase 活性은 貯藏初期부터 점차적으로 減少하였지만 貯藏 1주에서 4주까지는 거의 같은 수준을 나타내었으며, Mg^{2+} -ATPase 活性은 貯藏 1주에 상승하여 2주까지 큰 변화가 없다가 4주째에 급격히 減少하고 그 후 서서히 감소된다고 하였다.

Ebashi와 Endo (1968)에 의해 Ca^{2+} 感受性

의 저하시에는 tropomyosin-troponin complex의 失活이 예상된다고 보고하였으며 Seki와 Watanabe (1982)는 EGTA存在下에서 Mg^{2+} -ATPase 活性이 經時的으로 상승함에 따라 Ca^{2+} 感受性이 減少된다고 하였으며, 이것은 조절단백질인 troponin-T가 減少하는 것이 하나의 要因이라고 하였다 (Seki 등 1980).

Khan 등 (1963)과 Connell (1960, a.b)은 동결저장중 actomyosin의 溶解度 減少와 더불어 ATPase 活性과 SH-group이 減少되고 이 때 低溫에서 보다 高溫에서 活性의 減少가 뚜렷하다고 하였고, Fukuda 등 (1982)도 myofibril의 ATPase 活性이 동결시키는 溫度보다 貯藏하는 溫度에 더 영향을 받는다고 하였다.

食肉이 貯藏中 熟成의 진행 여부를 판별하기 위하여 많은 研究者들이 SDS-PAGE를 이용하고 있다.

Myofibril 構成 蛋白質들의 含量比는 myosin heavy chain (MHC)이 50%, myosin light chain (MLC) 1.2 및 3이 각각 6.25, 2.5 및 1.25%, G-actin이 20%, tropomyosin이 3%, troponin-T, C 및 I가 각각 2, 1.15 및 1.3%, M-protein과 C-protein이 각각 2% α -actinin이 1%정도 들어 있고 微量成分으로서 β -actinin이 검출되고 connectin은 5%이상의 gel에서는 이동하지 않는다고 하였다. (Pearson 등, 1984).

Bechtel과 Parrish (1983)는 MHC (myosin heavy chain)의 분해 생성물로서 145,000~125,000 dalton 정도의 polypeptid들이 포함되어 있으며 이것들은 10mM의 Ca^{2+} 을 첨가하면 그 농도가 증가된다고 보고하였다.

Hay 등 (1973)과 Yamamoto 등 (1974)은 鷄肉의 熟成 중 SDS-PAGE를 이용한 방법에서 30,000 dalton 成分이 출현되었다고 하였으나 확

실한 根源을 밝히지 못하였으며, Penny 등(1974)은 死後 24 시간 된 牛肉에서 調製한 myofibril에서 30,000 dalton 成分이 나타났다고 하였으나, CAP (Ca^{2+} -activated protease)와 함께 방치하면 troponin-T와 30,000 dalton 成分이 모두 분해된다고 하였다.

Henderson 등 (1970)과 Olson 등(1976,1977)은 troponin-T의 소실과 동시에 30,000 dalton 成分의 출현이 熟成期間 동안의 主要 變化라고 하였고, Koohmaraie 등 (1984. b)은 2 ℃에서 14일간 저장한 牛肉에서 30,000 dalton 뿐만 아니라 110,000, 95,000 및 55,000 dalton 成分이 증가됨을 확인하였다.

Samejima와 Wolfe (1976)는 熟成肉에서 뿐만 아니라, 신선육의 myofibril을 pH 5.4로 하고 40 ℃에서 4시간 배양하면 30,000, 65,000 dalton band가 출현하는 것을 보고, 熟成肉에서 30,000 dalton 성분은 육의 pH와 貯藏溫度가 연관이 있으며, 熟成된 筋肉에서 調製된 天然 F-actin에서도 30,000 dalton band를 볼 수 있으므로, 이 band가 thin filament와 연관이 있다는 것을 제시하였다.

MacBride와 Parrish (1977)는 牛肉의 질긴 부위에서는 30,000 dalton 성분을 발견할 수 없으나, 연한 筋肉에서는 30,000 dalton 成分을 볼 수 있었다고 하였으며, Warner-Bratzler shear force와 官能 軟度檢査를 병행하여 30,000 dalton 成分의 有無에 따라 육의 軟化를 결정하는 指標로 삼는것이 좋다고 하였다.

Penny (1976)는 10 ℃에서 저장된 筋肉에서 troponin-T (37,000 dalton) 성분은 貯藏 3일간은 증가되다가 그 후 감소되었고, 35,000 dalton의 분자량을 가진 別個의 成分이 출현하였으나 30,000 dalton과 25,000 dalton 성분은 숙성이 진행됨에 따라 출현되어, 9일 후에는 이 모든 중간

band들이 gel 끝에서 擴散性的 染色面積만 남기고 사라졌다고 하였다.

차(1982)은 4 ℃에 貯藏되는 雞肉에서 27,000 dalton 성분의 출현과 그 成分이 증가되는 현상이 있다고 하였으며, 이에 따라 MHC의 농도는 낮아짐을 확인할 수 있었다고 하였고, Ahmed 등 (1983)도 貯藏 중의 兎肉에서 27,000 dalton 성분이 출현됨을 보고하였다.

그러나, troponin-T가 myofibril에서 차지하는 비율이 약 2%정도이므로 (Obinata 등, 1981), Takahashi (1983)는 troponin-T의 분해가 軟化 정도의 지표는 될 수 있어도, 이것이 食肉 軟化의 主要因이라는 것은 생각하기 곤란하다고 하였다.

한편, Wierbicki 등 (1954)과 Partmann (1963)도 筋原纖維蛋白質의 抽出性에 관한 실험 결과를 기초로 같은 이론을 지적하였으며, Fujimaki 등 (1965) 그리고 Wolfe와 Samejima (1976)는 actin-myosin complex를 解離시키는데 요하는 ATP 농도를 조사하여, 屠殺直後 natural actomyosin에서는 0.6mM ATP인데 비하여 7일 저장시에는 0.1mM ATP만을 필요로 함을 확인하고, 食肉의 熟成期間 중 actin-myosin 간 결합이 脆弱해질 가능성을 시사하였다.

Ⅲ. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

7週齡의 肉鷄 (hybro; 屠體重 1.6 ~ 1.8 kg)를 屠殺 즉시 가슴근육 (breast muscle)을 切取하여 結締組織과 脂肪등을 제거하고 가능한 작게 細切하여 잘 혼합한 후, 30 g씩 나누어 10 mM NaN₃를 표면에 噴霧한 것을 Al-foil로 싸서 4 × 5 × 1 cm³ 크기로 만들어 폴리에치렌 주머니에 넣어 진공포장한 후 冷蔵 및 凍結貯藏하여

實驗에 이용하였다. 豚肉은 5~7 개월 된 돼지 (landrace 交雜種; 生體重 75~95 kg)의 背最長筋 (longissimus doris muscle)을 尾殺 즉시 切取한 후 鷄肉과 동일한 處理를 하였다.

冷蔵期間에 따른 筋肉蛋白質의 特性 變化 실험에 이용된 試料는 1±1 °C에서 7일간 저장하면서 0 (死後 2~4時間), 1, 3, 5 및 7일째에 실험에 이용하였으며, 凍結貯藏用 試料는 1 °C에서 12시간 동안 豫冷시킨 다음 -40 °C 凍結은 眞空凍結 乾燥器의 片面接觸式 凍結裝置 (停止空氣中)에서, 그리고 -20 °C 凍結은 凍結室 (停止空氣中)에서 10시간 동안 凍結하여 각각 -20 °C와 -10 °C에 저장하면서 0 (凍結直後), 1, 4, 8, 12, 16 및 20週째에 실험에 이용하였다. 凍結前 冷蔵期間에 따른 筋肉蛋白質의 特性 變化를 조사하기 위한 試料는 死後 0~96시간 동안 1 °C에서 냉장하면서 經時的으로 -40 °C와 -20 °C에서 1시간 동안 凍結시킨 다음 半解凍하여 실험에 이용하였다.

2. 實驗方法

1) 筋漿蛋白質 (sarcoplasmic protein)과 筋原纖維蛋白質 (myofibrillar protein)의 調製 分離

筋漿蛋白質과 筋原纖維蛋白質의 分리는 Hasegawa 등 (1970)의 方法을 補完, 試料 4 g을 0.3 M sucrose-0.01 M KCl-0.01 M tris buffer (pH 7.6) 용액 40 ml와 함께 均질병에 넣고 氷水中에서 1분간 均質한 후, 19,000 ×G에서 15분간 遠心分離하여 얻은 上澄液중의 蛋白質을 筋漿蛋白質로 하였다.

筋原纖維蛋白質은 殘渣를 40 ml의 抽出溶液으로 30초간 均질하여 19,000 ×G에서 10분간 遠心分離한 沈殿物에 24 ml의 Weber-Edsall 용액을 가하여 上記 方法으로 均質, 5 °C에서 24시간 방치한 후, 다시 72 ml의 Weber-Edsall 용액을 넣

고, magnetic stirrer로 20분간 攪拌, 28,000 ×G에서 60분간 遠心分離하여 얻은 上澄液중의 蛋白質을 이용하였다.

2) 蛋白質 濃度の 測定

蛋白質 濃度는 micro-kjeldahl 법을 標準化한 biuret 법 (Gornall 등, 1949)으로 측정하였다. 定量은 micro-kjeldahl 법으로 檢定한 bovine serum albumin 標準溶液에 의해 작성된 校正式 (Conc = Abs × K + B, K = 19.689, B = -0.0212)으로 算出하였다.

3) ATPase 活性的 測定

ATPase 活性的 測定은 Fiske-Subbarow (1925) 법에 준하여 실시하였다.

ATPase 活性 測定을 위한 反應液으로 0.5 M tris-maleate buffer (pH 7.0), 8mM MgCl₂, 8mM CaCl₂, 8mM EDTA [ethylene glycol-bis-(β-amino ethyl ether) N, N' tetra acetic acid], 0.015 M KCl, 2.25 M KCl, 8mM ATP (adenosine triphosphate disodium salt), 20% TCA (trichloro acetic acid) 와, 發色液으로 15% H₂SO₄, amidole 시약 (amidole 0.4 g + NaHSO₃, 8.0 g / 100 ml) 그리고 3.3% ammonium molybdate 試藥 등을 준비하였다.

Mg²⁺-ATPase 活性 測定은 2~3 mg/ml의 myofibril 0.5 ml와 8mM MgCl₂ 0.5 ml, 脫이온수 0.5 ml, 8mM ATP 0.5 ml 및 0.5 M tris-maleate (pH 7.0) 1 ml를 넣고, 0.015 M KCl 1 ml를 넣어 混合液 중의 KCl 濃도가 0.05 M이 되도록하였다. 혼합액을 30 °C 水浴上에서 5분간 反應시킨 후, 20% TCA 1 ml를 첨가하여 反應을 정지시킨 다음 2,000 r.p.m에서 5분간 遠心分離하여 얻어진 上澄液 3 ml에 15% H₂SO₄ 1 ml, 3.3% ammonium molybdate 1 ml 및 脫이온

수 4 ml를 넣어 20 분간 發色시킨 후 specrophotometer UV 240 (Shimadzu, P/N 204-58,000) 660 nm에서 吸光度를 測定하고, 無機磷 (KH₂PO₄) 標準溶液에 의해 작성된 檢量曲線의 公式 (Conc = Abs × K + B, K + 0.8876, B = 0.0021) 에 따라 1 mg의 蛋白質에 의하여 1 분 동안 遊離되어 나오는 無機磷 (Pi) 量을 μmole 수 (μmole Pi/mg MF/min) 로서 나타내었다.

Ca²⁺-ATPase 活性 測定은 混合液 中 8 mM MgCl₂ 대신에 8 mM CaCl₂ 0.5 ml를 넣어 Mg²⁺-ATPase 活性和 같은 조건으로 測定하였다.

EDTA-ATPase 活性 測定은 8 mM MgCl₂ 대신에 8 mM EDTA로, KCl 濃度는 0.05 M 대신에 0.6 M KCl이 되도록 하여 역시 Mg²⁺-ATPase 活性和 같은 조건으로 실시하였다.

Mg²⁺-ATPase 活性和에 대한 EGTA의 영향은 混合液 中에 0.5 ml의 脫이온수를 넣지 않고 1 mM EGTA 0.5 ml를 添加하여 Mg²⁺-ATPase 活性和 같은 조건으로 測定하였다.

4) SDS (sodium dodecyl sulfate -polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE))

Shapiro 등 (1967) 과 Weber-Osborn法 (1969) 에 준하여 SDS-polyacrylamide 電氣泳動을 수행하였다.

myofibril 은 0.5 M sodium phosphate buffer (pH 7.0), 10% (w/v) SDS와 β-mercaptoethanol 을 混合하여, 2 mg/ml protein, 0.01 M sodium phosphate buffer (pH 7.0), 1% SDS 및 2% (v/v) β-mercaptoethanol 을 含有하도록 試料液을 만들어 이것을 沸騰水中에서 3 분간 處理하고, 透析液 (0.1% SDS-0.2% β-mercaptoethanol-0.01 M sodium phosphate buffer, pH 7.0) 에서 3 시간 동안 투

석시킨 후, 100 μg의 myofibril 를 gel 상에 가해 gel 당 8 mA의 電流를 약 4 시간 동안 통과시켜 電氣泳動을 실시하고, gel 은 0.12% coomassie blue R-250 염색액으로 하룻밤 동안 염색을 시킨 다음 脫色하여 7.5% acetic acid 용액에 보존하면서, SDS-PAGE pattern의 變化를 densitometer (Toyo, DMU 33C) 를 이용 620 nm (slit 0.5 × 5 nm) 에서 確認하였다.

IV. 結果 및 考察

1. 蛋白質 抽出性의 變化

1) 筋漿蛋白質 抽出性의 變化

A. 冷蔵期間중의 變化

鷄肉과 豚肉의 冷蔵期間중 筋漿蛋白質 抽出性의 變化는 Figure 1 과 같다.

鷄肉과 豚肉의 筋漿蛋白質 抽出量을 屠殺直後에 48.17 mg/g 과 42.81 mg/g 이었던 것이 그 후 냉장 5 일째에는 다소 증가현상을 보여 53.74 mg/g 과 47.98 mg/g 으로 新鮮肉보다 높은 抽出量을 나타내고 있었다.

鷄肉의 抽出性이 豚肉보다 높게 나타난 것은 食肉間의 全蛋白質 含量이 다르기 때문이라고 생각되며, 筋漿蛋白質 抽出性이 감소를 보이지 않는 것으로 보아 냉장기간중의 筋漿蛋白質은 쉽게 變性되지 않는 것으로 推定되었다.

이와 같은 結果는 3℃에 냉장한 兔肉의 筋漿蛋白質 抽出性이 1 일째에 증가하였다는 成(1983)의 研究와, 0℃에 저장한 鷄肉의 筋漿蛋白質 抽出性을 측정한 결과 1 주째에 약 6.5%의 증가를 보였다는 崔(1980)의 報告와는 같은 경향이 있으나, 産卵 老鷄肉을 0℃에서 7 일간 저장할

경우 筋漿蛋白質 抽出性의 變化를 거의 볼 수 없었다는 金과 成 (1983)의 結果와는 차이를 보였다.

이와 같이 筋漿蛋白質 抽出性이 차이를 보이는 것은, 兎肉과 牛肉의 筋漿蛋白質 抽出性을 貯藏 溫度別에 따라 抽出性의 變化 樣相이 다르다는 Chaudhry 등 (1969)의 報告와 鷄肉의 가슴 部位와 다리 部位를 0~5℃에서 냉장할 때 부위 및 냉장온도에 따라 抽出性이 다르다는 Khan과 Van den Berg (1964)의 結果와 같이 筋漿蛋白質 抽出性에 영향을 주는 要因이 많기 때문이라고 생각된다.

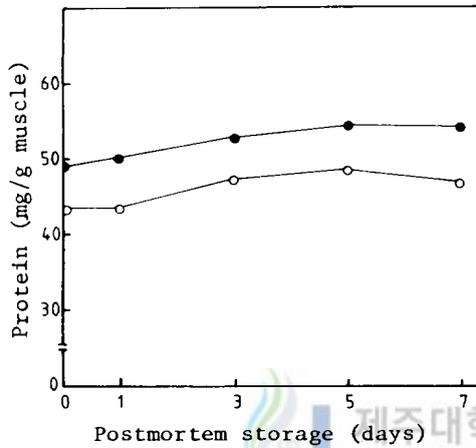


Fig.1. Extractability of chicken and pork sarcoplasmic protein during chilling at 1°C.

