

## 보리새우肉의 部分凍結貯藏中 蛋白質 및 아미노酸의 組成變化

卞在亨 · 崔暎準 · 金正翰\* · 趙權玉\*\*

釜山水產大學 食品營養學科

\* 麗水水產專門大學 水產加工科 \*\* 釜山水產大學 冷凍工學科

### Postmortem Changes of the Protein and Amino Acid Composition of Muscles in the Partially Frozen Prawn, *Pandalus japonica*

Jae-Hyeung PYEUN, Yeung-Joon CHOI,

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

Jeung-Han KIM

Department of Fisheries Processing, Yeosoo Fisheries Technical College,  
Yeosoo, 542 Korea

and

Kweon-Ock CHO

Department of Refrigeration Engineering, National Fisheries University of Pusan,  
Pusan, 608 Korea

An extensive study has been made on the relationship between the freshness and the compositions of the muscle protein of prawn, *Pandalus japonica* during the storage under partially frozen condition.

The variations of the subunit distribution for sarcoplasmic protein and myofibrillar protein extracted from the samples by changes of freshness were discussed by sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAG) electrophoresis. On the other hand, the denaturation constant ( $K_D$ ) of the myofibrillar protein extracted from the prawn stored at  $-3^\circ\text{C}$  and  $-20^\circ\text{C}$  were successively compared.

The prawn muscle contained about 18% of protein with the composition of 32% in sarcoplasmic protein, 56% in myofibrillar protein, 10% in residual intracellular protein and 2% in stroma.

The indices for estimating freshness of the muscle were approached to the early stage of putrefaction on the 26th day of the storage with 25.29mg% of total volatile basic nitrogen, 31.36% of K-value and 8.83 of pH. The content of the myofibrillar protein was remarkably decreased with the time during the storage while that of residual intracellular protein was increased. The  $K_D$  values of the myofibrillar protein were  $9.03 \times 10^{-6} \text{sec}^{-1}$  at  $-3^\circ\text{C}$  and  $4.42 \times 10^{-6} \text{sec}^{-1}$  at  $-20^\circ\text{C}$ .

The results of the analysis of SDS-PAG electrophoretograms indicated that the sarcoplasmic protein and the myofibrillar protein were composed of 12 subunits and 17 subunits in the muscle of instantaneously killed prawn and were changed into 8 subunits and 22 subunits in the muscle stored for 26 days, respectively.

It is noticeable that 30,000, 41,000, 107,000, 136,000, 170,000, 173,000, 185,000, and 198,000

daltons of the newly appeared 8 subunits were found in the myofibrillar protein from the prawn muscle stored for 26 days.

The amino acid composition of the muscle protein showed that the most of amino acids were slightly decreased with the days of the storage. With respect to the free amino acid composition of the muscle of instantaneously killed prawn, glycine, proline, arginine, alanine and taurine comprised 93% of the total free amino acids.

Taurine, valine, leucine, phenylalanine, serine, lysine, methionine, isoleucine and histidine were increased during the storage period but exceptionally proline was decreased.

## 序 論

低溫貯藏法中 部分凍結法은 水産物의 保藏을 위하여 一定期間동안의 鮮度維持와 蛋白質의 變性抑制가 可能하다는 點에서 全面冷凍 또는 氷藏法에 比하여 効果적인 方法인 것으로 報告되고 있다.<sup>1-3)</sup>

部分凍結의 鮮度維持效果에 關하여 内山 等<sup>4)</sup>은 養殖 무지개송어를 試料로 하였을 때 氷藏한 것에 比하여 鮮度推定指標인 K-값과 脂質의 酸敗程度를 判定할 수 있는 TBA-값에 의한 評價에서 보다 効果적인 貯藏手段이라고 하였으며, 蛋白質의 變性程度에 있어서도 氷藏이나 凍結한(-30°C) 것에 比하여 部分凍結한 것이 보다 나은 效果를 보였다고 하였다. 그리고 고등어를 試料로 했을 때도 비슷한 結果였다고 報告하였다.

그러나 部分凍結貯藏中の 鮮度變化段階別로 蛋白質의 變性과 그 組成의 變化를 關聯하여 檢討한 研究는 充分히 이루어져 있지 않다.

이같은 見地에서 著者들은 死後 鮮度の 變化가 比較的 빠른 새우를 試料로 擇하여 部分凍結 條件(-3°C)에서 保管하면서 鮮度判定指標인 K-값, 總揮發性 鹽基窒素 및 pH, 蛋白質의 變性を 推定하기 위한 肉의 筋原纖維 蛋白質의 Ca-ATPase 活性, 그리고 鮮度變化 段階別로 蛋白質의 組成과 蛋白質 構成아미노酸 및 肉의 遊離아미노酸의 組成 等の 變化를 分析, 檢討하여 部分凍結 貯藏中 鮮度の 變化에 따른 蛋白質의 變性 및 組成과 關聯있는 몇가지 有益한 結果를 얻었기에 報告한다.

## 材料 및 方法

### 1. 材料

慶南 南海郡 고현면 갈하리 養殖場에서 1982年 5月

부터 12月까지 7個月間 養殖한 보리새우(*Pandalus japonica*, 體長 18-20 cm, 體重 40-50 g)를 試料로 하였다. 試料는 살아있는 狀態로 低溫實驗室(0~4°C)로 運搬하고 個體差가 작은 3尾씩을 골라 polyethylene 으로 2重包裝한 後에  $-3 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 로 調節된 循環空氣 孵卵器(GCA Corp Freas 815) 속에 保管하면서 保管日程別로 採肉, 磨碎하여 分析에 使用하였다.

### 2. 分析 方法

#### (1) 鮮度 變化

鮮度推定을 위한 指標로서 K-값은 Kobayashi와 Uchiyama의 方法<sup>5)</sup>으로, 總揮發性 鹽基窒素는 微量擴散法<sup>6)</sup>으로 그리고 pH는 유리電極 pH計(Fisher, Model 630)로 測定하였다.

