Bull. Korean Fish. Soc. 17(4), 271~279, 1984 韓水誌 17(4), 271~279, 1984

이스라엘 잉어 Actomyosin의 熱安定性과 그 保護*

南 澤 正·崔 暎 準**·卞 在 亨**
東萊女子專門大學 食品營養科
**釜山水産大學 食品營養學科

Thermal Stability of Israeli Carp Actomyosin and Its Protection by Chemical Additives*

Taek-Jeong NAM
Department of Food and Nutrition, Dongrae Women's Junior College
Haeundaegu, Pusan, 607-05 Korea

Yeung-Joon CHOI and Jae-Hyeung PYEUN
Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan
Namgu, Pusan, 608 Korea

Effects of temperature and additives on the stability of actomyosin extracted from skeletal muscle of Israeli carp, *Cyprinus carpio nudus*, were studied by analyzing free SH-group, ATP-sensitivity and Ca-ATPase activity. The used additives were sucrose, sorbitol, Na-glutamate and L-cysteine.

Furthermore, the denaturation constant(K_D), protective effect($\Delta E/M$) and the other thermodynamic parameters on protein denaturation are systematically discussed. The actomyosin showed 4.12~4.68 *mg/ml* in protein concentration, 2.63~2.93% in ribonucleic acid to the protein, 1:2.20~2.63 in the binding ratio of myosin and actin, 4.33~5.26% in fat content, 109.78 in ATP-sonsitivity, 0.159~0.201 μM-Pi/min/*mg*-protein in Ca-ATPase activity and 3.3~3.4 M/10^5*g*-protein in free SH-group content. The first-order rate plots were obtained on the decrease of Ca-ATPase activity and ATP-sensitivity with an increase in temperature, while the free SH-group was increased to 60°C and decreased rapidly above the temperature. The half-life of Ca-ATPase activity on the actomyosin Ca-ATPase was 280 min at 12°C, 125 min at 20°C, 55 min at 30°C and 13 min at 40°C, and activation energy, activation enthalpy, activation entropy and free energy of the proteins at 20°C wene 5,395 cal/mole, 4,814 cal/mole, −40.42 e.u. and 17,626 cal/mole, respectively.

The protective effect of the additives on the actomyosin Ca-ATPase showed that the most effective material is 3% sorbitol and followed in the order of 8% Na-glutamate, 1% sucrose and 1% L-cysteine. The actomyosin was more stable at −30°C than at 0°C and −20°C, and when the additives were used in the low temperature storage, 8% Na-glutamate was the most effective. 3% sorbitol, 1% sucrose and 1% L-cysteine was to become lower in the order.

* 본 연구는 1983년도 문교부 학술연구 조성비로 이루어졌음.

緒　　論

魚肉蛋白質은 그 상당한 比率이 높은 이온強度에서 抽出되는 鹽溶性 蛋白質로 이루어지며, 대부분이 actomyosin으로 構成되고 있다. 따라서 魚肉蛋白質의 性質은 대체로 actomyosin의 性質에 의하여 左右되며 actomyosin의 狀態는 魚肉의 品質에 영향을 미치는 重要한 因子가 되고 있다. 魚肉 *actomyosin*의 性質에 관하여는 많은 硏究가 이루어져 있으며, 이중 魚肉蛋白質의 熱安定性에 관한 硏究로서는 Ueda 等(1964)이 數種의 魚類에서 抽出한 actomyosin에 대하여 溫度 上昇에 따른 粘度 變化를 測定함으로써 熱安定性을 分析報告하였으며, 高土 等(1970)은 잉어肉에서 抽出한 actomyosin을 토끼와 比較하여 그 代表的인 特徵을 檢討하였다. 또 Arai 等(1976)은 가다랑이類에서 抽出한 actomyosin을 加熱變性시킨 後 Ca-ATPase 活性을 測定함으로써 酵素의 不活性化 程度를 推定하였으며, 大泉 等(1981)은 고등어 筋原纖維蛋白質의 加熱變性과 糖 및 糖알코올의 變性保護效果에 대하여 檢討한 바 있다. 本 硏究는 最近 養殖高가 增加하고 있으나, 그 構成成分의 性質에 관하여는 比較的 알려져 있지 않은 이스라엘 잉어를 試料로 擇하여 背肉骨骼筋에서 actomyosin을 抽出하고, 그 ATP-感度와 遊離 SH基 等 性質에 關聯있는 몇가지 實驗에 併行하여 Ca-ATPase活性을 中心으로 熱安定性 및 添加劑에 의한 變性保護效果 等을 實驗 檢討하여 이스라엘 잉어의 利用에 도움이 되는 몇가지 結果를 얻었기에 報告한다.