●—●: chicken ○—○: pork

B. 凍結貯藏중의 變化

-40℃와 -20℃에서 凍結後 -20℃와 -10℃에 저장한 鷄肉과 豚肉의 筋漿蛋白質 抽出性의 變化를 Figure 2에 나타내었다.

鷄肉은 凍結直後 筋漿蛋白質 抽出性이 46.63 mg/g 이었고 12주 (-20℃) 및 8주 (-10℃)에는 51.96 mg/g 및 48.84 mg/g 으로 다소 증가되었으나, 그 후 점차 감소하여 貯藏末期에는 凍結直

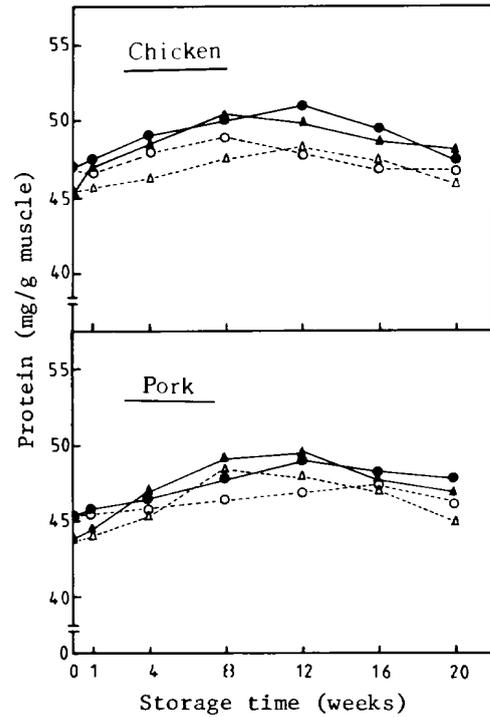


Fig.2. Extractability of chicken and pork sarcoplasmic protein freezing at -40°C or -20°C, stored at -20°C and -10°C.

●—●: Fr. temp. -40°C, St. temp. -20°C
○—○: Fr. temp. -40°C, St. temp. -10°C
▲—▲: Fr. temp. -20°C, St. temp. -20°C
△—△: Fr. temp. -20°C, St. temp. -10°C

後와 거의 같은 수준의 抽出性을 나타내었다. 豚肉은 凍結直後 45.16 mg/g 이었으나 12주 (-20℃)에 49.01 mg/g, 16주 (-10℃)에는 47.34 mg/g 으로 증가되었다가 그 후 감소되어 20주째에는 모든 處理에서 凍結直後の 수준과 거의 유사한 抽出性을 나타내었으나 -20℃ 貯藏區에서는 다소 높은 수준을 보였다.

-20℃ 凍結의 경우 鷄肉과 豚肉의 凍結直後 抽出性은 각각 45.29 mg/g 및 43.95 mg/g 이었으나, -20℃ 저장시에는 鷄肉과 豚肉 모두 8주

째에 50.59 mg/g 및 49.16 mg/g 으로 凍結直後에 비해 각각 11.70 %와 11.85 %의 증가를 보인 후 감소하여 저장 20 주째에는 47.97 mg/g 및 46.41 mg/g 으로 凍結直後에 비해 다소 높은 수준을 유지하고 있었다. -10 ℃에 저장한 鷄肉은 12 주째에 47.70 mg/g, 豚肉은 8 주째에 48.06 mg/g 으로 凍結直後에 비해 각각 5.32 %와 9.35 %의 증가를 보인 후 점차 감소하여 20 주째에는 凍結直後와 비슷한 수준을 나타내었다.

저장온도간에서는 鷄肉과 豚肉 모두 抽出性의 차이를 보여 -20 ℃ 저장이 -10 ℃ 저장보다 다소 높은 抽出性을 보였으나, 凍結溫度간에는 차이를 나타내지 않고 있었다.

Kronman과 Winterbottom (1960)은 牛肉을 -20 ℃에 저장하였을 때 水溶性 蛋白質의 抽出性이 低下되는 것을 보고하였으며, Khan 등 (1963)은 저장온도를 달리하여 (-4~-80 ℃) 鷄肉을 저장하였을 경우 低溫에서는 95 주까지 筋漿蛋白質 抽出性의 변화를 확인할 수 없었다고 하였다. 반면에 魚肉을 저장할 경우 Fukuda 등 (1981)은 低 이온強度에서 可溶性 蛋白質은 저장중에 변화하지 않는다고 보고하고 있어, 동결저장중인 식육의 筋漿蛋白質 抽出性도 여러 조건에 따라 달라 달라질 수 있는 것으로 推定되었다.

한편, 筋漿蛋白質 抽出性이 어느 기간까지 증가한 후 점차 감소하는 추세를 나타내는 원인은 Laakonen 등 (1970)의 研究 結果와 같이 저장기간이 길어짐에 따라 筋漿蛋白質의 일부가 筋原纖維蛋白質과 結合되었거나 冷凍變性을 일으키기 때문이라 생각된다.

C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化

동결전 냉장기간에 따른 鷄肉과 豚肉의 筋漿蛋白質 抽出性을 조사하여 Figure 3에 나타내었다.

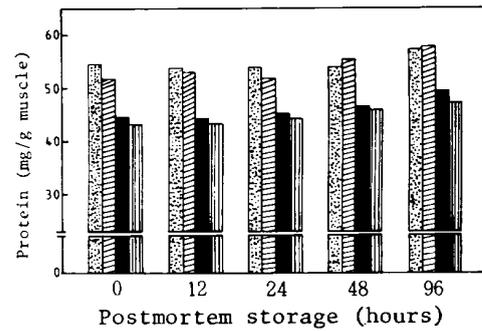


Fig.3. Extractability of chicken and pork sarcoplasmic protein during chilling prior to freezing at -40°C or -20°C.

chicken: [dotted] :freezing at -40°C
 [diagonal lines] :freezing at -20°C
 pork : [solid black] :freezing at -40°C
 [vertical lines] :freezing at -20°C

屠殺直後 -40 ℃와 -20 ℃에서 凍結한 鷄肉의 筋漿蛋白質 抽出量은 각각 54.50 mg/g과 51.82 mg/g이였으며, -40 ℃에서 凍結시킬 경우에는 48 시간, 그리고 -20 ℃ 凍結의 경우에는 24시간 냉장시까지 변화가 없었으나 그 후 점차 증가하여 96 시간 냉장후 凍結하였을 때에는 각각 57.27 mg/g과 57.77 mg/g으로 抽出性의 증가를 나타내었다.

한편, 豚肉은 屠殺直後 -40 ℃와 -20 ℃에서 凍結한 경우 각각 44.50 mg/g과 43.02 mg/g 이였으나 냉장기간이 길어짐에 따라 점차 증가하여 96 시간 냉장후에는 각각 49.40 mg/g과 47.38 mg/g으로 屠殺直後에 비해 11.10 %와 10.13 %의 증가를 나타내었다.

이와 같은 결과는 냉장기간중의 抽出性의 변화 (Figure 1 參照)와 같은 경향을 나타내고 있으므로, 筋漿蛋白質 抽出性은 凍結에 의해 크게 변

하지 않는 것으로 생각되었다.

2) 筋原纖維蛋白質 抽出性的 變化

Myofibril에서 myosin은 thick filament에 존재하고 actin과 tropomyosin-troponin complex가 thin filament에 존재하므로 鹽溶液으로 筋原纖維蛋白質을 抽出할 때 filament lattice로부터 myosin이 유리되고 나서 actin과 조절단백질이 추출될 것이며, 이와 같은 현상은 死後 貯藏條件에 따라 서로 다른 樣相의 변화가 예상되므로, 低溫貯藏時 筋原纖維蛋白質 抽出性を 측정하여 死後變化的 현상을 비교하였다.

A. 冷蔵期間중의 變化

1°C에서 7일간 냉장한 鷄肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出性的 變化를 Figure 4에 나타내었다.

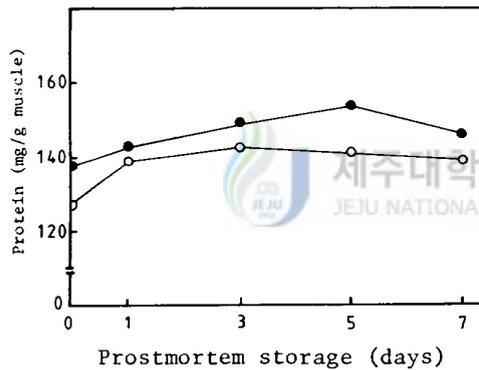


Fig.4. Extractability of chicken and pork myofibrillar protein during chilling at 1°C.

●●:chicken ○○:pork

屠殺直後 鷄肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出量은 138.82 mg/g과 127.01 mg/g이었다. 鷄肉의 筋原纖維蛋白質 抽出量은 점차적으로 증가하여 5일째에는 153.24 mg/g으로 屠殺直後에 비해 10.39

%의 증가를 보인 후 감소 추세를 나타내었다. 豚肉은 抽出量이 3일째까지 증가하여 143.06 mg/g으로 屠殺直後에 비해 12.64 %의 증가를 보인 후 저장말기까지 그 수준을 유지하였다.

鷄肉과 豚肉의 抽出量의 차이는 筋漿蛋白質의 抽出性에서와 같이 筋肉중의 全蛋白質 含量의 차이와 actin-myosin 상호작용에 의한 死後硬直 形成時期에 그 維持期가 다르기 때문인 것으로 생각되며, 鷄肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出量이 新鮮肉보다 높게 유지되고 있는 것은, 牛肉 및 兔肉을 2°C에 저장하였을 때 筋原纖維蛋白質 抽出性이 7일까지 증가하였다는 Davey와 Gilbert (1968)의 보고와 같은 경향인 것으로 생각되며, 이와 같은 抽出性 증가의 원인으로 Chaudhry 등 (1969)이 지적한 바와 같이 actin과 myosin의 상호작용, thin filament의 조절단백질 유리 및 Z-line의 붕괴등에 의한 것으로 생각되었다.

B. 凍結貯藏중의 變化

鷄肉과 豚肉을 -40°C 및 -20°C에서 凍結하여 -20°C와 -10°C에서 저장한 경우 筋原纖維蛋白質 抽出性的 變化는 Figure 5와 같다.

-40°C에서 동결, -20°C와 -10°C에 저장한 鷄肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出量은 凍結直後에 각각 129.64 mg/g 및 119.73 mg/g이었으나, -20°C에 저장한 鷄肉의 抽出量은 저장초기부터 서서히 감소하여 저장말기에는 115.17 mg/g으로 동결직후에 비해 현저한 감소를 보이고 있었다. 이러한 감소 현상은 -10°C에 저장하였을 경우 -20°C에서 보다 현저하여 20주째에는 抽出量이 106.32 mg/g으로 감소하였다.

豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出性은 鷄肉과는 다른 樣相을 나타내고 있으며, 저장 全期間에 걸쳐 鷄肉에 비해 낮은 抽出性을 보이고 있었다. -20°C 저장의 경우 抽出性的 變化는 거의 인정

되지 않았으나, -10°C 에 저장한 豚肉의 경우에는 貯藏期間이 길어짐에 따라 抽出性은 급격히 감소하였으며, 20주째의 筋原纖維蛋白質 抽出量은 -20°C 와 -10°C 저장시 각각 110.58 mg/g 과 96.02 mg/g 을 나타내었다.

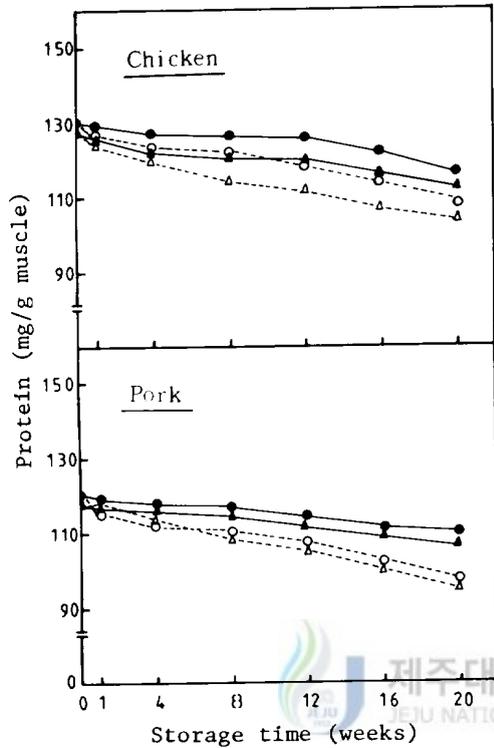


Fig.5. Extractability of chicken and pork myofibrillar protein freezing at -40°C or -20°C , stored at -20°C and -10°C .

- :Fr. temp. -40°C , St. temp. -20°C
- :Fr. temp. -40°C , St. temp. -10°C
- ▲—▲:Fr. temp. -20°C , St. temp. -20°C
- △---△:Fr. temp. -20°C , St. temp. -10°C

-20°C 에서 凍結하여 -20°C 와 -10°C 에 저장한 경우 鷄肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出量은 凍結直後에 128.44 mg/g 과 118.07 mg/g 이었다. -20°C 에 저장한 鷄肉의 경우 貯藏初期부터 末期

에 이르기까지 抽出量이 완만하게 감소되고 있으나, -10°C 저장에서는 抽出量의 감소폭이 커서 20주째에는 101.56 mg/g 을 보였다.

豚肉은 -20°C 에 저장할 경우 다소 감소 현상을 보이고 있으나, -10°C 저장에서는 급격히 감소하여 20주째에는 95.63 mg/g 의 抽出量을 보였다.

鷄肉과 豚肉의 凍結貯藏중 凍結溫度間 筋原纖維蛋白質 抽出性의 변화 樣相은 유사하였으며, 鷄肉에서는 貯藏期間과 貯藏溫度에 따라 凍結溫度에 의한 抽出性의 차이를 볼 수 있었지만 豚肉에서는 차이를 나타내지 않았다.

이상과 같은 결과를 토대로 하여 볼 때 鷄肉의 경우 筋原纖維蛋白質 抽出性의 감소를 억제할 수 있는 凍結 및 貯藏溫度는 -40°C 에서 凍結하여 -20°C 에 저장하는 것이 바람직하며, 豚肉에서는 凍結溫度에 관계없이 -20°C 에 저장하는 것이 적합한 것으로 생각되었다.

貯藏溫度에 따른 鷄肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出性의 변화를 검토한 Khan 등 (1963)과 Isogai (1972)는 低溫에서는 抽出性의 변화가 적었으나 高溫貯藏時에는 短期間에 抽出性이 감소하는 것을 볼 수 있었다고 하였으며, 魚肉(Fukuda 등, 1981)에서도 凍結溫度보다 貯藏溫度가 筋原纖維蛋白質 抽出性의 變化에 미치는 영향이 크다는 것을 확인하고 있다.

C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化

凍結前 冷蔵期間이 鷄肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出性에 미치는 영향은 Figure 6과 같다.

屠殺直後 -40°C 와 -20°C 에서 凍結한 鷄肉의 筋原纖維蛋白質 抽出量은 134.43 mg/g 및 132.27 mg/g 및 132.27 mg/g 이었다. -40°C 凍結에서는 동결전 12시간 및 24시간 동안 냉장시킨 것이 屠殺直後에 凍結한 것 보다 5.75% 및 6.42% 높은 142.16 mg/g 및 143.06 mg/g 이었으며,

그 후에는 서서히 감소하여 96시간 냉장시에는屠殺直後の凍結에서 보다 3.24% 낮은 130.08 mg/g의 抽出量을 나타내었다. 한편 -20℃凍結에서는 12시간 동안 냉장한 경우 抽出量은屠殺直後に凍結한 것 보다 조금 증가하여 137.08 mg/g을 나타낸 후 감소 추세를 나타내었으며, 96시간 냉장시에는 -40℃에서凍結시킨 것과 비슷한 수준을 보였다.

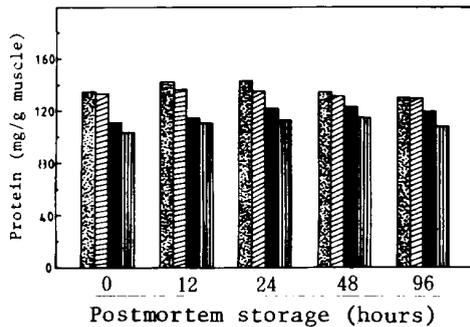


Fig.6. Extractability of chicken and pork myofibrillar protein during chilling prior to freezing at -40°C or -20°C.

chicken: [diagonal lines] :freezing at -40°C
 [dots] :freezing at -20°C
 pork : [solid black] :freezing at -40°C
 [vertical lines] :freezing at -20°C

한편, 豚肉은屠殺直後 -40℃와 -20℃에서凍結시켰을 때의 抽出量은 108.74 mg/g 및 103.92 mg/g이었으나, 24시간 냉장후에는 121.59 mg/g 및 113.42 mg/g으로 抽出量이 증가하였고, 그 후에는 큰 변화를 나타내지 않았다.

