

방어 普通肉과 血合肉의 蛋白質 및 아미노酸組成의 死後變化*

金章亮 · 崔暎準 · 卞在亨

釜山水産大學 食品工學科 釜山水産大學 食品營養學科

Changes Occurred in Protein and Amino Acid Compositions during Postmortem Aging of White and Dark Muscle of Yellowtail at 2°C

Chang-Yang KIM

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Busan,
Namgu, Busan, 608 Korea

Yeung-Joon CHOI · Jae-Hyeung PYEUN

Department of Food and Nutrition Science, National Fisheries University of Busan,
Namgu, Busan, 608 Korea

We investigated the changes in protein and free amino acid compositions of the muscles, and amino acid composition of the muscle proteins during postmortem storage of dorsal white and lateral dark muscles of yellowtail, *Seriola quinqueradita*, which were kept at 2°C. We present an extensive discussion on the relationship between the changes of freshness and those of protein compositions in the white and the dark muscle of the red-fleshed fish by analyzing polyacrylamide gel electrophoretograms of NaDodSO₄-solubilized sarcoplasmic and myofibrillar proteins extracted from the both muscles.

By assessing K-value, total volatile basic nitrogen and pH value as a criterion of freshness, we found that the dark muscle undergoes a more rapid decrease in its freshness compared to that of the white muscle.

The contents of the sarcoplasmic and the myofibrillar protein were decreased with postmortem aging of the muscles while those of the residual intracellular protein were increased, and these changes were somewhat faster in the dark muscle than in the white muscle.

From the analysis of the electrophoretograms and their densitograms, we found that the sarcoplasmic proteins of the white and the dark muscle were respectively composed of 16 and 12 components. The sarcoplasmic protein of the white muscle lapsed for 10 days showed an increase of 18,000 and 41,000 dalton components, and a gradual decrease of 23,000 and 23,500 dalton components, whereas the sarcoplasmic protein of the dark muscle lapsed for 9 days showed a decrease of 49,000 dalton component, an appearance of a newly formed component of 47,000 dalton, and a disappearance of 26,000 dalton component. The electrophoretograms of the myofibrillar proteins showed that the white and the dark muscle were composed of 17 and 16 components, respectively.

* 本 研究는 釜山水産大學附設 水産食品研究所의 1981年度事業의 一部임.

* 本 研究는 1981年度 文敎部 學術研究助成費의 支援으로 이루어 졌음.

Depending on the lapsed time of postmortem under the controlled condition, the myofibrillar proteins of the white muscle showed an increase of 40,000 dalton component, a gradual decrease of 37,500 dalton component, an appearance of a newly forming component of 32,000 dalton and a disappearance of 26,000 dalton component. On the other hand, the myofibrillar proteins of the dark muscle showed an increase of 58,000 and 64,000 dalton bands, a disappearance of light chain-2 protein and an appearance of a newly forming protein of 32,000 dalton. These changes on the electrophoretic patterns in the dark muscle were more rapid than those in the white muscle.

In almost all of the cases, we observed that the changes in the sarcoplasmic protein were faster than those in the myofibrillar protein.

The analysis of amino acid of the both muscle proteins showed that the white muscle was rich in glutamic acid, aspartic acid, leucine, arginine, lysine, etc. but was poor in proline and tryptophan. No significant difference was found in the amino acid composition of protein of both the white and the dark muscles.

The sample of white muscle lapsed for 10 days shows a remarkable decrease in glutamic and aspartic acids, while that of the dark muscle lapsed for 9 days shows an appreciable decrease in alanine, glycine and arginine. The free amino acid compositions of the white and the dark muscles are respectively characterized with 63% of histidine and 67% of taurine with respect to the total free amino acids of the yellowtail at-death, respectively.

The white muscle lapsed for 10 days showed an increase of histidine, valine and taurine, and a slight decrease of alanine, leucine and glycine. The dark muscle lapsed for 9 days showed an increase of taurine, phenylalanine and glycine, and a decrease of histidine, alanine and serine.

緒 論

赤色肉魚類에는 水産業上 重要な 對象魚種이 많을뿐만 아니라, 그 肉은 生理的으로는 勿論, 化學組成上으로도 差異點이 많은 血合肉과 普通肉으로 構成되어 있어, 最近에는 蛋白質組成을 위주로하여 이에 대한 關心이 높아져 가고 있다(志水와 清水, 1960; 志水 等, 1973; Watabe et al., 1977; Hashimoto et al., 1979).

魚肉蛋白質의 組成은 棲息 및 生育條件에 따라서도 影響을 받겠지만, 漁獲後의 貯藏條件이나 鮮度狀態에 따라서도 많은 影響을 받는다(新井, 1971; Hashimoto et al., 1979; 卞과 南, 1981).

本研究는 赤色肉魚類의 鮮度變化와 普通肉 및 血合肉의 蛋白質組成과의 關係를 밝힘으로써, 이 種類에 屬하는 魚類의 加工原料條件에 關한 基礎資料를 提示하기 위하여 試圖하였다.

이같은 目的으로 普通肉과 血合肉의 鮮度變化 段階別 蛋白質의 組成과 各肉의 構成 및 遊離아미노酸의 組成을 分析하였으며, 筋形質蛋白質과; 筋原纖維

蛋白質에 對하여는 構成蛋白質의 分布變化를 確認하기 위하여 電氣泳動像을 比較 解析하였기에 報告한다.

材料 및 方法

1. 材 料

慶南欲知島近海에서 1981年 8月 22日에 漁獲한 살아 있는 방어(*Seriola quinqueradita*, 體長 45~50 cm, 體重 1100~1250 g) 12尾를 低溫室(0~4°C)로 運搬하고 即殺시킨 다음, 側部 血合肉과 背部 普通肉을 各各 切取하여 約 1×2×1 cm의 肉片으로 切斷 分割하였다. 分割한 肉片은 다시 個體差가 없도록 各 部位에 該當하는 肉片을 各 10個群으로 均分하여 polyethylene film으로 密封한 後에 2°C의 冷藏庫에 保管하면서 鮮度變化 段階別로 各各 磨碎하여 分析用 試料로 하였다.

本實驗中 蛋白質組成分析에 쓴 試藥은 모두 試藥用 特級을, 또 電氣泳動分析에 쓴 試藥은 電氣泳動用 試藥을, 그리고 試藥의 調製에는 脫이온 蒸溜水를

使用하였다.

한편 蛋白質組成測定을 위한 試料의 調製는 低溫 實驗室(0~4°C)에서 行하였다.

2. 分析方法

(1) 鮮度變化: 低溫保存中の 各肉에 대한 死後經過中の 鮮度變化는 揮發性鹽基窒素, K-값 및 pH의 變化로서 推定하였으며, 揮發性鹽基窒素는 微量擴散法(日本厚生省, 1960)으로, K-값은 Kobayashi와 Uchiyama(1970)의 方法으로, 그리고 pH는 유리電極 pH計 (Fisher 製, Model; 630)로 測定하였다.

(2) 蛋白質組成의 測定: 死後經過中 鮮度變化 段階別, 各肉의 蛋白質組成의 測定은 Fig.1에 나타낸 方法으로 分劃하여, 溶液狀態로 分劃된 것은 bovine albumin을 標準으로 micro Kjeldahl 法에 의하여 窒素量을 檢定作成한 檢量曲線을 基準으로 하여 Gornall et al.의 方法(菅原와 副島, 1979)에 따라

微量 Biuret 法으로 測定하였으며, 殘渣로 分劃된 것은 micro Kjeldahl 法으로 測定하였다.