材料 및 方法

1. 材料

慶南 梁山郡 梁山養殖場에서 1984年 1月 19日 購入한 3年生 이스라엘 잉어 (*Cyprinus carpio nudus*; 體長 28～32 *cm*, 體重 1.1～1.3 *kg*)를 釜山水産大學 淡水魚 養殖場에 방류하여 두고 實驗時마다 低溫室로 運搬하여 即殺시킨 다음, 背肉을 切取하였다. 切取한 肉은 細切 磨碎하여 2에 나타낸 方法에 따라 actomyosin을 抽出하여 抽出 5日 以內에 分析에 使用하였다. 本 實驗中 Ca-ATPase活性 測定에 使用한 ATP 및 SH基 測定에 使用한 DTNB試藥은 Sigma製를 그 外 모든 試藥은 試藥用 特級을 使用하였으며, 試藥의 調製에는 脫이온化된 蒸溜水를 使用하였다.

2. 方 法

Actomyosin의 抽出: 高土 等(1970)의 方法에 따라 抽出하였다. 즉, 잘 磨碎된 肉을 3.38 mM NaH_2PO_4-15.5 mM Na_2HPO_4, pH 7.5(μ=0.05), 緩衝液으로 4回 水洗하고, 3,000×*g*에서 10分間 遠心分離한 殘渣를 0.45 M KCl-3.38 mM NaH_2PO_4·15.5 mM Na_2HPO_4, pH 7.5 溶媒로 0°C에서 20時間 *actomyosin*을 抽出하였다. 이 抽出液을 8,000×*g*에서 15分間 遠心分離하여 얻어진 上澄液을 2겹의 가아제로 여과한 後에 冷 蒸溜水 10倍量을 加하여 稀釋沈澱을 3回 되풀이 하였다. 沈澱을 遠心分離(6,000×*g*, 10分)하여 얻은 殘渣는 다시 0.6 M KCl-0.04 M Tris-HCl 緩衝液, pH 7.0에 녹이고, 同一 緩衝液에 透析한 後에 遠心分離(20,000×*g*, 60分)하여 얻은 上澄液을 試料溶液으로 하였다.

Actomyosin의 純度: 試料溶液中에 포함된 核酸의 含量은 Warburg와 Christian(1941)의 方法에 따라 測定하였고, myosin과 actin의 結合比는 Weber (1956)의 方法에 따라 1 mM의 ATP와 $MgCl_2$의 存在下에 遠心分離(100,000×*g*, 3時間)하여 myosin과 actin의 比를 求하였다. 그리고 actomyosin 溶液中의 脂質의 混入量은 Hamada 等 (1982)의 方法에 따라 $CHCl_3$-CH_3OH(2 : 1, v/v) 溶媒로 脂質을 分離測定한 後에 actomyosin에 混入된 脂質의 量을 求하였다.

Ca-ATPase 活性의 測定: Arai 等 (1976)의 方法에 따라 反應液이 60 mM KCl, 25 mM Tris-maleate, pH 7.0, 緩衝液, 5 mM $CaCl_2$ 및 1mM ATP가 되도록 하고 25°C 에서 5分間 反應시켜 遊離되는 無機燐酸은 Fiske-Subbarow (1925) 法으로 比色定量하였다.

活性化에너지, 活性化엔탈피, 活性化엔트로피 및 自由에너지의 計算: 熱力學的 反應速度常數의 計算式(Segel, 1976)에 따라 求하였다. 그리고 이스라엘 잉어 actomyosion 中의 myosin 含量은 本實驗에서 測定한 65%를 準用하였다.

ATP-感度: 溶媒(0.6 M KCl·0.04 M Tris-HCl, pH 7.0 緩衝液) 流出速度 24.46 sec인 Ostwald형 粘度計를 使用하여 25±0.2°C 에서 3回 測定한 平均 값으로 計算하였다.

SH基의 測定: actomyosin의 變性단계에서 일어나는 -S-S-結合의 酸化程度는 Ellman(1959)의 方法에 따라 遊離 SH基를 測定하여 蛋白質 10^5 *g* 當 mole 數로 表示하였다.

蛋白質의 濃度: actomyosin의 濃度는 Umemoto

(1966)에 의한 micro-biuret法으로 測定하였으며, bovine albumin을 標準物質로 하여 micro-biuret 法과 semimicro-kjeldahl 法으로 測定한 窒素量에 대하여 檢量曲線을 作成하고, micro-biuret 法으로 測定한 各 蛋白質의 濃度값을 求하였다.

結果 및 考察

1. 抽出된 actomyosin의 純度

實驗에 使用하기 위하여 4回에 걸쳐 抽出한 actomyosin의 狀態는 Table 1과 같았다. Table 1에 나타낸 바와 같이 蛋白質 含量은 4.12~4.68 *mg/ml* 였으며, 混在된 核酸의 含量은 2.63~2.97% 이었다. 또한 actin과 myosin의 結合比는 1: 2.20~2.63으로서 今野(1975)가 잉어 肉으로써 測定한 1:2.8과 거의 차이가 없었다. 그리고 分離한 myosin을 電氣泳

Table 1. Specifications on purified Israeli carp actomyosin

Items	Condition of sample
Protein concentration	4.12~4.68 *mg/ml*
Nucleic acid	2.63~2.97%
Actin: Myosin(w : w)	1: 2.20~2.63
Lipid content(w/w)	4.33~5.26%
ATP-sensitivity	109.78
Free SH group	0.33×10^{-4}M~ 0.34×10^{-4}M/*g*-prot.
Ca-ATPase activity	0.159~0.201

動한 結果 actin의 混在 程度는 微微함을 알 수 있었다. 抽出한 actomyosin에 混在되어 있는 脂質의 量은 actomyosin 重量當 4.33~5.26%를 점하고 있었다. Hamada 等 (1982)은 잉어 actomyosin의 경우 actomyosin重量當 約 5%의 脂質을 정어리의 경우는 18.7%의 脂質을 含有하고 있다고 報告하였다.