Locker와 Hagyard (1963)는屠殺直後の牛肉을 10℃이하로 冷却하면 筋肉이 수축된다고 하였으며, McCrae 등 (1971) 및 Hill (1972)에 의하여 牛肉이외의 다른 動物의 赤色筋에서도 冷却收縮 現象이 일어나는 것을 확인하였다.

따라서 本實驗에서屠殺直後に凍結시킨 豚肉의 抽出性이 낮았던 것은 鶏肉보다 豚肉에 赤色筋纖維가 많이 포함되어 있기 때문에屠殺直後凍結하였을 경우에는 冷却收縮에 의해 낮은 抽出性을 나타낸 것으로 推定된다.

冷蔵期間중 鶏肉의 筋原纖維蛋白質 抽出性 (Figure 4 參照)은 5일째까지 증가추세를 나타내었으나,凍結前 冷蔵期間중에는 48시간 冷蔵時에 抽出性이 감소되는 것으로 보아 鶏肉의 筋原纖維蛋白質은 冷蔵 24시간 이후에凍結變性에 대한 耐性이 弱화되는 것으로 생각되었다. 豚肉의 경우에는 冷蔵期間중의 변화(Figure 4)와 같은 경향을 나타내고 있는 것으로 보아,凍結變性에 대한 耐性이 오랫동안 유지되고 있는 것으로 생각되었다.

또한 鶏肉과 豚肉의 筋原纖維蛋白質 抽出性은 모두 -20℃에서凍結한 것이 -40℃에서凍結한 것 보다 낮은 抽出量을 보이고 있으므로,筋原纖維蛋白質의 變性を 억제할 수 있는 冷蔵期間과凍結溫度는 鶏肉의 경우 12~24시간, 豚肉은 24~96시간 냉장후 -40℃에서凍結시키는 것이 타당할 것으로 생각되었다.

2. 筋原纖維蛋白質의 ATPase 活性 變化

生筋의 운동은 筋纖維의 收縮과 弛緩의 연속적인 순환이며, 筋纖維 즉 筋細胞의 細胞내 gel 상 성분인 myofibril에 기인하는 것으로 알려져 있다. 따라서 貯藏期間중 食肉의 物性 變化를 해명하기 위해서 myofibril이 가지고 있는 生化學的 性質, 특히 ATP 분해능력 측정에 관한 연구가 많이 수행되고 있다(Nagainis 등 1983;河 1985).

筋纖維에 존재하는 myosin과 actin은 ATP 및 無機이온들과 상호작용하여 化學的 에너지를 物理的 에너지로 전환시켜 筋收縮을 일으키므로

(Yang 등 1974), 食肉의 物理化學的 성질을 해명하는 수단으로 저장중의 食肉에서 調製한 myofibril의 ATP 분해능력을 측정하여 筋原纖維蛋白質의 變性 및 혼합양상을 파악하고 있다.

따라서 냉장 및 동결저장중 鷄肉과 豚肉 筋原纖維蛋白質의 特性 變化를 파악하기 위하여 筋肉에서 조제한 myofibril의 Mg^{2+} -, Ca^{2+} -, EDTA-ATPase 活性 및 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性의 變化를 조사하였다.

1) Mg^{2+} -ATPase 活性의 變化

A. 冷蔵期間중의 變化

鷄肉과 豚肉을 1℃에서 7일간 저장하면서 측정한 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性의 變化는 Figure 7과 같다.

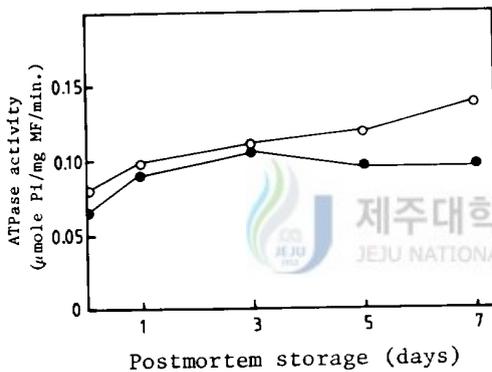


Fig.7. Effect of chilling time on the Mg^{2+} -modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

●●:chicken ○○:pork

屠殺直後 鷄肉과 豚肉의 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性은 각각 $0.063 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 과 $0.077 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이었다. 鷄肉은 저장 3일까지 活性이 증가하였으나($0.106 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$) 그 후 점차적으로 감

소하여 저장말기인 7일에는 $0.095 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 로서 屠殺直後보다는 50.79%가 높은 活性을 유지하고 있었으며, 豚肉은 저장초기부터 活性이 계속 증가하여 저장말기에는 $0.138 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 屠殺直後에 비해 79.22%의 증가를 나타내고 있었다.

鷄肉에서 저장말기에 活性이 감소추세를 나타내는 것은 myofibril 내의 myosin과 actin의 상호작용이 豚肉보다 빨리 해제됨에 따라 myosin과 actin이 많이 해리되어 있기 때문이라 생각되고, 豚肉의 경우 저장말기까지 活性이 계속 증가되는 것은 死後硬直시 형성된 actomyosin의 ATP 분해능력이 유지되고 있는 것으로 보여지며, Mg^{2+} -ATPase 活性이 硬直중에는 증가하고 硬直후에는 감소한다는 Goll과 Robson (1967)의 보고가 이를 뒷받침하고 있다.

한편, 이와 같은 결과는 筋原纖維蛋白質 抽出性(Figure 3 參照)의 變化에서 鷄肉이 豚肉보다 抽出性的 감소가 빨리 일어나고 있는 현상과 같은 경향이였다.

B. 凍結貯藏 期間중의 變化

-40℃와 -20℃에서 동결 -20℃에서 10℃에 저장하면서 調製한 鷄肉과 豚肉의 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性은 Figure 8에 나타내었다.

-40℃에서 동결한 鷄肉과 豚肉의 凍結直後 Mg^{2+} -ATPase 活性은 $0.072 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.097 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이었다. -20℃에 저장한 鷄肉의 Mg^{2+} -ATPase 活性은 저장 4주에 급격히 증가하여($0.124 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$) 凍結直後보다 61.04%의 증가율을 나타냈으며, 그 후부터 貯藏末期(20주)까지는 活性의 變化가 크게 나타나지 않고 있었다. -10℃에 저장한 경우에도 4주에 가장 많이 증가하여 $0.106 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 을 나타낸 후 저장말기까지 큰 變化를 보이지 않았다.

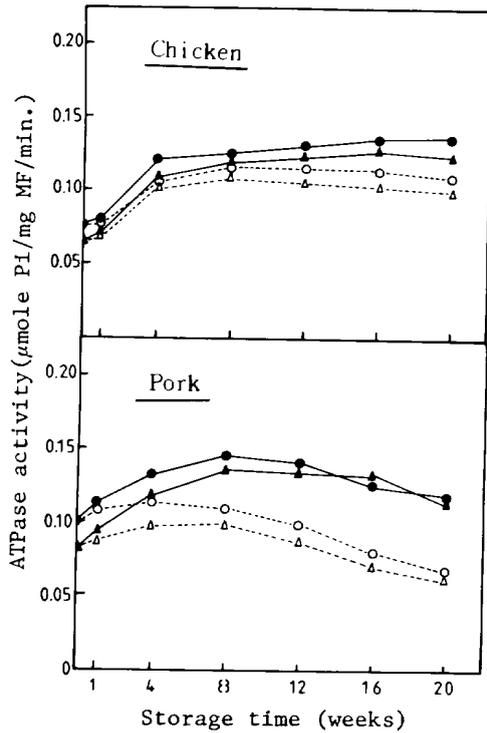


Fig. 8. Effect of different freezing (-40°C or -20°C) and storage (-20°C and -10°C) temperature on the Mg^{2+} -modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

- : Fr. temp. -40°C , St. temp. -20°C
- : Fr. temp. -40°C , St. temp. -10°C
- ▲—▲ : Fr. temp. -20°C , St. temp. -20°C
- △—△ : Fr. temp. -20°C , St. temp. -10°C

한편 豚肉은 鶏肉에 비하여 Mg^{2+} -ATPase 活性이 큰 차이를 나타내어 貯藏初期에는 증가하였으나, 貯藏中期 및 末期에서는 감소되는 현상을 보이고 있었다. -20°C 저장에서 豚肉은 8주까지 活性이 계속 증가하였고 ($0.153 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$) 20주에 이르러 $0.116 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$

MF/min 으로 감소되었으나 活性은 凍結直後보다 19.59%가 높은 수준을 유지하고 있었다. -10°C 저장에서는 4주까지 증가현상을 보여 $0.114 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 을 나타내고 그 후부터는 活性이 급격히 감소하여 貯藏末期에는 $0.062 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 을 나타내어 -20°C 저장에 비해 현저히 낮은 活性値를 보이고 있었다.

鶏肉의 Mg^{2+} -ATPase 活性이 저장중 凍結直後보다 감소되지 않았던 것은 actomyosin의 Mg^{2+} -ATPase 活性能力이 동결저장중 계속 유지되고 있었던 결과로 보여지며, 豚肉에서 8주째 (-10°C 저장)부터 活性이 감소하기 시작하여 저장말기에 活性이 最下値를 보인 것은 actomyosin의 Mg^{2+} -ATPase 活性이 동결저장중에 저장온도 (-10°C)의 영향을 받아 그 능력이 감소된 원인으로 생각된다. -20°C 에서 동결한 鶏肉과 豚肉의 凍結直後 活性은 $0.065 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.080 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 -40°C 동결과 비교하면 각각 9.72%와 17.53%가 감소되었다.

-20°C 와 -10°C 에 저장한 鶏肉은 4주째에 Mg^{2+} -ATPase 活性이 급격히 상승하여 $0.109 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.104 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 凍結直後에 비해 각각 67.69%와 60.00% 증가하였다. 그러나 -20°C 와 -10°C 저장에서 Mg^{2+} -ATPase 活性은 각각 4주째의 活性을 貯藏末期까지 유지하고 있었다. 豚肉의 경우 -20°C 저장중에는 8주까지 급격한 活性의 증가를 나타낸 후 貯藏末期까지 서서히 감소되어 20주에는 $0.114 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 을 유지하였다. -10°C 저장에서는 8주까지 증가를 보여 $0.101 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 을 나타내고 그 후에는 현저히 감소하여 20주에는 $0.055 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 凍結直後보다 31.50% 낮은 活性을 보이고 있었다.

鶏肉과 豚肉에서 時期는 다르지만 저장초기에 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性이 높아지는 것은 筋小胞體가 동결에 의한 손상으로 Ca^{2+} 의 유리를 조절할 수 없게 되어 방출된 Ca^{2+} 에 의해 ATPase 活性이 높아진다는 Arnold 등 (1956), Nakamura (1973) 및 Bendall (1960)의 보고가 이를 뒷받침하고 있다.

이상의 결과에서 鶏肉은 $-20^{\circ}C$ 에 저장할 때 Mg^{2+} -ATPase 活性이 높게 유지되고 $-10^{\circ}C$ 저장시에는 낮은 活性을 보였지만 그 변화는 크지 않았다. 그러나 豚肉에서는 酸化促進物이 될 수 있는 筋肉色素의 含量이 많은 赤色筋 비율이 높으므로 저장중 脂質의 酸化에 의해 생성된 酸化生成物이 筋肉蛋白質과 反應하여 蛋白質의 變性 (Miller 등, 1980; Buttkus, 1969)을 일으켜 myosin과 actin 상호작용에 영향을 주어 Mg^{2+} -ATPase 活性이 감소되는 것으로 推定되며, 이와 같은 현상은 $-20^{\circ}C$ 저장시보다 $-10^{\circ}C$ 저장에서 더 현저한 것으로 나타났다.

本 實驗의 結果와 鶏肉을 $-20^{\circ}C$ 에 저장한 경우 Mg^{2+} -ATPase 活性이 저장초기에는 증가를 보였으나, 그 후 점차 감소하였다는 Yamamoto 등 (1977)의 보고와 차이를 보이는 것은, 凍結條件, 筋原纖維蛋白質의 抽出方法 그리고 ATPase 活性을 測定할 때 이용되는 鹽의 이온強度등이 다르기 때문이라고 생각된다.

C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化

냉장기간이 凍結肉에 미치는 영향을 파악하기 위하여 $1^{\circ}C$ 에서 일정시간 냉장후 $-40^{\circ}C$ 와 $-20^{\circ}C$ 에서 동결한 鶏肉과 豚肉 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性의 變化를 Figure 9에 나타내었다.

屠殺直後 $-40^{\circ}C$ 와 $-20^{\circ}C$ 에서 동결시킨 鶏肉의 경우 Mg^{2+} -ATPase 活性은 각각 $0.043 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.046 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이었으며 豚肉은 $0.077 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$

및 $0.074 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 鶏肉과 豚肉의 Mg^{2+} -ATPase 活性은 현저한 차이를 보이고 있었다.

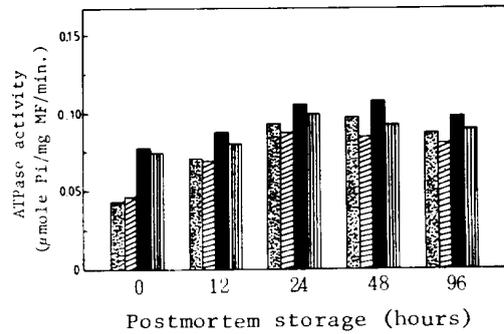


Fig.9. Effect of chilling time prior to freezing ($-40^{\circ}C$ or $-20^{\circ}C$) on Mg^{2+} -modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

chicken: :freezing at $-40^{\circ}C$
 :freezing at $-20^{\circ}C$
pork : :freezing at $-40^{\circ}C$
 :freezing at $-20^{\circ}C$

동결전 냉장기간에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性은 鶏肉과 豚肉에서 모두 냉장 24시간 이후부터는 큰 변화를 나타내지 않고 냉장말기인 96시간까지 같은 수준을 유지하고 있었다. 그러나 凍結溫度間에서는 다소 차이를 보여 $-40^{\circ}C$ 에서 凍結한 것이 $-20^{\circ}C$ 凍結에 비해 높은 活性을 나타내고 있었다. 이와 같은 活性의 變化는 냉장중의 변화(Figure 7 參照)와 같은 경향을 보이고 있으므로, Mg^{2+} -ATPase 活性은 일정기간 냉장후 동결하였을 때 동결에 의한 영향보다 동결전 냉장기간의 영향을 더 크게 받고 있는 것으로 생각되었다. 그러나, 이와 같은 活性의 變化는 筋原纖維蛋白質 抽出性 (Figure 6 參照)과는 다른 樣相을 보이고 있으므로 抽出性은 死後 筋肉의 狀態에 따라 변하지만, Mg^{2+} -ATPase 活性은 myofibril 내의 actin

含量 또는 調節蛋白質의 混入 樣相에 따라 변화는 것으로 推定되며, 凍結前 냉장 24 시간까지 雞肉의 活性이 급격한 증가를 나타내고 있는 것은, myofibril 내에 actin의 含量이 相對적으로 높거나 調節蛋白質이 적게 混入되어 있기 때문에 Mg^{2+} -ATPase 活性을 증대시킬 수 있는 條件이 빨리 조성될 것으로 생각되었다.

2) EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性의 變化

收縮蛋白質의 ATPase 活性을 thin filament에 存在하는 調節蛋白質들에 의해 조절되며, 그 중 Ca^{2+} 과 結合이 가능한 troponin이 크게 관여하며, Mg^{2+} 存在下에서 Ca^{2+} 과 선택적으로 결합하는 EGTA는 actin과 myosin의 상호작용에 대한 troponin의 調節能力을 평가하는데 이용될 수 있는 것으로 알려져 있으므로, 冷蔵 및 凍結貯藏중 雞肉과 豚肉에서 調製된 myofibril 내의 actin과 myosin의 相互作用과 調節蛋白質의 混入 여부를 파악하기 위하여 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性을 調査하였다.

A. 冷蔵期間중의 變化

冷蔵중 雞肉과 豚肉으로부터 調製한 myofibril의 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性의 變化는 Figure 10과 같다.