#### (2) 筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性과 그 變性速度定數( $K_D$ )

部分凍結 貯藏條件이 蛋白質의 變性に 미치는 影響은 筋原纖維 蛋白質을 抽出하여 그 Ca-ATPase 活性의 變化를 測定하므로써 推定하였다. 즉, 筋原纖維 蛋白質은 加藤 等の 方法<sup>7)</sup>으로 抽出하였으며, Ca-ATPase의 活性과 變性速度定數( $K_D$ )는 内山 等の 方法<sup>8)</sup>으로 測定하였다. Ca-ATPase 活性의 測定에 있어서는 1 mM의 ATP를 含有하는 60 mM KCl·5 mM CaCl<sub>2</sub>·25 mM Tris-maleate buffer, pH 7.0 溶液中에 抽出된 筋原纖維 蛋白質을 蛋白質의 濃도가 0.3~0.4 mg/ml 되도록 加하여 25°C에서 5分 동안 反應시켰다. 反應 後, Fiske-Subbarow의 變法<sup>9)</sup>으로 遊離된 無機磷酸을 比色定量하여 筋原纖維 蛋白質(mg)이 時間(分)當 遊離한 無機磷酸量( $\mu\text{M}$ )으로써 Ca-ATPase의 活性을 求하였다.

그리고, 筋原纖維 蛋白質의 變性 速度定數( $K_D$ )는

結果 및 考察

部分凍結(-3°C)과 冷凍(-20°C)의 各 溫度條件에 筋原纖維蛋白質을 두었을 때 時間의 經過( $Δt$ )에 따른 ATPase 活性의 自然對數값의 差異를 時間(秒)으로 나눈 값으로 나타내었다.

(3) 蛋白質의 組成

部分凍結 狀態로 貯藏했을때의 貯藏期間別 蛋白質의 組成은 金 等의 方法<sup>10)</sup>에 따라 測定하였다. 그리고, 蛋白質의 組成 測定過程에서 貯藏期間別로 分離된 筋形質 蛋白質과 筋原纖維 蛋白質의 一部에 대하여는 構成蛋白質의 組成 變化를 分析 檢討하기 위하여 Weber와 Osborn의 方法<sup>11)</sup>에 따라 sodium dodecylsulphate-polyacrylamide gel (SDS-PAG) 電氣泳動分析을 하였다. 이때 polyacrylamide gel의 濃度は 筋形質 蛋白質에 있어서는 10%, 筋原纖維蛋白質에 있어서는 7.5%로 各各 調製하여 사용하였다.

한편, 電氣泳動 分析에서 얻어진 gel上的 電氣泳動像은 寫眞으로 撮影하여 나타난 subunit 帶의 移動度를 micrometer로써 測定하였다.

또, 筋形質 蛋白質과 筋原纖維 蛋白質의 電氣泳動像에 나타난 構成 subunit의 分子量은 같은 條件으로 電氣泳動한 SDS-molecular weight marker (Sigma 製, cross-linked hemoglobin 및 cross-linked albumin)의 相對移動度로부터 作製한 分子量-電氣泳動移動度 關係曲線으로부터 求하여 나타내었다.

(4) 蛋白質 構成아미노酸과 遊離아미노酸의 組成

보리새우의 肉에서 處理하여 얻은 蛋白質의 構成 아미노酸과 에칠알코올로써 抽出한 遊離아미노酸의 組成은 아미노酸自動分析計(LKB 製, 4150-alpha型)로서 測定, 分析하였다.

그리고 이때의 分析試料은 金 等<sup>10)</sup>의 方法에 따라 調製하였다.

또, 蛋白質 構成아미노酸의 分析에서 tryptophane은 Spies와 Chamber의 方法<sup>12)</sup>으로, 그리고 cysteine은 Pieniazek 등의 方法<sup>13)</sup>으로 各各 測定하였다. 本 實驗을 實施함에 있어서 蛋白質의 組成과 Ca-ATPase 活性의 測定에 사용한 試藥은 모두 試藥用 特級을, 그리고 電氣泳動分析에는 電氣泳動用 試藥을 사용하였다. 또 試藥의 調製에는 蒸溜된 脫이온水를 사용하였다.

한편, 試料의 處理와 分析을 위한 操作은 모두 低溫實驗室(2±2°C)에서 하였다.

1. 一般成分과 鮮度の 變化

살아있는 보리새우를 即殺한 것과 -3°C에서 部分凍結하여 貯藏中 鮮度變化 段階別로 各各 採肉하여 一般成分을 測定한 結果를 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Changes of proximate composition in the partially frozen prawn muscle during storage at -3°C

Days of storage	Moisture	Crude protein (protein-N, mg/g)	(unit: %)	
			Fat	Ash
at-death	74.13	23.11(28.95)	1.19	1.57
9 days	74.05	22.52(26.66)	0.82	1.61
21 days	77.19	19.94(23.35)	1.04	1.82
26 days	78.36	18.77(21.46)	0.90	1.97

貯藏日數의 經過와 더불어 水分과 灰分은 조금씩 增加하였으나 粗蛋白質과 蛋白態窒素에 있어서는 減少하는 結果를 보였다.

蛋白質이 이같이 減少하는 것은 貯藏中液汁으로 一部分解流出한데 그 原因이 있는 것으로 생각된다. Flores와 Crawford<sup>14)</sup>은 太平洋새우(Pandalus jordani)를 氷藏하였을때 氷藏期間의 經過와 더불어 總窒素과 非蛋白態窒素의 含量이 急激히 減少한다고 하였는데, 本 實驗의 結果와는 그 傾向에 있어서는 類似하였으나 貯藏中の 減少된 程度에 있어서는 部分凍結한 本 實驗의 結果가 小幅으로 減少한 것을 알 수 있었다.

部分凍結狀態로 貯藏하면서 鮮度の 變化程度를 알아보기 위하여 鮮度推定指標로서 K-값, 總揮發性 鹽基窒素의 量 및 pH의 變化를 測定하였으며, 그 關係를 Fig. 1에 나타내었다.

K-값, 總揮發性 鹽基窒素 및 pH가 모두 部分凍結 貯藏中에 一律적으로 增加하여 갔으나 貯藏 10日째에서 多少 下降하였다가 다시 上昇하는 傾向을 보였다.

그리고, 即殺하였을 때는 K-값이 6.90%, 總揮發性 鹽基窒素의 量이 5.73 m% 였던 것이 貯藏 26日째에 거의 腐敗 初期에 接近하는 K-값 31.36%, 總揮發性 鹽基窒素量 25.29 mg% 를 보였다.

