

전기자극방법 및 저장온도가 한우 *M. Semitendinosus* muscle의 핵산관련물질 생성 및 분해에 미치는 영향

신현길 · 이용우 · 오은경 · 최도영
건국대학교 동물자원연구센터

Effects of Electrical Stimulation and Storage Temperature on ATP-related Compounds of Korean Native Cattle Meat *M. Semitendinosus* Muscles.

Heuyn-kil Shin, Yong-woo Lee, Eun-kyong Oh and Do-young Choi
Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University

Abstract

The effects of low and high-voltage-electrical-stimulation and storing temperature on concentration of adenosine triphosphate (ATP) related compounds were studied in *M. Semitendinosus* muscles from Korean native cattle. Seven beef carcasses were split, the one side was electrically stimulated for 1 minute by using stimulator adjusted to 400 V/60 Hz as high voltage or to 110 V/60 Hz as low voltage while the other side served as an unstimulated control. Both side samples were incubated at 5°C and 15°C for 3 days. During storage, the concentration of ATP and its breakdown products were measured as a function of time. Significant differences ($p < 0.05$) were observed in the variance of ATP, adenosine diphosphate (ADP) and inosine monophosphate (IMP) levels between low-or high-voltage-electrically stimulated muscles and unstimulated control at just after post-stimulation. The decomposition of adenosine compounds and the production of inosine compounds of low-voltage-electrically stimulated muscles were advanced more slowly than those of high-voltage-treatment muscles. With increasing storage time, the influence of electrical stimulation on changes of ATP related compounds in meat was decreased, but storing temperature begin to affect their concentration. Significant difference in the Hypoxanthine levels ($p < 0.05$) was found of sample stored for 48 hours at 15°C from samples stored at 5°C regardless of electrical stimulation treatment. IMP and inosine values in electrically stimulated muscles, higher than of a control during 72 hours of storage, indicated rapid production of flavor compounds in beef.

Key words: electrical stimulation, ATP-related compounds, Korean native cattle beef

서 론

살아 있는 가축은 대사에 필요한 ATP(adenosine triphosphate)를 mitochondria에서의 산화적 대사작용에 의하거나 glycolysis에 의하여 보충한다. 혈액공급이 중단되면 산소공급원이 없어지므로 산화적 대사작용에 의한 ATP의 생산이 중단되고 세포내로 운반되어 오는 새로운 포도당이 소멸되면, glycogen의 분해가 ATP를 합성할 수 있는 주된 방법이며, 이들 반응의 최종 산물은 lactic acid로서 이들이 근육내에 축적되어 도살후 시간이 경과함에 따라 육의 pH가 낮아지게 된다⁽¹⁾. 또한 ATP는 계속하여 분해되어 에너지를 공급하고 adenosine diphosphate(ADP), adenosine monophosphate(AMP), inosine monophosphate(IMP)를 거쳐 inosine(Ino.)으로

되며 inosine은 염기인 hypoxanthine(Hyp.)과 ribose로 분해되는데⁽²⁾ 그중 IMP와 inosine은 육의 풍미를 좋게 하는 물질이다⁽³⁾.

이러한 일련의 생화학적 반응은 도체에 전기자극을 가함으로 가속화 된다고 보고되고 있으나 동물의 종류, 근육의 부위 및 전기자극방법 등에 따라서 그 결과가 다르다⁽⁴⁾. 전보⁽⁷⁾에서는 한우육의 연도개선 효과에 대하여 보고하였으며 본 연구에서는 고전압과 저전압의 전기자극과 저장온도가 한우육의 *M. semitendinosus*의 핵산관련물질 함량변화에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 전기자극 처리

공시한우는 동일한 방법으로 사육된 450 kg 내외의 2~3회 경산한우 7두를 구입하여 본 실험을 위하여 도축을 실시하였다(음성 제일농장 도축장). 한우는 수송거

Corresponding author: Heuyn-kil Shin, Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University, Seoul, Korea