蛋白質組成測定을 위한 溶解度別 分離分劃은 Fig.1에 나타낸바와 같이 먼저 磨碎한 방어의 各肉에 1.5倍容의 0.1M NaHCO₃를 加하여 均質化한 다음, 8倍容의 0.58M NaCl·0.01M NaHCO₃를 加하여 4時間동안 抽出하고 遠心分離하였다. 沈澱은 같은 方法으로 反復 抽出하여 얻어진 沈澱에 0.1N NaOH를 加하여 抽出 遠心分離하는 過程을 反復하여 얻은 上層液中的 蛋白質을 細胞內殘渣蛋白質, 그 殘渣를 基質蛋白質로 하였다.

그리고 위의 0.58M NaCl·0.01M NaHCO₃로 反復抽出한 上層液은 16倍容의 冷水로서 稀釋한 다음 遠心分離하여 얻어진 沈澱을 筋原纖維蛋白質, 上層液에 4%까지의 TCA를 加하여 沈澱되는 區分을 筋原質蛋白質로 하였다.

筋原質蛋白質과 筋原纖維蛋白質의 電氣泳動分析: 蛋白質의 組成測定을 위한 分劃過程에서 分離된 筋

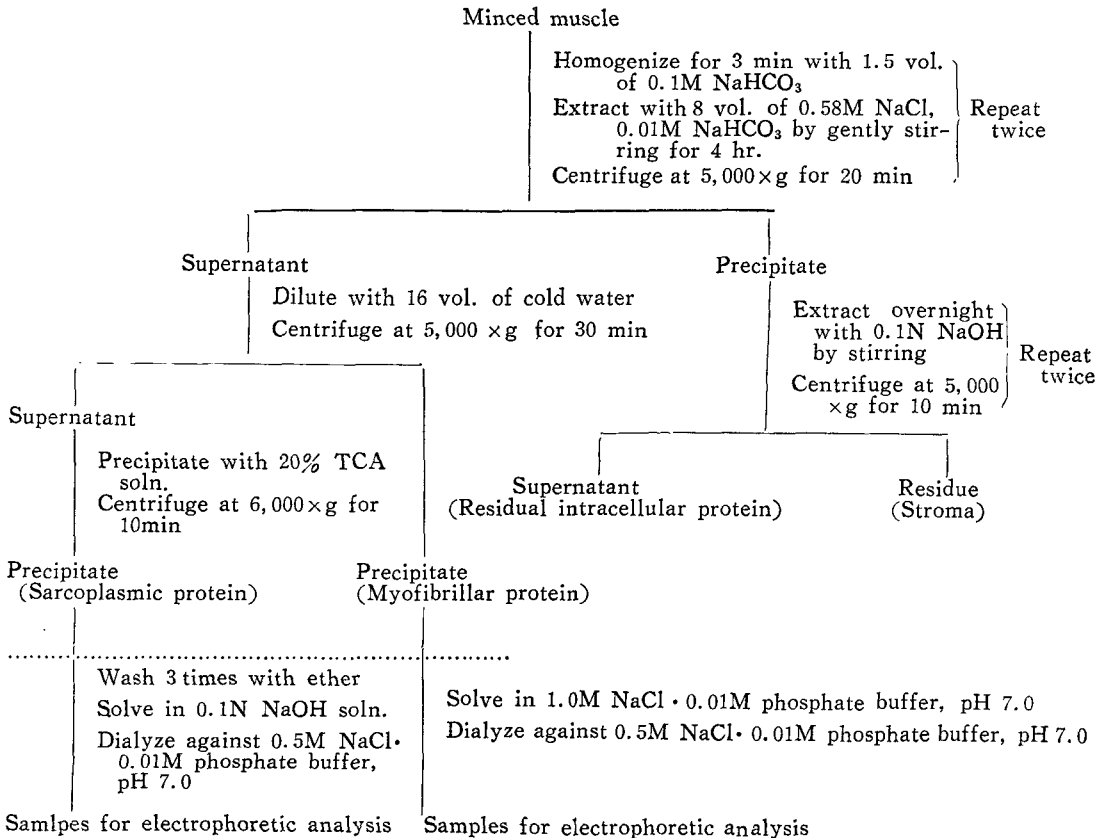


Fig. 1. Procedure for analyzing protein composition of yellowtail muscles.

原質蛋白質과 筋原纖維蛋白質의 一部에 대하여는 鮮度變化 段階別 構成蛋白質의 變化를 推定하기 위하여 Fig.1의 點線 以下の 處理를 거쳐 Weber와 Osborn(1969)의 方法에 따라 NaDodSO₄-Polyacrylamide 겔 電氣泳動分析을 하였으며, 電氣泳動像은 다시 dual wavelength scanner(Shimadzu, CS-910)로서 染色帶의 着色度를 波長 550 nm에서 面積比 軌跡하여 積分計에 의하여 그 濃度를 推定하였다. 그리고 筋原質蛋白質의 電氣泳動像에 대하여는 分子量 既知의 cross-linked hemoglobin(molecular weight markers, Sigma 製, H 2507)을 같은 條件

으로 電氣泳動分析하였을 때 나타난 電氣泳動像中의 着色帶와 對照하여 그 構成蛋白質의 分子量을 推定하였다.

蛋白質 構成아미노酸과 遊離아미노酸의 組成: 방어 血合肉과 普通肉의 蛋白質을 構成하는 아미노酸과 各肉中의 遊離아미노酸의 組成은 아미노酸自動分析計(日本電子製, JLC-6 AH, No. 310)로서 分析하였다. 이때의 分析用 試料中 蛋白質 構成아미노酸 分析用의 試料는 Fig. 2의 方法에 따라 調製하였다. 即 磨碎한 肉을 에칠알코올로써 抽出하여 遊離아미노酸 等 窒素化合物을 除去한 後에, 다시 아세톤,

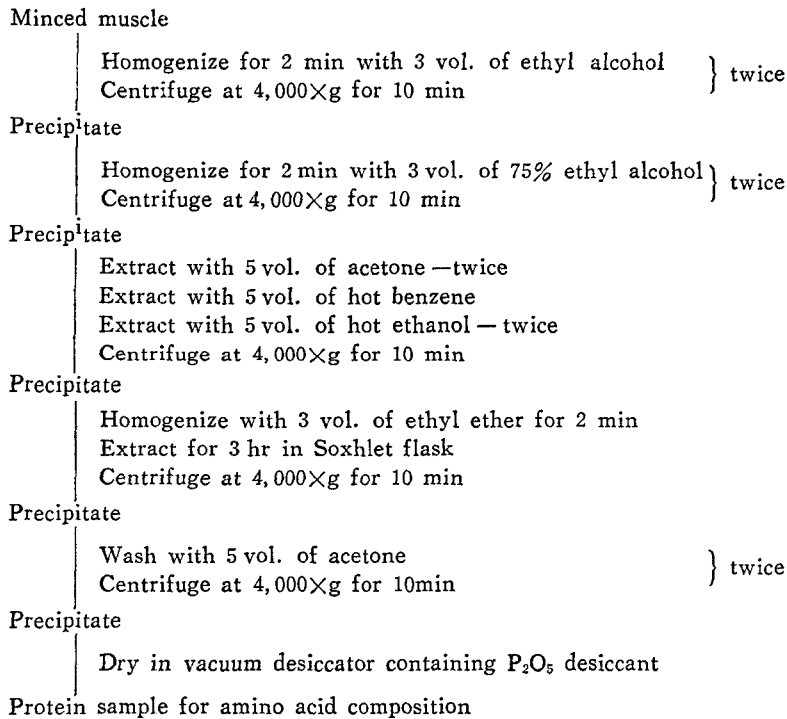


Fig. 2. Procedure for preparing the proteins freed from fat and non protein nitrogenous compounds in analysis of amino acid composition on muscle proteins of yellowtail.

