

넙치 근소포체 및 근원섬유의 생화학적 특성에 미치는 전기자극의 영향

김태진 · 최영준* · 김동수** · 조영제***

국립수산진흥원 위생가공연구실, *경상대학교 수산가공학과, **한국식품개발연구원, ***부경대학교 식품공학과

Effects of Electrical Stimulation on the Biochemical Properties of Plaice, *Paralichthys olivaceus*, Sarcoplasmic Reticulum and Myofibrils

Tae-Jin KIM, Young-Jun CHOI*, Dong-Su KIM** and Young-Je CHO***

National Fisheries R & D Institute, Pusan 619-900, Korea

*Dept. of Marine Food Science and Technology, Gyeongsang National University, ChungMu 650-160, Korea

**Korea Food Research Institute, Seong Nam Si, KyungGi-Do 463-420, Korea

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

This study was undertaken to clarify the effects of electrical stimulation on the biochemical properties of plaice sarcoplasmic reticulum and myofibrils at early period of death. The plaices were electrically stimulated (110V/60 Hz) in sea water bath for 15, 35, and 60 seconds, and killed instantly by spiking at the head. Killed samples were investigated for the changes in Ca^{2+} -ATPase activity of FSR (fragmented sarcoplasmic reticulum), LSR (light SR), HSR (heavy SR), and SDS-PAGE pattern of FSR. Ca^{2+} -ATPase activity of FSR increased until 45°C and inactivated over 50°C. Ca^{2+} -ATPase activity of FSR remarkably decreased according to the duration of electrical stimulation. Myofibrillar Mg^{2+} -ATPase activity of electrically stimulated plaices in the presence of Ca^{2+} was higher than that of sample instantly killed by spiking. Mg^{2+} -ATPase activity of myofibrils increased by electrical stimulation and the activity decreased during storage at 5°C. Myofibrillar Mg^{2+} -ATPase activity in sample killed by spiking was not affected by Ca^{2+} ion. Myofibrillar Mg^{2+} -ATPase activity of electrically stimulated sample in the absence of Ca^{2+} decreased during storage at 5°C, while Mg^{2+} -ATPase activity in unstimulated sample did not show any change. Ca^{2+} -sensitivity of myofibrils showed no differences between electrically stimulated sample and sample killed by spiking, and the was no change during at 5°C.

Key words: sarcoplasmic reticulum, myofibrils, ATPase activity, electrical stimulation

서 론

근소포체는 근원섬유속을 둘러싸고 있는 막기관으로 세포 중의 Ca^{2+} 농도를 조절하여 근육의 수축과 이완을 제어하는 중요한 역할을 담당하고 있다 (Ebashi and Endo, 1968). 근육이 이완상태일때 Ca^{2+} -pump (Ca^{2+} -ATPase)는 세포내의 Ca^{2+} 을 근소포체로 받아들여 Ca^{2+} 의 농도를 0.1 μM 이하로 유지시키고 있으나, 수축시에는 근소포체막에 존재하고 있는 Ca^{2+} 방출채널을 통하여 Ca^{2+} 을 세포질로 방출하여 Ca^{2+} 농도를 1~10 μM 로 상승시킨다. 근소포체는 사후경직의 진행에 있어 중요한 역할을 하며 (Greaser et al., 1967, 1969; Davey and Gilbert, 1974), 저장온도에 따라 사후경직의 진행에 현저한 차이를 나타내어, 0°C에 저장한 육이 10°C에 저장한 것 보다 사후경직의 진행이 가속화되는 것은 이 온도에서 근소포체의 Ca^{2+} 수용능이 낮기 때문이라고 하였다 (Watabe et al., 1989). 또한 Ushio et al. (1991)은 0°C와 같은 저온에서는 근소포체로부터

Ca^{2+} 이 급격하게 방출되기 때문에 수축이 급격하게 일어난다고 하였다. 근소포체내의 Ca^{2+} 이 세포내로 방출되는 속도는 저장온도 (Cho and Kim, 1993) 뿐만 아니라 치사방법 (Johnstone and Moon, 1980; Kim et al., 1993)에 의해서도 영향을 받는다. Lee et al. (1995)은 어육에 전기자극 처리를 함으로써 육의 파괴강도가 즉살한 어육에 비하여 증대되며, 이것은 근육의 actomyosin toughness가 증가되기 때문이라고 하였다. Actomyosin toughness의 증대는 근육의 수축이 강하게 일어나기 때문이며, 이는 전기자극에 의하여 근소포체의 Ca^{2+} 수용능이 변화하여 근원섬유의 filament의 형성에 영향을 미쳐 actomyosin complex가 강하게 일어남을 의미하고 있다.