리가 1시간 내외의 가까운 곳에서 구입하였고, 도착후 계류장에서 6시간 동안 계류를 한 후, 도살 및 방혈을 실시하였으며, 박피 및 내장제거후 2분체로 절단하였다. 그 후, 도살 45분내에 2분체중의 하나에 400V/60 Hz에서 1분간 고전압 전기자극, 또는 110V/60 Hz에서 1분간 저전압 전기자극을 실시하였고, 전기자극을 실시하지 않은 부위는 대조구로 하였으며, E.S 처리도체와 비처리도체에서 시료(*M. semitendinosus*)를 취하여 5°C 와 15°C 에서 저장하며 핵산관련물질 함량을 조사하였다.

핵산관련 물질의 분석

핵산관련물질을 추출하기 위해서 *M. semitendinosus* (뒷다리)에서 시료를 취하여 5°C 와 15°C 에 보관하며 경시적으로 시료로 이용하였다.

채취된 시료는 고전압 처리구, 저전압 처리구와 비처리구로 나누어 냉각된 10% Perchloric acid 25ml을 첨가하여 균질한 다음(세절시 20 ml, 후에 5 ml로 세척) 4,000 rpm/10 min로 2회 반복하여 원심분리한 후 상등액을 5 N Potassium hydroxide를 이용하여 pH 6.5로 보정하였다.

그 다음 중화된 10% Perchloric acid(pH 6.5)를 100 ml로 채워 10,000 rpm/10 min로 원심 분리한 상등액을 membrane filter(Gelman 0.45 µm)로 여과하였으며 처음 여과된 몇 ml은 버리고 약 4.5 ml을 취하여 tube에 담아 HPLC분석 시료로 이용하였다.

표준용액은 hypoxanthine, inosine monophosphate, inosine, adenosine monophosphate, adenosine diphosphate 및 adenosine triphosphate(Sigma Chemical Co., U.S.A)을 사용하였고, HPLC는 2150 HPLC pump, 2510 Uvicord SD, 2152 LC controller, 11300 Ultragrad mixer driver, 2154 HPLC injector, Chomatopac recorder(LKB producter AB, Broma, Sweden)을 사용하였다.

HPLC의 분석조건은 이 등의 방법(8)을 이용하였으나 ADP와 ATP의 검출이 용이하지 않아, 1% triethylamine phosphoric acid 용액을 A의 Mobile phase로, acetonitrile을 A에 20% 첨가한 것을 B의 Mobile phase로 사용하여, gradient 방법을 이용하였다(Table 1).

통계처리

Table 1. Conditions for HPLC analysis of nucleotide and their related compounds in beef during storage

Items	Condition
Column	Lichrospher RP-C ₁₈ (4.0 mm i.d. ×250 mm)
Mobile phase	1% Triethylamine, phosphoric acid(pH 6.5) 20% Acetonitrile(pH 7.0)
Flow rate	1.5 ml/min
Chart speed	0.5 cm/min
Detector	UV detector(254 nm)

본 실험에서의 통계처리는 SAS program을 이용하여 LSD와 TUKEY법으로 분석하였다(9).

결과 및 고찰

시료의 저장온도를 5°C 와 15°C 로 달리하여 3일간 저장하면서 측정된 전기자극(E.S)육과 대조구의 ATP, ADP 및 AMP 함량의 변화를 Fig. 1, 2 및 3에 나타내었다. 근육내의 ATP는 분해되어 ADP와 인산으로 되며 그때에 근육수축에 필요한 에너지를 생산하고, ADP는 글리코겐과 함께 ATP합성에 관여한다(14).

