

넙치(*Paralichthys olivaceus*)육의 死後 早期 변화

5. 저장 온도가 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향

조영제 · 이근우*

부산수산대학교 식품공학과 · *군산대학교 수산가공학과

Early Changes after Death of Plaice, *Paralichthys olivaceus* Muscle

5. Effect of Storage Temperature on Morphological Changes of Myofibrils and Histological Changes of Muscle

Young-Je CHO · Keun-Woo LEE*

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

*Department of Sea food Processing, Kunsan University,
Kunsan 573-360, Korea

To clarify the effect of storage temperature on the morphological and histological changes of plaice, *Paralichthys olivaceus* muscle at early stages after killing, the changes in breaking strength of muscle, morphological observation of myofibrils and histological observation of extracellular spaces during storage at 0°C and 10°C were studied.

The maximum breaking strength of samples stored at 0°C was reached within 10hrs and then it dropped significantly ($p < 0.05$) from 10hrs to 25hrs of storage. However, breaking strength was not increased in fresh muscle stored at 10°C and gradually decreased after 10hrs storage.

In myofibrils prepared from dorsal muscle immediately after death, A-band, I-band, H-band and Z-line in sarcomere were clearly distinguishable from each other. Due to muscle contraction, it was not easy to distinguish H-band from I-band observed in sarcomere stored at 0°C after 10hrs storage. But, in the case of samples stored at 10°C, H-band could be observed dimly until 15hrs of storage. The changes in morphological myofibrils were closely related to increase of breaking strength.

No extracellular space was observed among muscle cells immediately after killing. Stored samples at 0°C showed extracellular spaces after 15hrs storage. On the other hand, samples stored at 10°C didn't show any extracellular spaces until 15hrs storage and showed extracellular spaces after 24hrs storage. It was thought that the post-mortem tenderization of plaice muscle was closely related to the gradually disintegration of the extracellular matrix structure after killing.

서 론

횃감으로 이용되는 어육의 품질을 결정하는 중

요한 요인의 하나인 육질의 단단함에는 육중의 결합 조직의 주성분인 collagen함량 및 분포 형태에 따라서 결정되어지는 background toughness(어중

에 따른 고유의 단단함)와 사후 근육중의 ATP의 분해로 인한 myosin과 actin의 결합에 의하여 생기는 actomyosin 복합체 형성으로 발생하는 actomyosin toughness(근육의 수축에 의한 단단함)로 나누어진다(山本·九山, 1988). Background toughness는 사후 초기에 collagen matrix의 붕괴에 의하여 서서히 저하하는 반면에(Ando *et al.*, 1992), actomyosin toughness는 사후 초기에 ATP의 분해에 의하여 actomyosin 복합체가 형성되므로서 서서히 발생하게 된다(安井, 1982; Lawrie, 1966; 李, 1994). 사후 초기에 육의 연화에 의한 background toughness의 저하가 일어나지 않은 시점에서 actomyosin toughness가 증가한다면, 李(1994)가 제안한 바와 같이 background toughness에 actomyosin toughness가 더하여지므로 육질의 전체적인 toughness가 증가되어서 육질이 더 단단해질 것이다.

전보(Cho, 1992)에서 즉살 넙치육을 저온 저장하면서 육질의 단단함을 나타내는 지표인 파괴강도를 측정할 결과, 0℃ 및 5℃에서 10시간 저장후가 즉살 직후보다 그 값이 약 25% 상승하였을 뿐만 아니라, 그 후의 파괴 강도의 저하 속도가 10℃ 저장보다 빠름을 보고하였다.

본 연구에서는 넙치를 즉살하여 저장하는 경우에, 저장 온도가 사후 초기의 육의 파괴강도의 변화에 영향을 미치는 원인을 규명하기 위하여, 근원섬유의 형태학적인 변화 및 근육의 조직학적인 변화에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

넙치(*Paralichthys olivaceus*; 체장 27~30cm, 체폭 13~14cm, 체고 2~3cm, 체중 700~800g)를 활어 상태로 실험실로 운반하여, 전보(김·조, 1992)와 같은 방법으로 즉살시킨 후에 0℃ 및 10℃에 저장하면서 시료로 사용하였다.

