KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 25, No. 5, pp. 517~520(1993)

고 pH 돈육 내의 항산화 기작

황 기 · 김혁일 · 하영득
계명대학교 식품가공학과

Factors Affecting Lipid Oxidation Development in High pH Ground Pork

Key Whang, Hyuk-Il Kim and Young-Duck Ha
Department of Food Scinece and Technology, Keimyung University

Abstract

As the pH of ground pork increased from 5.0 to 7.0, the corresponding development of 2-thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) during storage at 4℃ decreased significantly ($p<.001$). At the 4th day of refrigerated storage, with the increase in pH of ground pork from 5.0 to 7.0, the release of free iron decreased significantly ($p<.05$) from 1.50 to .99 ppm. The decrease in free iron content of pH 7 pork well explains the decrease in TBARS absorbances. The fact that the addition of 2% ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) to pH 5 ground pork decreased the oxidative rancidity development ($p<.001$) strongly supported the above finding that the increased free iron content of pH 5 ground pork catalyze the oxidation during storage. The activity of glutathione peroxidase (GPx) at the 4th day of refrigerated storage decreased significantly ($p<.05$) when the pH of ground pork decreased from 7.0 to 5.0. Both the lower free iron content and the higher activity of GPx were proved to be important factors in controlling the oxidative rancidity of high pH ground pork.

Key words: pH, TBARS absorbances, free iron content, EDTA, GPx activity.

서 론

식품의 지방 산화에 관한 연구는 식품의 저장성과 안전성을 증진시키기 위한 목적으로 과거 수십년 동안 꾸준히 진행되어 왔으나 식품 내에서 관찰된 산화 촉진이나 항산화 현상들의 기작을 규명하고자 하는 기초적 연구는 매우 부진한 실정이다. 그 한 예가 육류의 pH 변화에 따른 산화 안정성의 차이인데, 분쇄 돈육[1,2]과 계육[3]의 경우 pH를 6.1 이상 유지시켜 주었을 때 저장중 산패의 진행이 pH를 6.1 이하에서 보관하였을 때보다 훨씬 느리다는 결과들이 보고되어 있다. 그러나 육의 pH가 어떠한 기작으로 지방 산화에 영향을 미치는지는 현재까지 확실히 밝혀져 있지 않으며, 과학적인 충분한 이해 없이 구미에서는 단지 관찰된 연구 결과만이 응용되고 있는 형편이다.

철 이온의 산화 촉진 작용은 잘 알려져 있다. 특히, 비 heme 성, 유리철(nonheme, free iron)이 heme 단백에 결합되어 있는 heme 성 결합철(heme iron) 보다 육의 산화 촉진 작용이 훨씬 강력하다는 사실이 보고되어 있다[4-6]. 사후 경직이 개시되면서 육의 pH가 떨어지면 myoglobin의 변성이 증가하고 유리철이 방출되어 산화를 촉진시킬 가능성은 매우 높다고 할 수 있다. 한편, 생체 내에서 항산화 작용을 담당하는 것으로 알려진 glutathione peroxidase(GPx)의 pH 변화에 의한 활성 변화[7]는 지방 산화에 밀접하게 연관되어 있을 것으로 사료된다. 이 효소의 최적 활성 pH는 약 6.9이고 assay buffer의 pH를 7에서 5.7로 낮추었을 때 효소의 활성도 17.2%로 감소하였다. 그러므로 pH가 낮은 육류에서도 그 활성이 감소되어 항산화 작용이 감소할 것으로 추측된다.

최근 들어 식품의 소비형태가 편이성과 안전성 위주의 고부가가치성 제품의 소비로 변하면서 precooked 및 ground meat의 소비가 증가하고 있는데 이러한 형태의 육류는 가공시 유리철을 방출할 수 있는 가열 또는 분쇄 과정을 거치기 때문에 저장중 산화 안정성은 매우 낮다. 특히 돈육은 우육이나 양육 보다 지방의 높은 불포화도 때문에 저장중의 산패 문제가 훨씬 더 심각하다. 돈육의 저장중 산패는 항산화제의 첨가[4,8-11]로 부분적으로 억제할 수 있으나 합성 첨가물의 사용은 안전성 문제로 소비자들의 우려를 증폭시키고 있기 때문에 새롭고 안전한 산패 억제 방법이 절실히 요구되고 있다. 본 연구의 목적은 pH 변화가 어떠한 기작으로 돈육의 지방산화에 영향을 미치는지를 유리철의 함량과 glutathione peroxi-

Corresponding author: Key Whang, Department of Food Science and Technology, Keimyung University, 1000 Shindangdong, Dalso-gu, Daegu 704-701, Korea

dase의 활성 변화로 규명함으로써 돈육의 저장, 유통 중 산패를 억제할 수 있는 새롭고 안전한 방법을 개발하기 위한 기초 자료를 제공함에 있다.