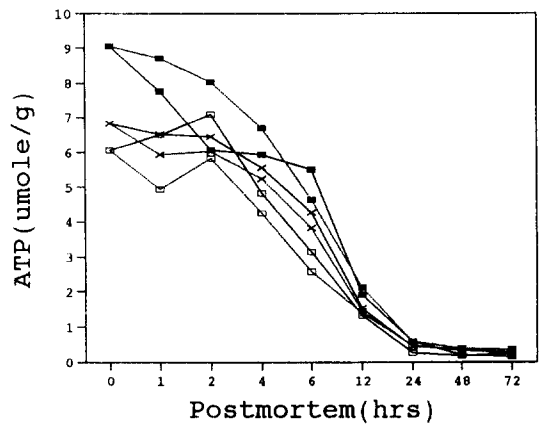


Fig. 1. Changes of ATP concentration on *M. semitendinosus* during postmortem storage
 ■—■; Non ES (5°C), ■—■; Non ES (15°C), □—□; HV. ES (5°C), □—□; HV. ES (15°C), ×—×; LV. ES (5°C), ×—×; LV. ES (15°C)

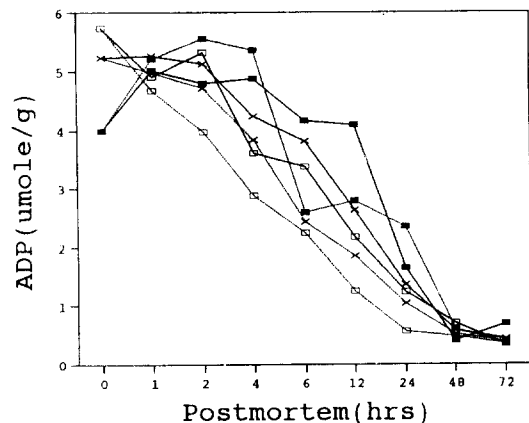


Fig. 2. Changes of ADP concentration in *M. semitendinosus* during postmortem storage
 ■—■; Non ES (5°C), ■—■; Non ES (15°C), □—□; HV. ES (5°C), □—□; HV. ES (15°C), ×—×; LV. ES (5°C), ×—×; LV. ES (15°C)

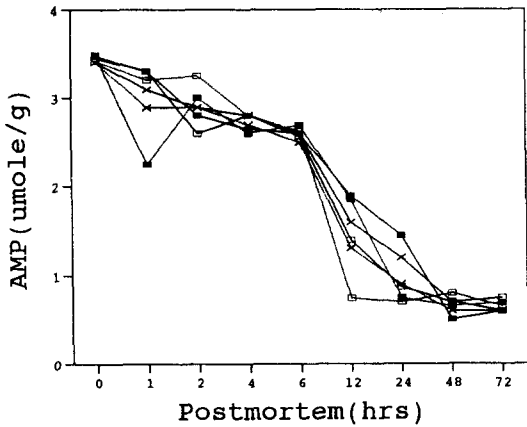


Fig. 3. Changes of AMP concentration in *M. semitendinosus* during postmortem storage

■—■; Non ES (5°C), ■—■; Non ES (15°C), □—□; HV. ES (5°C), □—□; HV. ES (15°C), ×—×; LV. ES (5°C), ×—×; LV. ES (15°C)

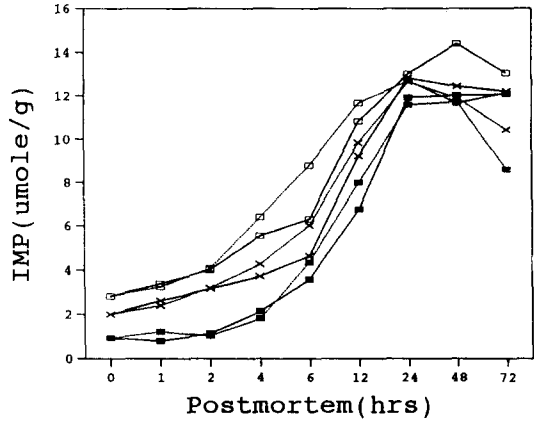


Fig. 4. Changes of IMP concentration in *M. semitendinosus* during postmortem storage

■—■; Non ES (5°C), ■—■; Non ES (15°C), □—□; HV. ES (5°C), □—□; HV. ES (15°C), ×—×; LV. ES (5°C), ×—×; LV. ES (15°C)