2. 육의 파괴강도의 측정

전보(조·김, 1993)와 같이 측정하였으며, 실험 평균값은 8~10회 측정하여 평균 ± 표준편차(mean ± S.D.)로 나타내었다.

3. 근원섬유의 형태학적 관찰

근원섬유의 정제는 Takahshi등(1967)과 Tokiwa와 Matsumiya(1969)의 방법을 병용하였다. 즉, 경

시적으로 등육 5g을 취하여 조제용 용액(14.90g KCl과 3.44g EDTA 및 4.78g boric acid를 증류수로 용해하여 0.05M sodium borate로 pH 7.0으로 조절 후 2l로 정용) 30ml를 가하여 2분간 균질화(Nissei homogenizer Model AM-7, Nihonseiki Kaisha LTD., Japan)한 후에 600×g에서 15분간 원심 분리하고 얻어진 침전물에 30ml의 조제용 용액을 가하여 10초간 균질화하였다. 상기 과정을 1회 반복하여 근원섬유 현탁액을 조제, 희석하였으며, 근원섬유의 관찰은 사진 촬영 장치(Nikon Model FX-35, Japan)가 부착된 위상차 현미경(Nikon Model HFX-II, Japan)을 사용하여 배율 1000배에서 검경하였다.

4. 근육의 조직학적 관찰

근육의 조직학적 변화의 관찰을 위한 표본 제작은 Ando등(1991)의 방법에 따라 검경용 표본을 제작하였다. 즉, 등육을 일정 크기의 정방형(10×10×10mm³)으로 잘라서 Instron(Model 1011, U.S.A.)으로 직경 40mm cylinder plunger를 사용하여 100g/cm²의 압력으로 10초 동안 가압한 후에 다시 일정 크기(8×8×5mm³)로 잘라, Bouin액으로 24시간 고정하여 증류수로서 24시간 수세후에 ethyl alcohol로 완전히 탈수하여 paraffin wax(M.P. 56~58℃)로 침투시켰다. Paraffin wax로 응고시켜 시료 block을 만든 후, microtome(Model PR-50, Yamato Kohki, Saitama)을 사용하여 7μm의 절편을 만들었으며, 염색은 haematoxylin과 eosin을 사용한 이중 비교 염색을 하여 사진 촬영 장치(Nikon Model AFM-D, Japan)가 부착된 광학 현미경(Nikon Model MSM-9, Japan)으로 배율 100배에서 검경하였다.

결과 및 고찰

1. 파괴강도의 변화

Fig. 1에 즉살 넙치를 0℃ 및 10℃에 저장하는 동안의 육의 파괴강도의 변화를 나타내었다. 즉살 직후의 육의 파괴강도는 1050.00 ± 32.95g이었으나, 0℃ 저장에서는 저장 초기에 서서히 증가하여 10시간후에 1221.57 ± 36.68g으로 최대값에 도달하였으며 저장 15시간 후에는 1077.29 ± 63.38g의 값으로 즉살 직후와 비슷하였다. 그리고, 최고값에 도달 후에는 급격히 감소하였다. 한편, 10℃ 저장에서는 0℃ 저장시의 육의 파괴강도의 변화와 다른 경향을 나타내었다. 즉, 저장 초기에 0℃ 저장시와 같은 파괴강도의 증가는 관찰되지 않았고, 거의 일정하게 유

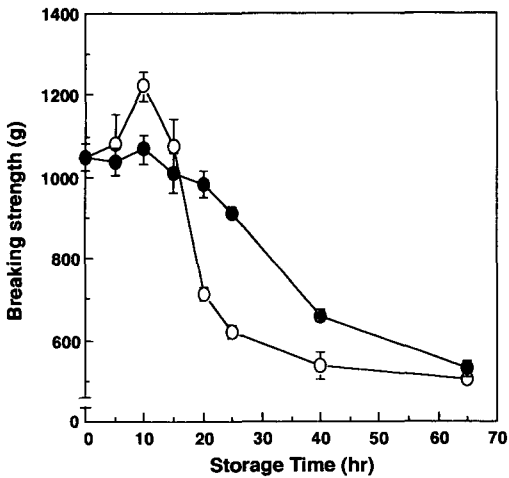


Fig. 1. Changes in breaking strength of plaice muscle during storage at 0°C (○) and 10°C (●).