재료 및 방법

재료

돈육의 어깨살(boston shoulder)을 도살 24시간 후에 채취하여 표피, 뼈, 결합조직 그리고 지방 덩어리를 제거하고 grinder로 분쇄한 후 1 N HCl이나 1 N NaOH 용액을 첨가하여 pH를 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 그리고 7.0으로 조절, 유지하면서 4℃에서 저장중 각 pH별 육의 산패도를 2-thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)치로 측정하였고, pH 5.0, 6.0 및 7.0으로 조절한 육은 유리철 함량과 TBARS를 측정하였다. 또 돈육의 pH를 5.0과 7.0으로 조절한 후 pH 5.0 육 sample에 2%(w/w 육조직)의 ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA)을 첨가하여 4℃에서 저장중 산패치를 측정, 비교하여 산화 기작을 보완 설명하고자 하였다. 한편, 위와 동일한 방법으로 sample을 채취하여 pH를 5.0 및 7.0으로 조절한 후 4℃에서 저장하면서 각 sample의 glutathione peroxidase(GPx) 활성과 산패치(TBARS)를 측정하였다.

유리철 함량 측정

유리철의 함량은 Tay[8] 등의 방법으로 측정하였다. Myoglobin을 포함한 수용성 성분들을 증류수로 24시간 동안 육으로부터 추출한 후 30분간 원심분리(3000×g)하여 얻은 상등액을 증류수로 48시간 투석(tube의 MW cutoff 1000)시킨다. 투석 tube 밖으로 빠져 나온(dialyzed out) 분획을 유리철로 하고 이의 함량은 원자 흡광계(Shimadzu, AA-646)를 사용하여 측정하였다. 유리철 함량은 Junsei사의 iron reference solution(1000 ppm)을 일정 간격의 농도 별로 희석하여 표준 용액을 만들고 이들의 흡광도로 검량선을 그어 보간법으로 계산하였다.

Glutathione Peroxidase 활성 측정

효소의 활성은 Devore과 Green[7]의 방법으로 다음과 같이 측정하였다. 육 sample에 증류수를 넣고 균질화(homogenization) 시킨 후 여과, 원심분리(3000×g, 30 min)를 거친 다음 muscle extract로서 상등액만 분리하여 효소의 활성을 측정하였다. 분석액은 각 실험육의 pH로 조절된 potassium phosphate buffer와 muscle extract 이외에 4 mM EDTA, 1 mM reduced glutathione, 1 mM NaN_3, 0.1 mM NADPH, 0.33 mM cumenhydroperoxide 그리고 glutathione reductase를 포함한다. 30℃에서 5분간 배양한 후 이 효소의 기질로 사용된 cumenhydroperoxide는 마지막에 첨가하여 5분간 분광광도계로 흡광도의 변화량을 측정하였고 효소의 활성은 환원된 NADPH량/ml muscle extract/min으로 보고하였다. Muscle extract를 제외한 용액의 spontaneous 활성과 유일하게 assay 방해 물질로 알려진 myoglobin 에의한 흡광도 변화량은 전체 효소 활성에서 삭감하여 계산하였다.

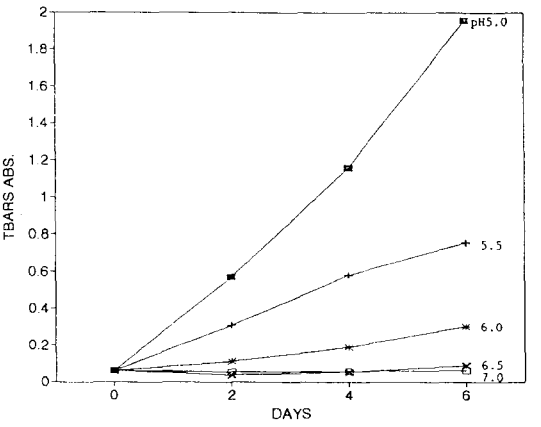

Fig. 1. Differences in TBARS development of ground pork during storage at 4°C after the pH was adjusted from 5.0 to 7.0

2-thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) abs. 측정

각 sample들의 TBARS는 Tarladgis 증류법[12]으로 수행하였다. 즉, sample을 증류수와 함께 균질화하고 HCl로 pH를 1.5로 조절한 다음 증류 장치를 통하여 모은 응축액을 끓는 물에서 35분간 TBA와 반응시켜 얻은 색의 흡광도를 534 nm에서 측정하였다.