전기자극직후의 ATP 함량은 고전압 처리구에서 6.06 $\mu\text{mole/g}$, 저전압 처리구에서는 6.82 $\mu\text{mole/g}$ 으로 대조구의 9.07 $\mu\text{mole/g}$ 보다 현저히 낮았다($p < 0.05$). 이러한 E.S. 직후의 급속한 ATP함량의 변화는 전기자극후 dephosphorylation이 급속히 진행되면서 ATP가 감소한다는 Koh 등⁽¹⁰⁾의 보고와 해당과정에서 글리코젠이 glucose-1-phosphate로 변환되는 속도는 활성형 가인산 분해효소 a와 저활성형 가인산 분해효소 b와의 비율에 의해서 조절된다는 이론⁽¹¹⁾과도 일치한다. 즉 E.S. 비처리구의 근육은 초기에는 가인산분해소 a탈인산 가수분해효소(phosphorylase a phosphatase)에 의하여 가인산 분해효소 a가 가인산분해효소 b로 변환되는데 그 때에는 해당속도가 아주 낮지만 그 후 육의 pH가 낮아짐에 따라 phosphatase의 활성이 감소되면 활성형 가인산분해효소 a는 ATP가 근육에 존재하는 한 증가하여 해당속도는 증가된다.

그러나 전기자극 처리구에서는 전기자극중에 phosphatase의 활성이 50% 정도 감소하고 동시에 가인산분해효소 b를 가인산분해효소 a로 전환시키는 phosphorylase kinase 활성의 증가로 가인산분해효소 a의 활성이 급격하게 높아진다. 즉 근육에 전기자극을 주면 2~3초 내에 근 소포체로부터 Ca^{2+} 가 방출되어 myofibrillar의 ATPase의 활성을 증가시키고 근육의 수축을 일으킬 뿐만 아니라 phosphorylase kinase를 자극하여 가인산분해효소 b를 가인산분해효소 a로 변환시키는 것을 돕는다^(12,13). 이러한 ATPase와 phosphorylase kinase활성의 증가가 급속한 glycolysis의 원인이므로 그 결과 전기자극 실시중에도 육의 pH가 급속히 감소하고 그 대신 젖산이 생성되며 ATP함량도 급속히 감소하였다.

특히 고전압 전기자극에 의한 강한 수축은 ATP를

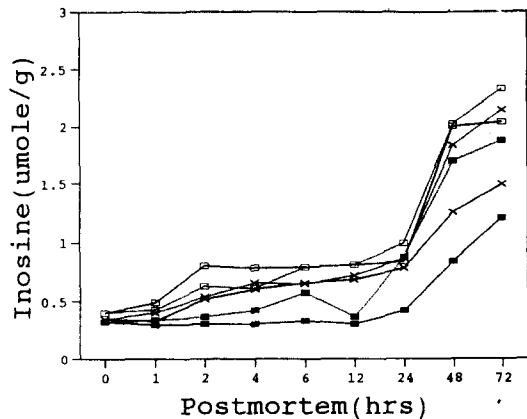


Fig. 5. Changes of Inosine concentration in *M. semitendinosus* during postmortem storage

■—■; Non ES (5°C), ■—■; Non ES (15°C), □—□; HV. ES (5°C), □—□; HV. ES (15°C), ×—×; LV. ES (5°C), ×—×; LV. ES (15°C)

빨리 분해시키고 이러한 ATP의 급속한 분해로 인한 도체의 온도상승 때문에 돼지 지육의 경우 오히려 E.S.가 육질에 나쁜 영향을 미쳤다는 결과도 보고된 바 있다⁽¹⁵⁾. 그러나 저전압 처리구에서는 그 분해속도가 다소 지연되어 전기자극후 급격한 해당작용에 기인된 육질저하는 나타나지 않는 것으로 사료된다.

