

침탕방법을 달리한 오리근육의 Actomyosin의 추출성과 특성에 관한 연구

정인철[†] · 이형걸* · 문윤희

경성대학교 식품공학과
*경성대학교 식품개발학과

Studies on the Extractability and Characteristics of Actomyosin of Duck Muscle by Different Scalding Method

In-Chul Jung[†], Hyung-Gull Lee* and Yoon-Hee Moon

Dept. of Food Science and Technology, Kyongsung University, Pusan 608-736, Korea

*Dept. of Food Development and Technology, Graduate School of Industry, Kyongsung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract

Investigation on the characteristics of actomyosin was prepared from leg and breast muscle of duck treated by hard scalding and subscalding method and their extractability, ATPase activity, solubility and SDS polyacrylamide gel electrophoresis were compared. The extractability of actomyosin in leg and breast muscle of duck by hard scalding was 7.84 and 39.48mg/g, whereas 4.79 and 28.04mg/g by subscalding respectively. Ca-ATPase activity of breast muscle was higher than that of leg muscle. In case of leg muscle, hard scalding was higher than subscalding. Breast muscle showed that subscalding was higher than hard scalding in less than ionic strength 0.08, and was lower than hard scalding in over ionic strength 0.08. Mg-ATPase was great in ionic strength and subscalding was relatively higher than hard scalding. Without regard to be treated method and part, the start point and end point of solubility were like. Hard scalded muscle and breast muscle showed that proteins in thin filament produced many extraction.

Key words : subscalding, hard scalding, actomyosin extractability, solubility, ATPase activity

서 론

가금류의 근육을 얻기 위하여서는 도살 즉시 방혈시키고 털뽑기 공정 (picking process)을 거치게 되는데 방혈과 동시에 체온이 식기전에 그대로 마른 털을 손으로 뜯는 건조발우법 (dry picking)과 물에 담구어서 처리하는 침탕발우법 (wet picking)이 있다. 전자는 털뽑는 과정이 간단하며 털을 뽑은 후의 피부가 광택이

있고 신선미가 있으나 털을 뽑는 시간이 오래걸리고 잔손이 많이 들어서 주로 후자의 방법을 많이 이용하고 있다. 침탕발우법에는 70~85°C에서 약 5~10초 동안 처리하는 고온 침탕법 (hard scalding)과 60°C에서 50~60초 동안 처리하는 중온침탕법 (subscalding) 그리고 50~55°C에서 90~120초 동안 처리하는 저온침탕법 (semiscalding)이 있으나 주로 중온침탕법을 많이 사용하고 있다^{1,2)}. 그러나 농가에서는 고온침탕법을 이용하여 가금류를 처리하는 경우가 많으며 그것은 털 뽑기

[†]To whom all correspondence should be addressed

가 용이하고 외관상의 표피가 깨끗하게 보이기 때문으로 해석된다. 그런데 가금류를 처리할 때에 고온을 이용하는 것은 조직의 변화와 피부색의 변화를 야기시키므로 식육을 도살한 후에 어떠한 상태로 처리, 보관하느냐에 따라서 강직 및 해직정도가 달라지고 그 저장성과 기호성도 달라진다⁴⁻⁷⁾. 특히 식육의 질긴 정도를 좌우하는 actomyosin의 형성은 도살방법에 따라서 크게 차이를 갖게 한다. 이러한 관점에서 본 실험은 농가에서 오리를 도계할 때 이용하기 쉬운 고온침탕법으로 털뽑기를 하고 그 근육에서 actomyosin을 추출하여 몇 가지 특성을 중온침탕법으로 처리한 것과 비교, 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용된 시료는 생체중량 약 15Kg 정도의 오리를 절두법으로 도살하여 즉시 방혈하고 고온침탕법(80°C에서 10초)으로 침탕하여 털을 제거하였으며 다리와 가슴근육을 분리하여 지방과 결체조직을 제거하고 20시간 경과 후 시료로 하였다. 대조군은 중온침탕법(60°C에서 60초)으로 처리한 것을 이용하였다.