통계 처리

실험 data는 SAS(계명대학교 통계학과 전산실) program의 분산 분석(ANOVA)과 최소 유의차 검정(LSD)으로 분석하였다.

결과 및 고찰

육의 pH 변화에 따른 산패치의 비교

Fig. 1에서 나타난 바와 같이 돈육(pH 5.0, 5.5, 6.0)의 냉장 저장 기간이 길어질수록 산패는 뚜렷하게 증가하였고 육의 pH가 5.0에서 7.0으로 증가할수록 저장중 산패치는 유의성 있게 감소하였다($p<.001$). 그림에서 보는 바와 같이 pH 5.0, 5.5 육은 냉장 2일 동안 TBARS치가 급격히 상승하였고 동 기간 후 이미 강한 산패취와 변색이 발생하였으나, pH 6.5와 7.0인 육은 저장 기간이 더 늘어나도 산패는 거의 진행되지 않았다. 이는 Yasosky 등[2]이 보고한 돈육의 산패가 급격히 억제되는 critical pH 6.10과 잘 일치하는 것으로, pH를 이 수준 이상으로 유지하면 저장중 산화 안정성이 월등히 증진되는 유익한 결과를 가져왔다. 실제로 구미에서는 prerigor grinding (경직전 분쇄)을 통하여 고 pH(>6.1)의 육을 얻음으로써

Table 1. Free iron contents and TBARS absorbances of ground pork during storage at 4°C after the pH was adjusted to 5, 6 and 7

pH		day 0	2	4
5.0	TBARS abs.	.061	.898	1.318
	유리철(ppm)			1.50[a]
6.0	TBARS abs.	.061	.214	.408
	유리철(ppm)			1.21[b]
7.0	TBARS abs.	.061	.089	.178
	유리철(ppm)			.99[c]

All the values are means of 4 replicates.
[a,b,c]Values in the same column bearing different superscripts are significantly different ($p<.05$).

산패 억제를 꾀하고 있으며, 이 외에도 초기 냉장에 필요한 energy 및 공간 절약, 결착력 증진 등 우수한 효과를 얻고 있다[13].

육의 pH 변화에 따른 유리철 함량 차이

Table 1은 각 pH별 돈육의 냉장 저장중 방출된 유리철 함량과 TBARS치를 비교한 결과이다. 육의 강력한 산화 촉진제로 알려져 있는 유리철은 냉장 4일 후 pH가 낮을수록 유의차 있게($p<.05$) 더 많은 양이 방출되었다. 유리철은 특히 가열, 분쇄육에서 주요 산화 촉진 인자로서의 역할을 하는 것으로 보고되어 있는데[5,8,11,14,16], 본 실험에서는 pH가 낮을수록 myoglobin의 변성이 증가하여 그 결과 유리철의 방출도 증가하는 것으로 사료된다. 또, myoglobin의 porphyrin ring과 결합하고 있는 histidine 잔기의 imidazole 고리가 낮은 pH(<6.0)에서 양성자화하여 금속 이온들과의 결합력을 잃음으로써 철이 방출된다는 설명도 있다[17]. 3 개의 실험구중 pH 5 육은 pH 6 육보다 또 pH 6 육은 pH 7 육 보다 저장중 더 많은 양의 유리철을 방출하였으며 산패치도 pH가 낮은 순서로 높게 나타났다.