加熱벤젠, 熱에 타눌로써 有機溶媒 可溶成分을 除去하고 五酸化磷이 들어 있는 데시케이터에서 減壓下에 乾燥시켜 6 N HCl 로써 加水分解한 것을 아미노酸 分析用 試料로 하였다. 그리고 트립토판은 Spies와 Chamber(1948)의 方法으로 測定하였다.

한편 遊離아미노酸 分析用의 試料는 磨碎한 各肉을 70% 에칠알코올로써 抽出한 다음, 다시 分液깔대기를 써서 에틸로써 脂肪을 除去한 後에 피크린酸으로 蛋白質을 沈澱 除去시키고 樹脂겔럼(Dowex 2×8, Cl⁻ form, 2×4 cm)을 通過시켜 피크린酸을

除去한 試料液을 濃縮함으로써 調製하였다.

結果 및 考察

一般成分의 組成과 鮮度變化: 방어肉을 血合肉과 普通肉으로 區分하여 即殺後와 鮮도가 揮發性鹽基窒素量으로 腐敗初期段階에 到達한 貯藏日에 測定한 一般成分의 組成을 Table 1에 나타내었다.

即殺後의 成分組成을 보면, 普通肉에 比하여 血合肉은 水分量이 적은 反面 脂肪은 훨씬 많은 特徵을

방어 普通肉과 血合肉의 蛋白質 및 아미노酸組成的 死後變化

Table 1. Proximate composition of the white and the dark muscle of yellowtail (Unit:%)

Muscle	Days of post-mortem lapse	Moisture	Crude protein(Protein-N)	Crude fat	Ash
White	at-death	74.1	21.1(3.2)	1.5	1.3
	11 days	73.8	21.5(2.9)	1.1	1.4
Dark	at-death	72.0	20.5(2.9)	6.6	1.2
	10 days	71.9	21.3(2.6)	6.3	1.3

보였고, 灰分의 量은 비슷하였다.

志水等(1973)은 방어肉의 成分組成을 季節別, 天然 및 養殖別로 測定한 結果, 粗蛋白質의 量은 天然·養殖의 差異, 年齡, 季節에 關係없이 거의 一定한 값을 보이고, 水分과 脂質의 量은 變動이 甚하다고 하였는데, 本實驗의 結果에 의하면 肉의 種類에 따른 差異도 비슷한 結果임을 알 수 있었다.

腐敗初期에 가까운 段階에 該當하는 2°C 保藏에서 普通肉이 11日째와 血合肉이 10日째일때의 組成 또한 即殺했을 때의 組成에 比하여 差異가 적은 것으로 보아 鮮度變化 自體는 一般成分의 組成에는 影響이 적은것을 알 수 있었다.

방어肉의 即殺後의 2°C에 保管하여 鮮도가 變化하는 過程中에 K-값과 揮發性鹽基窒素量 및 pH의 變化를 測定하여 그 關係를 Fig. 3 및 4에 나타내었다.

먼저 普通肉에 대하여 보면(Fig. 3), K-값과 揮

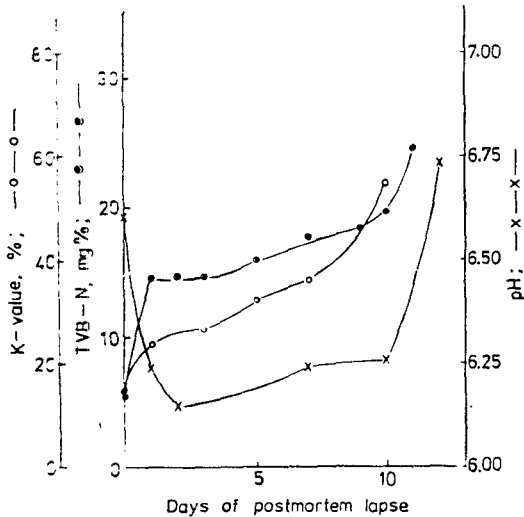


Fig. 3. Postmortem Changes in indices of freshness (K-value, total volatile basic nitrogen (TVB-N) and pH) of yellowtail white muscle.

發性鹽基窒素의 量은 保藏日數의 經過와 더불어 增加하여 保藏 11日째에는 K-값은 56.46% 였으며, 이때의 揮發性鹽基窒素의 量은 24.63% 이었다. 그러나 pH는 即殺後는 6.68이던것이 保藏 初期에는 떨어졌다가 10日以後부터는 上昇하는 關係를 보였다.

血合肉에 있어서는(Fig. 4), K-값은 保藏 初期부터 急增하여 保藏 2日째부터는 76%에서 保藏 10日째의 80%까지 一定한 水準을 維持하였다.

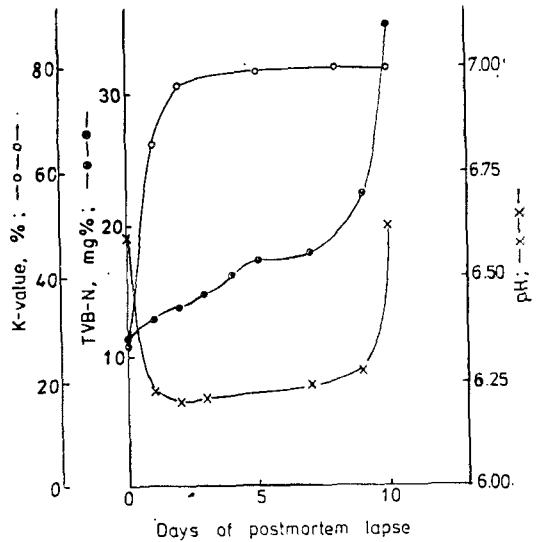


Fig. 4. Postmortem changes in indices of freshness (K-value, total volatile basic nitrogen (TVB-N) and pH) of yellowtail dark muscle.

揮發性鹽基窒素의 量은 保藏 7日째까지는 緩慢한 增加를 보였으나 以後 急速히 增加하여 保藏 10日째에는 揮發性鹽基窒素量의 腐敗初期 該當量 30mg%를 超過한 35.52mg%에 達하였다.

血合肉과 普通肉의 保藏中의 鮮度變化에 따른 K-값, 揮發性鹽基窒素量 및 pH의 變化 樣相을 보면 血合肉쪽이 大體로 迅速한 增加를 보였으며, 이같은 傾向은 K-값에서 特別 顯著하였다.

Table 2. Change in protein composition of the white and the dark muscle of yellowtail by freshness during post-mortem lapse.