이스라엘 잉어 actomyosin의 相對粘度는 ATP-感度는 109.78로서 新井(齋藤 等, 1974)가 報告한 잉어肉의 actomyosin의 ATP-感度 96~130의 範圍에 들어가는 값을 보였다. 그리고, 遊離 SH 基 含量은 蛋白質 10^5*g*當 3.3~3.4 M 이었고, Ca-ATPase 活性은 0.159~0.201이었다.

抽出된 actomyosin의 濃度 0.595 *mg/ml* 에서의 吸光度를 240 nm에서 부터 320 nm까지 測定하여 나타낸 것이 Fig. 1이다. 本 實驗 結果, 275 nm에서 最大 吸光値인 0.621를 나타내고 있었고, 255 nm

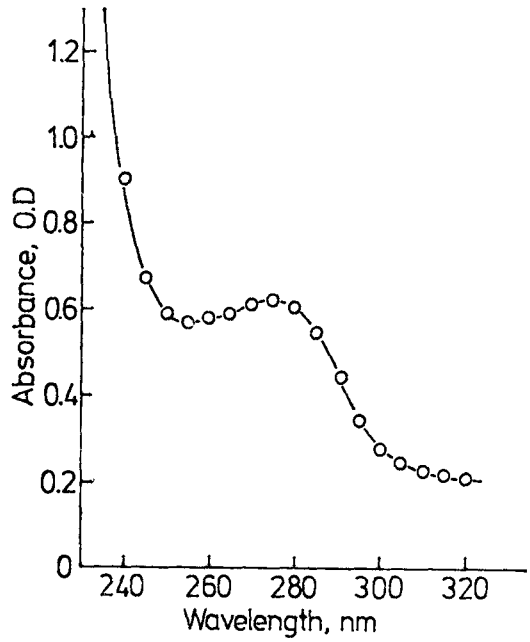

Fig. 1. UV-absorption spectra of Israeli carp actomyosin

에서 最小 吸光値 0.572를 나타내었다.

Andou 等(1981)은 抽出한 actomyosin 中에 lecithine의 含量이 增加하면 UV에서의 最小 吸光帶는 250 nm에서 265 nm로 점차 이동하며, lecithine이 混在된 actomyosin의 정확한 含量은 278 nm에서 各各의 吸光度 차이로써 測定할 수 있다고 報告하였다. 위의 報告에 따라서 測定한 이스라엘 잉어 actomyosin의 含量은 0.603 *mg/ml* 로서 biuret 法으로 測定한것과 1.4%의 오차가 있었다.

2. actomyosin의 加熱溫度에 따른 Ca-ATPase 活性, 遊離 SH基 및 ATP-感度의 變化

加熱變性溫度를 10°C에서 부터 10°C 간격으로 溫度를 점차 올려가면서 各 溫度 條件에서의 Ca-ATPase 活性, 遊離 SH基, ATP-感度의 變化를 測定한 것이 Fig. 2이다. Fig. 2에서 알 수 있듯이 0°C에서는 Ca-ATPase 活性이 0.159였던 것이 變性溫度가 上昇함에 따라 지수함수적으로 감소하여 40°C에서 1時間 加熱變性 後의 活性은 0.007로서 거의 消失되었는데, 이것은 活性에 관여하는 단위체의 構造가 손상되기 때문으로 생각된다. 또한 ATP-感度는 0°C에서 109.78이었던 것이 30°C에서 1時間 加熱했을 때 84.86까지 감소하여, 이 後 40°C에 이르기까지

급속히 감소하였으며 40°C에서는 3.23에 불과하였다. 이 때 전이온도 域은 35°C로서 ATP-感度는 60.47이었다. 그리고, 遊離SH基는 20°C 이후부터 다소 增加하여 50°C에서는 10^5g 蛋白質當 7.5 M에 달하였다. 以上의 實驗 結果로 미루어, 이스라엘 잉어 actomyosin의 급속한 變性을 초래하는 溫度 범위는 30°C 附近으로서, 40°C 以上의 溫度에서 1時間 程