雞肉과 豚肉의 屠殺直後 活性은 $0.017 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.013 \mu\text{mole/mg MF/min}$ 으로 雞肉이 약간 높게 나타났으며, 냉장기간중 雞肉의 活性은 서서히 증가하여 7일째에는 $0.033 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이였으며, 豚肉은 5일째까지 活性의 變化가 없었고 7일째에는 증가하여 $0.024 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 의 活性을 나타내었지만, Mg^{2+} -ATPase 活性 (Figure 7)에 대한 阻害效果는 屠殺直後와 같은 수준을 유지하고 있었다.

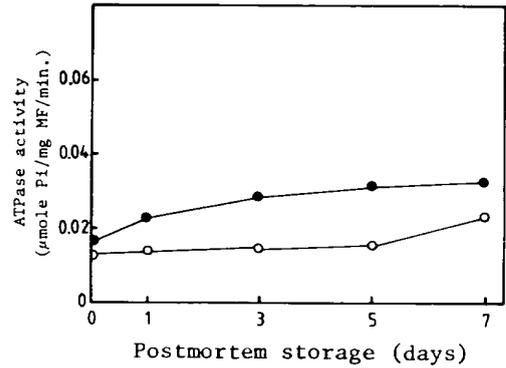


Fig.10. Effect of EGTA on Mg^{2+} -modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork during chilling at 1°C .

● : chicken ○ : pork

雞肉은 저장중 Mg^{2+} -ATPase 活性에 EGTA의 阻害效果가 서서히 감소되고는 있으나 저장말기에도 높은 阻害率을 나타내고 있으며, 豚肉은 저장중 계속 높은 阻害率을 유지하고 있는 것으로 보아, 냉장기간중 雞肉과 豚肉의 myofibril 내에는 냉장초기부터 調節蛋白質이 혼입되어 저장말기까지 ATPase 活性의 調節能力을 유지하고 있음을 알 수 있었다.

B. 凍結貯藏중의 變化

雞肉과 豚肉을 -40°C 와 -20°C 에서 凍結하여 -20°C 와 -10°C 에 저장하면서 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性의 變化를 測定하여 Figure 11에 나타내었다.

-40°C 에서 凍結한 雞肉과 豚肉의 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性은 凍結直後 $0.009 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.011 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 Mg^{2+} -ATPase 活性 (Figure 8 参照)에 비해 낮은 活性 (12.50% 및 11.34%)을 보이고 있는 것으로 보아 EGTA 添加에 의해 높은 阻害效果를 나타내고 있었다. 그 후 저

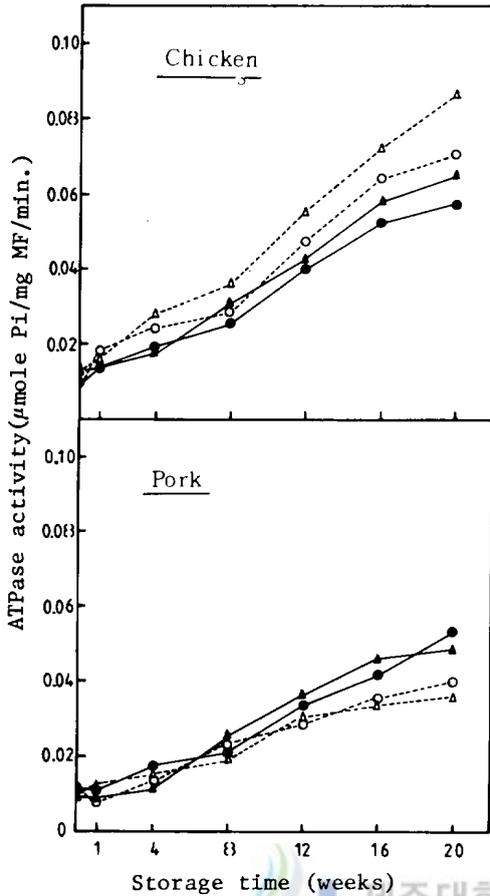


Fig.11. Effect of EGTA on Mg^{2+} -modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork freezing at $-40^{\circ}C$ or $-20^{\circ}C$, stored at $-20^{\circ}C$ and $-10^{\circ}C$.

- :Fr.temp. $-40^{\circ}C$, St.temp. $-20^{\circ}C$
- :Fr.temp. $-40^{\circ}C$, St.temp. $-10^{\circ}C$
- ▲—▲:Fr.temp. $-20^{\circ}C$, St.temp. $-20^{\circ}C$
- △---△:Fr.temp. $-20^{\circ}C$, St.temp. $-10^{\circ}C$

장기간이 길어짐에 따라 활성은 점차 증가하여 20 주째 $-20^{\circ}C$ 에 저장된 鷄肉과 豚肉의 활성은 $0.058 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.054 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 Mg^{2+} -ATPase 활성과 비교 할 때 높은 활성(42.96% 및 46.55%)을 나타내고

있어 Mg^{2+} -ATPase 활성에 대한 EGTA의 沮害效果가 감소된 것을 알 수 있었다. $-10^{\circ}C$ 에 저장된 鷄肉의 활성도 $0.072 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 증가하여 Mg^{2+} -ATPase 활성에 비해 높은 비율(67.92%)을 나타내어 $-20^{\circ}C$ 저장시 보다 낮은 沮害效果를 나타내었다. 豚肉에서는 $0.039 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 $-20^{\circ}C$ 저장시 보다 낮은 활성을 보이고 있지만, 20 주째에는 Mg^{2+} -ATPase 활성의 감소가 많은 時期이므로 Mg^{2+} -ATPase 활성에 대한 비율(62.90%)은 $-20^{\circ}C$ 저장시보다 높아졌으므로 沮害效果는 감소되었음을 알 수 있었다.

$-20^{\circ}C$ 凍結에서도 鷄肉과 豚肉의 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 활성은 凍結直後 $0.012 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.011 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 Mg^{2+} -ATPase 활성(Figure 8)에 비해 낮은 활성(18.46% 및 13.75%)을 나타내고 있으므로 높은 沮害效果가 있는 것을 알 수 있었다. 20 주째 $-20^{\circ}C$ 저장한 鷄肉과 豚肉의 활성은 $0.066 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ (51.97%) 및 $0.048 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ (42.11%)이었고, $-10^{\circ}C$ 저장에서는 $0.087 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ (86.14%) 및 $0.036 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ (65.45%)으로 $-40^{\circ}C$ 凍結에서와 같이 저장기간이 길어짐에 따라 Mg^{2+} -ATPase 활성에 대한 EGTA의 沮害效果가 감소되고 있었다.

따라서 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 활성의 억제효과는 凍結溫度間에서는 큰 차이를 볼 수 없었지만 저장온도간에서는 저장기간이 길어짐에 따라 활성의 차이를 보여 $-20^{\circ}C$ 에 저장하였을 때보다 $-10^{\circ}C$ 저장에서 Mg^{2+} -ATPase 활성에 대한 EGTA의 沮害效果가 현저하게 감소되었다.

이와 같이 Mg^{2+} -ATPase에 대한 EGTA의 沮

害效果가 저장말기로 갈수록 감소되는 것은 저장 중 조절단백질들이 CASP (Ca²⁺-activated sarcoplasmic protease) 등과 같은 효소에 의해 분해되거나 凍結에 의한 物理的인 손상을 받아 變性되어 ATPase 活性的 調節能力을 상실하고 있는 것으로 推定되었다.

C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化

鷄肉과 豚肉을 일정기간 冷蔵한 후 -40℃와 -20℃에서 凍結하였을 때 EGTA 添加에 따른 Mg²⁺-ATPase 活性的을 測定하여 Figure 12 에 나타내었다.

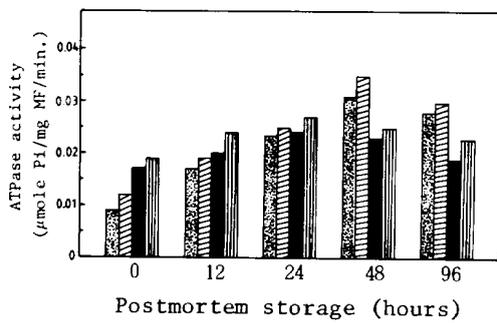


Fig.12. Effect of EGTA on Mg²⁺-modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork during chilling prior to freezing (-40°C or -20°C)

chicken: :freezing at -40°C
 :freezing at -20°C
pork : :freezing at -40°C
 :freezing at -20°C

屠殺直後 -40℃와 -20℃에서 凍結한 鷄肉의 EGTA 添加에 따른 Mg²⁺-ATPase 活性的은 0.009 μmole Pi/mg MF/min 및 0.012 μmole Pi/mg MF/min 그리고 豚肉은 0.017 μmole Pi/mg MF/min 및 0.019 μmole Pi/mg MF/min 으로 Mg²⁺-ATPase 活性的(Figure 9 參照)에 비해 鷄肉(20.93% 및 26.09%)과 豚肉(22.08%

및 25.68%) 모두 낮은 活性的을 나타내어, 凍結時에도 조절단백질의 ATPase 活性的 조절능력이 높게 유지되고 있는 것을 볼 수 있었다.

그 후 冷蔵期間중(12~96시간)에는 EGTA 添加에 따른 Mg²⁺-ATPase 活性的이 다소 증가 경향을 보이고 있으나, 이와 같은 현상은 Mg²⁺-ATPase 活性的의 변화와 같은 樣相이므로, Mg²⁺-ATPase 活性的에 대한 EGTA의 阻害效果는 凍結時 큰 영향을 받지 않는 것으로 생각되었다.

3) Ca²⁺-ATPase 活性的의 變化

A. 冷蔵期間중의 變化

冷蔵중 鷄肉과 豚肉에서 調製한 myofibril의 Ca²⁺-ATPase 活性的을 측정한 結果는 Figure 13 과 같다.

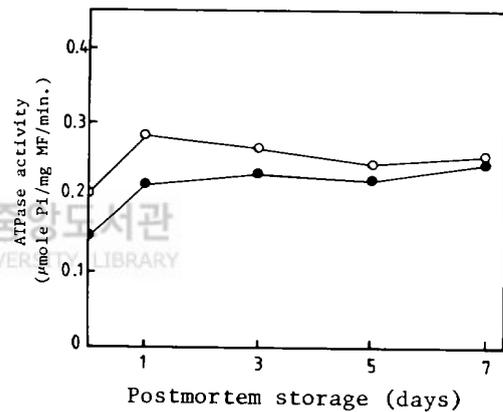


Fig.13. Effect of chilling time on the Ca²⁺-modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

●—● :chicken ○—○ :pork

屠殺直後 鷄肉과 豚肉의 Ca²⁺-ATPase 活性的은 0.202 μmole Pi/mg MF/min 및 0.146 μmole Pi/mg MF/min 이었으나, 冷蔵 1 일에는 0.282 μmole Pi/mg MF/min 및 0.216 μmole Pi/mg MF/min 이었다.

mg MF/min 으로 屠殺直後에 비해 47.95 % 및 39.60 %의 活性 증가를 나타내었다. 鷄肉은 그 후 증가하는 경향을 보여 7 일에는 0.246 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 屠殺直後에 비해 68.48 %의 증가를 보였으나, 豚肉의 경우는 다소 감소하는 경향을 나타내어 7 일에는 0.255 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 1 일째보다는 감소하였으나 屠殺直後에 비해서는 26.24 % 높은 活性을 유지하고 있었다.

B. 凍結貯藏중의 變化

-40 $^{\circ}\text{C}$ 와 -20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 凍結하여 -20 $^{\circ}\text{C}$ 와 -10 $^{\circ}\text{C}$ 에 저장한 鷄肉과 豚肉 myofibril의 Ca^{2+} -ATPase 活性을 측정한 結果는 Figure 14와 같다.

-40 $^{\circ}\text{C}$ 에서 凍結한 鷄肉과 豚肉의 凍結直後 Ca^{2+} -ATPase 活性은 0.207 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 0.228 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이였으며, 저장중에는 점차적으로 감소하여 20 주째에는 -20 $^{\circ}\text{C}$ 저장인 경우 0.148 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 0.157 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 凍結直後에 비해 28.50 % 및 30.70 % 감소하였다. -10 $^{\circ}\text{C}$ 에서는 20 주 후 鷄肉과 豚肉의 活性은 0.124 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 0.125 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 凍結直後보다 41.06 % 및 45.18 % 감소하여 -20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 저장하였을 때 보다 현저하게 감소하였다.

-20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 凍結하였을 경우 凍結直後의 鷄肉과 豚肉의 活性은 0.198 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 0.221 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 을 보였으며, 역시 저장중에는 감소하여 20 주째에 -20 $^{\circ}\text{C}$ 에 저장한 경우의 活性은 0.139 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 0.154 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 凍結直後보다 29.80 % 및 30.32 % 감소하였다. -10 $^{\circ}\text{C}$ 에서는 0.104 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 0.118 $\mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로 凍結直後에 비해

47.47 % 및 46.61 % 活性의 감소를 보이고 있었으며 -20 $^{\circ}\text{C}$ 에서 저장한 것보다 감소가 현저하였다.

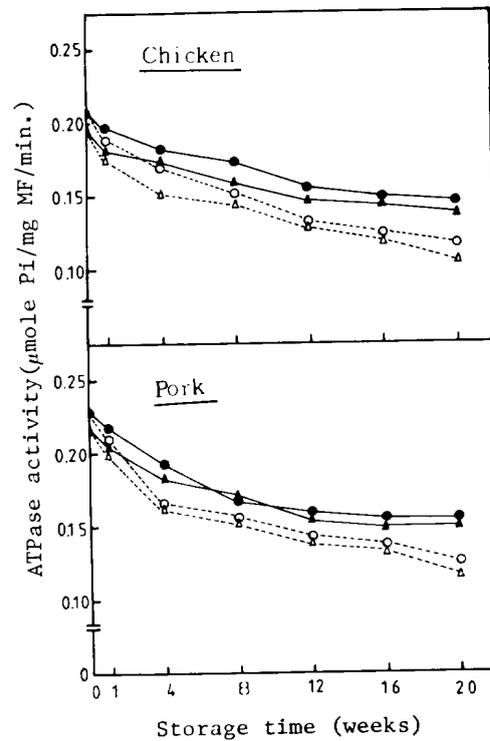


Fig.14. Effect of different freezing (-40 $^{\circ}\text{C}$ or -20 $^{\circ}\text{C}$) and storage (-20 $^{\circ}\text{C}$ and -10 $^{\circ}\text{C}$) temperature on the Ca^{2+} -modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

- : Fr. temp. -40 $^{\circ}\text{C}$, St. temp. -20 $^{\circ}\text{C}$
- : Fr. temp. -40 $^{\circ}\text{C}$, St. temp. -10 $^{\circ}\text{C}$
- ▲—▲ : Fr. temp. -20 $^{\circ}\text{C}$, St. temp. -20 $^{\circ}\text{C}$
- △---△ : Fr. temp. -20 $^{\circ}\text{C}$, St. temp. -10 $^{\circ}\text{C}$

鷄肉과 豚肉의 Ca^{2+} -ATPase 活性이 貯藏期間이 길어짐에 따라 감소된 것은 myofibril 내의 myosin이 凍結變性에 의하여 生理活性이 低下된 것으로 생각되며, 이와 같은 低下 현상은 凍結溫度간에는 차이가 없었으나 筋原纖維蛋白質 抽出

性 (Figure 5 參照) 과 Mg^{2+} -ATPase 活性的 結果와 같이 貯藏溫度에 따라 Ca^{2+} -ATPase 도 영향을 받고 있었다.

C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化

凍結前 일정기간 냉장후 $-40^{\circ}C$ 와 $-20^{\circ}C$ 에서 凍結한 鷄肉과 豚肉 myofibril 의 Ca^{2+} -ATPase 活성을 측정하여 Figure 15 에 나타내었다.

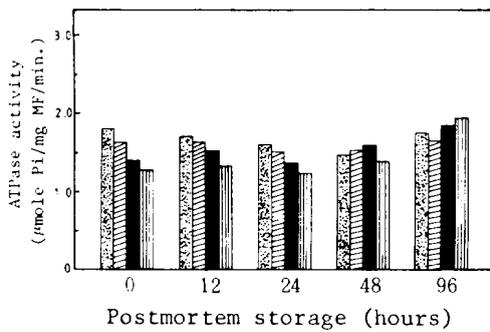


Fig.15. Effect of chilling time prior to freezing ($-40^{\circ}C$ or $-20^{\circ}C$) on Ca^{2+} -modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

chicken: :freezing at $-40^{\circ}C$
 :freezing at $-20^{\circ}C$
 pork : :freezing at $-40^{\circ}C$
 :freezing at $-20^{\circ}C$

屠殺直後 $-40^{\circ}C$ 에서 凍結한 鷄肉과 豚肉의 Ca^{2+} -ATPase 活성은 $0.138 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.167 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이였으며, $-20^{\circ}C$ 에서 凍結한 경우에 $0.147 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.158 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이였다. 그 후 鷄肉은 活性이 급격한 증가를 나타내어 24 시간 냉장후 凍結하였을 때 $0.210 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ ($-40^{\circ}C$ 凍結) 및 $0.197 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ ($-20^{\circ}C$ 凍結)으로屠殺直後보다 52.17% 및 34.01% 높은 活性을 나타낸 후 96 시간 냉장후 凍結하였을 때까지 그 수준을 유지

하였다. 그러나 豚肉에서는 12시간 냉장후 $-20^{\circ}C$ 에서 凍結하였을 때 일시적으로 活性이 증가한 것을 제외하고는 凍結溫度에 관계없이 96시간 냉장시까지 큰 변화를 나타내지 않았다.