Muscles	Days of post-mortem lapse (day)	Conditions in freshness		Protein-N(mg-N/g-muscle)			
		TVB-N (mg%)	K-value	Sarcoplasmic	Myofibrillar	Residual intracellular	Stroma
White	at-death	5.70	13.20	10.07(31.7)	18.47(58.1)	2.94(9.2)	0.32(1.0)
	2 days	15.48	31.09	9.95(31.3)	17.98(56.6)	3.57(11.2)	0.30(0.9)
	10 days	19.63	36.82	8.43(28.1)	17.04(56.0)	4.13(13.7)	0.38(1.3)
	11 days	24.63	56.46	8.63(29.5)	15.79(53.9)	4.34(14.8)	0.53(1.8)
Dark	at-death	10.16	27.20	7.08(24.5)	12.72(44.0)	8.42(29.0)	0.67(2.3)
	2 days	13.80	76.39	9.40(32.5)	5.56(19.2)	13.22(45.7)	0.75(2.6)
	9 days	22.27	80.01	7.90(28.0)	2.29(8.40)	16.40(60.2)	0.67(2.5)
	10 days	35.52	80.00	6.70(25.6)	1.58(6.0)	17.29(66.0)	0.63(2.4)

Numericals in parentheses represent percentage distribution to protein-N in the muscles.

蛋白質組成의 變化: 保藏日數에 따른 鮮度變化와 普通肉과 血合肉의 蛋白質의 組成과의 關係를 Table 2에 나타내었다.

即殺後의 普通肉과 血合肉의 蛋白質組成을 보면 普通肉은 筋原質蛋白質이 約 32%, 筋原纖維蛋白質이 58%, 細胞內殘渣蛋白質이 9%, 基質蛋白質이 1% 程度였는데 대하여 血合肉은 筋原質蛋白質이 25%, 筋原纖維蛋白質이 44% 로써 普通肉보다도 훨씬 적었으며, 反面에 細胞內殘渣蛋白質은 29%, 基質蛋白質은 2.3% 로써 普通肉보다도 훨씬 많은 差異를 보였다.

志水와 清水(1960)는 방어肉의 蛋白質組成을 測定한 結果, 全體 蛋白態窒素에 대하여 筋原質蛋白質이 32%, 筋原纖維蛋白質이 60%, 細胞內殘渣蛋白質이 5%, 基質蛋白質이 3% 이었다고 하였는데, 이 結果는 방어肉의 어느部分을 取하였는지 分明하지 않지만, 本研究의 普通肉은 細胞內殘渣蛋白質이 조금 많았으며 基質蛋白質은 도리어 조금 적었는가 하면, 血合肉은 筋原質蛋白質, 筋原纖維蛋白質 및 基質蛋白質이 모두 조금씩 적었다.

死後 保藏期間의 經過에 의한 鮮度變化에 따른 蛋白質組成의 變化를 보면, 먼저 普通肉에 있어서는 鮮度の 低下와 더불어 筋原質蛋白質과 筋原纖維蛋白質은 조금씩 減少한 反面, 細胞內殘渣蛋白質은 相對的으로 增加하였다.

血合肉에 있어서는 筋原質蛋白質은 그 變化가 不規則하였지만 筋原纖維蛋白質은 保藏期間의 經過와 더불어 顯著한 減少를 보였으며, 이에 反하여 細胞內殘渣蛋白質量의 增加도 顯著하였다.

兩肉中의 基質蛋白質은 保藏期間의 經過에 따른 影響은 적었지만 肉相互間을 比較하면 血合肉中의 量이 普通肉中의 量에 比하여 約 2倍 程度 많았다.

普通肉과 血合肉의 筋原質蛋白質과 筋原纖維蛋白質에 對하여는 死後經過에 따른 組成蛋白質의 變化를 推定하기 위하여 NaDodSO₄ 化에 의한 subunit의 變化를 polyacryl amide 겔 電氣泳動法으로 分析하였으며, 그 結果를 densitogram 와 함께 Fig. 5 ~8, 그리고 Table 3 과 4 에 나타내었다.

먼저 普通肉의 筋原質蛋白質을 보면(Fig. 5), 即殺한 것일때는 濃도가 어느程度 진한것이 分子量 108,000, 分子量 58,000, 分子量 49,000, 分子量 45,000, 分子量 37,000, 分子量 31,000, 分子量 28,500, 分子量 11,800 등 8個 蛋白質, 그리고 濃도가 比較的 높은것이 分子量 66,000, 分子量 64,000, 分子量 55,000, 分子量 26,000, 分子量 23,500, 分子量 22,000, 分子量 18,000, 分子量 15,000 등 8個 蛋白質, 都合 16個의 蛋白質組成 成分이 檢出되었으며, 이中 量的으로 두드러지게 많은 것은 分子量 45,000 과 分子量 37,000 인 두 成分을 들수 있었다. 死後 保藏期間의 經過에 따른 變化는 保藏 11日까지 커다란 變化는 없었지만, 保藏 10日째부터 分子量 41,000 과 18,000 에 該當하는 蛋白質이 조금씩 增加함을 알 수 있었다. 그리고 即殺한 普通肉의 筋原質蛋白質에서 볼 수 있었던 分子量 26,000 의 成分이 保藏 10日以後부터는 漸次 減少하여 갔으며, 分子量 23,500 과 分子量 22,000 의 成分은 消滅하였다. 血合肉의 筋原質蛋白質에 있어서는(Fig. 6) 即殺한 것일때는 濃도가 진한것이 分子量 45,000, 分子量 37,000, 그리고 分子量 16,500 등 3個 成分, 濃도가 높은것이 分子量 108,000, 分子量 92,000, 分子量 66,000, 分子量 58,000, 分子量 49,000, 分子量 31,000, 分子量 28,500, 分子量 26,000, 그리고 分子量 14,000 등 9個 成分으로써 都合 12個의 組成蛋白質이 檢出되었다.

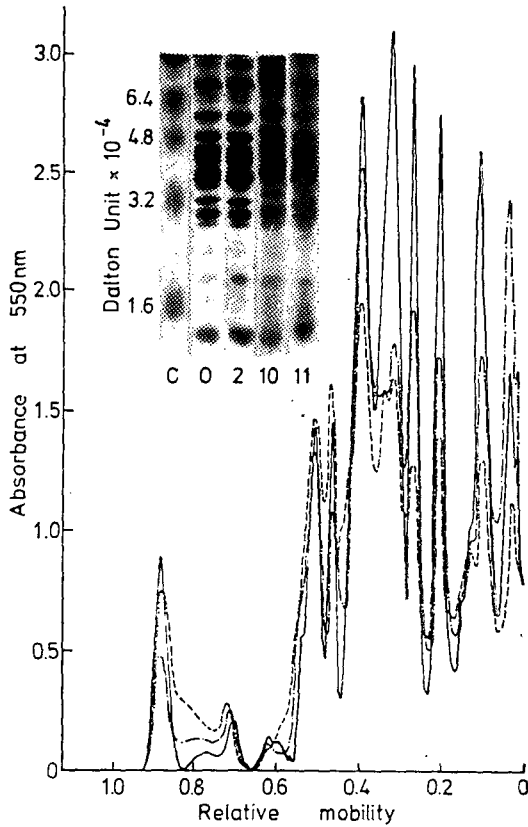


Fig. 5. Electrophoretograms and densitograms of NaDodSO₄-solubilized sarcoplasmic proteins from at-death and postmortem yellowtail white muscle lapsed at 2°C. Numbers described under the electrophoretograms are represented the lapsed days of postmortem muscle and capital letter c is indicated the cross-linked hemoglobin used as a molecular weight marker protein.

Solid line, at-death muscle; dashed and dotted line, muscle lapsed for 10 days; dotted line, muscle lapsed for 11 days.