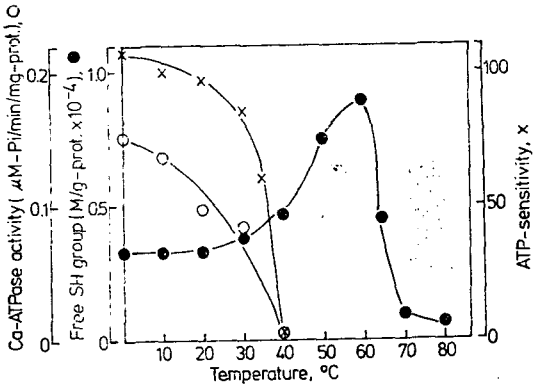

Fig. 2. Effects of temperature on the changes of Ca-ATPase activity(○), free SH-group (●) and ATP-sensitivity(×) in accordance with the denaturation of Israeli carp actomyosin. Ca-ATPase activity and ATP-sensitivity were measured after 60 min treated at the directed temperature but free-SH group be done after 30 min

度의 加熱은 actomyosin 구조상의 變化를 거의 완결시키는 溫度 域인 것으로 생각되며, 특히 加熱變性溫度에 따라 ATP-感度는 지수함수적으로 감소하고 있음을 보아, ATP-感度의 變化로써 變性速度常數를 推定할 수 있음이 확인되었다.

3. 溫度條件에 따른 Ca-ATPase의 不活性化

이스라엘 잉어 actomyosin을 12°C, 20°C, 30°C 및 40°C에서 加熱時間을 달리 하면서 이에 따른 Ca-ATPase 活性의 低下를 相對 log 値로 表示한 것이 Fig. 3이다. 各 溫度條件下에서 Ca-ATPase 失活은 1次反應樣式을 따르고 있었고, 이 때 活性이 半으로 消失되는 時間은 12°C 變性條件일 때가 280分 20°C 일 때 125分, 30°C 일 때 55分, 40°C에서 13分이었다.

高土 等(1970)은 各種魚類의 actomyosin을 加熱變性시킬 때, tilapia, 가다랭이, 황다랭이, 눈다랭이, 잉어, 방어, 벌상어, 대구의 順으로 安定하였다

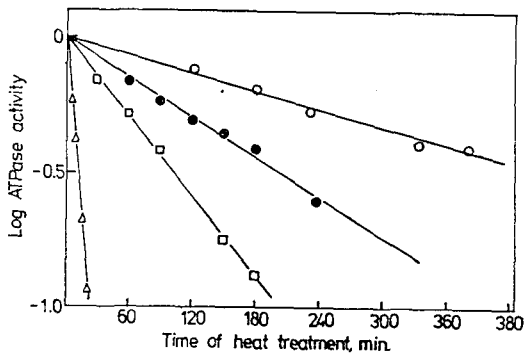

Fig. 3. Inactivation of Ca-ATPase of Israeli carp actomyosin during heat treatment at 12°C(○), 20°C (●), 30°C (□) and 40°C (△)

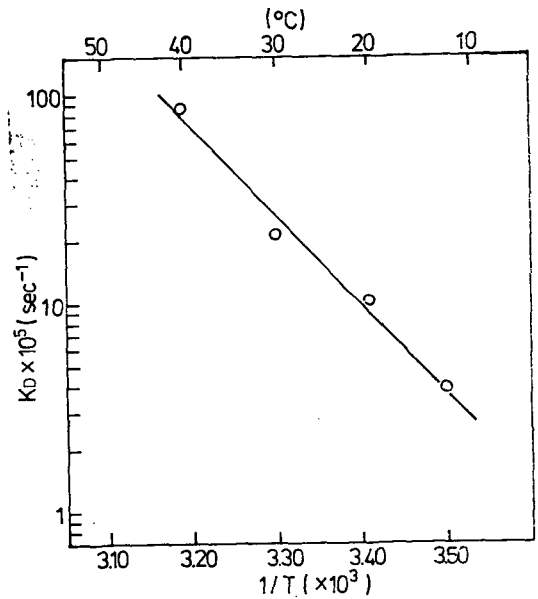

Fig. 4. Arrhenius plot of apparent rate constants for inactivation of Ca-ATPase during heat treatment of Israeli carp actomyosin

고 報告하였다. 本 實驗의 結果와 比較해 보면, 이스라엘 잉어는 잉어에 比하여 變性速度가 조금 빠르지만, 방어에 比하면 다소 安定한 편이라 볼 수 있었다. Fig. 4는 絶對溫度에 따른 變性速度常數를 Arrhenius式으로 圖式化한 것으로서 myosin single head의 分子量을 240,000이라 보고, 實驗 結果에 따라서 actomyosin 中 myosin 含量을 65% 로 하여 活性化에너지 및 열역학 함수를 計算하였다. 20°C 溫度條件에서 活性化에너지는 5,395 cal/mole, 活性化엔탈피는 4,814 cal/mole, 活性化엔트로피는 −40.42

Table 2. Thermodynamic activation parameters of ATPase activity of Israeli carp actomyosin compared with that of some other fishes