지되다가, 저장 20시간 이후부터 서서히 감소하기 시작하였으며, 감소 속도도 0°C보다 완만하였다.

2. 근원섬유의 형태학적인 변화

즉살한 넙치육을 0°C 및 10°C에 저장하면서 경시적으로 추출한 근원섬유의 형태학적인 변화를 Fig. 2, 3에 나타내었다. 즉살 직후에는 근절의 A대, H대, I대 그리고 Z선이 명료하게 관찰되었다. 0°C 저장 시료는 저장 10시간 후에 A대 중앙부의 H대의 구별이 확실하지 않았으며 I대의 간격이 좁아져 있음이 관찰되었는데, 이와 같은 현상은 myosin과 actin의 결합이 촉진된 결과로 생각된다. 10°C 저장 시료는 0°C 저장 시료와는 달리 저장 10시간 후에도 희미하지만 A대 중앙부의 H대 구별이 가능하였으며, 저장 15시간후에도 H대의 흔적이 관찰되었는데, 이것은 0°C 저장보다도 myosin과 actin의 결합이 늦어지기 때문인 것으로 생각된다.

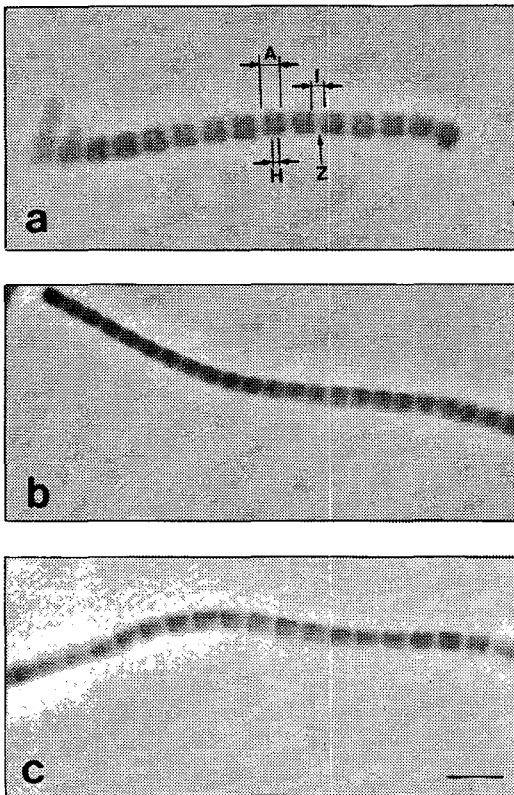


Fig. 2. Phase-contrast micrographs of the myofibrils prepared from plaice muscle stored at 0°C.
 a: immediately after death. A: A-band Z: Z-line
 b: 10hrs storage. H: H-band
 c: 15hrs storage. I: I-band
 The bar represents 10 μ m.