Actomyosin의 추출 및 ATPase 활성의 측정

지방과 결체조직을 제거하여 chopping한 시료를 Szent-Györgyi법⁸⁾을 약간 수정하여 추출하였는데 그 과정은 Fig. 1과 같다.

추출하여 얻어진 actomyosin은 micro-kjeldahl법을 표준화한 biuret 방법을 이용하여 550nm에서 단백질 농도를 측정하였다.

ATPase 활성은 1mg/ml의 actomyosin, 8mM MgCl₂, 8mM CaCl₂, 8mM ATP, 0.2M Tris-HCl buffer (pH 8.0)의 혼합액을 30°C water bath에서 5분간 반응시켰으며 반응은 최종농도 4% TCA를 첨가하여 ice bath 상에서 정지시켰다. ATPase 활성은 1mg의 actomyosin에 의하여 1분간 유리되어 나오는 무기인산(pi)의 μ mole로 표시하였다.

용해도 측정

용해도는 3mg/ml의 actomyosin 1ml에 KCl용액을 농도별로 첨가하여 2000rpm에서 10분간 원심분리시킨 후 상등액을 278nm에서 흡광도를 측정하여 O.D치

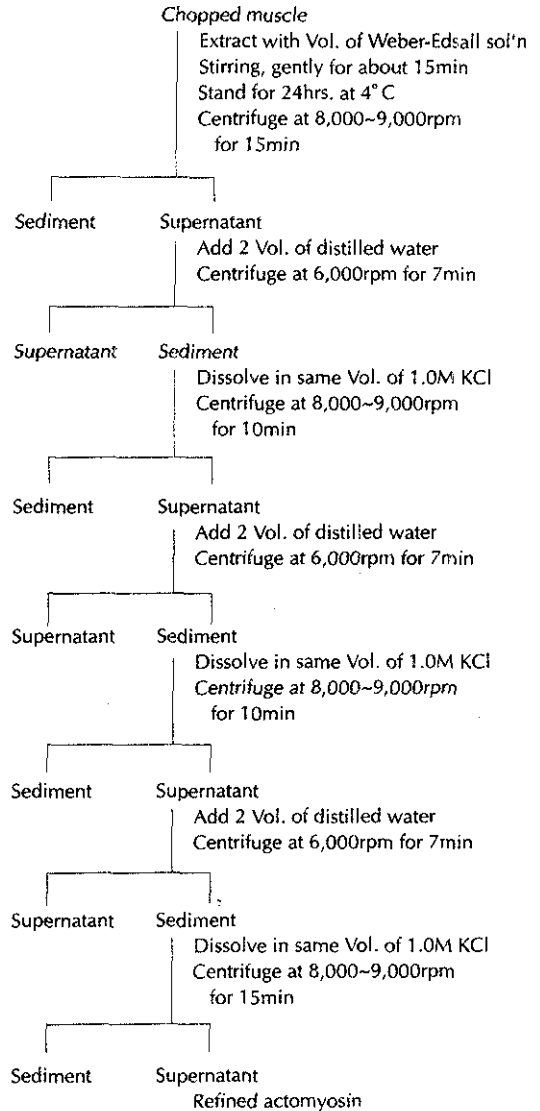


Fig. 1. Procedure for the isolation of actomyosin from duck leg muscle and breast muscle.

로서 표시하였다⁹⁾.

전기영동

Laemmli의 방법¹⁰⁾에 따라 slab-gel 전기영동을 실시하였다. 10% SDS와 30% acrylamide gel을 사용하였으며 30mA의 전류가 흐르도록 하여 실온에서 6시간 동안 각각 수직영동시켰다. 전기영동 후 gel은 Coomassie brilliant blue R-250으로 염색하였다.

단백질용액은 0.125M Trisodium phosphate 완충액

(pH 6.8), 4% SDS, 20% glycerol, 10% 2-mercaptoethanol 및 3mg/ml actomyosin을 혼합하여 3분간 끓인 후 사용하였다.