Miguel 등<sup>15)</sup>은 고등어를 12日間 部分凍結하여 貯藏한 結果 K-값은 氷藏時에 比하여 1/2 程度밖에 增加하지 않는다고 하였다. 또, Cobb III 등<sup>15)</sup>은 새우(Penaeus setiferus)를 氷藏한 結果, 氷藏 初期에 一時 總揮發性 鹽基窒素의 量이 減少하였다가 다시

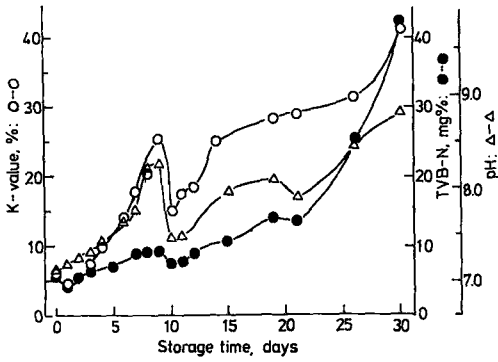


Fig. 1. Changes in K-value, total volatile basic nitrogen(TVB-N) and pH of the partially frozen prawn muscle during the storage at  $-3^{\circ}\text{C}$

上昇한다고 하였고, Cheuk 등<sup>16)</sup>도 같은 종류의 새우로서 비슷한 결과를 報告하였는데, 이들 결과는 본 實驗에서 나타난 K-값, 總揮發性 鹽基窒素의 量 및 pH가 보인 關係曲線과 비슷한 傾向의 結果임을 알 수 있었다.

2. 筋原纖維 蛋白質의 Ca-ATPase 活性과 變性速度定數

새우 肉蛋白質의 低溫保管에 따른 安定性を 알아보기 위하여 主要構成蛋白質인 筋原纖維 蛋白質을

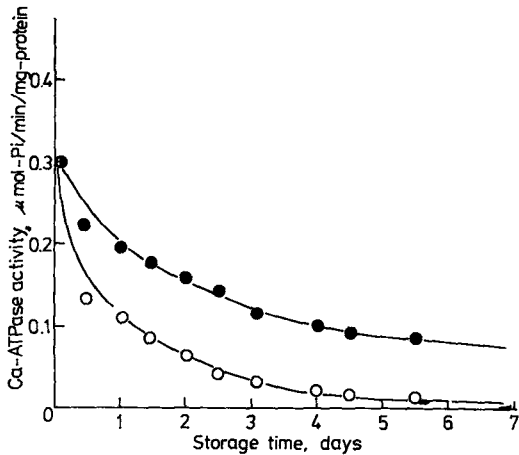


Fig. 2. Inactivation of myofibrillar Ca-ATPase of prawn muscle during low temperature preservation at  $-3^{\circ}\text{C}$  (O) and  $-20^{\circ}\text{C}$  (●). Denaturation constant,  $K_D = (\ln C_0 - \ln C_t) / t$ , was  $9.03 \times 10^{-6} / \text{sec}$  at  $-3^{\circ}\text{C}$  and  $4.42 \times 10^{-6} / \text{sec}$  at  $-20^{\circ}\text{C}$

加藤 等의 方法<sup>7)</sup>으로 抽出하여 0.6 M KCl·0.04 M Tris-HCl 緩衝液, pH 7.0에 溶解된 狀態로  $-3^{\circ}\text{C}$ 와  $-20^{\circ}\text{C}$ 의 低溫下에 保管하면서 時日의 經過에 따라 Ca-ATPase 活性의 變化를 測定하여 그 結果를 Fig. 2에 나타내었다. 即殺했을 때의 보리새우 筋原纖維 蛋白質의 Ca-ATPase 活性은  $0.30 \mu\text{M-Pi} / \text{min} / \text{mg-protein}$  였는데, 이 값은 加藤 等<sup>7)</sup>에 의하여 報告된 tilapia 나 잉어 等에 比하면 조금 낮았으나 방어와는 비슷하였으며, 명태, 무지개 송어 等에 比하면 높은 活性을 보임을 알 수 있었다.

그리고  $-3^{\circ}\text{C}$ 와  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 保管했을 때의 Ca-ATPase 活性의 變化에서 變性 速度定數,  $K_D$ 를 求하여 본 結果,  $-3^{\circ}\text{C}$ 에서 保管했을 때는  $9.03 \times 10^{-6} / \text{sec}$ 로서  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 保管했을 때의  $4.42 \times 10^{-6} / \text{sec}$ 에 比하여 約 2倍정도 높은 값을 보였다. 이 結果에 비추어 보리 새우의 筋原纖維 蛋白質은  $-3^{\circ}\text{C}$ 에 保管하는 것이  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 保管하는 것에 比하여 約 2倍정도 變성이 빠르다는 것을 推定할 수 있었다.

3. 蛋白質組成的 變化

部分凍結하여 貯藏中, 經過日數에 따라 鮮度變化 段階別로 蛋白質의 組成 變化를 Table 2에 나타내

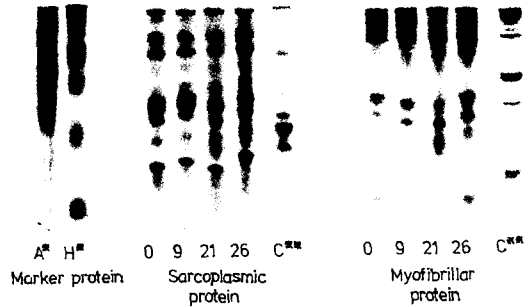


Fig. 3. Electrophoretograms of  $\text{NaDodSO}_4$ -solubilized sarcoplasmic proteins and myofibrillar proteins from the partially frozen prawn muscle during storage at  $-3^{\circ}\text{C}$

In the electrophoretic analysis, 10% of acrylamide gel was used for sarcoplasmic protein and 7.5% of acrylamide gel for myofibrillar protein.

Numericals under the photographs show the days stored.

\* The capital letter H and A indicate the cross linked hemoglobin and albumin, respectively

**Table 2. Changes in protein composition by freshness of the partially frozen prawn muscle during storage at -3°C**

Days of storage	Conditions of freshness		Non-proteinous nitrogen (mg-N/g-muscle)	Protein-N(mg-N/g-muscle)			
	TVB-N (mg%)	K-value (%)		Sarcoplasmic	Myofibrillar	Residual intracellular	Stroma
at-death	5.73	6.90	4.93	9.11(31.45)	16.23(56.04)	2.98(10.30)	0.63(2.17)
9 days	9.26	25.77	4.90	9.72(36.47)	11.11(41.66)	4.92(18.45)	0.89(3.36)
21 days	13.33	28.91	4.89	9.12(39.06)	9.27(39.70)	4.70(20.13)	0.12(0.90)
26 days	25.29	31.36	4.80	8.51(39.66)	7.21(33.60)	5.54(25.81)	0.19(0.86)

Numericals in parentheses represent percentage distribution to protein-N of the muscle proteins

있으며, 量的으로 比較的 靑고 鮮度 變化段階別로도 많은 變化를 보인 筋形質 蛋白質과 筋原纖維 蛋白質에 대하여는 다시 別途로 電氣泳動分析을 實施하여 그 電氣泳動像에 나타난 subunit의 分布를 Fig.3에 나타내었으며, 다시 相對移動도와 分子量別 subunit의 分布 및 그 變化를 micrometer 로써 測定하여 Table 3~6에 整理하여 나타내었다.