即殺한 血合肉 筋原質蛋白質의 NaDodSO₄ 化 sub-unit 를 電氣泳動한 電氣泳動像을 即殺한 普通肉 筋原質蛋白質의 그것과 比較하면 (Table. 3) 普通肉에는 存在하던 蛋白質이 血合肉에는 없는것이 分子量 64,000, 分子量 55,000, 分子量 41,000, 分子量 23,500, 分子量 22,000, 分子量 18,000, 分子量 11,800 의 7個 成分, 그리고 血合肉에는 存在하나 普

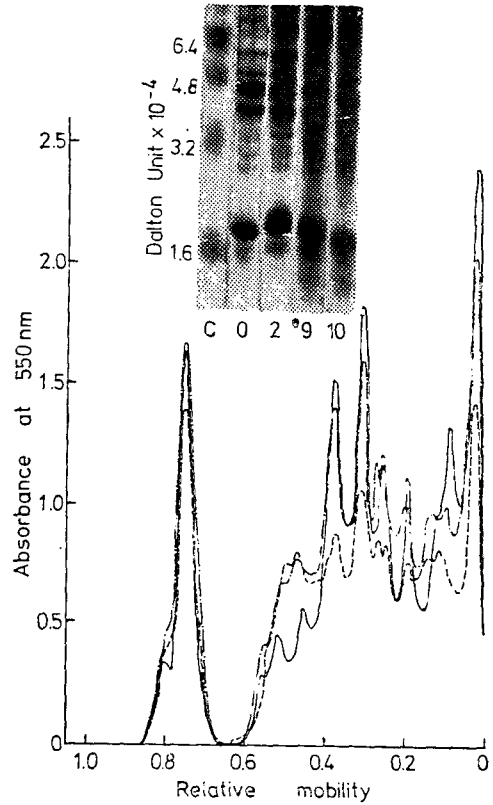


Fig. 6. Electrophoretograms and densitograms of NaDodSO₄-solubilized sarcoplasmic proteins from at-death and postmortem yellowtail dark muscle lapsed at 2°C. Numbers described under the electrophoretograms are represented the lapsed days of postmortem muscle and capital letter c is indicated the cross-linked hemoglobin used as a molecular weight marker protein.

Solid line, at-death muscle; dashed and dotted line, muscle lapsed for 9 days; dotted line, muscle lapsed for 10 days.

通肉에는 없는 成分은 分子量 92,000 과 分子量 16,500 및 分子量 14,000 의 3個 成分을 檢出할 수 있었다. 이 結果에서 미루어 血合肉과 普通肉은 蛋白質의 組成 上으로는 勿論 그 生理的 機能上으로도 많은 差異點이 있음을 窺及할 수 있었다.

死後經過에 따른 血合肉 筋原質蛋白質의 組成成分의 變化를 檢討하여 보면 (Fig. 6), 2°C 經過 9日 까지는 全體의 上으로는 어떤水準의 濃度の 減少를 보

Table 3. Subunit distribution on the electrophoretograms of NaDodSO_4 -solubilized sarco-plasmic protein from the white and the dark muscle of at-death yellowtail

Subunit No.	Mobility	Estimated molecular weight ($\times 10^{-3}$)	Distribution in sarcoplasmic protein	
			White muscle	Dark muscle
1	0.098	108	+	+
2	0.111	92	-	+
3	0.131	66	+	+
4	0.153	64	+	-
5	0.199	58	+	+
6	0.226	55	+	-
7	0.270	49	+	+
8	0.312	45	+	+
9	0.344	41	+	-
10	0.397	37	+	+
11	0.470	31	+	+
12	0.510	28.5	+	+
13	0.546	26	+	+
14	0.596	23.5	+	-
15	0.628	22	+	-
16	0.711	18	+	-
17	0.746	16.5	-	+
18	0.815	14	-	+
19	0.893	11.8	+	-

+: Subunit appeared on the electrophoretogram.

-: Subunit did not appear on the electrophoretogram.

였으며, 保藏時日의 經過에 따른 두드러진 變化를 든다면 分子量 49,000의 成分이 漸次 減少하는 代身, 分子量 47,000의 成分이 새로히 形成되었고, 또 普通肉에서 처럼 分子量 26,000에 該當하는 成分은 消失하는 特徵을 보였다.

死後經過에 따른 血合肉과 普通肉의 筋原纖維蛋白質의 組成變化를 亦是 polyacryl amide 겔 電氣泳動法으로 分析한 結果를 Fig. 7 및 Fig. 8에 나타내었다.

먼저 普通肉의 筋原纖維蛋白質의 組成成分을 보면 (Fig. 7), 分子量 200,000인 myosin heavy chain에 該當하는 蛋白質外에 分子量 156,000, 分子量 136,000, 分子量 68,000, 分子量 64,000, 分子量 58,000 및 分子量 52,000의 微細成分이 檢出되었으며, 그 다음에 分子量 45,000의 actin과 分子量 40,000과 37,500의 蛋白質이 檢出되었다.

다음으로 分子量 36,000의 tropomyosin, 分子量 28,500의 troponin-T, 分子量 24,000의 myosin light chain-1, 分子量 21,000의 troponin-I, 分子量 17,500의 myosin light chain-2, 分子量 16,500의 myosin light chain-3가 各各 檢出되었다. 이렇게 檢出된 各 組成蛋白質은 잉어의 筋原纖維蛋白質에 對하여 同一方法으로 電氣泳動시켰을 때의 易動

度를 比較하여 判定하였으며 (高士 等, 1974; 今野와 關, 1975; Tsuchiya and Matsumoto, 1975), 그 結果 방어의 普通肉과 血合肉中の actin과 tropomyosin, troponin-T, myosin light chain-1 등은 그 分子量이 微微하지만 조금 작은것을 알 수 있었다.

保藏期間의 經過에 따른 普通肉 筋原纖維蛋白質의 組成蛋白質의 變化를 보면, 即殺했을때의 分子量 40,000에 該當하던 成分이 保藏 10日부터는 增加한 反面에 分子量 37,500의 成分이 漸次 줄어들었고 또 別途로 分子量 32,000의 成分이 새로히 出現하는 差異點을 보였다.

血合肉의 筋原纖維蛋白質의 組成 subunit를 보면 Fig. 8과 같다. 먼저 即殺한 방어의 血合肉 筋原纖維蛋白質의 組成蛋白質을 普通肉의 그것과 比較하여 보면 (Table. 4), 普通肉과 血合肉中에 共有하는 것으로는 分子量 200,000의 heavy meromyosin과 分子量 156,000, 分子量 136,000, 分子量 68,000, 分子量 64,000, 分子量 58,000, 分子量 52,000, actin에 該當하는 分子量 45,000, 그리고 tropomyosin에 該當하는 分子量 36,500, light chain-1에 該當하는 分子量 26,000 및 light chain-2에 該當하는 分子量 17,500의 各 蛋白質을 들 수 있으며, 普通肉의 筋原纖維蛋白質에는 있으나 血合肉의 筋原纖維蛋

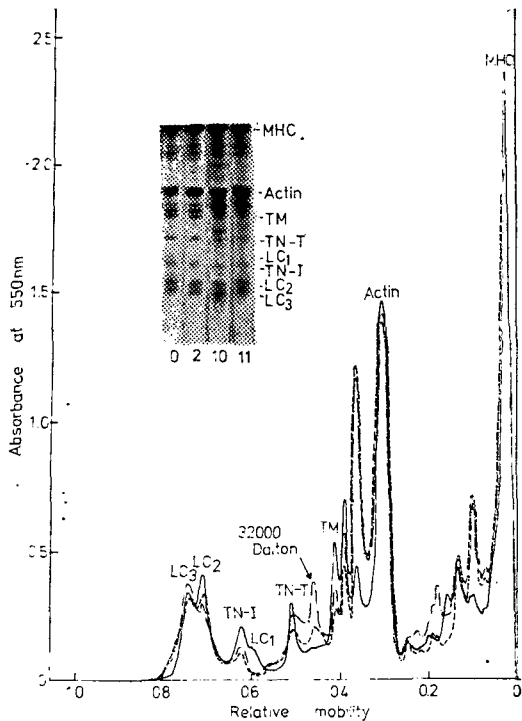


Fig. 7. Electrophoretograms and densitograms of NaDodSO₄-solubilized myofibrillar proteins from at-death and postmortem yellowtail white muscle lapsed at 2°C.