결과 및 고찰

Actomyosin의 추출성과 ATPase 활성도

근육단백질에 15~20% 존재하는 actomyosin은 생체에서 actin과 myosin 이 약 1 : 4의 비율로 형성되어 있으나¹¹⁾ Weber-Edsall 용액으로 추출하였을 경우 그 비율은 추출조건과¹²⁾ 동물의 종류와 부위에 따라 다르다고 알려져 있다^{13,14)}. 그것은 근육을 구성하는 근원섬유가 지니고 있는 filamental lattice의 치밀성의 차이에서 크게 좌우될 수 있으므로 고온침탕법에 의해서 처리된 오리근육으로부터 actomyosin을 추출하고 그 치밀성을 예측하였다.

도살후 20시간이 경과된 오리의 다리 및 가슴근육의 actomyosin의 추출성은 고온침탕법이 각각 7.84 및 39.48mg/g, 중온침탕법이 각각 4.79 및 28.04mg/g 으로 고온침탕법이 중온침탕법보다 높았으며 가슴근육의 추출성이 다리근육 보다 높은 것으로 나타났다 (Table 1). 이 결과로 미루어 볼 때 고온침탕시킨 근육은 중온침탕시킨 근육보다 actomyosin이 빠르게 형성되고 있으며 thick filament와 thin filament 사이의 치밀도의 차이도 있음을 예측케 하였다.

이렇게 서로 다른 상태에서 얻어진 actomyosin의 ATP 분해능력을 검토하기 위하여 Ca이온과 Mg이온의 존재하에서 ATPase 활성을 비교하여 Fig. 2와 Fig. 3에 나타내었다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 고온침탕법으로 처리하여 다리근육에서 얻은 actomyosin은 중온침탕법으로 처리하여 얻은것보다 Ca²⁺-ATPase 활성이 낮았으며 가슴근육은 이온강도 0.08 이하에서 중온침탕법이 높았고 그 이상의 이온강도에서는 고온침탕법이 높게 나타났다. 가슴근육으로부터 추출한 actomyosin의 Ca²⁺-AT-

Table 1. Extractability of actomyosin from hard scalded muscle and subscalded muscle

Sample	Hard scalding		Subscalding	
	Leg	Breast	Leg	Breast
Extractability, mg/g muscle	7.84	39.48	4.79	28.04

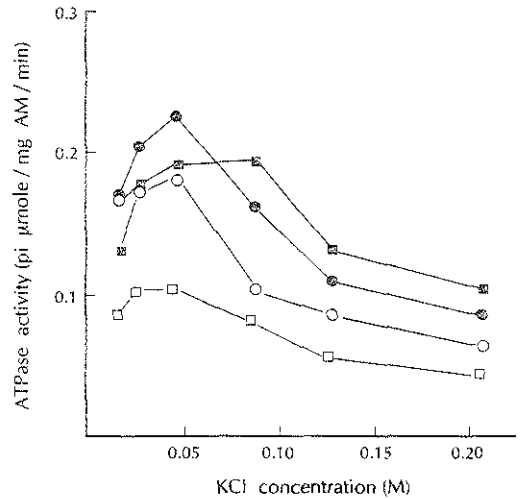


Fig. 2. Ca-activated ATPase activity of actomyosin from hard scalded muscle and subscalded muscle.

ATPase assay ; 1mg/ml actomyosin, 8mM CaCl₂, 0.2M Tris-HCl (pH8.0), 8mM ATP.

(■ ●) ; breast

(□ ○) ; leg

(□ ○) ; hard scalded muscle

(○ ●) ; subscalded muscle

Pase 활성은 저이온강도에서는 물론 생리적 이온강도 이상에서도 다리근육의 Ca²⁺-ATPase 활성보다 높게 나타났다. 양 등¹⁵⁾은 닭의 근육 ATPase 활성은 이온강도 0.12~0.18에서 최대 활성을 나타내었다고 하였으며, Maruyama와 Ishikawa¹⁶⁾는 0.10~0.15에서 최대 활성을 보였다고 하였는데 본 실험에서 이용된 오리근육의 경우는 이온강도 0.05~0.08 사이에서 Ca²⁺-ATPase 활성이 최대치를 보였다.