본 연구에서는 생선회의 육질개선에 관한 연구의 일환으로 어육에 전기자극 처리를 하였을때 근수축의 증대원인을 구명하고자 전기자극처리가 근소포체와 근원섬유의 생화학적 특성에 미치는 영향에 대하여 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

넙치 (*Plaice, Paralichthys olivaceus*)는 공수수산(부산 기장군 소재)에서 활어상태로 실험실로 운반하여 15°C 상온의 해수에서 약 6시간 피로를 완전히 회복시킨 후에 즉살(두부의 급소를 강타) 및 전기자극사(해수중에 시료를 넣고 110V 전압에서 15초, 35초, 60초간 통전)하여 혈액을 제거하고 5°C로 조정된 냉장고에 저장하면서 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

가. 근소포체의 조제

근소포체는 Fig. 1 과 같이 Watabe et al.(1991) 및 Hwang (1991)의 방법을 병행하여 조제하였으며, 모든

일련의 조작은 0~4°C의 범위에서 행하였다. 즉 50 g의 어육을 취하여 0.1 M KCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM ATP, 1 mM EDTA를 함유하는 0.01 M imidazole-HCl buffer (pH 7.2)를 10배량 첨가하고 homogenize한 후 원심분리(1,000×g, 10 min)하였다. 상층액을 취하여 4겹의 거즈에 통과시킨 다음, 원심분리(8,000×g, 20 min)하고 상층액을 취하여 다시 30,000×g에서 45 min 원심분리하였다. 침전획분을 취하여 2배량의 0.6 M KCl을 함유하는 0.01 M imidazole-HCl buffer (pH 7.2)를 첨가하여 현탁하고 0°C에서 30 min간 방치하여 원심분리(30,000×g, 45 min)한 후 상층액을 제거하였다. 침전물을 취하여 0.1 M KCl을 함유하는 0.01 M imidazole-HCl buffer (pH 7.2)를 적당히 첨가하여 희석하여 단편화된 근소포체(FSR)를 조제하였다. 이것을 discontinuous sucrose gradient를 행하여 100,000×g에서 12시간 원심분리한 후, 각 획분

