

凍結乾燥 魚肉의 蛋白質 Cross-linking에 관한 研究

李康鎬 · 丁宇鎭 · 徐載壽 · 鄭寅鶴 · 金忠坤
釜山水產大學 食品工學科
(1986년 1월 15일 수리)

Protein Cross-linking in Freeze Dried Fish Meat

Kang-Ho LEE, Woo-Jin JUNG, Jae-Soo SUH, In-Hak JEONG and Chung-Gon KIM
Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan
Nam-gu, Pusan 608, Korea
(Received January 15, 1986)

This study was carried out in order to investigate protein cross-linking in freeze-dried meat of flounder (*Limanda herzensteini*). Changes in solubility or extractability of proteins and electrophoretic patterns of the extracted proteins were determined to monitor the cross-linking during the storage of freeze-dried meat. Development of nonenzymatic browning and the loss of *in vitro* protein digestibility were also measured to assess their influences on the changes of functional and nutritional properties of proteins. In addition, the effects of lysine added, and removal of fat and water extractives were also mentioned.

The extractability of protein decreased upon storage time and temperature, and the loss of solubility of myosin was evident. In case of the samples stored at 5°C for 150 days, the extractability of protein decreased 26.4%, while that of the samples stored at 20°C for 60 days decreased about 39.7%. And it was noted that the loss of solubility of myosin was 68.3% and 98.1% for the same storage conditions, respectively.

It was noteworthy that the samples treated with L-lysine·HCl seemed to prevent more or less the loss of protein solubility, in that, even stored at 20°C for 120 days, revealed only 57.03% decrease.

The nonenzymatic browning was proceeded with the increase of storage temperature, especially, in the samples treated with glucose. This suggests that the decrease in extractability of myosin was accompanied by the extent of browning.

But the browning was retarded in defatted samples. The *in vitro* apparent protein digestibility was also higher in the samples defatted or water extracted. It was suggested from these results that changes in properties of proteins in freeze dried fish meat were led by the protein cross-linking which was attributed to Maillard type of reactions and protein-lipid interactions.

緒 論

肉類는 乾燥함으로써 texture의 變化를 가져온다. 高溫의 熱風乾燥에서는 脫水와 함께 筋肉纖維가 收縮되고 鹽類의 濃縮으로 인하여 蛋白質의 變性이 促進된다. (Wang et al., 1953) 그러나 凍結乾燥肉에 있

어서는 肉蛋白質의 變性은 피할 수 있으나 texture의 變化는 계속 일어난다(Connell, 1962).

이러한 texture의 變化는 凍結乾燥肉을 加熱 또는 貯藏할때 더욱 促進되며, 肉構成 蛋白質의 抽出率도 減少한다. 이는 筋原纖維蛋白質인 myosin이 인접한 蛋白質 分子間에 cross-linking을 形成함에 起因하고,

※ 본 연구는 한국과학재단의 1985년도 연구비로 수행 되었음을 밝히며, 연구를 지원하여 주신 재단에 대하여 깊이 감사하는 바입니다.

結果的으로는 乾燥중에 일어나는 溶解度の 低下, 組織의 硬化 및 復元性的 低下 등의 原因이 된다(Connell, 1962; Mackenzie and Luyet, 1967).

한편, Regier와 Tappel(1956)이指摘한 바와 같이 amino-carbonyl 反應에 의한 非酵素的 褐變이 乾燥肉의 品質劣化의 가장 중요한 要因이며, 乾燥肉에 일어나는 蛋白質 cross-linking의 주된 要因이 된다.

본 연구에서는 凍結乾燥魚肉중에 일어나는 蛋白質의 變化를 測定하는 동시에 非酵素的 褐變反應과의 關係를 考察하였다.

최근 著者들(Lee et al., 1982; 1984a; 1984b)의 연구에 의하면 褐變反應은 魚肉의 trypsin 活性 阻害作用과도 關係하며, 消化率의 低下 등 魚肉의 營養學的 品質低下 要因으로 注目되어 消化率과 蛋白質 cross-linking 과의 關係를 살펴보고자 하였다.

또한 魚肉에 L-lysine·HCl 및 glucose를 添加하거나 可溶性蛋白質 및 脂肪을 제거하였을 때 이들 처리가 蛋白質의 變化에 미치는 影響을 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 材 料

1985년 6월 14일 釜山共同魚市場에서 購入한 참가자미(*Limanda herzensteini*, 體長 30 ± 5 cm, 體重 215 ± 15 g)를 水凍하여 운반해서 다음과 같이 처리하여 試料로 使用하였다.