먼저, 部分凍結 貯藏中 鮮度の 變化에 따른 蛋白質 組成의 變化를 보면 (Table 2), 即殺했을 때는

**Table 3. Comparison of subunit distribution on SDS-acrylamide gel electrophoretograms by relative mobility between at-death prawn and Israeli carp sarcoplasmic proteins\***

Relative mobility	Subunit distribution by dalton unit( $\times 10^{-3}$ )	
	Prawn	Israeli carp
0.074	108	
0.086		100
0.118		79
0.137	67.5	
0.179		60
0.188	57	56.5
0.253		52
0.298		47
0.342	42.5	
0.368		40.5
0.399	38	
0.521	30	31
0.562	28	28
0.658	23	
0.668	22	
0.702	20	
0.749	18	
0.806	17	
0.898		13.2

\* 10% of acrylamide gel was used in the electrophoretic analysis.

생각 質中 筋形質 蛋白質이 31.45%, 筋原纖維 蛋白質이 56.04%, 細胞內殘渣 蛋白質이 10.30%, 基質 蛋白質이 2.17% 이었다.

그리고, 卞과 南의 報告<sup>17)</sup>에 비추어 브리새우에 있어서도 細胞內殘渣 蛋白質의 大部分을 筋原纖維 蛋白質의 未抽出分 또는 一部 筋原纖維 蛋白質의 變性에 의한 不溶分인 것으로 推定한다면 筋原纖維 蛋白質의 總量은 約 66%에 이르는 것을 알 수 있다. 이 結果에 따르면 브리새우肉의 筋原纖維 蛋白質의 量的 比는 魚肉의 筋原纖維 蛋白質의 그것에 비하여 큰 差異가 없음을 알 수 있었다.

部分凍結狀態에서 貯藏했을 때의 鮮度 變化에 따

**Table 4. Changes of subunit distribution on the electrophoretograms of NaDod-SO<sub>4</sub>-solubilized sarcoplasmic protein from the partially frozen prawn muscle during storage at -3°C\***

Relative mobility	Estimated molecular weight ( $\times 10^{-3}$ dalton)	Subunit distribution by days of storage			
		at-death	9	21	26
0.074	108	+	+	+	+
0.137	67.5	+	+	+	+
0.188	57	+	+	+	+
0.278	48	-	-	+	+
0.342	42.5	+	+	+	+
0.399	38	+	+	+	+
0.521	30	+	+	+	+
0.562	28	+	+	+	+
0.658	23	+	+	+	-
0.668	22	+	+	+	-
0.702	20	+	+	+	-
0.749	18	+	+	+	-
0.806	17	+	-	-	-

\* 10% of acrylamide gel was used in the electrophoretic analysis

+: Subunit appeared on the electrophoretograms  
-: Subunit did not appear on the electrophoretograms

Table 5. Comparison of subunit distribution on SDS-polyacrylamide gel electrophoretograms by relative mobility between at-death prawn and Israeli carp myofibrillar proteins

Relative* mobility	Dalton unit( $\times 10^{-3}$ )		Reference	
	Prawn	Israeli carp	Subunit	Dalton unit( $\times 10^{-3}$ )
0.080	200	200	Myosin heavy chain	210 <sup>22)</sup> , 200 <sup>20)</sup> , 211, 23)
0.118	194		M-line $M_{\alpha}$	195 <sup>20)</sup>
0.142	180		M-line $M_{\beta}$	180 <sup>20)</sup>
0.175	165			
0.185	158			
0.191	152		C-protein	150 <sup>22)</sup> , 140 <sup>20)</sup>
0.226	140			
0.258		124		
0.275	121			
0.328	104	104	$\alpha$ -Actinin	120 <sup>22)</sup> , 102 <sup>20)</sup> , 90 <sup>21)</sup>
0.340		79		
0.394	62			
0.415	54	54		
0.450		50		
0.501	45	45	Actin	49 <sup>22)</sup> , 48 <sup>25)</sup> , 45 <sup>20)</sup> , 43 <sup>19)</sup> , 23), 42 <sup>28)</sup>
0.563		39		
0.576	38	38	Tropomyosin	37 <sup>24)</sup> , 36 <sup>22)</sup> , 35 <sup>20)</sup> , 34 <sup>23)</sup>
0.617		35		
0.646	32	32	Troponin-T	37 <sup>20)</sup> , 30 <sup>23)</sup>
0.700		29		
0.765	25	25	Myosin light chain-1	29 <sup>27)</sup> , 28 <sup>27)</sup> , 27.5 <sup>27)</sup> , 25 <sup>19)</sup> , 20), 23), 26)
0.829	22	22	Troponin-I	24 <sup>20)</sup> , 21), 21 <sup>23)</sup>
0.872		20	Troponin-C	24 <sup>18)</sup> , 20 <sup>20)</sup> , 19 <sup>23)</sup> , 24)
0.892	19	19	Myosin light chain-2	19 <sup>27)</sup> , 18.5 <sup>27)</sup> , 18 <sup>19)</sup> , 20), 21), 17.5 <sup>23)</sup> , 26)
0.941	17	17	Myosin light chain-3	16.5 <sup>27)</sup> , 16 <sup>19)</sup> , 15 <sup>20)</sup> , 14 <sup>26)</sup> , 27)

\* 0.030-0.340 and 0.394-0.941 of relative mobility in SDS-PAG electrophoretic analysis were accomplished with 10% and 7.5% of the gel concentration

18) Ishida and Konno(1982)

19) Nishita *et al.*(1981)

20) Porzio and Pearson(1977)

21) Reddy *et al.*(1975)

22) Samejima and Wolfe(1976)

23) Seki(1977)

24) Seki and Konno(1975)

25) Spudich and Watt(1971)

26) Takashi *et al.*(1974)

27) Watabe *et al.*(1982)

28) Watabe *et al.*(1983)

은 蛋白質 組成의 變化를 보면(Table 2), 鮮度狀態는 部分凍結하여 21日間 貯藏하더라도 比較의 新鮮한 狀態를 維持하였고, 26日이 經過했을때는 揮發性 鹽基素量으로 腐敗 初期에 該當하는 30 mg%에 肉 迫하는 25.29 mg%를 나타내었으며, 이같은 鮮度變化 段階別로 나타난 蛋白質 組成상의 두드러진 變化를 非蛋白態窒素는 극히 微微한 減少를 보였고, 蛋白態窒素에 있어서는 筋形質 蛋白質은 微微한 增減變化를 보인 反面, 筋原纖維 蛋白質은 두드러지게 減少하고 細胞內殘渣 蛋白質이 대폭 增加하는 傾向을 나타내었다.