Numbers described under the electrophoretograms are represented the lapsed days of postmortem muscle. Solid line, at-death muscle; dashed and dotted line, muscle lapsed for 10 days; dotted line, muscle lapsed for 11 days.

Abbreviations: MHC, myosin heavy chain; TM, tropomyosin; TN-T, troponin T; TN-I, troponin I; LC₁, myosin light chain-1; LC₂, myosin light chain-2; LC₃, myosin light chain-3.

白質에는 存在하지 않는 成分에는 分子量 40,000, 分子量 37,500, troponin-T에 該當하는 分子量 28,500, troponin-I에 該當하는 分子量 21,000 및 light chain-3에 該當하는 分子量 16,500의 各成分을 들 수 있었다. 그리고 普通肉에는 없으면서 血合肉에는 存在하는 蛋白質에는 分子量 73,000, 分子量 66,000, 分子量 32,000 및 troponin-C에 該當하는 分子量 18,500을 들 수 있었다.

血合肉의 死後 保藏期間의 經過에 따른 筋原纖維蛋白質 組成 subunit의 變化를 電氣泳動像에서 檢

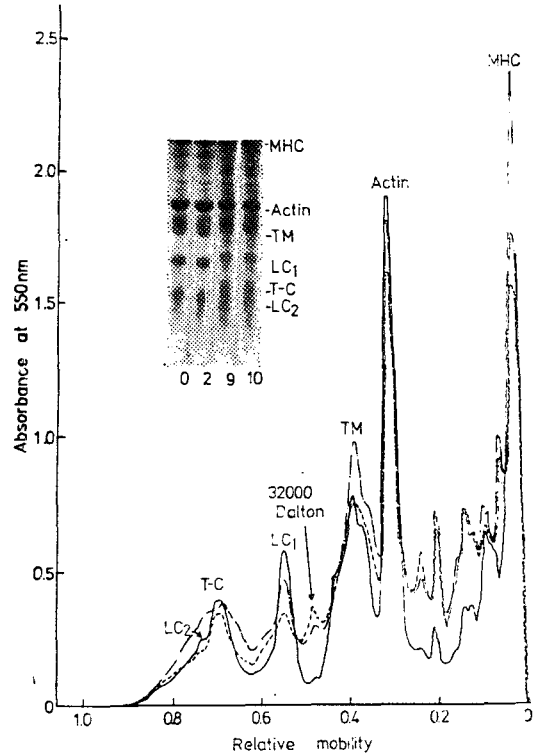


Fig. 8. Electrophoretograms and densitograms of NaDodSO₄-solubilized myofibrillar proteins from at-death and postmortem yellowtail dark muscle lapsed at 2°C.

Numbers described under the electrophoretograms are represented the lapsed days of postmortem muscle. Solid line, at-death muscle; dashed and dotted line, muscle lapsed for 9 days; dotted line, muscle lapsed for 10 days.

Abbreviations are same as in Fig. 7.

討하여 보면(Fig.8), 即殺했을 때는 明確하지 않던 分子量 64,000과 58,000의 成分은 保藏 9일부터 그 濃도가 漸次 增加하였으며, 反面에 light chain-2에 該當하는 分子量 17,500의 成分은 即殺했을 때는 band가 뚜렷하였으나 保藏 9일부터는 漸次 消失分散하였다. 그리고 分子量 32,000에 該當하는 band가 새로이 出現하였다.

以上の 結果로부터 미루어 死後經過中에는 筋肉中에 分布하던 cathepsin類의 酵素에 의한 變化를 推理할 수 있으며, 이같은 變化는 筋原質蛋白質이 筋原纖維蛋白質에 比하여 크다는 事實을 알았다.

筋原纖維蛋白質의 死後經過에 따른 電氣泳動分析에서 나타난 變化를 比較하면 血合肉이 普通肉보다

Table 4. Subunit distribution on electrophoretograms of NaDodSO₄-solubilized myofibrillar protein from the white and the dark muscle of at-death yellowtail

Subunit No.	Mobility	Estimated molecular weight (x10 ⁻³)	Distribution in myofibrillar protein		Estimated subunit
			White muscle	Dark muscle	
1	0.055	200	+	+	Myosin heavy chain
2	0.072	156	+	+	
3	0.082	136	+	+	
4	0.096	111	-	+	
5	0.130	68	+	+	
6	0.143	66	-	+	
7	0.157	64	+	+	
8	0.199	58	+	+	
9	0.243	52	+	+	
10	0.301	45	+	+	Actin
11	0.360	40	+	-	
12	0.371	39	+	+	
13	0.386	37.5	+	-	
14	0.408	36	+	+	Tropomyosin
15	0.430	32	-	+	
16	0.506	28.5	+	-	Troponin-T
17	0.580	24	+	+	Light chain-1
18	0.622	21	+	-	Troponin-I
19	0.690	18.5	-	+	Troponin-C
20	0.707	17.5	+	+	Light chain-2
21	0.743	16.5	+	-	Light chain-3

+: Subunit appeared on the electrophoretogram.
 -: Subunit did not appear on the electrophoretogram

필선 컸다.

Samejima 와 Wolfe(1976)는 닭의 胸部筋肉을 0°C 와 40°C 에 保存한 結果, 筋原纖維中 30,000 dalton 의 蛋白質이 增加하였다고 報告하였으며, Olson et al.(1977)은 仔牛의 骨骼筋을 2°C 와 25°C 에 貯藏한 結果 亦是 30,000 dalton 의 蛋白質 成分이 增加한다고 하였다.

한편, Ikeuchi et al.(1980)은 토끼의 longissimus 筋을 37°C 에 保管하면서 筋原纖維蛋白質의 組成 subunit 의 變化를 電氣泳動的으로 分析한 結果, 時日의 經過와 더불어 30,000 dalton 과 27,000 dalton 成分이 增加했을 뿐 아니라, myosin heavy chain 과 actin 間에 幾個의 未知 band 가 出現하였고, 이들 未知 band 는 保藏時間의 經過와 더불어 그 濃度가 增加하였다고 報告하였다.

本實驗의 結果, 普通肉의 筋原纖維蛋白質은 保藏 10日째 부터, 그리고 血合肉의 筋原纖維蛋白質은 保藏 9日째 부터 32,000 dalton 에 該當하는 蛋白質이 새로히 出現하였고, myosin heavy chain 과 actin 의 band 間에도 새로운 未知의 band 들이 出現하였으며, 더우기 이들 band 는 保藏日數의 經過와 더불어

그 濃度가 增加한 것은 위의 報告들과 비슷한 結果 이나 分子量에서는 多少 差異를 보였다.