4) EDTA-ATPase 活性的 變化

A. 冷蔵期間중의 變化

EDTA는 Ca^{2+} 이 존재하지 않을 경우 그 濃度가 $10^{-4}M$ 이상이 되면 脫磷酸 速度를 빠르게 하고, $10^{-2}M$ 부근에서는 약 400%의 加速化를 나타낸다고 하였으므로 (Bowen과 Kerwin, 1954), actin 및 다른 蛋白質이 混入되어 있는 경우 myosin의 ATPase 活性만을 비교하고자 할 때에는 EDTA-ATPase 活성을 측정하는 것이 유력한 수단이 된다는 Yang 등 (1970) 및 文 (1979)의 보고와 같이, EDTA-ATPase 活성을 측정 하므로서 Mg^{2+} -ATPase 活性和 Ca^{2+} -ATPase 活性和에서 나타난 結果가 주로 myofibril의 主成分인 myosin에 의한 것인지를 推定할 수 있을 것으로 생각된다. 冷蔵期間중 鷄肉과 豚肉 myofibril의 EDTA-ATPase 活성을 측정한 결과는 Figure 16과 같다.

屠殺直後 鷄肉과 豚肉의 EDTA-ATPase 活성은 $0.172 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.151 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 이였으며, 그 후 1일째에 $0.247 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 및 $0.202 \mu\text{mole Pi/mg MF/min}$ 으로屠殺直後보다 43.60% 및 33.77%가 증가하여 最大活性을 나타낸 후 거의 그 수준을 貯藏末期까지 유지하고 있었다.

이와 같이屠殺直後에 낮은 活性을 보이는 것은 鷄肉과 豚肉 myofibril내에 myosin-actin 相互作用이 유지되고 있기 때문인 것으로 推定되며, 냉장 1일째에 活性이 증가된 것은 相互作用의 해체에 따른 結果로 보여진다. 그 후 貯藏末期까지 活性的 變化가 없는 것으로 보아 冷蔵期

間중 myosin은 큰 變化가 없는 것으로 생각 되었다.

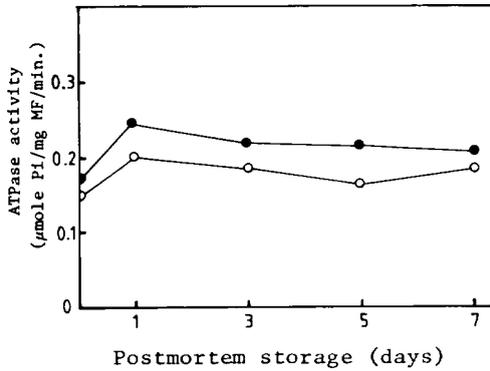


Fig.16. Effect of chilling time on the EDTA-modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

●—● :chicken ○—○ :pork

B. 凍結貯藏中の 變化

-40℃와 -20℃에서 凍結하여 저장 (-20℃, -10℃) 한 鷄肉과 豚肉 myofibril의 EDTA-ATPase 活性을 측정 한 結果는 Figure 17과 같다.

-40℃에서 凍結한 鷄肉과 豚肉의 凍結直後 EDTA-ATPase 活性은 0.223 μmole Pi/mg MF/min 및 0.236 μmole Pi/mg MF/min 이였으나, 저장기간이 길어짐에 따라 감소현상을 보여 20주째에는 -20℃ 저장인 경우 0.148 μmole Pi/mg MF/min 및 0.135 μmole Pi/mg MF/min 으로 凍結直後에 비해 33.63% 및 42.80% 낮은 活性을 보였다. -10℃ 저장에서 鷄肉과 豚肉의 活性은 0.117 μmole Pi/mg MF/min 및 0.113 μmole Pi/mg MF/min 을 나타내어 凍結直後에 비해 47.53% 및 52.13%로 낮은 活性을 보였으며, -20℃에 저장하였을 때 보다 현저하게 감소하였다.

한편, -20℃ 凍結시에는 凍結直後에 0.216 μmole

Pi/mg MF/min (鷄肉) 및 0.229 μmole Pi/mg MF/min (豚肉) 이였으며, 저장중 감소하여 20주에는 -20℃ 저장시 0.146 μmole Pi/mg MF/min 및 0.135 μmole Pi/mg MF/min, 그리고 -10℃ 저장시에는 0.108 μmole Pi/mg MF/min 및 0.111 μmole Pi/mg MF/min 으로 감소하여 -40℃에서 凍結하여 저장하였을 때와 유사한 경향을 나타내었다.

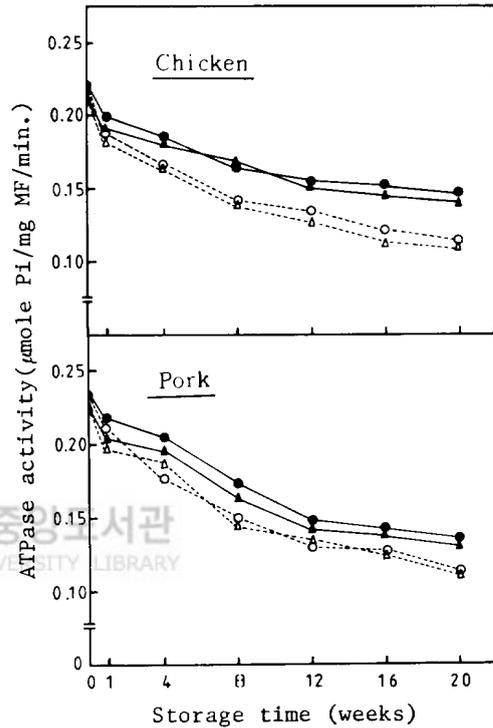


Fig.17. Effect of different freezing (-40°C or -20°C) and storage (-20°C and -10°C) temperature on the EDTA-modified ATPase activity of myofibrils isolated from chicken and pork.

●—● :Fr.temp.-40°C, St.temp.-20°C
○---○ :Fr.temp.-40°C, St.temp.-10°C
▲—▲ :Fr.temp.-20°C, St.temp.-20°C
△---△ :Fr.temp.-20°C, St.temp.-10°C

모든 처리에서 EDTA-ATPase 活性은 저장 기간이 길어짐에 따라 점차 감소하였고, 저장초기에는 저장온도간의 차이가 적었으나 저장기간이 길어짐에 따라 큰 차이를 나타내었으며 동결온도에 따른 영향은 없는 것으로 보여진다.

EDTA-ATPase 活性 變化를 토대로 볼 때 凍結貯藏중 myosin의 變性은 凍結溫度보다 貯藏溫度에 의해 영향을 받고 있었으며,貯藏期間이 길어질수록 그 영향은 더욱 큰 것으로 생각되었다.

C. 凍結前 冷蔵期間에 따른 變化

일정기간 냉장후 凍結시킨 鷄肉과 豚肉 myofibril의 EDTA-ATPase 活性은 Figure 18과 같다.

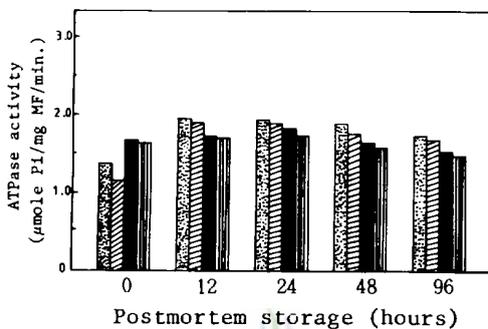


Fig.18. Effect of chilling time prior to freezing (-40°C or -20°C) on EDTA-modified ATPase activity myofibrils isolated from chicken and pork.

chicken: [stippled] :freezing at -40°C
 : [diagonal lines] :freezing at -20°C
 pork : [solid black] :freezing at -40°C
 : [vertical lines] :freezing at -20°C

屠殺直後 凍結한 鷄肉과 豚肉의 EDTA-ATPase 活性은 -40°C 凍結인 경우 0.135 μmole Pi/mg MF/min 및 0.165 μmole Pi/mg MF/min 이었으며, -20°C 凍結에서는 0.116 μmole Pi/mg MF/min 및 0.153 μmole Pi/mg MF/min

min이었다. 鷄肉은 냉장 12시간 후 活性이 급격히 상승하여 0.195 μmole Pi/mg MF/min (-40°C 凍結) 및 0.189 μmole Pi/mg MF/min (-20°C 凍結)을 나타낸 후에는 變化를 볼 수 없었으나, 豚肉의 경우에는 凍結된 냉장기간에 따른 活性의 變化를 나타내지 않고 있었다.

따라서 屠殺直後 凍結한 鷄肉에서 낮은 活性을 나타낸 것을 제외하고 活性의 變化를 보이지 않는 것으로 보아 동결전 냉장기간은 myosin의 凍結變性에 영향을 주지 않는 것으로 생각된다.

3. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis pattern의 變化

筋肉의 筋細胞는 多核細胞이면서 다른 組織細胞와 다른 점은 myofibril을 함유하고 있는 것이다(Szent-Györgi, 1951)이 myofibril은 細胞내의 骨格成分이며 motile system에서 기본이 되는 物質이다. 그러므로 筋細胞의 特性을 비교하고자 할 때에는 筋原纖維 構成蛋白質을 비교하는 것도 좋은 수단이라 생각되어 냉장 및 동결 저장중인 鷄肉과 豚肉 myofibril의 蛋白質 組成의 變化를 SDS-PAGE로 비교 분석하였다.

筋原纖維蛋白質의 SDS-PAGE pattern의 變化와 解離된 각 蛋白質 band의 分子量을 측정하기 위하여 標準蛋白質의 SDS-polyacrylamide gel 電氣泳動(Figure 19)을 하였으며, actin을 基準蛋白質로 하여 標準蛋白質의 相對移動度(relative mobility) 및 分子量과의 關係를 Figure 20에 나타내었다.

A. 冷蔵期間중의 變化

鷄肉 및 豚肉을 1°C에 저장하면서 調製한 筋原纖維蛋白質의 SDS-PAGE pattern을 Figure 21과 22에 나타내었다.

鷄肉과 豚肉의 電氣泳動圖상에는 210,000 dalton 위치에서 myosin heavy chain (MHC),

136,000 에 C-protein, 115,000 에 α -actinin, 136,000 에 C-protein, 115,000 에 α -actinin, 48,000 에 tropomyosin 그리고 25,000~12,000 dalton 범위에 있는 band 들은 myosin light chain (MLC) 의 subunit 들과 troponin 의 subunit 들인 것으로 확인되었다.



Fig. 19. SDS-polyacrylamide gel electrophoretograms of standard proteins.

- A: Myosin
- B: Urease
- C: Actin
- D: Carbonic anhydrase
- E: α -Lacto albumin

그 밖에 鷄肉 myofibril 의 電氣泳動圖에는 Samejima 와 Wolfe (1976) 가 보고한 바 있는 80,000 과 65,000 dalton 成分의 出現을 볼 수 있었으나 저장기간중에는 변화를 볼 수 없었다. 또한 27,000 dalton 成分으로 推定되는 band 는 屠殺直後부터 볼 수 있었으며 저장중에는 그 濃度가 다소 증가하였지만 MHC 의 변화는 볼 수 없었다. 이러한 結果는 27,000 成分의 出現 및 濃도의 증가가 MHC 의 감소와 연관이 있다는 朴 (1982) 의 보고

와는 차이가 있었다.

냉장중 鷄肉 myofibril 의 가장 뚜렷한 변화는 tropomyosin 과 troponin-T complex 에서 일어나는 것으로 생각되며 저장중 그 농도의 감소와 解離를 볼 수 있었으나, 냉장 7 일경 30,000 dalton 成分의 出現 (河, 1985 ; Samejima 와 Wolfe, 1976 ; Hay 등, 1973) 은 확인할 수 없었다.

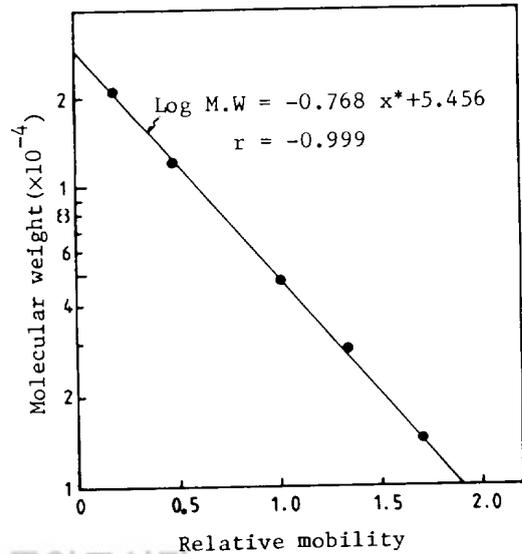
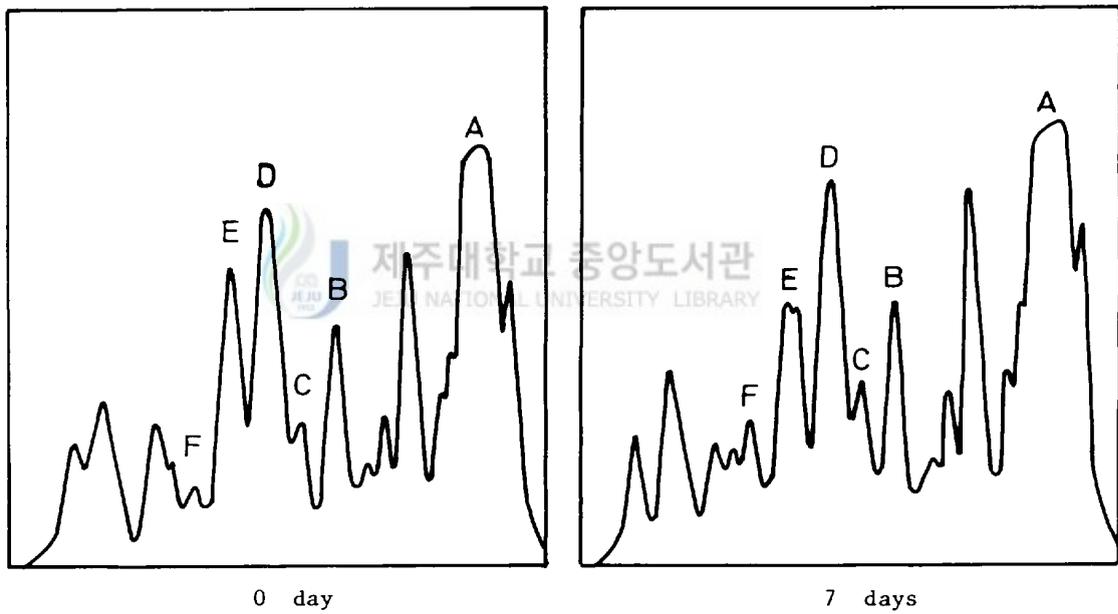
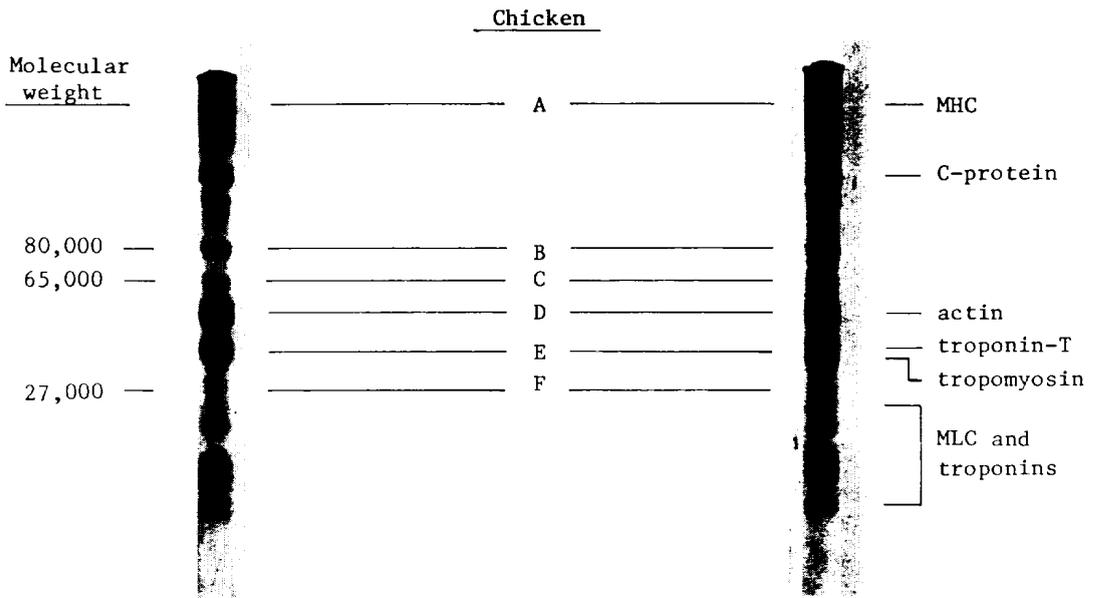


Fig. 20. Semi-log of molecular weight against distance of migration relative to the actin.