Species	Assay temperature (°C)	Lipid content (%)	Ea (cal/mol)	$\Delta H^{\ddagger}$ (cal/mol)	$\Delta S^{\ddagger}$ (entropy unit)	$\Delta G^{\ddagger}$ (cal/mol)
Cyprinus carpio nudus	20	4.8	5,395	4,814	−40.4	17,626
*Seriola quinqueradiata**	25	5.3	10,500	9,900	−32.8	19,700
*Amphiprion sebea***	18	—	17,300	16,700	− 6.1	18,500

* *Seriola quinqueradiata* actomyosin (Hamada et al., 1983)

** *Amphiprion sebea* myofibril (Johnston and Goldspink, 1975)

The assay for Ca-APTase activity was performed in 60 mM KCl, 25 mM Tris-maleate buffer, pH 7.0, 5 mM CaCl, 1 mM ATP and at a actomyosin concentration of 0.4~0.5 mg/ml. The reaction was terminated by addition of TCA and the Pi liberated was determined.

Thermodynamic parameters were calculated according to the following equation: $\Delta G^{\ddagger}=\Delta H^{\ddagger}-T\Delta S^{\ddagger}$; $\Delta H^{\ddagger}=Ea-RT$; $\Delta S^{\ddagger}=4.576(\log K-1\ 0.753-\log T+Ea/4.576\ T)$ and $K=V/(100/M)\times 240,000\times 10^{-3}$ (1/60), where M is the myosin content of actomyosin. The proportion of myosin in the actomyosin was applied 65%, which is practically measured, with a molecular weight of single myosin of 240,000 per enzyme site.

e.u., 自由에너지 값은 17,626 cal/mole이었는데 加熱變性溫度가 增加함에 따라 自由에너지 값에 기여하는 活性化엔트로피의 역할이 增加하고 있었으며, 특히 40°C의 變性溫度에서는 20°C에 比하여 현저히 增加한 점으로 미루어 40°C에서 1時間 加熱은 actomyosin의 構造上의 變化가 進行되었음을 알 수 있었다.

4. 添加劑에 의한 變性保護效果

Fig. 5는 一般的으로 加熱變性時 그 保護效果가 우수하다고 認定되고 있는 sucrose와 sorbitol을 1%에서 10%에 이르기까지 添加했을 때의 加熱變性保護效果를 log K_D 値로 表示한 것이다.

sucrose는 그 濃度가 8%에 이르기까지 變性保護效果가 認定되었으며, sorbitol은 全 濃度區間에서 變性保護效果가 認知되었고, 특히 3% 濃度에서 가장 우수한 效果를 나타내고 있었다. 大泉 等 (1981, 1983)은 정어리 및 고등어 筋原纖維蛋白質 加熱變性時 대부분의 糖 및 糖알코올類는 添加 mole數가 增加함에 따라 K_D 値는 一次反應樣式에 따라서 적어지며, 그 變性保護效果는 커진다고 報告하였으며, 남극산 크릴의 筋原纖維蛋白質로써 同一한 實驗을 行한 結果, 유사한 形態의 反應樣式을 나타내고 있었다고 報告하였다. 本 實驗의 結果, sucrose인 경우는 단일직선 회귀방정식을 나타내지만, 濃度가 增加함에 따라 效果는 점차 낮아 졌고, sorbitol은 1개의

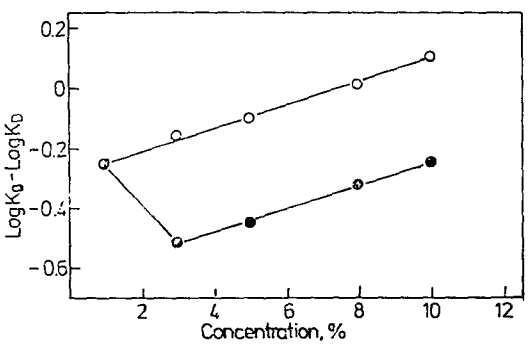

Fig. 5. Logarithmic plot of the apparent rate constants for inactivation of Ca-ATPase of Israeli carp actomyosin treated at 30°C for 60min by the condition of sucrose(○) and sorbitol(●) concentration

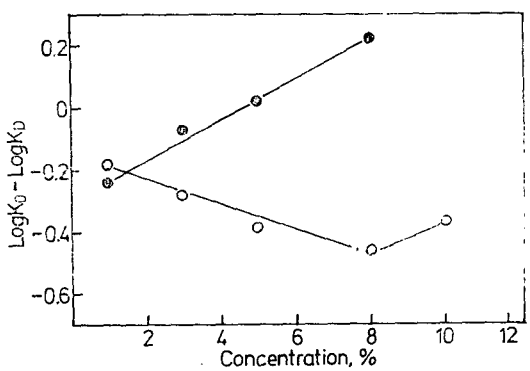

Fig. 6. Logarithmic plot of the apparent rate constants for inactivation of Ca-ATPase of Israeli carp actomyosin treated at 30°C for 60 min by the condition of Na-glutamate(○) and L-cysteine(●) concentration

Table 3. The apparent rate constant and the protective effect of substances against inactivation of Israeli carp actomyosin Ca-ATPase treated at 30°C for 60 min