전기자극직후 ADP함량을 측정된 결과 대조구가 3.99 $\mu\text{mole/g}$ 인데 비하여 고전압 처리구가 5.73 $\mu\text{mole/g}$, 저전압 처리구는 5.23 $\mu\text{mole/g}$ 으로 ATP함량에서와 같이 전기자극 처리구가 유의하게 높았으나($p < 0.05$) 전기자극

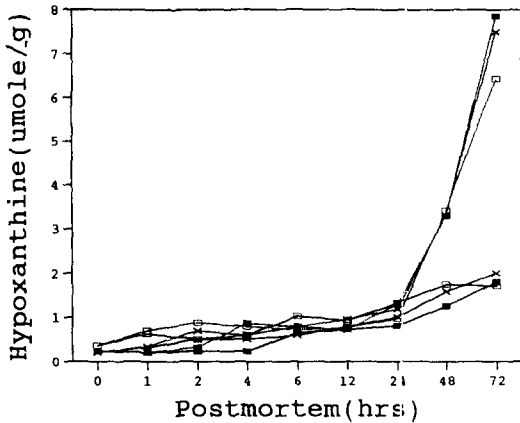


Fig. 6. Changes of Hypoxanthine concentration in *M. semitendinosus* during postmortem storage
 ■—■; Non ES (5°C), ■—■; Non ES (15°C), □—□; HV. ES (5°C), □—□; HV. ES (15°C), ×—×; LV. ES (5°C), ×—×; LV. ES (15°C)

1시간 후에는 모든 처리구에서 5.0 $\mu\text{mole/g}$ 정도로 비슷한 수준이었다.

한편 전기자극 직후의 AMP함량은 처리구와 대조구에서 모두 약 3.4 $\mu\text{mole/g}$ 으로 차이가 없었으며, 1시간 후에는 15°C로 저장한 대조구의 AMP함량이 2.25 $\mu\text{mole/g}$ 으로 약간 낮게 나타났으나 유의차는 인정되지 않았다.

이와 같이 전기자극의 효과는 도살후 1~2시간 저장된 아데노신 화합물의 함량변화에 영향을 미치는 것으로 사료되며 그 후에는 저장온도에 따라 정도의 차이는 있지만 분해가 계속되어 그 함량이 지속적으로 감소하여 모든 시료에서 ATP는 저장 1일후, ADP와 AMP는 저장 2일후에 모두 분해되어 이노신 화합물로 변환되었다.

IMP 함량은 Fig.4에서 나타난 바와 같이 도축후 12시간까지 고전압 전기자극 처리구가 대조구에 비하여 전체적으로 급속한 증가를 보였으며, 저전압 전기자극 처리구는 고전압 처리구와 대조구의 중간 정도의 IMP 함량을 나타내었다. 특히 전기자극 후 6시간에는 5°C와 15°C에서 고전압 전기자극 처리구가 6.28, 8.76 $\mu\text{mole/g}$ 인데 비하여, 대조구는 3.57, 4.36 $\mu\text{mole/g}$ 으로 고전압 처리구와 대조구간의 IMP함량의 유의적인 차이를 나타냈다($p < 0.05$).

대체로 우육의 IMP 함량은 도살 후 저장기간이 경과함에 따라 모든 처리구에서 급격히 증가하여 도살 1일 후에는 최고치에 달하였으며 그후 점차 감소하였다.

또한 Inosine은 Fig.5에서 보는 바와 같이 고전압 및 저전압 전기자극 처리구와 대조구 모두 뚜렷한 차이를 보이지 않고 서서히 증가하기 시작하여 저장 24시간에는 15°C로 저장한 고전압 및 저전압 처리구와 대조구외에 5°C로 저장한 고전압 처리구의 Inosine 함량이 급속히 증가하기 시작하였다. 한편 5°C로 저장한 대조구 및 저

전압 처리구는 Inosine 함량이 서서히 증가하였다. 저장 72시간에서 대조구의 함량은 5°C와 15°C에서 각각 1.87, 1.20 $\mu\text{mole/g}$ 에 비하여 고전압 전기자극 처리구는 각각 2.33, 2.03 $\mu\text{mole/g}$, 저전압 전기자극 처리구는 각각 2.14, 1.49 $\mu\text{mole/g}$ 으로 우육의 저장기간중 Inosine 함량의 변화에는 전기자극의 처리정도에 저장온도의 영향도 크게 작용함을 보여주었다. 위의 결과는 IMP의 분해속도가 느리기 때문에 24시간까지는 거의 변화를 보이지 않았으며, IMP의 생성이 중지되었을때 Inosine의 생성이 증가하는 것으로 사료되나 전체적으로 그 함량이 IMP 함량에 비하여 매우 적었다.