Protein	Molecular weight	Relative mobility
Myosin	214,000	0.193
Urease	120,000	0.472
Actin	48,000	1.000
Carbonic anhydrase	29,000	1.324
α -Lacto albumin	14,200	1.704

x* : relative mobility

豚肉의 경우에는 鷄肉의 電氣泳動像에서 볼 수 있었던 80,000 dalton 성분은 발견할 수 있었지



Postmortem storage

Fig. 21. SDS-PAGE patterns of myofibril isolated from chicken during chilling at 1°C.

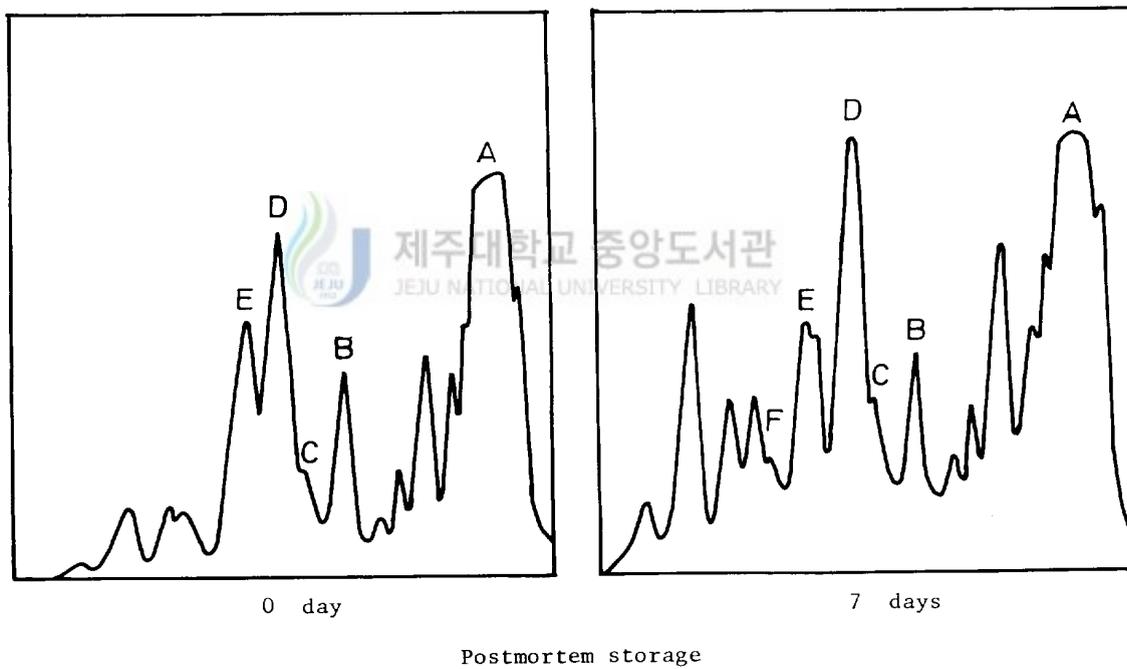
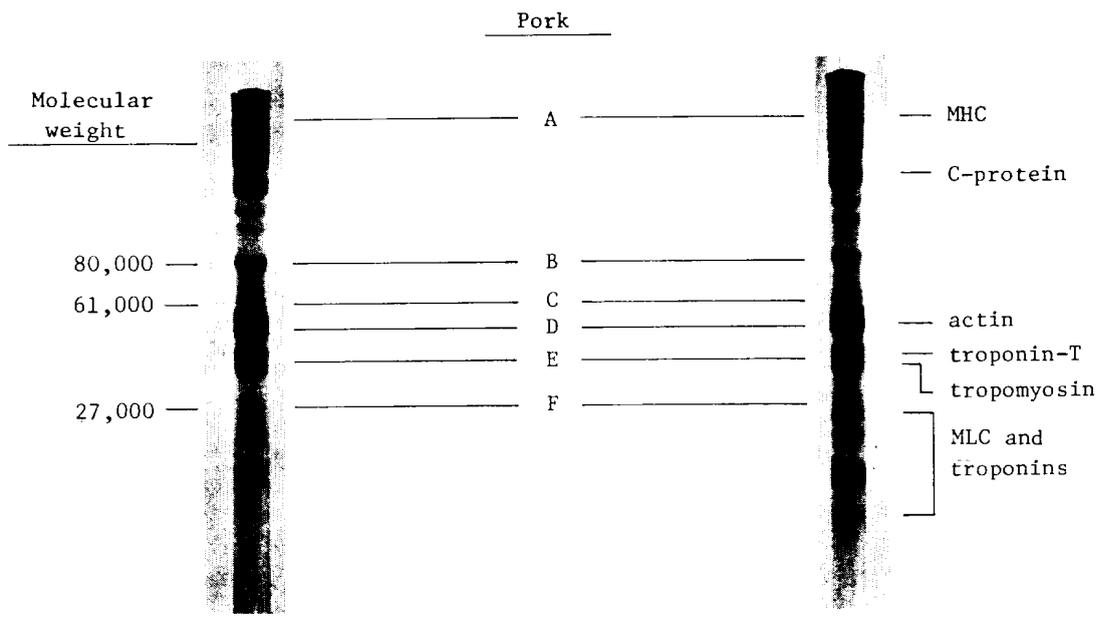


Fig. 22. SDS-PAGE patterns of myofibril isolated from pork during chilling at 1°C.

만 65,000 성분은 나타나지 않았으며 그 대신 61,000 dalton 부근에서 屠殺直後에 불분명하였던 band가 저장말기에는 농도가 짙어지는 것을 볼 수 있었다.

저장초기에 볼 수 없었던 27,000 dalton 성분은 7일째에 희미한 흔적을 볼 수 있었으며, tropomyosin과 troponin-T complex는 저장 3일부터 解離되는 것을 볼 수 있었으나 MHC의 변화는 확인할 수 없었다.

이와 같은 결과는 食肉의 냉장중 troponin-T의 감소(Cheng과 Parrish, 1978. b) 및 tropomyosin의 變性(Laki, 1957)에 의한 것으로 생각되며, 냉장중 筋肉蛋白質의 抽出性(Figure 1과 4 參照)과 ATPase 活性(Figure 7, 10, 13 및 16 參照)이 큰 변화를 나타내지 않았던 바와 같이 1℃에서 7일간 냉장하였을 경우 筋原纖維

蛋白質 特性이 크게 변화하지 않는 것으로 생각되었다. 다만 EGTA 添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性(Figure 10 參照)에서 볼 수 있었던 바와 같이 調節蛋白質(tropomyosin과 troponin-T complex) 부분에서 변화가 있는 것으로 생각되며 특히 鷄肉에서 그 변화가 다소 큰 것으로 나타났다.

따라서 저장중인 鷄肉과 저장말기의 豚肉 myofibril에서 볼 수 있었던 27,000 dalton 성분은 MHC의 分解産物(朴, 1982)이라기 보다는 tropomyosin과 troponin-T complex의 分解産物일 가능성이 크다고 생각된다.

B. 凍結貯藏중의 變化

-40℃와 -20℃에서 凍結하여 -20℃와 -10℃에 저장한 鷄肉과 豚肉에서 調製한 myofibril의 SDS-PAGE pattern을 Figure 23과 24에 나타내었다.

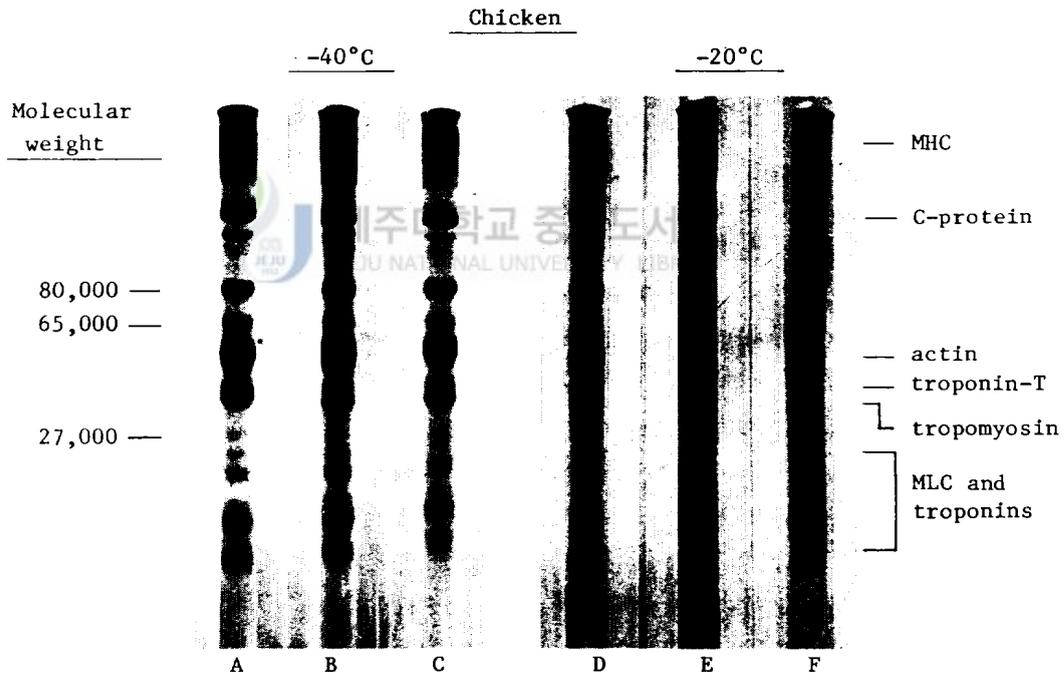


Fig.23. SDS-PAGE patterns of myofibril isolated from chicken freezing at -40°C or -20°C, stored at -20°C and -10°.

A, D; Post freezing
B, E; Stored 20 weeks at -20°C
C, F; Stored 20 weeks at -10°C

Pork

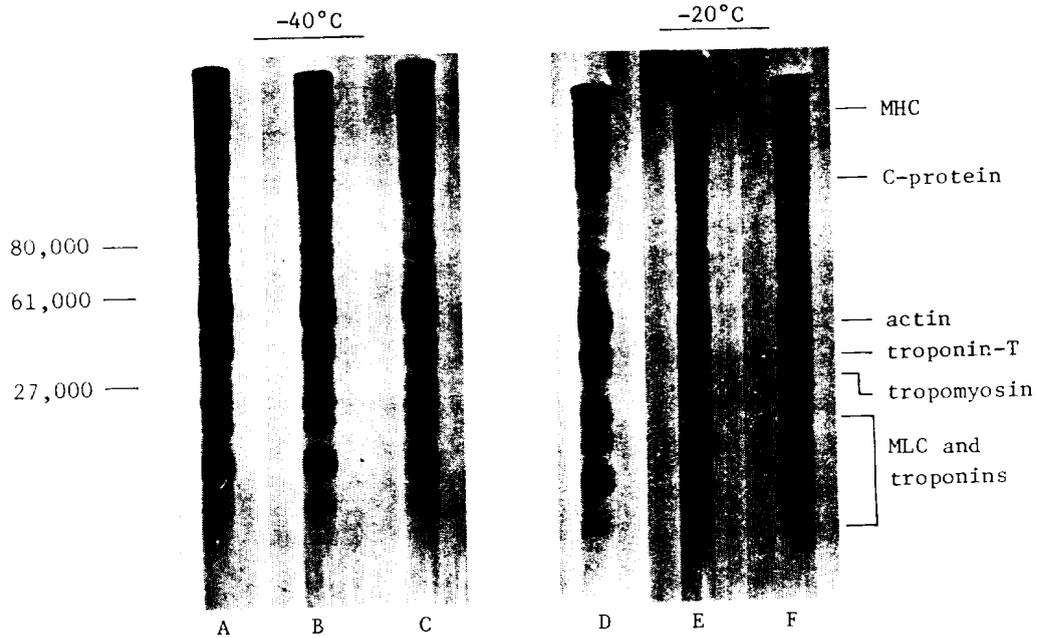


Fig.24. SDS-PAGE patterns of myofibril isolated from pork freezing at -40°C or -20°C , stored at -20°C and -10°C .

A, D; Post freezing
 B, E; Stored 20 weeks at -20°C
 C, F; Stored 20 weeks at -10°C

鶏肉 myofibril의 SDS-電氣泳動像의 주요한 변화는 모든 처리에서 1주 후에 tropomyosin과 troponin-T complex의 解離를 볼 수 있었으며, 凍結溫度에 관계없이 -20°C 저장시에는 16주, -10°C 에 저장하였을 때에는 4주부터 그 농도가 점차 감소하는 것을 볼 수 있었고, 16주째부터는 troponin-T가 점차 消失되는 것으로 확인되었다. 또한 저장말기에는 MHC成分이 감소된 것을 볼 수 있었으며, 이러한 변화들은 -20°C 에 저장하였을 때 보다 -10°C 에서 더 현저하게 나타났다.

豚肉에서는 凍結溫度 및 貯藏溫度에 의한 電氣泳動像의 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 그러나 모든 처리에서 4주째에 tropomyosin과 troponin-T complex의 解離와 濃度の 감소를 볼 수 있었고, 16주째에는 troponin-T가 점차적으로 消失되고 있는 것을 확인할 수 있었으며, 鶏肉에서와 마찬가지로 저장말기에 MHC成分의 감소된 것을 볼 수 있었다.

이와 같은 결과는 筋原纖維蛋白質의 抽出性 (Figure 5 參照)이 저장기간이 길어짐에 따라 감소되는 것과 SDS-電氣泳動에서 MHC 및 tropomyosin과 troponin-T complex 그리고 低分子量成分들이 감소되는 결과와 잘 일치되고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 EGTA添加에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性 (Figure 11 參照)에서 EGTA의 阻害效果가 점차 감소되는 것은 tropomyosin과 troponin-T complex의 解離, 濃

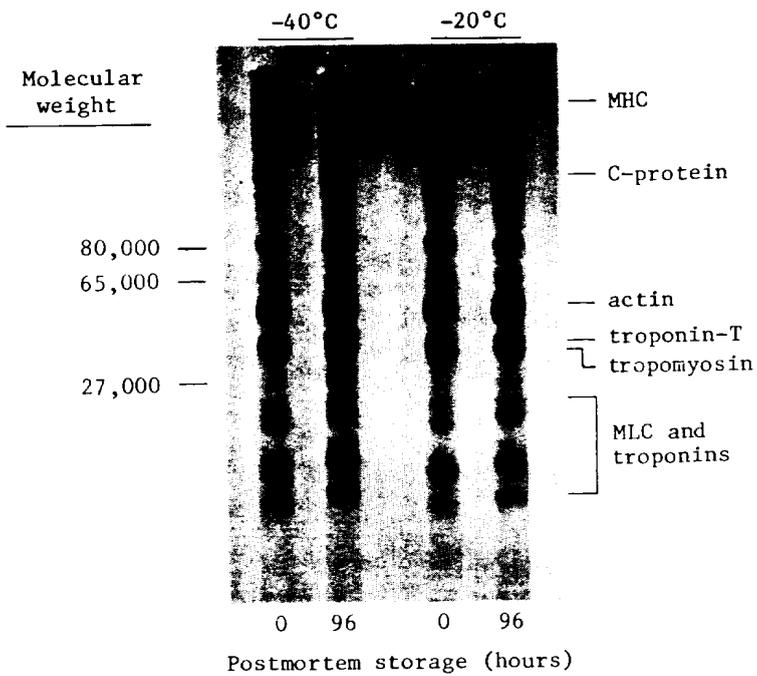


Fig. 25. SDS-PAGE patterns of myofibril isolated from chicken during chilling prior to freezing at -40°C or -20°C .