Substances	Optimum conc. (%)	Apparent rate constant ($K_D \times 10^5$/sec)	Protective effect ($\Delta E/M$)*
Sucrose	1	3.55	8.62
Sorbitol	3	5.13	3.03
Na-glutmate	8	3.31	0.91
L-cysteine	1	3.31	2.89
1% sucrose in 3% sorbitol		5.88	2.07
8% Na-glutamate in 1% L-cysteine		4.47	0.51
8% Na-glutamate in 3% sorbitol		2.78	0.12

*E: $\log Ko - \log K_D$, M: Mol of additives

변곡점을 가진 一次反應形態로서 3% 以上 添加時 濃度 增加에 따라서 점차 保護効果는 감소됨을 알 수 있었다. 또한 Fig. 6은 添加劑로 Na-glutamate와 L-cysteine을 使用한 경우로서 各各 最終濃度가 10 %되게 濃度別로 添加하여 實驗하였다. Na-glutamate添加時 8% 濃度까지는 變性保護効果가 점차 增加하였으나 10% 濃度에서는 5%와 거의 同一한 効果를 나타내고 있었다. 그리고 冷凍變性保護劑로서 알려진 L-cysteine은 本 實驗 結果, 加熱變性保護効果가 거의 感知되지 않았으며, 1% 添加時에만 다소 効果가 認知되었다. 大泉 等(1982)이 삼치 筋原纖維蛋白質을 加熱變性했을 때 아미노酸의 保護効果를 檢討한 結果 Na-glutamate의 경우 0.75 M 까지의 低濃度에서는 効果가 뚜렷하였다고 報告하였다. 各各의 添加劑를 最適濃度로 添加한 actomyosin을 30°C에서 60分間 加熱變性시킨 後 變性速度常數, K_D값 및 變性保護効果 값, $\Delta E/M$을 比較한 것을 Table 2에 나타내었다. Tabel 2에서 알 수 있는 바와 같이 K_D값을 比較했을 때, 3% sorbitol에 Na-glutamate를 8%되게 添加한 경우의 K_D값은 2.78×10^{-5}/sec로서 3% sorbitol에 1% sucrose을 添加한 混合添加劑에 比하여 2.1倍 程度의 保護効果를 나타내었으며, sorbitol 單一 添加時 보다 1.9倍程度 우수하였다. 그러나 이들 蛋白質變性 保護効果를 mole當의 効果로 환산한 結果, 1% sucrose인 경우가 8.62의 값을 나타내어 가장 우수함을 확인할 수 있었다.

5. 低溫貯藏時 Ca-ATPase活性의 變化 및 添加劑에 의한 變性保護効果

試料의 保存溫度인 0°C와 商業的 凍結條件인 −20°C 및 이 보다 낮은 溫度인 −30°C에서 actomyosin을 貯藏하면서, 貯藏日數別로 본 Ca-ATPase

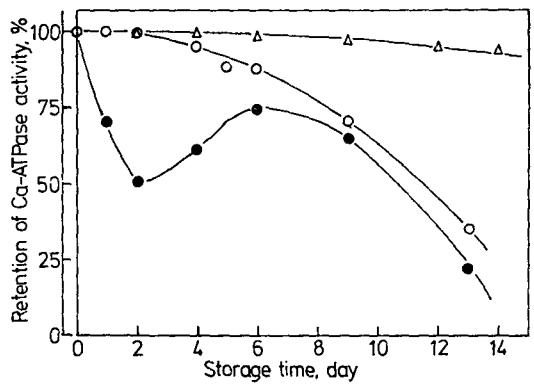

Fig. 7. Changes of Ca-ATPase activity of Israeli carp actomyosin during low temperature storage at 0°C (○), −20°C (●) and −30°C(△)

活性의 變化를 Fig. 7에 나타내었다. −30°C에서 貯藏한 것은 貯藏 14日까지 Ca-ATPase 活性은 거의 變化하지 않았으나, 0°C에서 貯藏한 것은 貯藏 13日 째에 最初活性의 46% 만이 殘存하였으며, −20°C 에서 貯藏한 것은 2日째에 初期活性의 50% 만이 남아 있다가 4日째 부터 다소 增加하여 6日째에 74%에 이르렀으며, 그 後 다소 감소하여 13日째는 初期活性의 22% 만이 殘存하였다. Connell 等(1960 a)은 대구 肉을 冷凍시켰을 때 −24°C에서는 ATPase 活性이 거의 變化하지 않았으나, 이 보다 다소 높은 溫度인 −22°C 및 −14°C 에서는 현저히 감소한다고 報告하였고, Buttkus (1970)은 凍結송어에 있어서 myosin응집과정은 myosin-KCl-water 溶液의 공융점 근처에서 最大에 달한다고 報告하였다. 本 實驗에서도 이스라엘 잉어를 −20°C에 貯藏한 것이 0°C에 貯藏한 것에 比하여 變性速度가 빠른 것은 actomyosin-KCl-water의 공융점 근처이기 때문으로 생각된다. −20°C에서 貯藏하면서 sucrose,