2. 材料의 處理 및 貯藏

(1) 試料의 調製

凍結乾燥 試料의 調製: 白色肉魚類인 가자미를 凍結庫에서 -30°C 로 急速 凍結한 後 凍結乾燥器(Virtis Beckmen 製, 絶對壓力 $0.1 \sim 0.02$ Torr, 环境温度 35°C)에서 乾燥하였다.

脫脂試料: 脂肪의 影響을 檢討하기 위한 對照試料로서 凍結乾燥 魚肉量의 約 100배(V/W)量의 CHCl_3 / MeOH(2:1)溶液에서 하룻밤동안 脂肪을 抽出하여 상정액은 버리고 殘留溶媒를 蒸發 除去하여 다시 凍結乾燥하였다.

Lysine 添加試料: 乾燥粉末試料에 約 10배(V/W)量의 1.0M L-lysine·HCl 溶液을 吸收시키고(4°C , 24時間), 過剩의 溶液을 除去하여 다시 凍結乾燥하였다.

可溶成分의 除去 및 glucose 添加試料: 對照質

驗을 위하여 물로써 6회에 걸쳐서 肉중의 Ex-成分을 抽出하고, 또 다른 實驗을 위하여 1M glucose 溶液으로 處理하여 凍結乾燥하였다.

(2) 試料의 貯藏

乾燥된 試料를 粉末化하여 polyethylene film 에 약 5g씩 眞空包裝한 다음 각 試料를 5°C , 20°C , 50°C 에貯藏하였다.

3. 實驗方法

(1) 一般成分

水分, 粗脂肪, 粗蛋白質, 灰分은 常法(AOAC, 1975)으로 測定 하였다.

(2) 揮發性 鹽基窒素(VBN)

VBN은 Conway unit 를 使用하는 微量擴散法(日本厚生省, 1960)으로 測定하였다.

(3) 蛋白質의 電氣泳動(SDS-PAGE)

Laemmli(1970)의 方法에 따라 7.5% polyacrylamide 로 tube gel($\phi 0.6 \times 8$ cm)을 만든다음 蛋白質 抽出液에 동량의 0.0625M Tris-HCl(pH 6.8), 3% SDS, 10% glycerol, 그리고 5% 2-mercaptoethanol 의 혼합 buffer 를 가하여 끓는 물에서 2分間 加熱하였다.

試料의 蛋白質 含量을 $50 \sim 100\ \mu\text{g}$ 되도록하여 2 mA/gel 에서 3時間 電氣泳動하였으며, 0.05% Coomassie brilliant blue R-250 溶液으로 染色한 後 물-ethanol-초산(6:3:1)溶液으로 脫色하여 7% 초산溶液에 보관하였다.

band 의 intensity 는 spectrometer-gel scanner 로 測定하였으며, myosin/actin 의 比는 적분계를 사용하여 계산하였다.

(4) 蛋白質의 抽出 및 定量

蛋白質의 抽出은, 20 mg 의 乾燥粉末試料를 4 ml 의 8 M guanidine·HCl-10 mM DTT 溶液으로 하룻밤동안 교반하여 Whatman No.4 濾過紙로 濾過하였으며, 蛋白質의 定量은 色素結合法(Bradford, M. M., 1976)을 利用하였다.

(5) 褐變度の 測定

褐變度の 測定은 Saltmarch(1979)의 酵素分解法으로 行하였다. 乾燥試料 0.5 g 과 50 ml 의 증류수를 삼각플라스크에 넣고 37°C 의 水槽에서 30분간 진탕 가열한 후 pH 8.0으로 조정하고, trypsin- α -chymotrypsin-peptidase 混合酵素溶液(pH 8.0) 1 ml 를 가

여 3간간동안 반응시킨 다음 50% TCA 용액으로 反應을 정지시킨 후 Whatman No. 5 濾過紙로 여과한 濾液의 흡광도를 420 nm 에서 測定하였다.

(6) 消化率의 測定

AOAC(1982)의 multienzyme 법으로 測定하였으며, 對照 蛋白質로서 ANRC-casein 을 사용하였다. 酵素는 α -chymotrypsin(51 units/mg solid, Sigma), trypsin(17,700 BAEE units, Sigma), peptidase(50 units/g solid, Sigma)와 protease(5.8 units/mg solid, Sigma)이며 消化率의 計算은 아래 方程式에 따랐다

$$\% \text{ digestibility} = 234.84 - 22.56(x)$$

x : 20분에서의 pH

結果 및 考察

1. 蛋白質의 電氣泳動(SDS-PAGE)

各各의 試料를 5°C의 低溫과 20°C의 常溫에 貯藏하면서 貯藏期間에 따른 蛋白質의 變化를 Laemmli 法 (1970)으로 측정한 電氣泳動 pattern 을 Fig.1에 나타내었다.