이같은 結果에 비추어 蛋白質의 分解와 같은 化學

的인 變化는 緩慢하게 일어나는 反面, 分子 自體의 構造상의 變化와 같은 變性은 部分凍結狀態下에서는 어느程度 빨리 進行되는것을 알 수 있었다. 그리고 基質蛋白質은 比較的 安定한 蛋白質임에도 不拘하고 貯藏期間의 經過와 더불어 相當한 減少現象을 보였는데 이것은 보리새우의 生存時에 筋肉組織中에 保有하였던 蛋白質 分解酵素와 一部 微生物體 由來의 蛋白質 分解酵素에 의하여 緩慢하게 나마 作用을 받은것이 原因일것으로 생각된다.

그리고, 部分凍結 貯藏中 鮮度の 變化段階別로 筋形質 蛋白質과 筋原纖維 蛋白質을 이루는 構成 subunit의 變化를 SDS-PAG 電氣泳動法으로 分析한

**Table 6. Changes of subunit distribution on the electrophoretograms of NaDod-SO<sub>4</sub>-solubilized myofibrillar protein from the partially frozen prawn muscle during storage at -3°C\***

Relative mobility	Estimated molecular weight (×10 <sup>-3</sup> dalton)	Subunit distribution by days of storage			
		at-death	9	21	26
0.080	200	+	+	+	+
0.099	198	-	-	+	+
0.118	194	+	+	+	+
0.131	185	-	-	+	+
0.142	180	+	+	+	+
0.155	173	-	-	-	+
0.171	170	-	-	+	+
0.175	165	+	+	-	-
0.185	158	+	+	+	+
0.226	140	+	+	-	-
0.237	136	-	+	+	+
0.275	121	+	+	+	+
0.316	107	-	-	-	+
0.328	104	+	+	+	+
0.394	62	+	+	+	+
0.448	54	+	+	+	+
0.501	45	+	+	+	+
0.545	41	-	+	+	+
0.576	38	+	+	+	+
0.646	32.5	+	+	+	+
0.720	30	-	-	+	+
0.767	27	-	+	+	+
0.829	22	+	+	-	-
0.850	20	-	-	+	+
0.941	17	+	+	+	+

\* 7.5% of acrylamide gel was used in the electrophoretic analysis

+ : Subunit appeared on the electrophoretograms  
 - : Subunit did not appear on the electrophoretograms

結果, 卽殺했을 때의 筋形質 蛋白質은 12個의 subunit 가 檢出되었다. 그리고 魚類中 이스라엘잉어의 背肉 骨格筋에서 分離한 筋形質 蛋白質에 대하여 同一條件에서 分析한 경우에 있어서는 11個의 subunit 가 檢出되어 筋形質 蛋白質의 組成은 甲殼類인 브리새우와 魚類인 이스라엘잉어와의 사이에 상당한 差異가 있음을 알 수 있었다. 卽殺한 브리새우와 이스라엘잉어肉中的 筋形質 蛋白質 構成 subunit 에 있어서 電氣泳動的 相對移動도에 의한 分子量에 비추어 같은 것이 3個 subunit 가 있었으나 그 밖의 것은 모두 자기 다른 分子量의 subunit 로 이루어져 있음을 알 수 있었다. 이같은 結果는 魚類와 甲殼類間에

筋形質 蛋白質을 이루는 蛋白質이 差異가 많음을 提示하여 주며, 特히 甲殼類인 새우는 subunit 分子量 40,000 以下인것이 8種이나 되는데 比하여 이스라엘 잉어에 있어서는 不過 4種에 지나지 않는 特徵을 보였다.

部分凍結狀態에서 時日이 經過하는 中の subunit 의 變化를 보면, 貯藏 21日째에서 分子量 48,000의 새로운 subunit 가 出現한 反面, 分子量 18,000, 20,000, 22,000 및 23,000 에 該當하는 subunit 는 貯藏 26日째부터 消失하였으며, 分子量 17,000에 該當하는 subunit 는 貯藏 9日 以後에는 消失하여 버렸다. 이같은 結果는 貯藏中에 分子量이 보다 적은 subunit 나 또는 peptide 로 分解가 일어나므로서 나타난 結果인 것으로 判斷되었다.

한편, 卽殺한 브리새우의 肉에서 抽出分離한 筋原纖維蛋白質의 分子量別 subunit 의 分布를 Table 5 에 나타내었으며, 卽殺한 이스라엘잉어의 背肉骨格筋의 筋原纖維 蛋白質을 抽出하여 SDS-PAG 電氣泳動法으로 그 subunit 의 分布를 分析한 結果도 比較하여 나타내었다.

筋原纖維 蛋白質의 subunit 를 各 動物種別로 同定하여 報告한 文獻上的 資料들과 對照하여 보면, 브리새우肉의 筋原纖維 蛋白質中에는 分子量 54,000, 62,000, 121,000, 158,000 및 165,000에 該當하는 다른 動物種에서는 同定 報告되어 있지않은 subunit 가 檢出되었다. 그리고 브리새우에 있어서는 토끼骨格筋에서 同定 報告된<sup>20)</sup> M line M<sub>α</sub>와 M line M<sub>β</sub> 에 該當하는 分子量 180,000 과 194,000 의 subunit 가 檢出되었고, 토끼의 骨格筋에서 報告된 分子量 140,000의 C-protein<sup>20)</sup> 이 브리새우肉의 筋原纖維 蛋白質에서도 檢出되었다. 이밖에 多少間 分子量의 差異는 있으나 分子量 104,000에 該當하는것은 α-actinin 인 것으로<sup>20)</sup>, 分子量 45,000에 該當하는 것은 actin 인 것으로<sup>19)20)23)</sup>, 그리고 分子量 38,000 과 32,000<sup>23)</sup>에 該當하는 것은 tropomyosin<sup>24)</sup>과 troponin-T 인 것으로 各各 判斷되었다. 그리고 分子量 25,000, 22,000, 19,000 및 17,000 에 該當하는 subunit 는 Nishita 등<sup>19)</sup> Porzio와 Pearson<sup>20)</sup>, Seki<sup>23)</sup>, Takashi 등<sup>26)</sup> 및 Watabe 등<sup>27)</sup> 등의 報告에 의하면 myosin light chain-1, troponin-I, myosin light chain-2 및 myosin light chain-3 일 것으로 各各 推定되었다.