蛋白質 構成아미노酸 및 遊離아미노酸의 組成: 各肉에 대하여 即殺한 後와 2°C 에 貯藏하면서 揮發性鹽基窒素量이 20 mg % 前後에 到達한 鮮度狀態일 때에 測定한 蛋白質 構成아미노酸의 組成을 나타내면 Table 5 와 같다.

即殺한 방어의 普通肉 蛋白質에는 글루탐酸, 아스팔트酸, 류신, 알기닌, 알라닌, 라이신이 量的으로 많았으며, 10日이 經過하여 揮發性鹽基窒素量으로 19.6 mg % 일때는 글루탐酸, 아스팔트酸, 류신, 알기닌, 발린, 알라닌이 量的으로 많은 아미노酸에 屬하였다. 여기서 두드러진 增加를 보인 아미노酸은 발린, 알기닌 및 이소류신을 들수 있으나 全體의으로 큰 變化가 없었다.

血合肉에 있어서는 即殺한것이 글루탐酸, 아스팔트酸, 류신, 알기닌, 알라닌, 글리신이었는데 대하여 9日이 經過한 揮發性鹽基窒素量 22.3 mg % 일때는 글루탐酸, 아스팔트酸, 류신, 스페오닌, 알기닌, 이소류신 등을 들수 있었으며, 血合肉의 境遇에 있어서도 蛋白質構成아미노酸의 組成에 있어서는 큰

Table 5. Amino acid composition of proteins prepared from the white and the dark muscle of yellowtail by freshness during postmortem lapse at 2°C

(Unit: g/100g of muscle)

Amino acid	Type of muscle			
	White		Dark	
	at-death	postmortem lapse for 10 days	at-death	postmortem lapse for 9 days
Essential amino acid				
Ileu	0.99	1.01	0.75	0.95
Leu	1.75	1.64	1.44	1.65
Lys	1.29	1.22	0.91	0.82
aromatic amino acid				
Phe	0.90	0.84	0.75	0.65
Tyr	0.78	0.68	0.59	0.51
sulfur-containing amino acid				
½ Cys	0.42	0.43	0.68	0.45
Met	0.78	0.70	0.62	0.64
Thr	1.14	1.03	0.97	1.09
Trp	0.19	0.17	0.15	0.13
Val	1.16	1.53	0.90	0.83
Non-essential amino acid				
Arg	1.54	1.57	1.31	1.07
Gly	1.08	0.91	1.13	0.87
Asp	2.40	1.95	1.86	1.85
Ser	1.09	1.01	0.90	0.91
His	0.84	0.71	0.51	0.53
Ala	1.32	1.27	1.18	0.87
Glu	4.14	3.51	3.11	3.23
Pro	trace	trace	trace	trace
Total	21.81	20.18	17.76	17.05
Content of Pure Protein	20.00	19.06	18.13	17.19
Recovery(%)	109.05	105.88	97.96	99.19

變化를 發見할 수 없었다.

그리고 即殺한 방어의 普通肉과 血合肉의 蛋白質의 아미노酸組成을 比較하여 보면, 普通肉이 血合肉에 比하여 히스티딘과 글루탐酸 및 라이신의 量에서 높은 값을 보이는 差異點을 發見할 수 있었다.

이같은 事實은 卞과 南(1981)이 말쥐치 肉을 試料로 하여 實驗한 報告와 關聯지어 考察할때, 可食限界以內의 鮮度範圍에서는 鮮度變化가 魚肉의 構成아미노酸의 組成에 큰 影響을 미치지 않는것으로 생각되었다.

普通肉과 血合肉을 알코올抽出에 의하여 遊離아미노酸을 分離하여 鮮度變化가 그 組成에 미치는 影響을 살펴보면(Table 6), 普通肉의 即殺後는 히스티딘이 全體 遊離아미노酸의 約 63%를 차지하여 赤色肉魚의 普通肉中에는 히스티딘의 含量이 大端히 높은것을 알 수 있으며, 이같은 事實은 이미 伊藤

(1957)에 의하여서도 고등어와 전갱이의 境遇에서 確認된바 있다.

그밖에는 알라닌, 타우린, 라이신, 글리신, 스프레오닌 등의 順으로 많았으며 알기닌, 아스팔트酸, 프롤린, 시스테인 등은 痕跡量에 不過하였다.

揮發性鹽基窒素量이 19.6 mg% 로써 10日 經過한 普通肉에 있어서는 히스티딘, 타우린, 발린 및 스프레오닌의 量이 增加하였으며, 글리신, 알라닌, 류신, 이소류신, 글루탐酸 등은 그 量이 減少하였다. 그러나 2°C에서 10日이 經過한 普通肉中의 總遊離아미노酸의 量은 即殺한 普通肉의 總遊離아미노酸 量에 比하여 큰 變動이 없었다.

한편, 血合肉은 即殺한 것일때는 타우린이 總遊離아미노酸의 約 67%를 占하여 普通肉과는 좋은 對照를 이루었으며, 그 다음으로 히스티딘과 알라닌, 페닐알라닌, 류신 및 스프레오닌의 順으로 많은 含量

Table 6. Free amino acid composition of alcohol extracts from the white and the dark muscle of yellowtail by freshness during postmortem lapse at 2°C

(Unit: mg/100g of muscle)

Free amino acid	Type of muscle			
	White		Dark	
	at-death	postmortem lapse for 10 days	at-death	postmortem lapse for 9 days
Lys	20.33	20.77	8.80	7.66
His	331.48	367.99	123.56	102.37
Arg	trace	trace	trace	trace
Tau	32.61	45.37	541.11	597.44
Asp	—	—	—	—
Thr	13.94	16.61	10.79	11.16
Ser	6.57	trace	8.03	2.77
Glu	6.92	5.21	4.32	2.77
Pro	—	—	—	—
Gly	15.51	12.56	8.80	9.85
Ala	44.26	36.53	64.64	53.10
Cys	1.49	trace	trace	trace
Val	9.29	17.68	9.23	9.20
Met	3.77	4.38	3.37	2.77
Ileu	7.01	5.12	6.56	5.78
Leu	10.61	7.69	11.13	11.48
Tyr	5.26	4.17	3.03	3.66
Phe	4.65	3.38	24.26	27.28
Total	513.70	547.46	836.63	847.29

을 보였고 타우린을 포함한 이들 6種 遊離아미노酸의 總量은 即殺한 血合肉의 全體 遊離아미노酸의 約 94%에 達하였다.

揮發性鹽基窒素量으로 22.27 mg %에 到達한 2°C 9日 經過한 血合肉中の 遊離아미노酸의 量을 보면, 即殺時에 總遊離아미노酸의 約 67%를 차지하였던 타우린이 約 70%에 達하여 조금 增加하였으며, 다음이 히스티딘과 알라닌, 페닐알라닌, 류신 및 스페오닌의 順으로써 個別 遊離아미노酸의 分布 傾向은 即殺한것과 大差가 없었다.

그러나 위의 6種 遊離아미노酸의 總量은 2°C 9日 經過한 血合肉의 全體 遊離아미노酸의 約 95%로써 即殺한 血合肉의 約 94%에 比하면 若干 增加하였다.

血合肉中 遊離아미노酸의 保藏日數의 經過에 따른 個別 遊離아미노酸量의 增減을 보면 타우린, 페닐알라닌, 그리신, 스페오닌 등은 조금씩 增加하였으나, 히스티딘, 알라닌, 세린, 글루탐酸 등은 오히려 減少하였다. 血合肉을 9日間 保藏했을때 總遊離아미노酸의 量은 即殺했을때와 比하여 그 變化를 거의 無視할 程度였다.