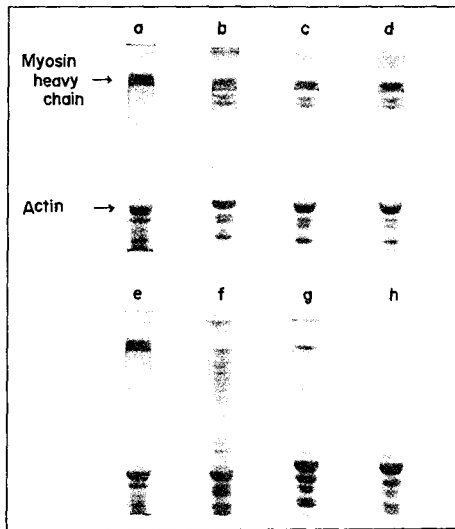


Fig.1. SDS-PAGE pattern of proteins extracted with 8 M guanidine-HCl-10 mM DTT solution from freeze-dried flounder meat. The samples a~d were stored at 5°C for 0, 30, 90, 150 days and those e~h were stored at 20°C for 0, 15, 30, 60 days.

그림에서 나타난 바와같이 5°C에 貯藏한 경우에는 150日 貯藏後에도 myosin heavy chain 이 나타났으나 貯藏期間에 따라 점차 減少된 것을 알 수 있으며, 20°C에 貯藏한 경우에는 더욱 急速히 減少하여 貯藏 60日 後에는 거의 消滅되었다. 이러한 結果는 貯藏 또는 가열에 의해 myosin heavy chain 이 점차 不溶化되어 全蛋白質의 抽出量을 減少시킨다(Kim et al., 1984)는 報告와 부합된다.

2. Myosin/Actin 의 比率 및 蛋白質 抽出率의 變化

Fig.2는 Fig.1의 gel a, b, c의 densitogramic scans 을 나타내었는데, 凍結乾燥肉을 貯藏하였을 때의 가장 현저한 變化는 myosin 추출율의 減少였다. 이 사

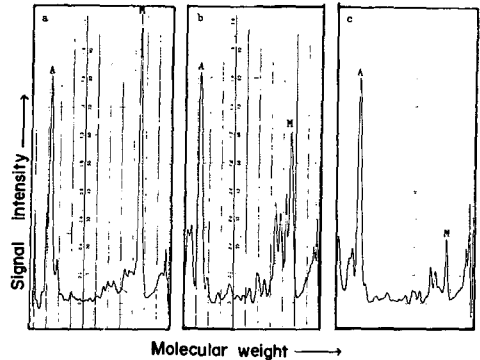


Fig.2. Densitograms of gels a, b, c from Fig.1. Peaks denoted by A and M represent actin and myosin heavy chain, respectively.

실은 추출된 actin의 양이 거의 일정했다는 結果로부터 명백했기 때문에 이 actin을 내부 基準物質로 이용하였으며, 各 試料들의 貯藏에 따른 myosin/actin의 比率 變化를 Fig.3과 Fig.4에 나타내었다. 처리하지 않은 試料의 경우는 5°C에서 150日間 貯藏한 後 68.3%, 20°C에서 60日間 貯藏 後에는 98.1%로 急速히 減少하였으나, lysine 添加試料는 5°C, 150日에 46.23%, 20°C, 120日에는 57.03%였으며, 脫脂 試料는 36.71%, 49.37%, 可溶成分을 除去한 試料의 경우는 각각 25.93%, 38.90%, 였다.

貯藏溫度 및 時間에 따른 全蛋白質의 抽出率은 Fig.5와 Fig.6에 나타내었는데, 처리하지 않은 試料의 경우 5°C 150日에 26.4%, 20°C, 60日에 39.7% 減少하였으며, lysine 添加試料는 5°C, 150日에 16.2

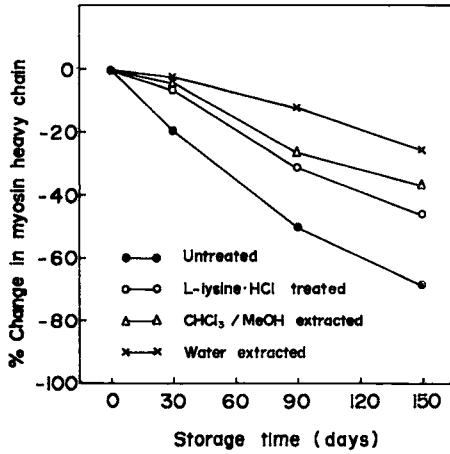


Fig. 3. Effects of each treatments on the amount of myosin heavy chain extracted with 8M guanidine · HCl-10 mM DTT solution from freeze-dried flounder meat stored at 5°C.