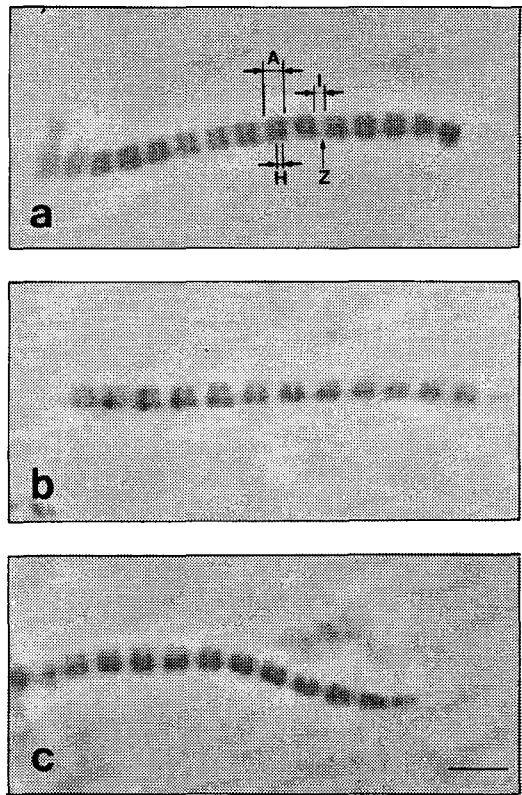


Fig. 3. Phase-contrast micrographs of the myofibrils prepared from plaice muscle stored at 10°C
 a: immediately after death. A: A-band Z: Z-line
 b: 10hrs storage. H: H-band
 c: 15hrs storage. I: I-band
 The bar represents 10 μ m.

상기의 결과는 李(1994)의 보고와 같이, 즉살육을 0℃에 저장시에는 온도의 영향으로 근소포체가 수축되므로서 근소포체의 Ca²⁺ 수용 능력의 저하로, Ca²⁺이온이 세포내로 방출되어서 ATP의 분해를 촉진시켜 myosin과 actin의 결합에 의한 actomyosin 복합체 형성을 촉진 시키며, 이 때에 발생하는 장력에 의하여 actomyosin toughness가 증가하여서 저장 10시간후에 파괴강도가 증가하는 것으로 생각된다. 한편, 10℃ 저장중의 근원섬유의 형태학적인 변화가 0℃와는 다르게 서서히 변화하는 것은 10℃ 저장에서는 근소포체의 수축의 정도가 극히

미약하므로 ATP분해에 의한 myosin과 actin의 결합이 서서히 진행하기 때문이다. 따라서, 0℃ 저장과는 달리 저장 초기에 파괴강도의 상승이 일어나지 않는 것으로 판단된다.

3. 근육의 조직학적인 변화

즉살한 넙치육을 0℃ 및 10℃에 저장하면서 경시적으로 육편에 100g/cm²의 압력을 가한후에 점경용 표본을 만들어서 표면 조직을 광학 현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 4, 5에 나타내었다. 즉살 직후에는 세포와 세포는 서로 접촉하여 간격이 전혀 관찰되