브리새우肉의 筋原纖維 蛋白質과 이스라엘잉어 骨格筋의 筋原纖維 蛋白質의 分子量別 構成 subunit

의 分布上의 差異를 보면 分子量 17,000, 19,000, 22,000, 25,000, 32,000, 38,000, 45,000, 54,000, 104,000 및 200,000의 subunit는 서로 一致하였으나, 그밖에 보리새우의 62,000, 121,000, 140,000, 158,000, 165,000, 180,000, 194,000의 subunit는 이스라엘 잉어에서는 없었고, 또 이스라엘 잉어의 20,000, 29,000, 35,000, 39,000, 50,000, 79,000, 124,000, 152,000의 各 subunit는 보리새우에서는 一致하는 subunit가 없이 各各 相馳하였다. 全體의 으로 보리새우의 筋原纖維 蛋白質은 17個의 subunit로서, 그리고 이스라엘 잉어의 背肉骨格筋의 筋原纖維 蛋白質은 18個의 subunit로 構成되어 있었다. 海産洄遊性 魚類에 속하는 방어의 筋原纖維 蛋白質에 대하여 實驗한結果에 의하면<sup>10)</sup> 普通肉은 17個의 subunit로 그리고 血合肉은 16個의 subunit로 構成되어 있다고 하였는데 이들 結果와 本 實驗에서 얻어진 結果를 綜合하여 比較하면 動物의 筋原纖維 蛋白質은 種類에 따라 그 subunit의 組成에 있어서 많은 差異가 있음을 알 수 있었다.

보리새우를  $-3^{\circ}\text{C}$ 에서 部分凍結狀態로 貯藏하는 途中에 鮮度 段階別 貯藏日數에 따라 그 筋原纖維 蛋白質을 抽出分離하여 subunit 組成의 變化를 測定하고 그 結果를 Table 6에 나타내었다. 貯藏日數의 經過와 더불어 筋原纖維 蛋白質을 이루는 subunit의 組成에는 적지않은 變化를 보였다. 두드러진 變化를 보면, 새로히 出現한 subunit에는 貯藏 9日째에 나타난 것이 分子量 41,000의 subunit와 136,000의 subunit를 들 수 있었고, 貯藏 21日째에 나타난 것으로는 分子量 20,000, 30,000, 185,000 및 198,000의 各 subunit가, 그리고 貯藏 26日째에 나타난 것으로는 分子量 107,000 및 173,000의 各 subunit를 들 수 있었다. 한편, 貯藏中에 消滅한 subunit에는 貯藏 21日째에 分子量 22,000, 140,000 및 165,000의 subunit와 貯藏 26日째에 分子量 19,000의 subunit를 들 수 있었다. 部分凍結 貯藏中에 일어난 이 같은 筋原纖維 蛋白質의 subunit 組成의 變化는 筋形質 蛋白質에서와 마찬가지로 筋原纖維 蛋白質을 이루는 subunit의 部分的인 分解에 의한 것임을 알 수 있다.

低溫貯藏中의 筋形質 蛋白質과 筋原纖維 蛋白質의 構成 subunit의 이와 같은 變化는 방어肉으로 實驗한 前報<sup>10)</sup>에서도 報告된바 있지만, 本 實驗에서 나타난 보리새우의 境遇가 그 變動이 큰 편이었다.

#### 4. 蛋白質 構成아미노酸과 遊離아미노酸의 組成 變化

部分凍結狀態에서 貯藏中 經過日數에 따른 鮮度變化 段階別로 肉의 蛋白質 構成아미노酸과 遊離아미노酸의 組成 變化를 나타내면 Table 7 및 Table 8과 같다.

먼저, 보리새우의 蛋白質 構成아미노酸의 組成 變化를 보면 (Table 7), 即殺한 보리새우의 蛋白質 構成아미노酸의 組成에 있어서는 alanine, arginine,

Table 7. Changes of amino acid composition of protein free from fat and non-proteinous N-compounds in the partially frozen prawn muscle by freshness during storage at  $-3^{\circ}\text{C}$

(g/100g-wet muscle)

Amino acid	Days of storage		
	at-death	21	26
Essential amino acid			
Ileu	0.565	0.485	0.488
Leu	1.104	0.973	0.983
Lys	2.096	1.772	1.814
Aromatic amino acid			
Phe	(0.464)	(0.413)	(0.417)
Tyr	(0.366)	(0.318)	(0.323)
Sulfur-containing amino acid			
1/2 Cys	(0.200)	(0.175)	(0.186)
Met	(0.359)	(0.313)	(0.331)
Thr	0.628	0.548	0.541
Trp	0.105	0.093	0.075
Val	0.659	0.566	0.616
Nonessential amino acid			
Arg	2.266	1.941	1.856
Gly	0.925	0.847	0.814
Asp	1.413	1.228	1.259
Ser	0.745	0.654	0.663
His	0.751	0.634	0.668
Ala	2.266	1.941	1.856
Glu	1.944	1.709	1.726
Pro	0.156	0.406	—
Total	17.372	15.016	14.616
Nitrogen content of the protein sample* <sup>1</sup>	15.07	14.94	14.46
Recovery* <sup>2</sup>	102.92	100.33	100.97

\*<sup>1</sup>: Nitrogen content of the protein samples subjected to the analysis of amino acid composition

\*<sup>2</sup>: N amount from the total amino acids to the nitrogen content of the protein samples was indicated as recovery



**Table 8. Changes in free amino acid composition of the alcohol extracts from the partially frozen prawn muscle by freshness during storage at  $-3^{\circ}\text{C}$  (mg/100g-wet muscle)**