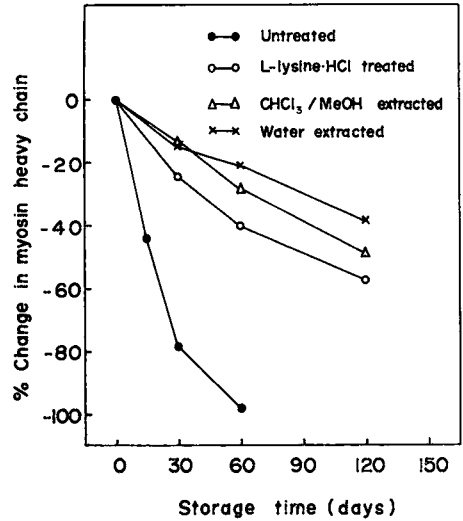


Fig. 4. Effects of each treatments on the amount of myosin heavy chain extracted with 8M guanidine · HCl-10 mM DTT solution from freeze-dried flounder meat stored at 20°C.

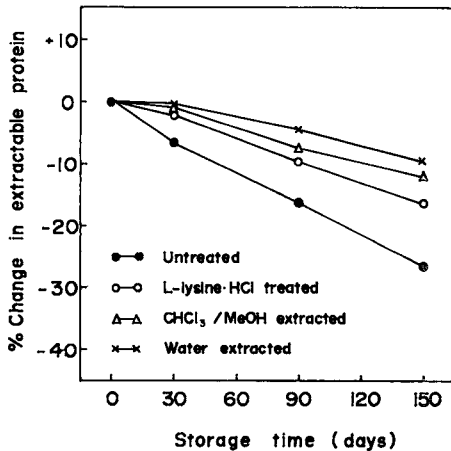


Fig. 5. Effects of each treatments on the amount of total protein extracted with 8M guanidine · HCl-10 mM DTT solution from freeze-dried meat stored at 5°C.

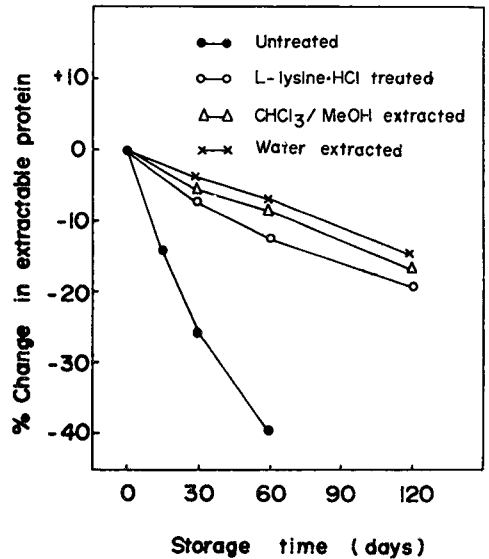


Fig. 6. Effects of each treatments on the amount of total protein extracted with 8M guanidine · HCl-10 mM DTT solution from freeze-dried meat stored at 20°C.

%, 20°C, 120日에는 19.1%減少하였다. 그리고 脱脂試料의 경우는 11.7%, 16.6%, 可溶成分을 除去

한 試料는 各各 9.4%, 14.7%가 減少하였다. 그런데, 筋肉蛋白質(sarcoplasmic, myofibrillar)의 約 33%가

myosin heavy chain 이므로 Fig. 4의 98.1% 감소는 全蛋白質 抽出量의 34%의 減少에 相當한다. 따라서 Fig. 5의 39.7% 減少는 다소 높은 값인데, 이것은 다른 여러가지 고분자 蛋白質의 不溶化에 기인하는 것으로 생각된다. 그러나 이 結果로부터 명백한 것은 抽出率의 減少와 함께 회합되는 主蛋白質은 myosin heavy chain 이라는 것과, 可溶成分을 제거한 試料과 脫脂試料의 경우 抽出率의 減少가 顯著히 지연되었다는 것이다.

3. Myosin cross-linking 에 미치는 脂質의 影響

脂肪의 影響을 檢討하기 위해서 $CHCl_3/MeOH(2:1)$ 溶液으로 脂肪을 抽出한 試料과 抽出하지 않은 試料을 20°C에서 60日間 貯藏한 後의 電氣泳動 pattern을 Fig. 7에 나타내었다. 그림에 나타난 바와

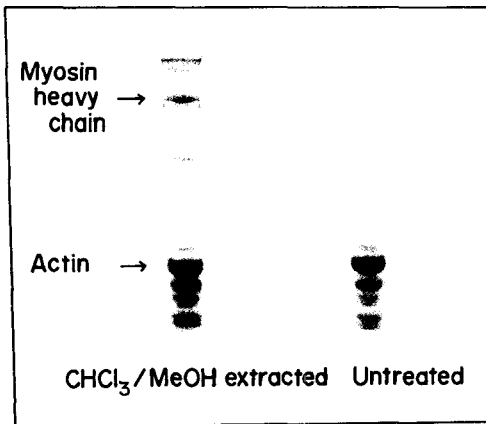


Fig. 7. SDS-PAGE pattern of proteins extracted with 8M guanidine·HCl-10 mM DTT solution from $CHCl_3/MeOH$ -extracted freeze-dried flounder meat stored at 20°C for 60 days.