이와 같은 이노신 화합물의 증가는 전기자극이 육의 생화학적 반응을 촉진시킴으로써 쇠고기를 장기간 숙성하지 않더라도 육의 풍미를 증진시키는 하나의 요인이 된다. 즉 IMP는 guanosine 5'-mophosphate(GMP)와 함께 고기의 맛을 결정하는 중요한 요소이며⁽¹⁶⁾, Cambero 등⁽¹⁷⁾은 가열한 우육에서 IMP 함량과 고기의 풍미는 panel test 결과 유의한 상관관계를 보였다고 설명하고 있다. 결과적으로 고전압 전기자극 처리에 의한 빠른 IMP의 생성은 저장온도에 관계없이 고기의 풍미 성분 형성을 촉진시키는 결과를 가져왔으며 저전압 처리구에서는 전지자극과 함께 저장온도가 우육의 숙성속도에 영향을 미쳤다.

Hypoxanthine의 생성은 도축 후 약 24시간 까지 변화를 보이지 않았으며, 24시간 이후부터 증가하기 시작하였으나 E.S. 처리에 관계없이 저장온도에 따라 큰 차이를 보였다. 저장 72시간 후 5°C에서는 고전압과 저전압 처리구 및 대조구의 Hypoxanthine 함량이 각각 1.73, 1.70, 1.82 $\mu\text{mole/g}$ 로서 낮은 반면, 15°C에서는 두 E.S. 처리구와 대조구에서 각각 6.43, 7.45, 7.83 $\mu\text{mole/g}$ 으로 급격한 증가를 보임으로써 저장온도간에 고도의 유의성이 인정된 반면($p < 0.01$), 전기자극 처리에 의한 유의차는 나타나지 않았다.

이러한 결과로 전기자극후 시간이 경과함에 따라 저장온도가 핵산 관련물질함량에 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 특히 저전압 전기자극 처리구는 고전압 처리구에 비하여 저장온도의 영향을 크게 받기 때문에 저전압으로 전기자극을 실시할 경우 효과를 극대화시키기 위하여는 15°C에서 저장하는 것이 바람직하다. 또한 핵산 관련물질중 가장 신속히 분해되는 ATP는 고전압 전기자극후 15°C에 저장한 시료에서 6시간 후에 2.54 $\mu\text{mole/g}$ 으로 감소한 반면, 5°C로 저장한 대조구에서는 5.84 $\mu\text{mole/g}$ 으로서($p < 0.01$) 전기자극 처리후 저장온도를 높일 경우 우육의 숙성이 촉진되었다. 따라서 전기자극후 지연냉장저장법의 개발도 앞으로 연구해야 할 과제중의 하나로 사료된다.

요 약

한우 7두를 일반적인 방법으로 도축하여 45분 이내에

400V/60Hz와 110V/60Hz에서 각각 1분간 고전압 및 저전압 전기자극후 각각의 전기자극 처리구와 대조구에서 *M. Semitendinosus*를 취하여 5℃와 15℃에서 3일간 저장하며 핵산 관련물질 함량을 조사하였다. 전기자극 처리 직후 근육내의 해당작용이 가속화되어 Adenosine triphosphate Adenosine diphosphate 및 Inosine monophosphate 함량에 유의한 차이가 있었고($p < 0.05$), 저전압 처리구는 고전압 처리구에 비하여 아데노신화합물의 분해와 이노신 화합물의 생성이 지연되었다. 전기자극후 저장시간이 경과함에 따라 전기자극이 육질에 미치는 영향은 감소되고 저장온도의 영향이 증가되었으며 48시간 후에는 저장온도가 ATP 분해산물인 이노신산 화합물의 함량변화에 미치는 영향이 전기자극에 의한 것보다 커지고 Hypoxanthine 함량은 저장온도의 차이에 의해 서만 유의차가 나타났다. 도살 후 72시간까지 고전압 전기자극 처리구와 15℃로 저장한 저전압 전기자극 처리구의 이노신산 화합물 함량이 대조구에 비해 높게 나타나($p < 0.05$), 전기자극이 우육의 풍미성분의 생성을 촉진한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 동물자원연구센터의 연구비 지원을 받아 이루어진 것으로 동물자원연구센터에 감사드립니다.