EDTA 첨가에 따른 산패치의 차이

Table 1의 결과에서 나타난 바와 같이 pH 변화로 인한 유리철의 방출이 돈육의 산화에 영향을 미치는지를 보완 설명하기 위하여 pH를 5.0으로 조절한 후 유리철 ion과 결합하여 철의 산화 촉진 작용을 억제하는 EDTA를 첨가한 육의 저장중 산패치를 pH 5와 7의 육과 비교하였다. pH 5에 2%의 EDTA를 첨가한 돈육은 저장중 pH 5 육보다 유의차 있게($p<.001$) 낮은 수준의 TBARS치를 기록하였으나, pH 7 육에 비해서는 높은 수치의 TBARS치를 기록하였다(Fig. 2). 이 사실은 위에서 지적한 바와 같이 육의 pH가 7.0에서 5.0으로 감소할수록 유리철의 방출량은 증가하고 그 결과로 육의 산패는 더욱 촉진된다는 사실을 강력히 뒷받침해주고 있다. 한편 EDTA의 첨가가 육의 산패를 완전히 정지시키지 못한 것은 저

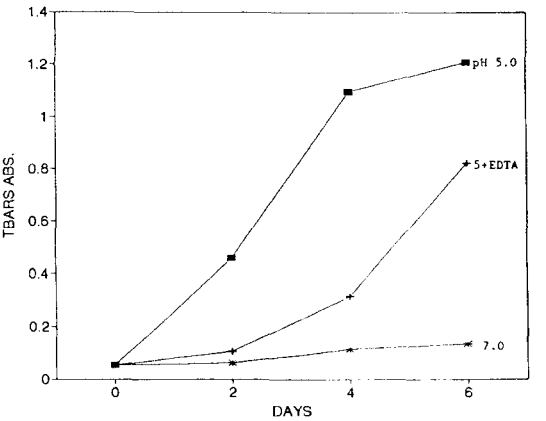

Fig. 2. Effect of the addition of EDTA to pH 5 ground pork on the development of TBARS during storage at 4°C

Table 2. GPx activities and TBARS absorbances of ground pork during storage at 4°C after the pH was adjusted to 5 and 7

pH		day 0	4
5.0	TBARS abs.	.088	1.065
	GPx act.(nmole/ml/min)		9.65[a]
7.0	TBARS abs.	.088	.058
	GPx act.(nmole/ml/min)		18.33[b]

All the values are means of 3 replicates.
[a,b]Values in the same column bearing different superscripts are significantly different ($p<.05$).

pH 육의 산패 촉진이 유리철에만 기인하는 것이 아니라 다른 요인이 관여하고 있다는 사실을 시사한다고 하겠다.

pH 변화에 따른 육의 GPx 활성 차이

앞에서 지적한 바와 같이 저 pH 육의 산패 촉진에 관여하는 유리철 이외의 다른 요인들을 규명하기 위하여 육의 pH를 5.0과 7.0으로 조절한 후 저장중 돈육의 muscle extract내 GPx 활성과 TBARS치를 측정하였다. GPx 활성치는 spontaneous 활성과 myoglobin에 의한 활성을 빼준 수치로서 이 양자의 방해 수준은 전 실험을 통하여 항상 미미한 값을 유지하였다. 저장 4일째 pH 7 육의 GPx 활성은 pH 5 육 보다 유의차 있게 높았으며($p<.05$), TBARS치는 매우 낮은 수준이었다(Table 2). 또, pH 5 육의 GPx 활성은 pH 7 육에 비하여 절반 정도의 수준밖에 미치지 못하였고 그 결과 pH 7 육 보다 훨씬 높은 TBARS치를 기록하였다. Glutathione peroxidase는 생체내에서 과산화물을 alcohol성 물질로 변환시킴으로써 세포 내의 해독 작용과 항산화 기능을 수행한다. 처음에는 적혈구와 쥐의 간에서 발견되었으나 최근에 와서는 근육 세포[7,18]에도 존재하는 것으로 밝혀짐으로써 식품

내에서도 그 중요성이 대두되기 시작하였다. 이 효소의 최적 활성 pH는 중성에 가까운 것으로 알려져 있는데[18], 본 실험 조건에서도 육의 pH가 7일 때 그 활성이 증가하여 산패의 억제 효과도 높은 것으로 나타났다.