같이 脂肪을 제거한 試料은 myosin heavy chain의 減少가 顯著히 억제되었다. 이 結果로 미루어 볼때, 脂質을 함유한 試料을 長期間 貯藏하면 脂質의 酸化가 일어나서 이 酸化脂質과 蛋白質과의 상호작용에 의하여 myosin의 cross-linking에 影響을 미치는 것으로 추정된다. 즉, 수용액상태에서와는 달리 乾燥食品에서는 공기와의 접촉이 커서 油脂의 산화속도가 빠르지만 蛋白質과 접촉이 이루어지면 遊離基補捉劑(radical scavenger) 또는 蛋白質疎水部位의 油脂가 micelle 상으로 흡착되어 酸化速度가 느려지

는데(Asakawa and Matsushita, 1978) 이렇게 서서히 산화된 油脂가 蛋白質의 손상을 초래하게 되어 손상된 蛋白質의 일부가 重合하는 현상에 기인하는 것으로 생각된다.(Roulal, 1969; Karel et al., 1973).

4. Myosin cross-linking 에 미치는 可溶成分의 影響

可溶成分의 影響을 檢討하기 위하여 물로서 可溶成分을 제거한 試料과 제거하지 않은 試料을 20°C에서 60日間 貯藏한 後의 전기 영동 pattern을 Fig. 8에 나타내었다. 그림에서 알 수 있듯이 가용성분을 除去한 試料은 myosin heavy chain의 상당량이 잔존했다. 이 結果로부터 肉中の 水溶性區의 분자성분이 myosin heavy chain의 cross-linking에 linker로서 作用한다는 것을 추정할 수 있었다.

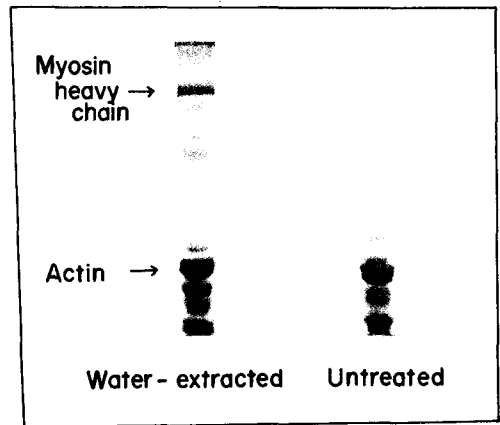


Fig. 8. SDS-PAGE pattern of proteins extracted with 8M guanidine·HCl-10 mM DTT solution from water-extracted freeze-dried flounder meat stored at 20°C for 60 days.

5. 褐變度

Kim 등 (1984)은 myosin heavy chain 中の ϵ -amino기가 myosin의 cross-linking에 관여한다고 하였다. 이 사실을 알아 볼과 아울러 myosin cross-linking과의 關係를 알아보기 위해 褐變度를 측정한 結果를 Fig. 9 및 Fig. 10에 나타내었다.

처리하지 않은 試料의 경우 5°C 150일에 0.059, 20°C, 150일에 0.111이었으나 lysine 添加試料은 0.051, 0.079, 脫脂試料은 0.039, 0.058, 可溶成分을 제거한 試料은 各各 0.035, 0.048로서 溫度의 影

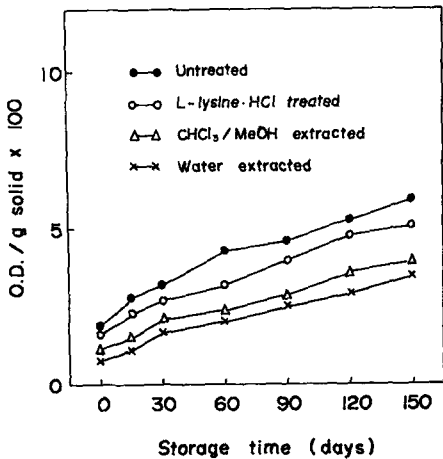


Fig. 9. Effects of each treatments on the nonenzymatic brown pigments of freeze-dried flounder meat stored at 5°C.