Leadbeater와 Perry¹⁷⁾는 Mg이온이 활성화된 actomyosin ATPase의 특징은 0.15~0.20 이상의 이온강도에서는 발생하지 않는다고 하였으며 저이온강도에서는 actomyosin의 ATPase 활성을 증가시키는데¹⁶⁾, 이것은 저이온강도에서의 효소는 Mg이온이 활성화된 actomyosin의 복합체가 되는 반면 이온강도가 증가함에 따라 그 복합체는 분리되어 Mg이온이 효소활성을 억제시키는 것으로 나타나기 때문인 것으로 알려지고 있다.

침탕방법을 달리하여 얻어진 오리의 다리와 가슴근육에서 추출한 actomyosin의 Mg²⁺-ATPase 활성을 Fig. 3에 나타내었다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 고온침탕법에 의해 처리된 근육에서 추출된 actomyosin은 중온침탕법보다 같

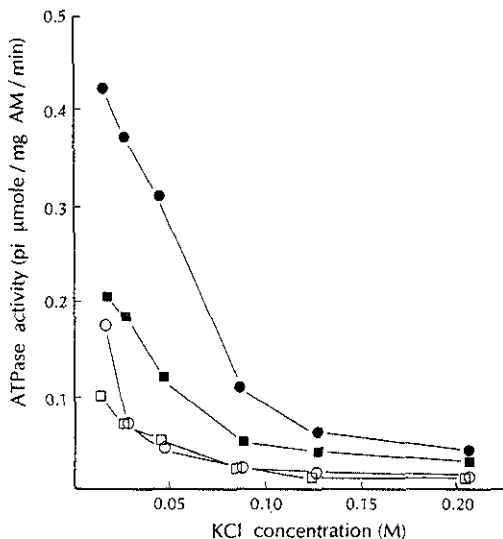


Fig. 3. Mg-activated ATPase activity of actomyosin from hard scalded muscle and subscalded muscle.

ATPase assay ; 1mg/ml actomyosin, 8mM MgCl₂, 0.2M Tris-HCl (pH8.0), 8mM ATP.

(□ ○) ; leg (■ ●) ; breast
(□ ■) ; hard scalded muscle
(○ ●) ; subscalded muscle

은 이온강도에서 Mg²⁺-ATPase 활성이 비교적 높았다. 또 저이온강도에서 활성의 차이가 크고 고이온강도에서는 적었으며 가슴근육이 다리근육의 Mg²⁺-ATPase 활성도보다 이온강도의존성이 큰 것으로 나타나고 있었다.

Actomyosin의 용해도와 전기영동

근육을 구성하는 근장단백질, 근원섬유단백질 및 육기질단백질은 염용액에 의한 용해도의 차이로서 분류하는데 일반적으로 0.2M 이상의 이온강도에서 용해되는 것을 염용성단백질이라 한다^{13,15)}.

본 실험에서 추출된 actomyosin들은 이온강도 0.6M 정도의 염용액에 녹아 있는 것으로 근육으로부터의 추출성과 ATP 분해능력이 다소 차이가 있었다. 이러한 actomyosin들의 용해도를 비교하여 Fig. 4에 나타내었다.