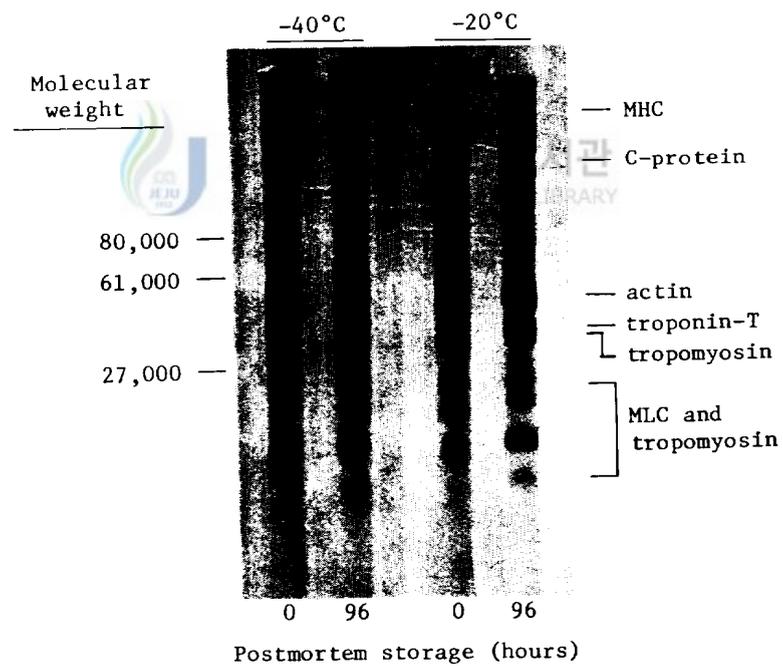


Fig. 26. SDS-PAGE patterns of myofibril isolated from pork during chilling prior to freezing at -40°C or -20°C .

도의 감소 및 troponin-T의 消失과 관련이 있는 것으로 생각되었다.

이와 같이 저장기간이 길어짐에 따라 MHC 또는 tropomyosin과 troponin-T complex의 解離 및 troponin-T의 消失은 凍結貯藏중에도 活性을 유지하는 일부 특이한 효소들(Ball, 1938; Khan 등, 1963)에 의하여 速度는 느리지만 일부가 分解되기 때문이라고 推定된다.

C. 凍結전 冷蔵期間에 따른 變化

일정기간 냉장후 -40℃와 -20℃에서 凍結시킨 鷄肉과 豚肉의 SDS-PAGE pattern을 Figure 25와 26에 나타내었다.

鷄肉과 豚肉 모두 凍結溫度간의 차이는 확인할 수 없었으며, 鷄肉에서는 냉장기간중의 변화와 같이 동결전 냉장기간이 길어짐에 따라 27,000 dalton 成分이 다소 증가하였으며 12시간 냉장시 부터는 tropomyosin과 troponin-T complex의 解離를 볼 수 있었다. 豚肉에서도 역시 12시간 냉장시부터 tropomyosin과 troponin-T complex의 解離를 볼 수 있었으며, 96시간 냉장시에는 미량 成分의 27,000 dalton band를 확인할 수 있었다.

이와 같은 결과는 냉장기간중의 SDS-PAGE와 같은 경향으로 筋肉蛋白質의 抽出性 및 ATPase 活性의 變化에서와 같이 냉장기간을 달리한 후 동결하였을 때 筋原纖維蛋白質의 性質의 凍結에 의한 영향보다 동결전 냉장기간의 길이에 따라 더 많은 영향을 받는 것으로 생각되었다.

V. 摘 要

本 研究는 鷄肉과 豚肉의 冷蔵 및 凍結貯藏시 冷蔵, 凍結 및 貯藏溫度가 肉質에 미치는 영향을 규명하기 위하여, 筋肉蛋白質의 抽出性, myofibril의 ATPase 活性 그리고 電氣泳動像에서의 蛋白質 變化를 검토하였다. 試料는 7~8週令肉

鷄(Hybro)의 가슴근육과 生後 5~8個月된 돼지(Landrace 交雜種)의 背最長筋을 細切한 후 작은 肉塊를 만들어 實驗에 사용하였다.

冷蔵期間중 食肉의 變化를 調査하기 위하여 試料를 1℃에서 0, 1, 3, 5 및 7일간 저장하여 分析에 이용하였으며, 凍結 및 貯藏溫度에 따른 變化는 試料를 1℃에서 12시간 냉장한 후 -40℃ 또는 -20℃에서 동결시켜 -20℃와 -10℃에서 20주간 저장하면서 經時的으로 調査하였다. 그리고 凍結前 冷蔵期間의 영향은 1℃에서 96시간 동안 저장하면서 經時的으로 -40℃와 -20℃에서 凍結시킨 후 筋肉蛋白質의 抽出性과 myofibril의 ATPase 活性등을 측정하였다.

각 實驗에서 얻어진 結果는 다음과 같다.

1. 鷄肉과 豚肉의 冷蔵期間중 筋漿蛋白質 抽出性은 貯藏期間이 길어짐에 따라 증가하였으며, 凍結貯藏중 8~12주까지는 抽出性이 증가하였고, 그 후에는 감소하는 경향을 나타내었다. -40℃와 -20℃ 凍結溫度간에서 筋漿蛋白質 抽出性의 차이는 없었으나, -10℃에 저장하였을 경우에는 -20℃ 저장에 비해 낮은 抽出性을 나타내었다.

2. 鷄肉과 豚肉의 냉장중 筋原纖維蛋白質 抽出性은 저장기간이 길어짐에 따라 증가하는 경향을 나타냈으나, 凍結貯藏중에는 감소 추세를 보였다. 筋原纖維蛋白質 抽出性도 凍結貯藏중 凍結溫度보다는 貯藏溫度의 영향이 컸으며, -10℃에서 저장한 것이 -20℃에 비해 抽出性의 감소가 현저하였다. 凍結前 冷蔵期間중에는 鷄肉과 豚肉에서 모두 냉장 24시간까지는 抽出性이 증가하는 경향을 보였으며, 그 후 鷄肉은 감소추세를 나타냈으나 豚肉에서는 큰 變化를 보이지 않았다. 鷄肉과 豚肉모두 低溫(-40℃) 凍結에서 더 높은 抽出性을 나타내었다.

3. 冷蔵期間중 鷄肉 myofibril의 Mg^{2+} -ATPase 活性은 3일까지 증가한 후 감소추세를 보였

고, 豚肉은 계속 증가 추세를 나타내었다. 그러나 凍結貯藏중에는 鷄肉보다 豚肉의 活性이 더 빨리 감소하였으며, 저장중에는 凍結溫度에 관계없이 -20℃ 저장이 -10℃ 저장보다 높은 活性을 나타내었다. 凍結前 冷蔵期間에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性은 鷄肉과 豚肉 모두 24시간 냉장시까지 증가하였으며, 그 후에는 변화가 없었으며, 低溫 (-40℃) 凍結에서 더 높은 活性을 나타내었다.

4. 冷蔵期間중 Mg^{2+} -ATPase 活性에 대한 EGTA의 阻害效果가 높게 유지되었으나, 凍結貯藏중에는 貯藏期間이 길어짐에 따라 EGTA의 阻害效果는 감소하였고, -10℃ 저장에서 더 현저하게 감소하였다. 豚肉의 凍結前 冷蔵期間에 따른 Mg^{2+} -ATPase 活性에 대한 EGTA의 阻害效果는 變化를 나타내지 않았으나, 鷄肉에서는 凍結溫度에 관계없이 冷蔵期間이 길어짐에 따라 감소하는 경향을 보였다.

5. 鷄肉과 豚肉의 Ca^{2+} -ATPase 와 EDTA-ATPase 活性은 냉장 1일째에 증가를 보인 후

변화가 없었으며, 凍結貯藏중에는 凍結溫度에 관계없이 -10℃에 저장한 것이 -20℃에 저장한 것 보다 활성의 감소가 빨랐다. 凍結前 冷蔵期間에 따른 鷄肉의 Ca^{2+} -ATPase 와 EDTA-ATPase 活性은 각각 24시간과 12시간 냉장시까지 증가한 후 그 수준을 유지하였으나, 豚肉에서는 거의 변화가 없었다.

6. 冷蔵期間중 鷄肉과 豚肉 myofibril의 SDS-PAGE 結果에서 鷄肉은 저장초기에 tropomyosin 과 troponin-T 復合體가 解離되었고, 貯藏期間이 길어짐에 따라 troponin-T의 消失과 27,000 dalton band의 濃度가 증가하였으나, 豚肉은 저장 7일째에 이르러 27,000 dalton 부근에서 희미한 band의 출현을 감지할 수 있었다. 이와 같은 현상은 凍結前 冷蔵期間중에도 같은 경향을 보이고 있었다. 凍結貯藏중에는 貯藏期間이 길어짐에 따라 tropomyosin 과 troponin-T 復合體의 解離와 濃度의 감소를 볼 수 있었으며, 점차적으로 troponin-T가 消失되었다.

VI. 參考文獻

- Abban, A. R., J. R. Stouffer and R. G. Westervelt. 1975. Prerigor mechanical tensioning of lamb carcasses to improve tenderness. *J. Food Sci.*, 40; 1214.
- Ahmed, O., O. Alain, C. Patrick, M. Nadia, D. Andre and V. Christian. 1983. Comparative effects of post-mortem storage and low - calcium - requiring neutral proteinase on bovine and rabbit myofibrillar proteins. *J. Sci. Food Agric.*, 34; 466-476.
- Arnold, N., E. Wierbicki and F.E. Deatherage. 1956. Postmortem changes in the interaction of cations and proteins of beef and their relation to sex and diethylstilbesterol treatment. *Food Technol.*, 10; 245.
- Asghar, A. and N.T.M. Yeates. 1978. The mechanism for the promotion of tenderness in meat during post-mortem aging process. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 8(3); 1.
- Awad, A., W. D. Powrie and O. Fennema. 1968. Chemical deterioration of frozen bovine muscle at -4°C . *J. Food Sci.*, 33; 227-235.
- Ball, A.K. 1938. Enzyme action in food products at low temperature. *Ice and Cold Storage*, 41: 101.
- Bath-Smith, E. C. and J. R. Bendall. 1947. Rigor mortis and adenosinetriphosphate. *J. Physiol.*, 106; 177-185.
- Bate-Smith, E. C. and J. R. Bendall. 1949. Factor determining the time course of rigor-mortis. *J. Physiol.*, 110; 47-65.
- Bechtel, P. J. and F. C. Parrish Jr. 1983. Effects of postmortem storage and temperature on muscle protein degradation; Analysis by SDS-gel electrophoresis. *J. Food Sci.*, 48; 294-295.
- Bendall, J. R. 1951. The shortening of rabbit muscles during rigor mortis: its relation to the breakdown of adenosine triphosphate and creatine phosphate and to muscular contraction. *J. Physiol.*, 114; 71-78.
- Bendall, J. R. 1960. "Structure and Function of Muscle". Vol.3, ed. by G. H. Bourne, Academic Press, New York. pp. 227-274.
- Bendall, J. R. and J. Wismer-Pederson. 1962. Some properties of the fibrillar proteins of normal and watery pork muscle. *J. Food Sci.*, 27; 144-159.
- Bowen, W. J. and T. D. Kerwin. 1954. A study of the effects of ethylene diaminetetraacetic acid on myosin adenosinetriphosphatase. *J. Biol. Chem.*, 211; 237-247.
- Buege, D. R. and B. B. Marsh. 1975. Mitochondrial calcium and postmortem muscle shortening. *Biochem. Biophys. Res. Commu.*, 65; 478.
- Busch, W. A., M. H. Stromer, D. E. Goll and A. Suzuki. 1972. a. Ca^{2+} -specific removal of Z-lines from rabbit skeletal muscle. *J. Cell Biol.*, 52; 367.
- Busch, W. A., D. E. Goll and F. C. Parrish Jr. 1972. b. Molecular pro-

- properties of postmortem muscle; Isometric tension development and decline in bovine, porcine and rabbit muscle. *J. Food Sci.*, 37; 289.
- Buttkus, H. 1969. Reaction of cysteine and methionine with malonaldehyde. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 46; 88.
- Carafoli, E. and P. Gazzotti. 1970. *Biophys. Res. Commun.*, 39; 842-846.
- Carse, W. A. 1973. Meat quality and acceleration of postmortem glycolysis by electrical stimulation. *J. Food Technol.*, 8; 163-166.
- Cassens, R. G. and R. P. Newbold. 1967. Temperature dependence of pH changes in ox muscle post-mortem. *J. Food Sci.*, 32; 13.
- Cassens, R. G. and C. C. Cooper. 1971. Red and white muscle. *Adv. Food Res.*, Academic Press, New York. 19; 1-74.
- Chaudhry, H. M., F. C. Parrish Jr. and D.E. Goll. 1969. Molecular properties of postmortem muscle. 6. Effect of temperature on protein solubility of rabbit and bovine muscle. *J. Food Sci.*, 34; 183-190.
- Cheng, C. S. and F. C. Parrish Jr. 1977. Effect of Ca^{2+} on changes in myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. *J. Food Sci.*, 42(6); 1621-1626.
- Cheng, C.S. and F. C. Parrish Jr. 1978 a. Effects of postmortem storage conditions on myofibrillar ATPase activity of porcine red and white semitendinosus muscle. *J. Food Sci.*, 43; 17-21.
- Cheng, C. S. and F. C. Parrish Jr. 1978 b. Molecular changes in the salt-soluble myofibrillar proteins of bovine muscle. *J. Food Sci.*, 43; 461-463. 487.
- 崔炳圭, 1980. 鷄肉의 冷蔵中 品質變化에 關한 研究. *韓畜誌*, 22 (6) : 516~527.
- Connell, J. J. 1960 a. Changes in the adenosinetriphosphatase activity and sulfhydryl groups of cod flesh during frozen storage. *J. Sci. Food Agric.*, 11; 245-249.
- Connell, J. J. 1960 b. Changes in the actin of cod flesh during storage at $-14^{\circ}C$. *J. Food Agric.*, 11; 515-519.
- Culler, R. D., F. C. Parrish Jr., G. C. Smith and H. R. Cross. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.*, 43; 1177-1180.
- Davey, C. L. and K. V. Gilbert. 1966. Studies in meat tenderness. 2. Proteolysis and the aging of beef. *J. Food Sci.*, 31; 135.
- Davey, C. L. and K. V. Gilbert. 1967. Structural changes in meat during aging. *J. Food Technol.*, 2; 57-59.
- Davey, C. L. and K. V. Gilbert. 1968. Studies in meat tenderness. 4. Changes in the extractability of myofibrillar proteins during meat aging. *J. Food Sci.*, 33; 2-7.
- Davey, C. L. and K. V. Gilbert. 1969. Studies in meat tenderness 7. Changes in the fine structure of meat during aging. *J. Food Sci.*, 34; 69-74.
- Davey, C. L. and K. V. Gilbert. 1974.