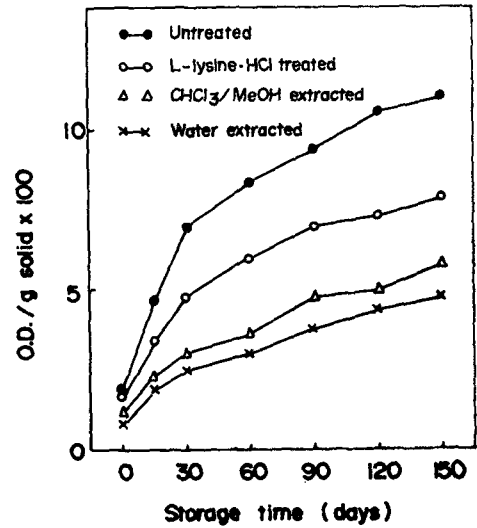


Fig. 10. Effects of each treatments on the nonenzymatic brown pigments of freeze-dried flounder meat stored at 20°C.

響이 顯著한 것은 물론, 各 試料들 간의 顯著한 차이는 電氣泳動上的 結果 및 蛋白質 抽出率 측정 結果와의 關係를 확인할 수 있었다. 可溶性區를 제거한 試料의 경우 褐變이 가장 적게 진행된 것은 Ex-성분중의 遊離 蛋白質素 성분이 褐變反應에 關여한다(Fujimoto, 1968)는 報告와, 魚類 乾製品의 褐變은 Ex-성분에 의한 영향이 크다는 보고(Lee 등, 1982; Suyama 등, 1970)에 부합된다. 그리고 脂質을 제거한 試料의 경우는 全술한 바와같이 脂質과 蛋白質간의 상호반응에 의한 褐變이 억제되었기 때문이며, lysine 添加試料는 蛋白質중의 ε-amino 기를 미리 봉쇄함으로써 Maillard 반응이 억제되었기 때문인 것으로 생각된다.

이와같은 褐變反應과 myosin cross-linking 과의 關係를 조사하기 위하여 可溶成分을 제거한 試料와 이 試料에 glucose 를 添加한 試料를 20°C 와 50°C 에서 9日間 貯藏한 結果를 Fig. 11에 나타내었다. glucose 를 添加하지 않은 試料 및 glucose 를 添加하여 20°C 에 貯藏한 試料는 褐變反應이 거의 진행되지 않았으나 glucose 를 添加하여 50°C 에 저장한 試料에서는 급격히 진행되었다.

Matsuda(1979) 등은 眞空凍結乾燥한 魚肉에 대한, 各種 糖의 影響을 조사해 본 結果, sucrose 와 같은 非還元糖은 별 影響이 없었으나 glucose 와 같은 還元糖은 그 影響이 매우 컸다고 보고하였다.

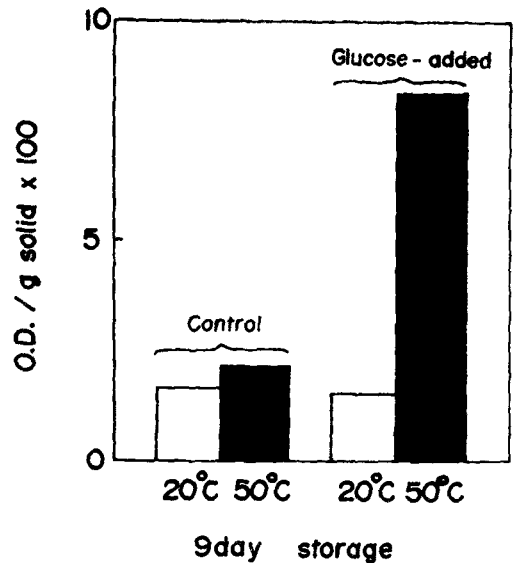


Fig. 11. Effect of added glucose on the browning of water-extracted, freeze-dried meat.

이러한 結果는 蛋白質 분자내의 ε-amino 기가 myosin cross-linking 에 關여하며, 全술한 lysine 添加試料는 還元糖과의 반응에 있어서 lysine 의 amino 기가 myosin heavy chain 의 ε-amino 기와 경쟁을 함으로써 myosin heavy chain 의 cross-linking 을 抑制한다는 것을 명백히 나타내어 준다.

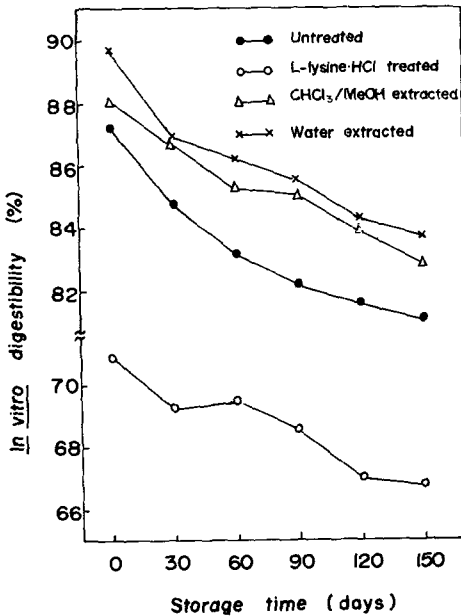


Fig. 12. Effects of each treatments on the *in vitro* digestibility of freeze-dried flounder meat stored at 5°C.