Fig. 4에 나타난 바와 같이 침탕방법과 부위에 관계없이 추출된 actomyosin은 모두 이온강도 0.28부근에서 용해되기 시작하였으며 용해 완료 시점도 0.35부근으로 비슷하였다. 이온강도에 대한 actomyosin의 용해도는 actin과 myosin의 함량, 상호작용의 강도 및 F-

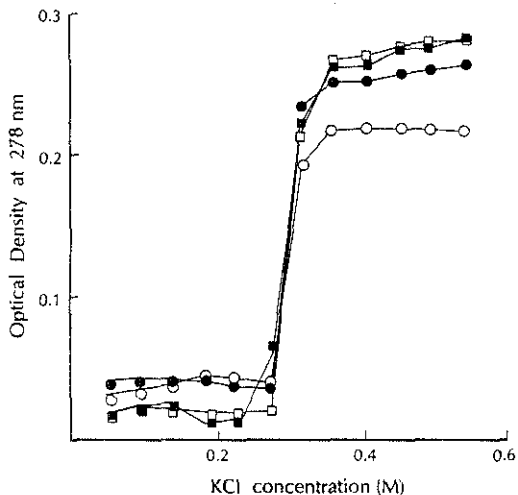


Fig. 4. Solubility of actomyosin from hard scalded muscle and subscalded muscle.

(□ ○) ; leg (■ ●) ; breast
(□ ■) ; hard scalded muscle
(○ ●) ; subscalded muscle

actin의 분자형태를 반영한다고 알려져 있으므로¹⁶⁾ 침탕방법을 다르게 한 동일 개체 내의 다리와 가슴근육의 용해성에도 차이가 있을 것으로 예상하였으나 본 실험에서는 용해 시작시점과 용해 완료시점의 이온강도가 모두 비슷하였다.

Etlinger 등¹⁹⁾은 근원섬유 구성단백질을 전기영동시키면 actin, myosin heavy chain 및 myosin light chain 사이에 많은 미확인 band들이 관찰되는데, 이들은 근원섬유단백질의 가수분해 생성물이거나 효소류 또는 근원섬유의 구조 조절에 관여하는 단백질일 것이라고 보고하였다.

고온침탕한 시료와 중온침탕한 시료의 다리와 가슴근육으로부터 추출한 actomyosin의 SDS-PAGE를 실시하여 그 결과를 Fig. 5에 나타내었는데 이 결과에서 알 수 있듯이 고온침탕시킨 근육이 중온침탕시킨 근육에서보다 actin의 추출비율이 높게 나타났으며 또 가슴근육이 다리근육보다 thin filament에 있는 단백질들이 쉽게 추출되어 나오는 것을 알 수 있었다. 이러한 실험결과들에 의해서 가금류인 오리근육의 경우 털을 뽑기 위하여 뜨거운 물에 침탕할 때의 물의 온도와 침탕시간에 따라 근육의 actomyosin의 형성에 차이가 있었음을 알 수 있었다.

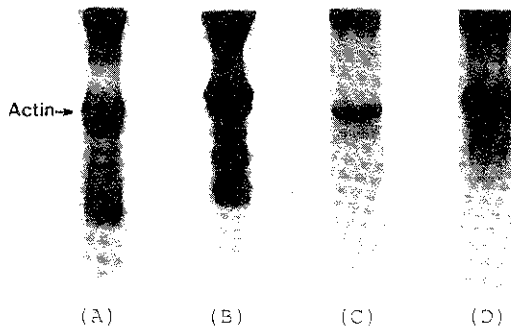


Fig. 5. SDS-PAGE patterns of actomyosin from hard scalded muscle and subscaled muscle.

- (A) : hard scalded leg muscle
 (B) : hard scalded breast muscle
 (C) : subscaled leg muscle
 (D) : subscaled breast muscle