요 약

돈육의 pH가 5.0에서 7.0으로 증가할수록 저장중 산패치는 유의차 있게 감소하였다. 본 실험 결과 고 pH 돈육의 낮은 유리철 함량과 높은 GPx 활성은 저장중 돈육의 산패 억제에 관여하는 중요한 요인들인 것으로 밝혀졌다. 그러나 pH 조절에 의한 산패 억제에 관여할 수 있는 그 밖의 다른 가능한 인자들을 찾는 연구 또한 중요하다고 하겠다. 나아가서 유리철 ion의 방출 억제나 불활성화 방안, GPx의 또 다른 활성화 방안 및 천연 항산화제로서의 활용 가능성등이 계속 연구, 검토되어야 할 것이다. 본 연구의 결과는 돈육의 저장성 증진은 물론, 규명된 항산화 기작들을 다른 식품 system에 응용하는 데에도 이용될 수 있을 것으로 본다.

감사의 글

본 연구는 1992년도 산학협동 재단의 연구비 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Owen, J.E. and Lawrie, R.A.: The effect of an artificially induced high pH on the susceptibility of minced porcine muscle to undergo oxidative rancidity under frozen storage. *J. Food Technol.*, 10, 169(1975)
2. Yasosky, J.J., Aberle, E.D., Peng, I.C., Mills, E.W. and Judge, M.D.: Effect of pH and time of grinding on lipid oxidation of fresh ground pork. *J. Food Sci.* 49, 1510(1984)
3. Chen, T.C. and Wailmaleongora-ek, C.: Effect of pH on TBA values of ground raw poultry meat. *J. Food Sci.*, 46, 1946(1981)
4. Chen, C.C., Pearson, A.M., Gray, J.I., Fooladi, M.H. and Ku, P.K.: Some factors influencing the nonheme iron content of meat and its implication in oxidation. *J. Food Sci.*, 49, 581(1984)
5. Igene, J.O., King, J.A., Pearson, A.M. and Gray, J.I.: Influence of heme pigments, nitrite and nonheme iron on development of warmed-over flavor (WOF) in cooked meat. *J. Agric. Food Chem.*, 27, 838(1979)
6. Decker, E.A., Crum, A.D., Shantha, N.C. and Morrissey, P.A.: Catalysis of lipid oxidation by iron from an insoluble fraction of beef diaphragm muscle. *J. Food Sci.*, 58, 233(1993)
7. Devore, V.R. and Green, B.E.: Glutathione peroxidase in postrigor bovine semitendinosus muscle. *J. Food Sci.*, 47, 1406(1982)
8. Tay, H.C., Aberle, E.D. and Judge, M.D.: Iron catalyzed oxidative rancidity in prerigor ground pork. *J. Food Sci.*, 48, 1328(1983)
9. Whang, K., Aberle, E.D., Judge, M.D. and Peng, I.C.: Antioxidative activity of α-tocopherol in cooked and uncooked ground pork. *Meat Sci.*, 17, 235(1986)
10. Rhee, K.S.: Enzymatic and nonenzymatic catalysis of lipid oxidation in muscle foods. *Food Technol.*, 42(6), 127(1988)
11. Shahidi, F., Rubin, L.J., Diosady, L.L. Kassum, N., Fong, J.C. and Wood, D.F.: Effect of sequestering agents on lipid oxidation in cooked meats. *Food Chem.*, 21, 145(1986)
12. Tarladgis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T. and Dugan, L.: A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 37, 44(1960)
13. Judge, M.D. Aberle, E.D., Forrest, J.C., Hedrick, H.B. and Merkel, R.A.: Accelerated processing. In Principles of Meat Sci., Kendall/Hunt publishing Co., Iowa, p.116(1989)
14. Nolan, N.L, Bowers, J.A. and Kropf, D.H.: Lipid oxidation and sensory analysis of cooked pork and turkey stored under modified atmosphere. *J. Food Sci.*, 54, 846(1989)
15. Ahn, D.U, Wolfe, F.H., Sim, J.S. and Kim, D.H.: Packaging cooked turkey meat patties while hot reduces lipid oxidation. *J. Food Sci.*, 57, 1075(1992)
16. Ahn, D.U., Wolfe, F.H. and Sim, J.S.: Prevention of lipid oxidation in precooked turkey meat patties with hot packaging and antioxidant combinations. *J. Food Sci.*, 58, 283(1993)
17. Appurao, A.G. and Narasinga Rao, M.S.: Binding of Ca^{2+} by the 11S fraction of soybean proteins. *Cereal Chem.*, 52, 21(1975)
18. Lin, T.S. and Hultin, H.O.: Glutathione peroxidase of skeletal muscle. *J. Food Biochem.*, 2, 39(1978)

(1993년 7월 28일 접수)