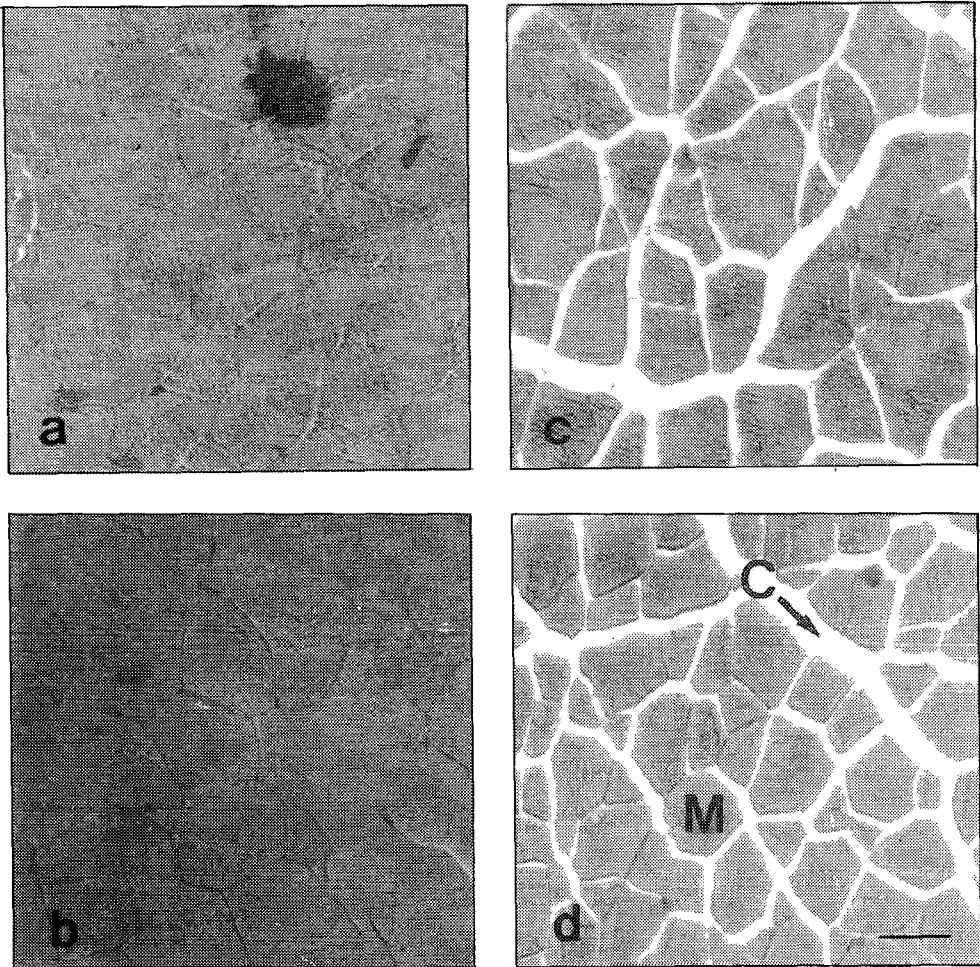


Fig. 4. Light micrographs of plaice muscle compressed at 100g/cm² for 10sec for each duration of storage at 0℃
 a: immediately after death. b: 10hrs storage.
 c: 15hrs storage. d: 24hrs storage.
 C: Extracellular matrix structure.
 M: Muscle fiber.
 The bar represents 100µm.