요 약

오리를 고온침탕법과 중온침탕법에 의해 털을 제거하고 다리 및 가슴부위의 골격근에서 actomyosin을 추출하여 몇가지 특성을 비교하였다. 고온침탕 처리한 근육으로부터 추출된 actomyosin의 추출성은 다리와 가슴근육이 각각 7.84, 39.48mg/g, 중온침탕한 것은 각각 4.79, 28.04mg/g으로 고온침탕법의 추출성이 더 높았다. Actomyosin의 Ca^{2+} -ATPase 활성은 고온침탕법이 다리근육의 경우에서는 중온침탕법보다 낮았으나 가슴근육은 이온강도 0.08 이하에서 중온침탕법이 높았고 그 이상에서는 고온침탕법이 높았다. Actomyosin의 Mg^{2+} -ATPase 활성은 저이온강도에서 활성이 컸으며 가슴근육이 다리근육의 경우보다 침탕법에 의한 활성의 차이가 크게 나타났다. 용해도는 침탕방법과 부위에 관계없이 용해시점과 완료시점이 비슷하였다. 그리고 고온침탕 처리한 근육과 다리보다 가슴근육이 thin filament에 있는 단백질이 많이 추출되어 나오는 현상을 보였다.

문 헌

- 공양숙, 박창식, 문윤희 : 닭고기의 근원섬유단백질에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, **14**(1), 78(1985)
- Hay, J. D., Currie, R. W. and Wolfe, F. H. : The effect of aging on physicochemical properties of actomyosin from chicken breast and leg muscle. *J. Food Sci.*, **37**, 346(1972)
- Yamamoto, K. and Samejima, K. : A comparative study of the changes in hen pectoral muscle during storage at 4°C and -20°C. *J. Food Sci.*, **42**, 1642(1977)
- Bowling, R. A., Smith, G. C., Duston, T. R. and Carpenter, Z. L. : Effects of prerigor conditioning treatments on lamb muscle shortening, pH and ATP. *J. Food Sci.*, **43**, 502(1978)
- Davey, C. L. and Gilbert, K. V. : Studies in meat tenderness. VI. The nature of myofibrillar proteins extracted from meat during aging. *J. Food Sci.*, **33**, 344(1968)
- Ikeuchi, Y., Ito, T. and Fukazawa, T. : Change in the properties of myofibrillar proteins during postmortem storage of muscle at high temperature. *J. Agric. Food Chem.* **28**, 1197(1980)
- 김천제, 최병규 : 저장온도 20°C가 적색 돈근육의 생화학, 물리적 변화에 미치는 영향. *한국축산학회지*, **29**(12), 581(1980)
- Szent-Györgyi, A. : *The chemistry of muscular contraction*. 2nd ed., Academic Press, New York, p.1(1951)
- Yang, R. and Kim, C. J. : Comparative biochemical study on the contractile proteins of muscle. Graduate School, Yonsei Univ., **12**, 305(1975)
- Laemmli, U. K. : Cleavage of structural proteins during assembly of head of bacteriophage T4. *Nature.*, **227**, 680(1970)
- Pearson, A. M. : *Advanced in meat research* : 3. Restructured meat and poultry products. AVI Pub., New York, p.48(1987)
- Huxley, H. E. : The mechanism of muscular contraction. *Science*, **164**, 1356(1969)
- 문윤희 : 식육의 물성과 ATPase 활성. *한국식육연구회보*, **4**, 19(1983)
- 양용, 양한철 : 축산식품가공학. 보성출판사, 서울 p. 280(1987)
- 양용, 신완철, 오두환, 진승홍, 김기태 : Red muscle and white muscle의 근원섬유단백질의 특성비교. *한국식품과학회지*, **18**(3), 173(1986)
- Maruyama, K. and Ishikawa, Y. : Effect of magnesium and calcium on the ATPase activity of actomyosin at low ionic strength. *Biochem. Biophys. Acta.*, **77**, 682(1963)
- Leadbeater, L. and Perry, S. V. : The effect of actin on the magnesium-activated adenosin triphosphatase of heavy meromyosin. *Biochem. J.*, **87**, 233(1963)
- Bendall, J. D. : *Muscles, molecules and movement*. American Elsevier Pub. Co. Inc., p.34(1969)
- Etlinger, J. D., Zak, R. and Mathoor, S. : SDS-polyacrylamide gel electrophoresis patterns of myofibrillar proteins. *J. Biol. Chem.*, **261**, 253(1986)

(1991년 12월 26일 접수)