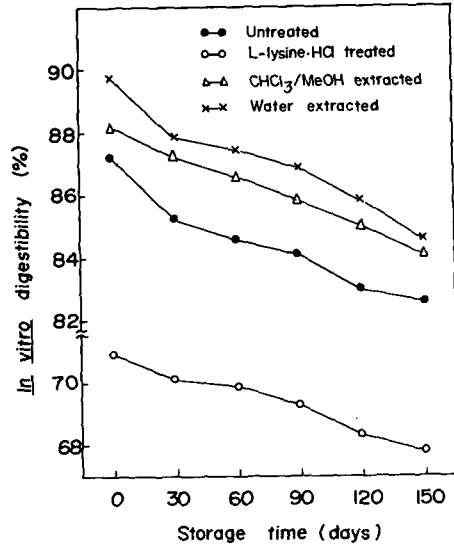


Fig. 13. Effects of each treatments on the *in vitro* digestibility of freeze-dried flounder meat stored at 20°C.

Reiger 등 (1956)은 凍結乾燥肉의 貯藏중에는 amino-carbonyl 형 갈변이 주된 變敗反應이라고 지적하였으며, 本實驗에서도 역시 褐變反應이 蛋白質 抽出率 減少의 주된 原因인 동시에 myosin heavy chain 분자의 cross-linking에 주된 인자로 작용한다는 것을 추정할 수 있었다.

6. 消化率

蛋白質食品은 가공 저장중 酸化脂質과의 反應등으로 인해 蛋白質의 양적 損失을 가져오며(Roubal, 1969; Tannenbaum, 1969), 非酵素的 褐變, 脂質-蛋白質 複合體의 형성으로 바람직하지 못한 상태로 되는데(Matsushita, 1975; Arai, 1980; Karel 등, 1975) 특히 乾製品은 乾燥過程에서 소화에 불리한 여러가지 반응을 일으킨다.

本實驗에서는 진출한 試料들을 各各의 溫度에 貯藏했을 경우의 消化率을 측정하였다(Fig. 12~13)

처리하지 않은 試料를 20°C에서 150日間 貯藏했을 경우는 81.08%였으나, 可溶性區를 제거한 試料에서는 83.71%로 消化率의 減少가 적었다. 이것은 Ex-성분중의 遊離窒素 및 非蛋白質 성분이 관련하기 때문이

며, 脱脂試料의 경우는, 다량의 脂質을 함유하는 試料는 효소로 소화시킬 때 消化率이 減少되며, 어육내의 脂質은 indigestible protein을 增加시켜 消化率이 低下된다는 報告(Almquist, 1956)와 유사한 結果였다. 그런데 lysine 添加試料의 경우는 貯藏初期부터 아주 낮은 값을 나타내었다. 이것은 脂質 酸化로 인한 산화지방산이 강한 활성의 ε-amino 기를 가지는 lysine의 不溶化現象을 유발시켜 全蛋白質의 消化率이 減少된 것으로 추정되며, 특히 添加한 L-lysine·HCl 자체의 pH가 아주 낮은데다가 이것을 pH 8.0으로 대폭 再 상승시켜 다시 pH 하강 정도를 측정했기 때문으로 생각되는데, 이러한 점도 효소를 이용한 *in vitro* digestibility 측정법의 큰 난점중의 하나로 생각된다.

結論 및 要約

凍結乾燥魚肉의 貯藏에 따른 蛋白質의 變化를 밝히는 동시에 非酵素的 褐變反應과의 關係 및 消化率과 褐變反應과의 關係를 考察하기 위하여 처리조건, 貯藏溫度를 달리했을 때의 電氣泳動 pattern과 褐變

度 및 消化率등의 變化를 實驗한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 각 試料를 5°C에서 貯藏하면서 蛋白質의 電氣泳動 pattern을 측정한 結果 可溶成分 제거 試料, 脱脂 試料, lysine 添加 試料의 순으로 myosin heavy chain의 減少가 억제됨을 보였고, 溫度의 影響도 커서 高溫에서 貯藏할수록 減少速度가 컸다.

2. 貯藏에 따른 myosin/actin 比率의 減少는 電氣泳動上的 結果와 같은 順으로 나타났으며, 이 측정치에 거의 비례적으로 蛋白質의 抽出率도 減少하였다.