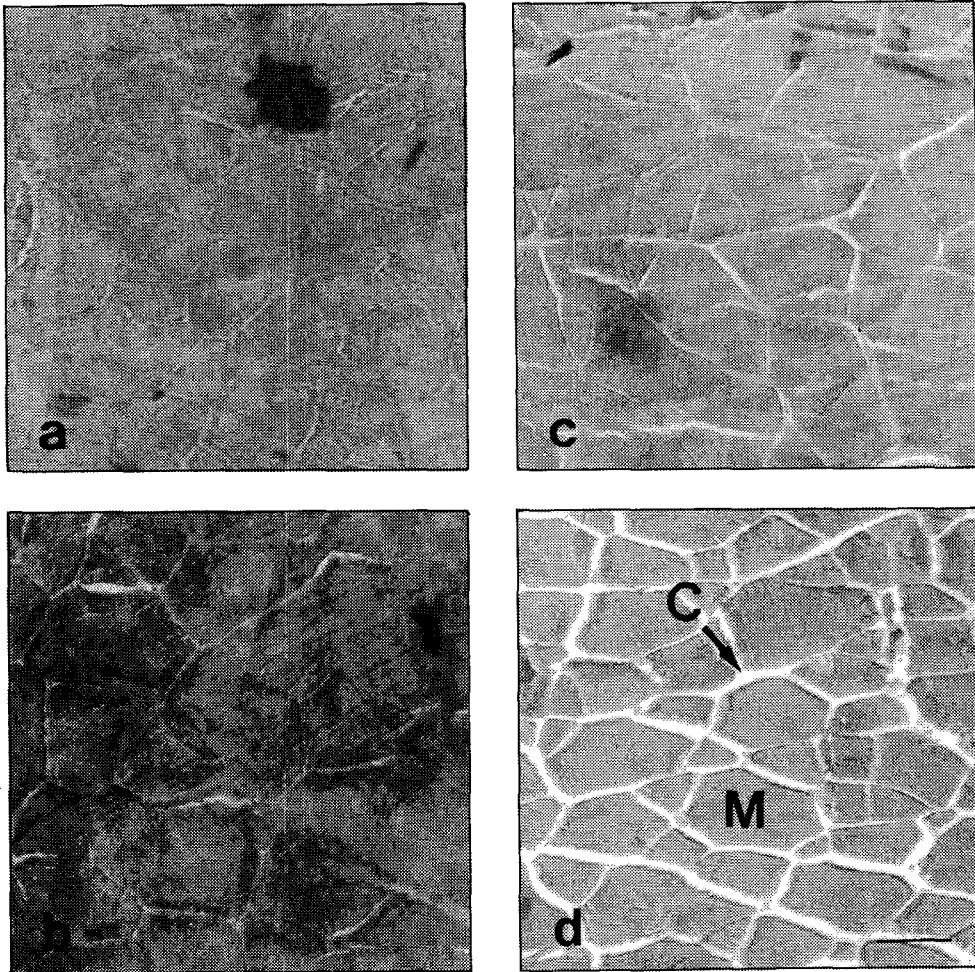


Fig. 5. Light micrographs of plaice muscle compressed at $100g/cm^2$ for 10sec for each duration of storage at $0^\circ C$
 a: immediately after death. b: 10hrs storage.
 c: 15hrs storage. d: 24hrs storage.
 C: Extracellular matrix structure.
 M: Muscle fiber.
 The bar represents $100\mu m$.

지 않았다. $0^\circ C$ 저장에서는 10시간까지는 일부의 세포 사이에 약간의 간격만이 관찰되었으나, 저장 15시간 후에는 전체의 세포 사이의 간격이 넓어졌다. 한편, $10^\circ C$ 저장에서는 $0^\circ C$ 저장과는 다르게 저장 15시간까지 일부의 세포 사이에 약간의 간격이 관찰되다가, 저장 24시간 후에는 전체의 세포 사이의 간격이 넓어졌다.

상기와 같은 육편의 조직학적인 변화는 육의 파괴강도의 변화 및 근원섬유의 형태학적인 변화와 밀접한 관계가 있음을 나타내고 있다. 즉, $0^\circ C$ 저장

에서 10시간까지 세포와 세포 사이의 간격이 극히 일부만 관찰되는 것은, 이 시간까지 세포와 세포를 연결시키고 있는 세포의 matrix인 V형 collagen섬유(Duance *et al.*, 1977; Baily *et al.*, 1979)가 손상을 받지 않고 죽살 직후의 형태로 유지되는 상황으로, background toughness의 저하가 거의 일어나지 않았음을 시사하는 것으로 생각되어 진다. 또, 이 시점에서 photo 1의 근원섬유의 위상차 현미경 관찰의 결과와 같이 myosin과 actin의 결합으로 근육에 장력이 발생되어서 actomyosin toughness가 증가하

게 되므로, background toughness에 actomyosin toughness가 더하여져서 저장 10시간후에 육의 파괴강도가 최대값을 나타내는 것으로 해석된다. 그리고, 15시간 저장후에 세포와 세포 사이의 간격이 벌어지는 결과는 근육의 수축에 의한 장력 발생 때문에 세포와 세포를 연결시키고 있는 V형 collagen섬유가 물리적 손상을 입거나, 또 이 기간 동안에 V형 collagen섬유를 분해시키는 효소의 작용(Ando *et al.*, 1993) 때문에 파괴강도의 저하(Fig. 1 참조)로 나타난 것으로 해석된다. 이러한 결과는 Ando *et al.*(1991, 1992)등이 근육의 수축으로 인하여 근육의 물리적 강도가 증가하여 collagen섬유가 붕괴되고, 이로 인하여 육이 점차 연화하게 된다는 보고와 일치하였다. 한편, 10℃ 저장에서는 0℃ 저장과는 달리 세포와 세포사이의 간격이 관찰되는 시간이 24시간으로 지연되는 결과는 저장 초기의 근육의 수축이 극히 미약하여서 근육에 발생하는 장력이 적으므로 V형 collagen섬유에 가해지는 물리적인 힘이 약하기 때문에 collagen섬유의 취약화가 늦어진 것으로 생각된다.