糖알코올, Na-glutamate, L-cysteine의 變性保護効果를 관찰하여 Fig. 8에 나타내었다. 다소 기복은 있으나, 1% sucrose을 添加했을 경우는 貯藏 9日까지는 活性이 初期에 比하여 增加하였다가 그 以後 감소하여 13日째에는 56%만 殘存하였고, 3% sorbitol인 경우는 sucrose와 마찬가지로 貯藏 9日까지는 微微하지만 初期活性보다 조금 높았고, 13日째에는 68%가 殘存하였다. 그러나 아미노酸인 Na-glutamate와 L-cysteine은 初期에 조금 낮아졌다가 6日까지는 조금씩 增加하였고, 그 後 다시 감소하는 경향을 보였으며, 13日째에 Na-glutamate는 76%, L-cysteine은 33%가 殘存하고 있었다. Noguchi와 Matsumoto (1970, 1971)은 −20°C에서 잉어肉을 貯藏하면서 0.3 M Na-glutamate와 1 M glucose의 變性保護効果를 관찰한 結果, 1 M glucose는 1日째에 活性이 조금 떨어졌다가 다시 增加하여 4週째는 最初活性의 120%에 이르렀고, 그 後 감소하는 경향을 보였으며, Na-glutamate의 경우 1日째에는 初期活性에 比하여 감소하였으나 4週까지는 增加하여 10週째는 初期活性과 거의 같은 수준을 유지하였다고 報告하였다. 또 cysteine의 경우 4週째에는 control에 比하여 3.3倍의 活性이 殘存하였고, 8週째에는 control과 유사한 殘存活性을 지니고 있었다고 報告하였다.

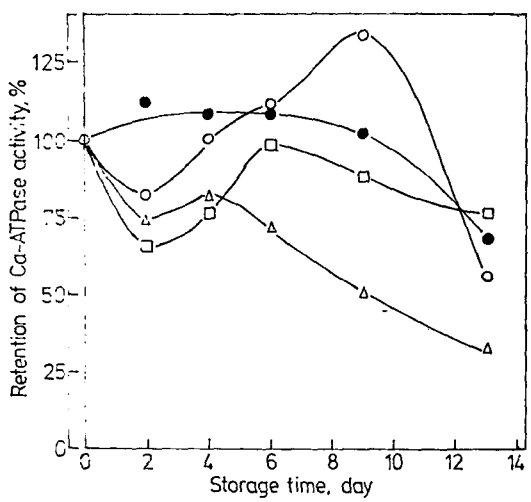

Fig. 8. Effect of additives on Ca-ATPase activity of Israeli carp actomyosin during frozen storage at −20°C
○—○: 1% sucrose △—△: 1% L-cysteine
●—●: 3% sorbitol □—□: 8% Na-glutamate

한편, 이스라엘 잉어에서는 앞의 報告들과 比較해 보면, 糖의 경우는 거의 같은 경향을 나타내고 있으나, Na-glutamate는 貯藏期間과 더불어 Ca-ATPase 活性이 조금 감소하는 경향을 보여 주었고, L-cysteine은 13日째에 control에 比하여 1.5倍에 달하는 活性이 殘存하고 있었다.

要　　約

이스라엘 잉어의 筋肉 actomyosin의 熱安定性과 그 添加劑에 의한 影響을 밝히기 위하여 背肉骨骼筋에서 抽出한 actomyosin을 試料로 하여 溫度의 變化가 actomyosin의 安定性에 미치는 影響을 ATP-感度, 遊離 SH基 및 Ca-ATPase 活性度 等을 測定하여 分析하였다. 그리고 sucrose, sorbitol, Na-glutamate 및 L-cysteine等 添加劑의 影響에 대하여는 Ca-ATPase 活性度의 變化를 測定하여 蛋白質變性速度常數(K_D), 蛋白質變性保護効果($\Delta E/M$) 그 밖에 熱力學的 諸常數를 計算 比較하였다.

實驗結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 背肉骨骼筋에서 抽出한 이스라엘 잉어 actomyosin은 蛋白質濃度 4.12～4.68 *mg/ml*, 核酸의 含量 2.63～2.93%, actin과 myosin의 結合比 1:2.20～2.63, 脂質의 含量 4.33～5.26%, ATP-感度 109.78, Ca-ATPase 活性 0.159～0.201 μM-Pi/min/*mg*-protein, 遊離 SH 基 含量 3.3～3.4M/10^5*g*-protein 이었다.

2. Ca-ATPase 活性 및 ATP-感度는 溫度가 上昇함에 따라 1次反應的으로 감소하였고, 遊離 SH基는 60°C 까지는 增加하다가 그 以後는 급격히 下降하였다.

3. 加熱溫度上昇에 따른 Ca-ATPase 活性의 半減時間은 12°C 일때 280分, 20°C 일 때 125分, 30°C 일때 55分, 40°C 일때 13分이었으며 20°C에서 活性化에너지는 5,395 cal/mole 活性化엔탈피는 4,814 cal/mole, 活性化엔트로피는 −40.42 e.u, 自由에너지 값은 17,626 cal/mole이었다.