- J. Food Technol., 9; 51-58.
- Dayton, W. R., D. E. Goll, M. H. Stromer, W. J. Reville, M. G. Zeece and R. M. Robson. 1975. Some properties of Ca^{2+} -activated protease that be involved in myofibrillar protein turnover. In "Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation" (Reich, E., D. B. Rifkin and E. Shaw, eds) Vol. 2, p. 551. Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, New York.
- Dayton, W. R., D. E. Goll, M. G. Zeece, R. M. Robson and W. J. Reville. 1976 a. A Ca^{2+} -activated protease possibly involved in myofibrillar protein turnover. Purification from porcine muscle. Biochem., 15(10); 2150-2158.
- Dayton, W. R., W. J. Reville, D. E. Goll and M. H. Stromer. 1976 b. A Ca^{2+} -activated protease possibly involved in myofibrillar protein turnover. Partial characterization of the purified enzyme. Biochem., 15(10); 2159-2167.
- Ebashi, S. and A. Kodama. 1965. α -Actinin, a new structural protein from striated muscle. I. Preparation and action on actomyosin-ATP interaction. J. Biochem., (Tokyo) 58; 107-109.
- Ebashi, S. and M. Endo. 1968. Calcium ion and muscle contraction. Progr. Biophys. Mol. Biol., 18(1); 123-183.
- Erdős, T. 1943. Rigor, contraction and ATP. Studies from Inst. Med. Chem. Univ. Szeged, Hungary. 3; 51.
- Fiske, C. H. and Y. Subbarow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem. 66; 375-400.
- Fujimaki, M., N. Arakawa, A. Okitani and O. Takai. 1965. The Change of "Myosin B" during storage of rabbit muscle. 2. The dissociation of "myosin B" into myosin A and actin and its interaction with ATP. J. Food Sci., 30; 937.
- Fukazawa, T. and T. Yasui. 1967. Biochem. Biophys. Acta, 140; 534-537.
- Fukuda, Y., K. Kakehata and K. Arai. 1981. Denaturation of myofibrillar protein in deep-sea fish by freezing and storage. Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries, 47(5); 663-672.
- Fukuda, Y., Z. Tarakita., K. Kakehata. and K. Arai. 1982. Denaturation of myofibrillar protein in chub mackerel during freezing and storage. Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries, 48 (11); 1627-1632.
- Galloway, K. E. and D. E. Goll. 1967. Effect of temperature on molecular properties of postmortem porcine muscle. J. Ani. Sci., 27; 1302-1308.
- Gergely, J. 1970. Interaction of major myofibrillar proteins. In "Physiology and biochemistry of muscle as a food", 2nd ed., Univ. of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin. p. 349.
- Goll, D. E., D. W. Henderson and E. A. Kline. 1964. Post-mortem changes in physical and chemical properties of bovine muscle. J. Food Sci., 29; 590-596.
- Goll, D. E. and R. M. Robson. 1967. Molecular properties of post-mortem muscle. 1. Myofibrillar nucleoside-

- triphosphatase activity of bovine muscle. *J. Food Sci.*, 32; 323-329.
- Goll, D. E., N. Arakawa, M. H. Stromer, W. A. Busch and R. M. Robson. 1970. Chemistry of muscle proteins as a food: In "The Physiology and Biochemistry of Muscle as a Food" (Briskey, E. J., R. G. Cassens and B. B. Marsh, eds), Univ. of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin. Vol.2, p.755.
- Gornall, A. G., C. J. Bardawill and M. M. David. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 177; 751-766.
- 河淨昱, 1985. 食肉의 貯藏中 筋原纖維蛋白質의 性質變化에 關한 研究. 博士學位論文. 建國大學校.
- Hamm, R. 1970. Properties of meat proteins. In "Proteins as Human Food" (Lawrie, R. A. ed.), Avi Publ., Westport, Connecticut. pp.167-185.
- Hasegawa, T., A. M. Pearson, J. F. Price, J. H. Rampton and R. V. Lechowich. 1970. Effect of microbial growth upon sarcoplasmic and urea-soluble proteins from muscle. *J. Food Sci.*, 35; 720-724.
- Hattori, A. and K. Takahashi. 1979. Studies on the post-mortem fragmentation of myofibrils. *J. Biochem.*, 85; 47-56.
- Hay, J. D., R. W. Currie and F. H. Wolfe. 1972. The effect of aging on physicochemical properties of actomyosin from chicken breast and leg muscle. *J. Food Sci.*, 37; 346-350.
- Hay, J. D., R. W. Currie and F. H. Wolfe. 1973. Effect of postmortem aging on chicken muscle fibrils. *J. Food Sci.*, 38; 981-986.
- Henderson, D. W., D. E. Goll and M. H. Stromer. 1970. A comparison of shortening and Z-line degradation in postmortem bovine, porcine and rabbit muscle. *Amer. J. Anat.*, 128; 117-136.
- Herring, H. K., R. G. Cassens and E. J. Briskey. 1965. Further studies on bovine muscle tenderness as influenced by carcass position, sarcomere length and fiber diameter. *Food Res.*, 30; 1049-1054.
- Hill, A. V. 1952. *Proc. Roy. Soc.*, London Ser B. 139; 464-497.
- Hill, D. K. 1972. Resting tension and the form of the twitch of rat skeletal muscle at low temperature. *J. Physiol.*, 22; 161-171.
- Ikeuchi, Y., T. Ito and T. Fukazawa. 1978. Change in regulation of myofibrillar ATPase activity by calcium during postmortem storage muscle. *J. Food Sci.*, 43; 1338-1339.
- Isogai, O. 1972. Studies on frozen storage of meat: Changes in tenderness and juiciness of pork meat during frozen storage. *Refrigeration*, 47(535); 435-450.
- Ito, T., S. K. Sung and T. Fukazawa. 1978. Change of acto-heavymeromyosin ATPase of rabbit skeletal muscle during postmortem storage. *J. Agric. Food Chem.*, 26(2); 324-326.
- Jungk, R. A., H. E. Snyder, D. E. Goll and K. G. McConnell. 1967. Isometric tension changes and shortening in

- muscle strips during post-mortem aging. *J. Food Sci.*, 32; 158-161.
- 姜昌基, 1981. 鷄肉의 冷凍貯藏에 의한 物理化學的 變化에 關한 研究. 江原大 論文集. 15; 145~150.
- Khan, A. W., L. Van den Berg. and C. P. Lentz. 1963. Effects of frozen storage on chicken muscle proteins. *J. Food Sci.*, 28; 425-430.
- Khan, A. W. and L. Van den Berg. 1964. Some protein changes during postmortem tenderising in poultry meat. *J. Food Sci.*, 29; 537-541.
- 김수민, 成三慶, 1983. 老鷄肉 抽出蛋白質의 乳化特性에 關한 研究. 韓畜誌, 25; 219~226.
- Koohmaraie, M., W. H. Kennick, A. F. Anglemier, E. A. Elgasim and T. K. Jones. 1984 a. Effect of postmortem storage on coldshortened bovine muscle; Analysis by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Food Sci.*, 49; 290-291.
- Koohmaraie, M., W. H. Kennick, E. A. Elgasim and A. F. Anglemier. 1984 b. Effects of postmortem storage on muscle protein degradation; Analysis by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Food Sci.*, 49; 292-293.
- Kornman, M. J. and R. J. Winterbottom. 1960. Post-mortem changes in the water-soluble proteins of bovine skeletal muscle during aging and freezing. *Agric. Food Chem.*, 8(1); 67-72.
- Laki, K. 1957. The composition of contractile muscle proteins. *J. Cellular Comp. Physiol.*, 49, Suppl. 1, p. 249.
- Laakonen, E., G. H. Wellington and J. W. Sherbon. 1970. Low temperature, long time heating of bovine muscle. *J. Food Sci.*, 35; 175-177.
- Locker, R. H. 1960. Degree, of muscular contraction as a factor in tenderness of beef. *Food Res.*, 25; 304-307.
- Locker, R. H. and C. J. Hagyard. 1963. A cold shortening effect in beef muscles. *J. Sci. Food Agric.*, 14; 787-793.
- Locker, R. H. and G. J. Daines. 1976. Tenderness in relation to the temperature of rigor onset in cold shortened beef. *J. Sci. Food Agric.*, 27; 193-196.
- MacBride, M. A. and F. C. Parrish Jr. 1977. The 30,000 dalton component of tender bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.*, 42(6); 1627-1629.
- McCrae, S. E., C. G. Secombe, B. B. Marsh and W. A. Carse. 1971. Studies in meat tenderness. 9. The tenderness of various lamb muscles in relation to their skeletal restraint and delay before freezing. *J. Food Sci.*, 36; 566.
- McCready, S. T. and F. E. Cunningham. 1971. Salt-soluble proteins of poultry meat. *Poultry Sci.*, 50; 243-248.
- McIntosh, E. N. 1967. Post-mortem changes in protein extractability in beef, pork, and chicken muscle. *J. Food Sci.*, 32; 208-209.
- Mellgren, R. L., J. H. Aylward, S. D. Killilea and E. Y. C. Lee. 1979. *J. Biol. Chem.*, 254; 648-652.
- Miller, A. J., S. A. Ackerman and S. A. Palumbo. 1980. Effects of frozen

- storage on functionality of meat for processing. *J. Food Sci.*, 45; 1466-1471.
- 文允熙, 1979. 畜肉의 筋原纖維蛋白質에 對한 比較 研究. 博士學位 論文. 建國大學校.
- Nagainis, P. A., F. H. Wolfe and D. E. Goll. 1983. Hydrosis of Z-disc actin by Ca^{2+} -activated protease. *J. Food Biochem.*, 7(4); 79-85.
- Nakamura, R. 1972. Measurement of tensile strength of muscle fibers and its change during postmortem aging of chicken breast muscle. *J. Agri. Food Chem.*, 20; 809.
- Nakamura, R. 1973. Factors associated with post-mortem increase of extractable Ca^{2+} in chicken breast muscle. *J. Food Sci.*, 38; 1113-1114.
- Nauss, K. M. and R. E. Davis. 1966. Changes in phosphate compound during the development and maintenance of rigor mortis. *J. Biol. Chem.*, 241; 2981-2922.
- 農水産部, 1986. 農政主要指標, (5), pp.232~233.
- Obinata, T., K. Maruyama, H. Sugita, K. Kohama and S. Ebashi. 1981. *Muscle and Nerve*, 4; 456-488.
- Okitani, A., O. Takagi and M. Fujimaki. 1967. The changes of "myosin B" during storage of rabbit muscle. IV. Effect of temperature, pH and ionic strength on denaturation of "myosin B" solution. *Agr. Biol. Chem.*, 31; 939-946.
- Olson, D. G., F. C. Parrish Jr, and M. H. Stromer. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during post-mortem storage. *J. Food Sci.*, 41; 1036-1041.
- Olson, D. G., F. C. Parrish Jr., W. R. Dayton and D. E. Goll. 1977. Effect of postmortem storage and calcium-activated factor on the myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. *J. Food Sci.*, 42; 117-124.
- 朴久富, 1982. 月令別 鷄肉의 熟成 期間中 蛋白質斗 脂質組成 變化에 關한 研究. 博士學位 論文. 東亞大學校.
- Parrish, F. C. Jr., R. B. Young, B. E. Miner and L. D. Andersen. 1973. Effect of postmortem conditions on certain chemical, morphological and organoleptic properties of bovine muscle. *J. Food Sci.*, 38; 690-695.
- Partmann, W. 1963. Post-mortem changes in chilled and frozen muscle. *J. Food Sci.* 28; 15-27.
- Paul, P., L. J. Bratzler, E. D. Farwell and K. Knight. 1952. Studies on tenderness of beef. I. Rate of heat penetration. *Food Res.*, 17; 504-510.
- Pearson, A. M., A. M. Wolzak and J. L. Gray. 1984. *J. Food Biochem.*, 8(1); 189.
- Penny, I. F., C. A. Voyle and E. Dransfield. 1974. The tenderizing effect of a muscle proteinase on beef. *J. Sci. Food Agric.*, 25; 703-708.
- Penny, I. F. 1976. The effect of conditioning on the myofibrillar proteins of pork muscle. *J. Sci. Fd Agric.* 27; 1147-1155.
- Ramsbottom, J. M. and E. J. Strandine. 1949. Initial physical and chemical

- changes in beef as related to tenderness. *J. Ani. Sci.*, 8; 398.
- Samejima, K. and F. H. Wolfe. 1976. Degradation of myofibrillar protein components during postmortem aging of chicken muscle. *J. Food Sci.*, 41; 250-254.
- Seki, N., Y. Oogane. and T. Watanabe. 1980. Changes in ATPase activities and other properties of sardine myofibrillar proteins during ice-storage. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries*, 46(5); 607-615.
- Seki, N. and T. Watanabe. 1982. Changes in morphological and biochemical properties of the myofibrils from carp muscle during postmortem storage. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries*, 48(4); 517-524.
- Shapiro, A. L., E. Vinuela and J. V. Maizel. 1967. Molecular weight estimation of polypeptide chains by electrophoresis in SDS-polyacrylamide gels. *Biochem. J.* 128; 106.
- Smith, G. C., T. C. Arango and Z. L. Carpenter. 1971. Effect of physical and mechanical treatments on the tenderness of beef longissimus. *J. Food Sci.*, 36; 445.
- Sonaiya, E. B., J. R. Stouffer and D. H. Beerman. 1982. Electrical stimulation of mature cow carcasses and its effect on tenderness, myofibril protein degradation and fragmentation. *J. Food Sci.*, 47; 889-891.
- Stewart, G. F., H. L. Hanson, B. Lowe and J. J. Austin. 1945. Effects of aging, freezing rate, and storage period on palatability of broilers. *Food Res.*, 10; 16-27.
- 成三慶, 1982. 알카리 强直筋의 冷凍貯藏중의 變化에 關한 研究. *韓畜誌*, 24(1); 20~26.
- 成三慶, 1983. 알카리 强直筋의 筋原纖維蛋白質의 死後變化. *韓畜誌*, 25; 190~194.
- Suzuki, A. and D. E. Goll. 1974. Quantitative assay for CASF(Ca^{2+} -activated sarcoplasmic factor) activity, and effect of CASF treatment of ATPase activities of rabbit myofibrils. *Agr. Biol. Chem.*, 38(11); 2167-2175.
- Suzuki, A., Y. Nonami and D. E. Goll. 1975. Proteins released from myofibrils by CASF(Ca^{2+} -activated sarcoplasmic factor) and trypsin. *Agr. Biol. Chem.*, 39(7); 1461-1467.
- Szent-Györgyi, A. 1951. "Chemistry of Muscular Contraction." 2nd rev., Academic Press, New York.
- Takahashi, K., T. Fukazawa and T. Yasui. 1967. Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. *J. Food Sci.*, 32; 409-413.
- Takahashi, K. 1983. Changes in tenderness of meat during postmortem aging. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 54(8); 423-436.
- Vasington, F. D. and J. V. Murphy. 1962. *J. Biol. Chem.*, 237; 2670-2677.
- Weber, K. and M. Osborn 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244; 4406-4412.
- Wierbicki, E., L. E. Kunkle, V. R. Ca-

- hill and F. E. Deatherage. 1954. The relation of tenderness to protein alterations during post-mortem aging. *Food Technol.*, 8; 506-511.
- Wolfe, F. H. and K. Samejima. 1976. Further studies of post-mortem aging effects on chicken actomyosin. *J. Food Sci.*, 41; 244-249.
- Yamamoto, K., T. Hosokawa and K. Samejima. 1974. Effect of freezing on the myofibril from hen breast muscle. *J. Coll. Dairying*, 5; 119.
- Yamamoto, K., K. Samejima and T. Yasui. 1977. A comparative study of the changes in hen pectoral muscle during storage at 4°C and -20°C. *J. Food Sci.*, 42(6); 1642-1645.
- Yang, R., A. Okitani and M. Fujimaki. 1970. Studies on myofibril from the stored muscle. *Agr. Biol. Chem.*, 34; 1765-1772.
- Yang, R., A. Okitani and M. Fujimaki. 1972. Effect of trypsin treatment on the ATPase activity of myofibrils from the stored rabbit muscle. *Agr. Biol. Chem.*, 36; 2087-2095.
- Yang, R., C. J. Kim., Y. H. Moon and J. H. Yu. 1974. Studies on the myofibrillar proteins. 1. Phase microscopy of myofibrils from rabbit muscle. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 6; 79-85.
- Yang, R., A. Okitani and M. Fujimaki. 1978. Postmortem changes in regulatory proteins of rabbit muscle. *Agric. Biol. Chem.*, 42; 555-563.
- Yano, N. H. 1968. Preservation of milk, meat and poultry products at low temperatures. *Jap. Ani. Sci.*, 39(3); 91-99.
- Zender, R., C. Lataste-Doroll, R. A. Collet, P. Powinske and R. F. Mouton. 1958. *Food Res.*, 23; 305-326.



謝 辭

本 論文이 나오기까지 정성어린 지도를 하여 주신 李賢鍾 指導 教授님, 많은 忠告와 論文을 검토하시느라 애쓰신 文允熙 教授님께 진심으로 感謝를 드립니다.

또한 많은 조언으로 미비한 점을 바로 잡아 주신 鄭昌朝 審査委員長님과 宋啓源 教授님 그리고 宋大鎭 教授님께도 깊은 感謝를 드립니다.

그리고 실험을 할 수 있는 여건을 마련하여 주신 東西學園 張聖萬 理事長님과 金修石 學長님, 격려와 많은 도움을 주신 食品營養學科 동료 教授들과 그 밖에 도움을 주셨던 여러분들께도 진심으로 感謝를 드립니다.

특히 지난 3년간 실험을 도와준 가공실험실의 卒業生과 在學 生 여러분들의 노고에 깊은 感謝를 드립니다.

끝으로 깊은 愛情으로 용기를 주신 父母님과 장인 장모님, 원고 정리를 도와준 동생 貞順과 英順, 그리고 그동안 많은 어려움을 참고 뒷바라지를 하여준 智榮, 熙榮, 大榮이 엄마와 이 기쁨을 나누고 싶습니다.