요 약

넙치를 즉살하여 저장하는 경우에 저장 온도가 육의 파괴강도의 변화에 영향을 미치는 원인을 규명하기 위하여, 근원섬유의 형태학적인 변화 그리고 근육의 조직학적인 변화에 대하여 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 육의 파괴강도 변화는 0℃ 저장에서는 저장 초기에 서서히 증가하여 저장 10시간후에 최대값을 나타내었으며, 그 후 저하 속도가 급격하였다. 한편, 10℃ 저장에서는 저장 기간을 통하여 육의 파괴강도의 증가는 거의 관찰되지 않았고, 저하 속도도 완만하였다.

2. 근원섬유의 형태학적인 변화는 즉살 직후에는 근절내의 A대, H대, I대 그리고 Z선이 확실히 구별되었다. 0℃ 저장에서는 10시간후에 A대 중앙부의 H대의 구별이 확실하지 않았고, I대 간격이 좁아졌음이 관찰되었다. 한편 10℃ 저장에서는 15시간까지 H대의 흔적이 관찰되었다.

3. 근육의 조직학적인 변화는, 즉살 직후에는 세포와 세포사이의 간격이 전혀 관찰되지 않았으나, 0℃ 저장에서는 15시간후에 전체의 세포 사이의 간격이 관찰되었다. 한편, 10℃ 저장에서는 24시간 후에 전체의 세포 사이의 간격이 관찰되었다.

이상의 결과로 부터, 즉살 넙치를 0℃의 저온에 저장시에 저장 초기에 육의 파괴강도가 증가하는 것은 myosin과 actin의 결합의 촉진에 의한 actomyosin toughness의 상승에 기인하며, 그 후 파괴강도의 저하는 세포와 세포를 연결시키는 collagen matrix의 취약화 때문으로 해석된다.

참 고 문 헌

- Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1991. Post-mortem tenderization of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure. *J. Sci. Food Agric.*, 55, 589~597
- Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1992. Three-dimensional structure of collagen fibrillar network of pericellular connective tissue in association with firmness of fish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1361~1364
- Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1993. Post-mortem tenderization of fish muscle due to weakening of pericellular connective tissue 59(6), 1073~1076
- Baily, A. J., G. B. Shellswell and V. C. Duance. 1979. Identification and Changes of collagen types in differentiating myoblasts and developing chick muscle. *Nature*, 278, 67~69
- Cho, Y. J. 1992. Relationship between temperature dependency and breaking strength of plaice muscle during low temperature storage. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 25(4), 322~323
- Duance, V. C., D. J. Restall, H. Beard, F. J. Bourne and A. J. Baily. 1977. The location of three collagens types in skeletal muscle. *FEBS Lett.*, 79, 248~252
- Lawrie, R. A. 1966. *Meat Science*, 1st ed. Pergamon Press. New York.
- Takahashi, K., T. Fukazawa and T. Yasui. 1967. Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. *J. Food Sci.*, 32, 409~413
- Tokiwa, T. and H. Matsumiya. 1969. Fragmentation of fish myofibril. Effect of storage condition

- and muscle cathepsin. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 35, 1099~1109
- 김육용 · 조영제. 1992. 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 육의 사후 조기 변화. 1. 사후 조기 변화와 온도 의존성의 관계. 한국수산학회지. 25(3), 189~196
- 李根雨. 1994. 횡감용 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 육의 물리화학적 특성에 미치는 저장 온도의 영향. 부산수산대학교 대학원 박사과정 학위 논문.
- 조영제 · 김육용. 1993. 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 육의 사후 조기 변화. 2. 물리 화학적 및 물성적 특성의 온도 의존성. 한국수산학회지. 26(1). 1~7
- 山本啓一 · 九山工作. 1988. 筋肉(生命現象への化學的アプローチ) 化學同人, 45~50
- 安井 勉. 1982. 畜産とその肉質, 特にその物理の處理過程におむける變化, 北大農學部特定研究報告別刷
-
- 1994년 2월 14일 접수
1994년 3월 2일 수리