要 約

방어의 背肉 普通肉과 側肉 血合肉을 2°C에 保藏하여 두고 鮮度變化 段階別로 蛋白質의 組成과 各肉의 構成 및 遊離아미노酸의 組成을 分析하였으며, 筋形質蛋白質과 筋原纖維蛋白質에 對하여는 構成蛋白質의 分布變化를 確認하기 위하여 NaDodSO₄化한 다음, polyacrylamide 겔 電氣泳動像을 比較 解析함으로써 赤色肉魚類의 鮮度變化와 普通肉 및 血合肉의 蛋白質組成 變化와의 關聯性을 檢討하였다.

K-값과 揮發性鹽基窒素 및 pH값으로 判定했을 때, 血合肉은 普通肉에 比하여 鮮度變化가 빨랐다.

死後 鮮度變化와 더불어 筋原質蛋白質과 筋原纖維蛋白質은 減少하는 反面, 細胞內殘渣蛋白質은 相對的으로 增加하였으며, 이러한 變化는 普通肉에 比하여 血合肉이 훨씬 甚한 편이었다.

Sodium dodecyl sulfate 化한 蛋白質을 polyacrylamide 겔 電氣泳動法으로 分析한 結果, 普通肉의 筋原質蛋白質은 16個成分, 그리고 血合肉의 筋原質蛋白質은 12個成分으로 構成되어 있었으며, 保藏 10

10일부터 普通肉의 筋原質蛋白質中에는 41,000 dalton 과 18,000 dalton 의 成分이 조금씩 增加하였고, 26,000 dalton 과 23,500 dalton 및 23,000 dalton 의 各 成分은 漸次 減少하였다. 血合肉의 筋原質蛋白質에 있어서는 49,000 dalton 의 成分은 減少하였고 47,000 dalton 의 成分은 새로이 形成되었으며, 26,000 dalton 의 成分은 消滅하였다.

筋原纖維蛋白質의 電氣泳動分析結果에 의하면, 普通肉의 筋原纖維蛋白質은 17個 成分, 그리고 血合肉의 筋原纖維蛋白質은 16個의 成分으로 構成되어 있었다.

保藏 10日째부터 普通肉의 筋原纖維蛋白質中에는 40,000 dalton 의 成分이 增加하였고, 37,500 dalton 의 成分은 漸次 減少하였으며, 32,000 dalton 의 成分은 새로이 出現하였다. 血合肉의 筋原纖維蛋白質은 保藏 9日째부터 58,000 dalton 과 64,000 dalton 의 成分은 그 濃度가 增加하였으며, 17,500 의 light chain-2 蛋白質은 消滅하였고, 32,000 dalton 의 成分은 새로이 出現하였다.

이같은 電氣泳動像의 變化는 筋原質蛋白質이 筋原纖維蛋白質에 比하여 빨랐으며, 筋原纖維蛋白質의 變化에 있어서는 血合肉쪽이 普通肉에 比하여 빨랐다.

兩 肉의 蛋白質을 構成하는 아미노酸을 分析한 結果, 即殺한 방어의 普通肉 蛋白質은 글루탐酸, 아스팔트酸, 류신, 알기닌, 알라닌 등은 그 量이 어느程度 많았고, 프롤린과 트립토판은 그 量이 적었으며, 血合肉에 있어서는 비슷한 傾向이었다. 그리고 10日이 經過한 普通肉에 있어서는 글루탐酸과 아스팔트酸이 顯著히 減少하였으며, 9日이 經過한 血合肉에 있어서는 알라닌, 글리신, 그리고 알기닌이 顯著히 減少하였다.

遊離아미노酸의 組成을 分析한 結果, 即殺한 방어의 普通肉中에는 히스티딘이 總遊離아미노酸의 約 63% 를, 그리고 血合肉中에는 타우린이 總遊離아미노酸의 約 67% 를 차지하는 特徵을 보였다. 그리고 2°C 에서 10日이 經過했을때, 普通肉에서는 히스티딘, 탄린, 타우린이 增加하였으며, 알라닌, 류신 및 글리신 등은 조금 減少하였다. 같은 溫度에서 9日이 經過한 血合肉에서는 타우린, 페닐알라닌, 글리신은 增加하였으며, 히스티딘, 알라닌, 세린 등은 減少하였다.

參 考 文 獻

- 新井 健一. 1971. 筋肉蛋白質의 低溫における 變性(2). 魚肉蛋白質의 變性. *New Food Industry* 13, 48~55.
- 今野 久仁彦·關 伸夫. 1975. 코이筋肉トロポ닌의 調製について. *日水會誌*. 41(12), 1327-1333.
- Hashimoto, K., S. Watabe, M. Konno and K. Shiro. 1979. Muscle protein composition of Sardine and Mackerel. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 45(11), 1435-1441.
- Ikeuch, Y., T. Ito and T. Fukazawa. 1980. Change in the properties of myofibrillar proteins during postmortem storage of muscle at high temperature. *J. Agric. Food Chem.* 28(6), 1197-1202.
- 伊藤 啓二. 1957. 水産動物筋肉エキ스의 아미노酸組成-I. *日水會誌*. 23(7, 8), 497-500.
- Kobayashi, H. and H. Uchiyama. 1970. Simple and rapid method for estimating the freshness of fish. *Bull. Tokai Reg. Res. Lab.* 61, 21-26.
- 日本厚生省. 1960. 食品衛生檢査指針 I, 13-16. 東京, 日本.
- Olson, D. G., F. C. Parrish Jr., W. R. Day-ton and D. E. Goll. 1977. Effect of post-mortem storage and calcium activated factor on the myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. *J. of Food Science.* 42, 117-124.
- 卞 在亨·南 澤正. 1981. 말치키肉의 死後經歴에 따른 蛋白質組成의 變化. *韓水會誌*. 14(1), 15-23.
- Samejima, K. and F. H. Wolfe. 1976. Degradation of myofibrillar protein components during postmortem aging of chicken muscle. *J. of Food Science*, 41, 250-254.
- 志水 寛·清水 亘. 1960. 水産動物肉に關する研究-XXVIII. 魚類筋肉의 蛋白組成. *日水會誌*. 26(8), 806~809.
- 志水 寛·多田 政實·遠藤 金次. 1973. 프리筋肉化學組成의 季節變化-I. 水分, 脂質および粗蛋

- 白. 日水會誌. 39(9), 993-999.
- Spies, J. R. and D. C. Chamber. 1948. Chemical determinations of tryptophan. *Anal. Chem.* 20(1), 30-39.
- 菅原 潔・副島 正美, 1979. 生物化學實驗法. 7. 蛋白質の定量法 第2版, 79-82. 學會出版センタ. 東京, 日本.
- 高士 令二・室塚 剛志・新井 健一. 1974. コイおよびテイラピア背筋ミオシンとウサギ骨格筋ミオシンの light chain. *日水會誌.* 40(10), 1063-1069.
- Tsuchiya, T. and J. J. Matsumoto. 1975. Isolation, purification and structure of carp myosin, HMM and LMM. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 41(12), 1319-1326.
- Watabe, S., K. Kanna and T. Suzuki. 1977. A comparison of white and dark muscle-proteins of Sardine. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 43(11), 1353.
- Weber, K. and M. Osborn. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244(16), 4046~4412.