참고문헌

1. 송계원 : 식육과 육제품의 과학. 선진문화사, 서울, 72 (1982)
2. Watanabe, A., Tsuneishi, E. and Takimoto, Y.: Analysis of ATP and its breakdown products in beef by reversed-phase HPLC. *J. Food Sci.*, **54**, 1169(1989)
3. Calkins C.R., Dutson, T.R., Smith, G.C. and Carpenter, Z. L.: Concentration of creatine phosphate, adenosine nucleotides and their derivatives in electrically stimulated and nonstimulated beef muscle. *J. Food Sci.*, **47**, 1350(1982)
4. Hawrysh, Z.J., Shand, P.J., Wolfe, F.H. and Price, M.A.:

- Studies of extra low voltage electrical stimulation of mature beef carcasses. *Meat Sci.*, **21**, 205(1985)
5. Fabiansson, S. and Laser Reutersward: Low voltage electrical stimulation and post-mortem energy metabolism in Beef. *Meat Sci.*, **12**, 205(1985)
 6. Smulders, F.J.M., Eikelenboom, G. and Van Logtestijn, J.G.: The effect of electrical stimulation on the quality of three bovine muscles. *Meat Sci.*, **16**, 91 (1986)
 7. 신현길, 오은경, 박종훈, 김천제, 이용우: 전기자극이 저장중 한우육의 이화학적 변화에 미치는 영향. 한국 식품과학회지, **25**, 252(1993)
 8. 이응천, 구재근, 안창범, 차용준, 오광수: HPLC에 의한 시판 수산건제품의 ATP 분해생성물의 신속정량법. 한국수산학회지, **17**, 368(1984)
 9. SAS : SAS Institute Inc.(1987)
 10. Koh, J.C., Bidner, T.D., McMillin, K.W. and Hill, G.M.: Effects of electrical stimulation and temperature on beef quality and tenderness. *Meat Sci.*, **21**, 189(1987)
 11. 박동기: 생화학. 유한문화사, 서울, 455(1986)
 12. Newbold, R.P. and Small, L.M.: Electrical stimulation of post-mortem glycolysis in the semitendinosus muscle of sheep. *Meat Sci.*, **12**, 1(1985)
 13. Pearson, A.M. and Dutson, T.R.: Scientific basis for electrical stimulation. *Advances in Meat Research*, AVI Publishing Co. Inc. Westport, Connecticut, vol., **1**, 195 (1985)
 14. Praendl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T. and Sinell, H.J.: Handbuch der Lebensmittel Technologie. *Fleisch*, Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart, 126(1988)
 15. Smith, G.C., Savell, J.W., Dutson, T.R., Hostetler, R.L., Terrell, R.N., Murphey, C.E. and Carpenter, Z.L.: Effects of electrical stimulation on beef, pork, lamb and goat meat. Proc. 26th Eur. Meet Res. Workers, Colorado Springs, **2**, H-5
 16. Koehler, H.H. and Jacobson, M.: Characteristics of chicken flavor extracted from red muscle. *J. Agric. Fd. Chem.*, **16**, 707(1967)
 17. Cambero, M.L., Seuss, I. and Honikel, K.O.: Flavor compounds of beef broth as affected cooking Temperature. *J. Food Sci.*, **57**, 1285(1992)

(1994년 4월 22일 접수)