3. 褐變度の 진행은 溫度에 따라 그 影響이 매우 컸으며, glucose 添加 試料는 急速한 褐變의 진행을 보였고 褐變의 진행에 따라 myosin heavy chain의 減少가 顯著함을 확인하였다.

4. 消化率도 역시 可溶成分除去 試料와 脱脂 試料에서 높게 나타났고, lysine 添加시는 아주 낮은 消化率을 나타내었다.

이상의 結果로 알 수 있듯이 凍結乾燥魚肉을 장시간 貯藏한 경우 貯藏時間에 따라 蛋白質의 溶解度 減少와 더불어 cross-linking에 의한 myosin heavy chain의 減少가 顯著하였으며, 이와같은 變化는 肉中の 脂質에 의한 상호반응과 Ex 성분에 의한 褐變反應의 조합에 影響을 받는 것으로 생각되었다.

文 獻

- Almquist, H. L. 1956. Changes in fat extractibility and protein digestibility in fish meal during storage. *J. Agric. Food Chem.* 4, 638-639.
- AOAC. 1975. "Official Methods of Analysis," 12th ed., Association of Official Chemists, Washington, D. C.
- AOAC. 1982. Calculated protein efficiency ratio(C-PER and DC-PER). Official first action. *J. of AOAC.* 65, 496-499.
- Arai, S. 1980. Deterioration of food proteins by binding unwanted compounds such as flavors, lipids and pigments. in "Chemical Deterioration of Proteins," (ed.) J. R. Whitaker and M. Fujimaki, ACS Sym. 123, 202-208.
- Asakawa, T., and S. Matsushita. 1978. Changes of lipids and proteins in dried foods during storage. *J. Japan. Soc. Nutr. Food Sci.* 31 (6), 557-564.
- Bardford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram-quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-251.
- Connell, J. J. 1962. The effects of freeze-drying and subsequent storage on the proteins of fresh foods. In "Freeze-Drying of Foods," p. 50. National Research Council, Washington, D. C.
- Fujimoto, K., M. Maruyama, and T. Kaneda. 1968. Studies on the brown discoloration of fish products-I. Factors affecting the discoloration. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 34(6), 519-523.
- 藤野安彦. 1978. 脂質分析法入門, 學會出版 센터 155-156.
- Karel, M. 1973. Symposium. Protein interactions in biosystems. Protein-lipid interactions. *J. Food Sci.* 38, 756-763.
- Leamml, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-683.
- Lee, K. H., D. S. Song, B. J. You and M. N. Kim. 1982. Changes in available lysine and extractable nitrogen and extent of browning during the storage of dried fish meat. *Bull. Korean Fish. Soc.* 15(4), 271-282.
- Lee, K. H., W. S. Kim, and H. S. Ryu. 1984a. Distribution of trypsin indigestible substrate (TI) in seafoods and its changes during processing. 1. Distribution and post-mortem changes of TI in fish muscle. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 13(1), 33-41.
- Lee, K. H., J. H. Jo, and H. S. Ryu. 1984b. Distribution of trypsin indigestible substrate (TI) in seafoods and its changes during processing. 2. Changes in TI and *in vitro* apparent digestibility of boiled and dried anchovy during processing and storage. *Bull. Korean Fish. Soc.* 17(2), 101-108.
- Mackenzie, A. P. and B. J. Luyet. 1967. Freeze-drying and protein denaturation in muscle tissue; losses in protein solubility. *Nature.* 215, 83-88.
- Matsushita, S. 1975. Specific interaction of lino-

- leic acid hydroperoxides and their secondary degraded products with enzyme proteins. *J. Agric. Food Chem.* 23(2), 150—154.
- 日本厚生省編. 1960. 食品衛生検査指針 I, 揮發性鹽基窒素 p. 30—32.
- Regier, L. W. and A. L. Tappel. 1956. Freeze-dried meat. 3. Nonoxidative deterioration of freeze-dried beef. *Food Res.* 21, 630—634.
- Saltmarch, M. 1979. The influences of temperature, water activity and physico-chemical state of lactose on the kinetics Maillard reaction in spray dried sweet milk whey powder stored under steady and nonsteady storage conditions. Ph. D. Thesis Univ. Minnesota.
- Suyama, M., M. Maruyama, and S. Takeuchi, 1970. Chemical composition of the extracts of whole meat and its changes during condensation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 36(12), 1250—1254.
- Tannenbaum, S. R., H. Barth, and J. P. Le Roux. 1969. Loss of methionine in casein during storage with autoxidizing methyl linoleate. *J. Agric. Food Chem.* 17(6), 1353—1354.
- Wang, H., F. Andrews, E. Rasch, D. M. Doty and H. R. Kraybill. 1953. A histological and histochemical study of beef dehydration. *Food Res.* 18, 351—356.