Free amino acid	Days of storage		
	at-death	21	26
Lys	5.45	28.97	33.43
His	3.06	16.31	15.20
Arg	279.48	291.95	261.95
Tau	110.37	207.53	201.51
Asp	9.25	17.20	15.87
Thr	20.24	40.61	35.46
Ser	11.32	33.77	37.06
Glu	52.13	78.34	76.74
Pro	757.24	472.42	499.26
Gly	866.96	839.84	768.89
Ala	226.28	269.69	230.38
Cys	7.60	12.73	11.82
Val	13.30	40.87	42.97
Met	10.90	23.66	29.04
Ileu	6.44	24.81	27.35
Leu	10.99	40.04	43.64
Tyr	3.72	5.56	8.10
Phe	7.02	32.55	36.13
NH <sub>3</sub>	8.18	9.91	11.06
Total	2409.91	2486.76	2385.86

lysine, glutamic acid, aspartic acid, leucine 이 다른 아미노산에 비하여 두드러지게 많은 것이特徵이었으며, 總構成아미노산의 約 64%에 達하였다. 특히 적은 아미노산은 tryptophane과 proline을 들 수 있으며, 이 점은 방어의 普通肉과 血合肉의 蛋白質의 構成아미노산의 組成<sup>10)</sup>과 말뚝치의 背肉骨格筋의 蛋白質의 構成아미노산의 組成<sup>17)</sup>에서도 비슷한 結果를 보여 海産 魚類나 甲殼類는 tryptophane과 proline이 不足한 共通點이 있는 것으로 判斷되었다. 部分凍結條件에서 貯藏하여 21日和 26日째, 곧 鮮度狀態로서 總揮發性 鹽基窒素量 13.33 mg%, K-값으로 28.91%(이같은 狀態는 鮮度로서는 比較的 新鮮한 狀態로 評價됨) 일 때와 總揮發性 鹽基窒素量 25.29 mg%, K-값으로 31.36%(이같은 鮮度狀態는 腐敗初期에 移行하는 段階로서 可食限界에 가까운 狀態임) 일 때의 蛋白質만을 分離하여 構成아미노산의 組成을 分析하여 본 結果 各 아미노산이 共히 鮮度の 惡化와 더불어 漸減하는 傾向을 보였으며, 이 때의 減少하는 比率는 大略 部分凍結 中の 蛋白態窒素의 減少比率와 比例하는 關係를 나타내었다.

遊離아미노산의 組成의 變化를 보면 (Table 8), 即 殺한 보리새우肉 中에는 遊離아미노산으로서 glycine, proline, arginine, alanine 및 taurine, 이 특히 많이 含有되어 있었으며, 이들 5種의 아미노산이 全體 18種의 遊離아미노산의 約 93%를 占하였다.

이 結果는 흰새우(Penaeus setiferus)의 肉中에 含有되어 있는 遊離아미노산의 組成을 分析한 結果 arginine, taurine, proline 및 glycine 이 全體 遊離아미노산의 93%에 達하였다는 Cobb III 등의 報告<sup>29)</sup>와 비슷한 結果였으나 흰새우에는 glycine이 全體 遊離아미노산의 約 67%를 占한데 比하면 보리새우에 있어서는 glycine이 가장 많은 遊離아미노산이기는 하나, 全體 遊離아미노산의 約 36%를 차지하고 있는 差異를 보였다.

그리고 部分凍結 貯藏 中 鮮度變化와 더불어 proline이 大幅 減少한 것을 除外하면, taurine, valine, leucine, phenylalanine, serine, lysine, methionine, isoleucine, histidine 등이 2倍以上으로 大幅 增加한 것을 律頭로 하여 大部分이 상당한 증가량을 나타내었다. Cobb III 등은 흰새우를 氷藏하였을 때 肉中의 遊離아미노산의 變化를 分析한 結果, taurine, aspartic acid, serine, glutamine, asparagine 및 glycine을 除外한 大部分이 遊離아미노산이 有意의으로 增加하였으나 arginine과 proline은 減少한다고 하여 보리새우의 部分凍結 貯藏中の 遊離아미노산의 組成 變化와는 많은 差異를 보였다. 이 結果에 비추어 貯藏溫度條件은 遊離아미노산의 組成에 많은 影響을 끼친다는 것을 알 수 있다.

## 要 約

部分凍結狀態下의 鮮度 變化와 肉蛋白質의 組成變化와 關係를 究明하기 위하여, 보리새우를 試料로 하여 部分凍結 條件( $-3^{\circ}\text{C}$ )에 貯藏하여 두고 貯藏 日數의 經過와 더불어 鮮度 變化의 段階別로 肉의 蛋白質의 組成, 蛋白質 構成아미노산 및 遊離아미노산의 組成 등의 變化를 比較, 分析하였다.

그리고, 蛋白質의 組成 變化는 이를 嚴密히 檢討하기 위하여, 肉에서 筋形質 蛋白質과 筋原纖維 蛋白質을 各各 抽出하고 鮮度變化에 따른 各 蛋白質의 構成 subunit의 變化를 SDS-PAG 電氣泳動分析에 의하여 檢討하였으며, 한편, 筋原纖維 蛋白質에 대하여는  $-3^{\circ}\text{C}$ 와  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 貯藏하면서 Ca-ATPase 活性度の 變化를 測定하여 變性的 速度定數( $K_D$ )도

求하였다.

브리새우의 肉중에는 約23%의 粗蛋白質을 含有하고 있었으며, 蛋白質組成을 分析한 結果, 筋形質蛋白質 31.45%, 筋原纖維蛋白質 5.04%, 細胞內殘渣蛋白質 10.30%, 그리고 基質蛋白質 2.17%로 이루어져 있었다.

部分凍結貯藏中의 鮮度變化를 鮮度變化指標인 K-값, 總揮發性鹽基窒素量 및 pH의 變化로서 測定한 結果, 貯藏 26日째에 腐敗初期에 接近하는 總揮發性鹽基窒素量 25.29 mg%, K-값 31.36%, pH 8.83에 到達하였다.

部分凍結貯藏中에는 貯藏期間의 經過와 더불어 筋原纖維蛋白質은 顯著한 減少를 보였으며 基質蛋白質은 조금씩 減少하였다. 그러나 細胞內殘渣蛋白質은 많은 增加를 보였고 筋形質蛋白質도 조금 增加하였다.

別途로 筋原纖維蛋白質의 一部를  $-3^{\circ}\text{C}$ 와  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 두고 Ca-ATPase 活性度의 變化를 測定하여 變性速度定數를 求하였더니  $-3^{\circ}\text{C}$ 에서는  $K_D=9.03 \times 10^{-6}\text{sec}^{-1}$ , 그리고  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서는  $K_D=4.42 \times 10^{-6}\text{sec}^{-1}$ 을 보여  $-20^{\circ}\text{C}$  일때가 훨씬 安定하였다.