4. 糖 및 아미노酸中에서 加熱에 대하여 變性保護効果가 높은 것은 3% sorbitol이었으며, 8% Na-glutamate, 1% sucrose, 1% L-cysteine의 順으로 낮아졌다.

5. 低溫貯藏時 actomyosin이 가장 安定한 溫度는 −30°C이었으며, 0°C, −20°C 順으로 不安定하였

다. 또한 −20°C 일 때의 添加劑에 의한 冷凍變性保護効果는 8% Na-glutamate가 가장 좋았고 3% sorbitol, 1% sucrose, 1% L-cysteine의 順으로 効果가 떨어졌다.

文　　獻

Andou, S.I., K. Takama and K. Zama. 1981. Interaction between lipid and protein IV. The adaptation of the ultraviolet abosorption spectrum method for the determination of protein contents in the mixture of lipids and myosin B. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 32(2), 188-193.

Andou, S.I. 1983. Removal of lipid from myosin B preparation by Triton X-100 treatment. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 49(6), 927-932.

Arai, A.U. Hasnain and Y.I. Takano. 1976. Species specificity of muscle proteins of fish against thermal and urea denaturation. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 42(6), 687-695.

Buttkus, H. 1970. Accelerated denaturation of myosin in frozen solution. J. Food Sci. 35, 558-562.

Colowick, S.P. and N.O. Kaplan. 1957. Methods in enzymology Ⅲ. 451-454. The Academic Press Inc., New York.

Connell, J.J. 1960a. Changes in the ATPase activity and sulfhydryl groups of cod flesh during frozen storage. J. Sci. Food Agric. 11, 245.

Ellman, G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 82, 70-77.

Hamada, I., F. Yabuno, K. Furumatsu and E. Niwa. 1982. The effect of lipid on the heat denaturation of actomyosin. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 48(2), 188-193.

Hamada, I., F. Yabuno, T. Nakayama and E. Niwa. 1983. The effect of lipid on the enzymatic properties of actomyosin. Bull. Fac. Fish., Mie Univ. No. 10, 41-47.

橋本昭彦・小林章良・新井健一・1982. 魚類筋原纖維 Ca-ATPase 活性の溫度安定性と環境適應. 日水誌 48(5), 671-684.

今野久仁彦・關伸夫. 1975, コイ筋肉トロポニンの調製について. 日水誌 41, 1327-1333.

Johnston, I.A. and G. Goldspink 1975. Thermodynamic activation parameters of fish myofibrillar ATPase enzyme and evalutionary adaptations to temperature. Nature 257, 620-622.

Kimura, I., K. Arai and S. Watanabe. 1979. Heavy meromyosin from skipjack tuna, *Euthynus pelamis*, Preparation and enzymatic properties. J. Biochem. 86, 1629-1638.

Nogudhi, S. and J.J. Matsumoto. 1970. Studies on the control of the denaturation of the fish muscle proteins during the frozon storage-Ⅰ. Preventive effect of Na-glutamate. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 36(10), 1078-1087.

Noguchi, S. and J.J. Matsumoto. 1971. Studies on the control of the denaturation of the fish muscle proteins during frozen storage-Ⅱ. Preventive effect of amino acids and related compounds. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 37(10), 1115-1123.

大泉徹・橋本浩二・小倉潤子・新井健一・1981. 魚類筋原纖維の加熱變性に對する糖および糖アルコールの保護効果の定量的 考察. 日水誌 47(7), 901-908.

大泉徹・中村將俊・橋本昭彦・新井健一・1983. 南極オキアミ筋原纖維たんぱく質の熱變性と糖の保護効果. 日水誌 49(6), 967-974.

卞在亨・李應昊. 1975. 멱장어의 筋肉蛋白質에 關한 營養生化學的 硏究. 1. Actomyosin의 加熱變性. 釜山水大硏報 14(2), 21-28.

齋藤恒行・内山均・梅本滋・河端俊治. 1974. 水產生物化學・食品學實驗書, 189-202, 恒星社厚生閣版, 東京.

Segel, I.H. 1976. Biochemical Calculations, 2nd. pp. 197～205, John Wiley & Sons, Inc.

高土令二・新井健一・齋藤恒行・1970. 魚類筋肉構成たんぱく質に關する研究－Ⅱ. コイ筋肉かつアクトミオシンの調製 について. 日水誌 36(2), 169-172.

Umemoto, S. 1966. A modified method for estimation of fish muscle pretein by Biuret

method. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 32, 427.

Ueda, T., Y. Shimizu and W. Simidu. 1964. Studies on muscle of aquatic animals-XXXXII. Species difference in fish actomyosin(Part 2) relation between heat denaturing point and species. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 31(40), 352-356.

Weber, A. 1956. The ultracentrifugal separation of L-myosin and actin in an actomyosin solution under the influence of ATP. Biochim. Biophys. Acta. 19, 345-351.