筋形質蛋白質과 筋原纖維蛋白質의 構成 subunit의 變化를 SDS-PAG 電氣泳動法으로 分析한 結果, 筋形質蛋白質은 即殺했을때 12個의 subunit 이던 것이 腐敗初期에 가까운 狀態를 보인 26日째에는 8個 subunit 만이 남았고, 筋原纖維蛋白質에 있어서는 即殺했을 때 17個 subunit 이던 것이 26日이 經過했을 때는 22個 subunit 로 增加하였다. 筋原纖維蛋白質 構成 subunit 中에서 貯藏中에 새로히 出現한 subunit 는 30,000, 41,000, 107,000, 136,000, 170,000, 173,000, 185,000 및 198,000 dalton의 各 subunit 이었으며, 消滅한 subunit 는 19,000, 22,000, 140,000 및 165,000 dalton의 各 subunit 였다.

部分凍結貯藏中 蛋白質을 構成하는 아미노酸의 組成 變化를 分析한 結果, 大部分의 아미노酸은 時日의 經過와 더불어 一律적으로 조금씩 減少하는 傾向이었다.

그러나 遊離아미노酸의 組成 變化에 있어서는 即殺한 브리새우肉 中에는 glycine, proline, arginine, alanine 및 taurine 등 5種의 아미노酸이 總遊離아미노酸의 93%를 차지하였다. 貯藏中에는 taurine, valine, leucine, phenylalanine, serine, lysine, methionine, isoleucine, histidine 등이 2倍 以上

增加하였으나 proline 만은 대폭 감소한 것이 特徵이었다.

## 文 獻

1. Tomlinson, N., S. E. Geiger, W. W. Kay, J. Uthe and S. W. Roach. 1965. Partial freezing as a mean of preserving pacific salmon intended for canning. J. Fish. Res. Bd. Canada 22, 955-968.
2. 内山均·江平重男·内山つね子· 1978. Partial freezing による養殖コイ의 鮮度保持. 東海水研報. 94, 105-118.
3. Miguel, A. P., K. Kakuda and H. Uchiyama. 1982. Partial freezing as a mean of keeping freshness of fish. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 106, 11-25.
4. 内山均·江平重男·内山つね子·増澤一. 1978. partial freezing によるニジマス의 鮮度保持. 東海水研報. 95, 1-14.
5. Kobayashi, H. and H. Uchiyama. 1970. Simple and rapid method for estimating the freshness of fish. Bull. Tokai Reg. Res. Lab. 61, 21-26.
6. 日本厚生省. 1960. 食品衛生檢査指針 I, 13-16. 東京, 日本
7. 加藤登·内山均·塚本志朗·新井健一. 1977, 魚類筋原纖維 ATPase의 生化學的 研究, 日水誌 43, 857-867.
8. 内山均, 加藤登, 工藤雄司, 新井健一. 1978. 魚類筋原纖維의 生化學的 研究. 各種魚類筋原纖維  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase의 溫度安定性の比較. 日水誌 44, 491-498.
9. 齋藤恒行, 内山均, 梅本滋, 河端俊治. 1974. 水産生物化學 食品學 實驗書. 194-198. 恒産社 厚生閣, 東京.
10. 金章亮·崔暎準·卞在亨. 1982. 방어 普通肉과 血合肉의 蛋白質 및 아미노酸組成의 死後變化, 韓水誌 15, 132-136.
11. Weber, K. and M. Osborn. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem. 244, 4406-4412.
12. Spies, J. R. and D. C. Chamber. 1948.

- Chemical determination of tryptophane. *Anal. Chem.* 20, 30-39.
13. Pieniazek, D., Z. Grabarek and M. Rakowska. 1975. Quantitative determination of the content of available methionine and cysteine in food proteins. *Nutr. Metabol.* 18, 16-22.
  14. Flores, S. C. and D. L. Crawford 1973. Postmortem quality changes in iced pacific shrimp. *J. Food Sci.* 38, 575-579.
  15. Cobb III, B. F., I. Alaniz. and C. A. Thompson. 1973. Biochemical and microbial studies on shrimp: Volatile nitrogen and amino nitrogen analysis. *J. Food Sci.* 38, 431-435.
  16. Cheuk, W., Finne and R. Nichelson II. 1979. Stability of adenosine deaminase and adenosine monophosphate deaminase during ice storage of pink and brown shrimp from the gulf of Mexico. *J. Food Sci.* 44, 1625-1628.
  17. 卞在亨・南澤正, 1981. 말쥐치 肉의 死後經過에 따른 蛋白質組成의 變化, 韓水誌 14, 15-23.
  18. 石田 浩平・今野 久仁彦, 1982. スルメイカ外套膜筋の活性トロポミオシンおよびトロポニンの特徴的性質, 日水誌 848, 43-849.
  19. 西田 清義・武田 恭治・新井 健一, 1981, 南極産オキアミアクトミオシンの生化学的性質 日水誌 47, 1237-1244.
  20. Porzio, M. A. and A. M. Pearson. 1977. Improved resolution of myofibrillar proteins with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, *Biochimica et Biophysica Acta* 490, 27-34.
  21. Reddy, M. K., J. D. Etlinger, M. Rabinowitz, D. A. Fischman and R. Zak. 1975. Removal of Z-lines and  $\alpha$ -actinin from isolated myofibrils by a calcium-activated neutral proteases. *J. Bio. Chem.* 250, 4278-4284.
  22. Samejima, K. and F. H. Wolfe. 1976. Degradation of myofibrillar protein components during postmortem aging of chicken muscle. *J. Food Sci.* 41, 250-254.
  23. 關 伸夫, 1977. 魚肉タンパク質, 水産學シリーズ 20, 7-23, 恒星社厚生閣, 日本.
  24. 關 伸夫・今野 久仁彦, 1975, コイのトロポミオンについて, 日水誌 41, 1135-1141.
  25. Spudich, J. A. and S. Watt. 1971. The regulation of rabbit muscle contraction. *J. Bio. Chem.* 246, 4866-4871.
  26. 高士 令二・室塚 剛志・新井 健一. 1974. コイおよびティラピア背筋ミオシンとウサギ骨格筋ミオシンの light chain 日水誌 40, 1063-1069.
  27. Watabe, S., Y. Ochiai, and K. Hashimoto. 1982. Identification of 5,5'-dithio-bis-nitrobenzoic acid (DTNB) and alkali light chains of piscine myosin. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 48, 827-832.
  28. Watabe, S., Y. Itoh and K. Hashimoto. 1983. Isolation and characterization of actin from mackerel dark muscle. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 49, 491-497.
  29. Cobb III, B. F., C. Vanderzant, and K. Hyder. 1974. Effect of ice storage upon the free amino acid contents of tails of white shrimp (*Penaeus setiferus*). *J. Agr. Food Chem.* 22, 1052-1055.