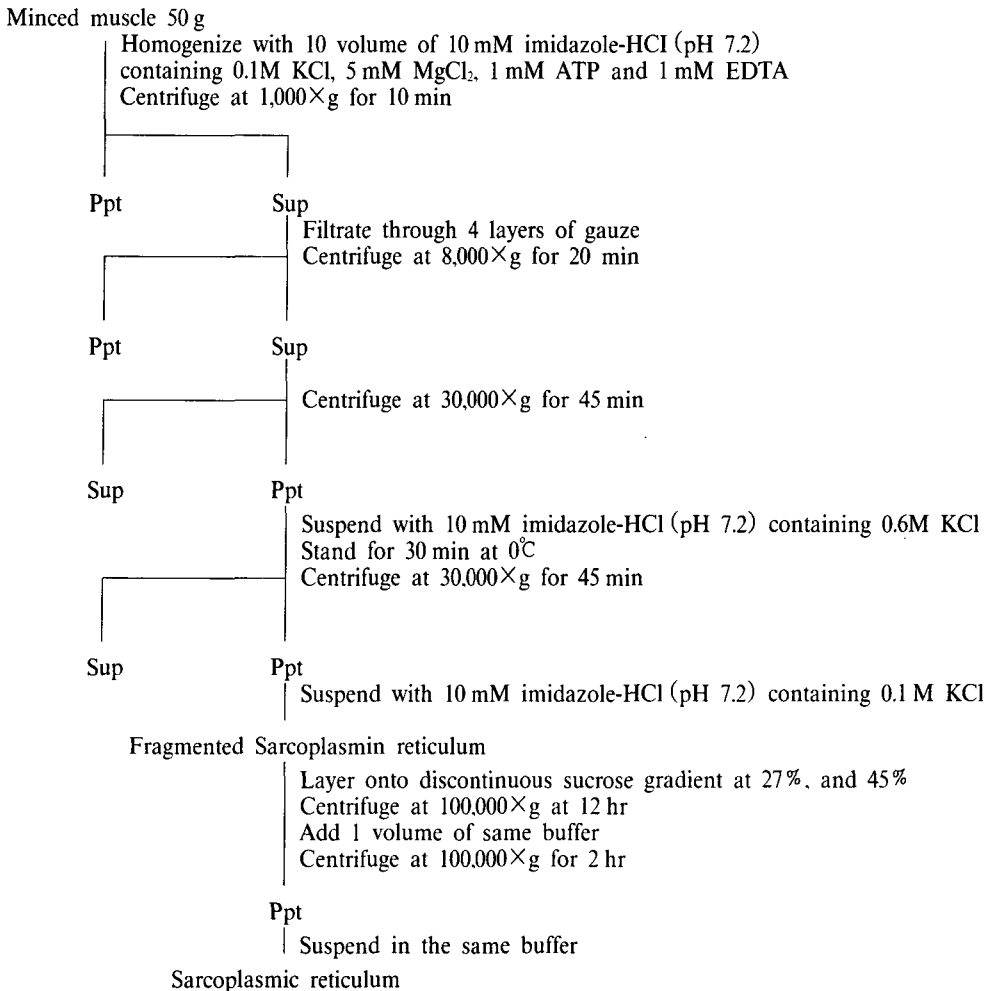


Fig. 1. Preparation of plaice sarcoplasmic reticulum.

을 분리하고 동일 buffer에 용해하여 100,000×g에서 2시간 원심분리하여 LSR (light sarcoplasmic reticulum)과 HSR (heavy sarcoplasmic reticulum)을 조제하였다.

나. 근원섬유의 조제

근원섬유는 Perry and Grey (1956)의 방법에 따라 조제하였다.

다. ATPase 활성 측정

근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성은 0.1 M KCl, 1 mM MgCl₂, 0.1 mM CaCl₂, 1 mM ATP, 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)의 반응액에 근소포체를 0.1 mg/ml의 농도로 첨가하여 측정하였다. 근원섬유의 Mg²⁺-ATPase 활성은 5 mM MgCl₂, 0.1 M KCl, 20 mM Tris-maleate buffer (pH 7.0), 2 mM ATP, 0.5 mg/ml의 근원섬유 및 0.25 mM CaCl₂ 또는 1 mM EGTA (ethylene glycol bis (β-amino ethylether)-N,N,N,N'-tetra acetic acid)의 반응액 조성으로 측정하였다. ATP와 1분간 반응시킨 후 유리된 무기인산은 Fiske와 Subbarow (1925)의 방법에 따라 측정하여 ATPase 활성으로 환산하였다.

라. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

전기영동은 Laemmli (1970)의 방법에 준하여 0.1% SDS (sodium dodecyl sulfate)를 함유한 polyacrylamide slab gel을 사용하였다. 분자량 결정을 위하여 표준단백질은 Sigma제의 토끼골격근 myosin heavy chain (205 kDa), 대장균 β-galactosidase (116kDa), 토끼골격근 phosphorylase b (97.4kDa), 소 혈청 albumin (66kDa) 과 ovalbumin (45kDa) 및 소 적혈구 carbonic anhydrase (29kDa)를 사용하였다. 염색은 acetic acid를 함유한 0.1% Commassie brilliant blue R250을 사용하여 염색하였으며, 25% methanol과 7% acetic acid 용액으로 탈색하였다.

마. 단백질농도

단백질 농도는 bovine serum albumin을 사용하여 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성 변화

근육의 수축은 근원섬유의 Ca²⁺에 의하여 활성화 되는 Mg²⁺-ATPase 활성과 밀접한 연관이 있으며, 근소포체는 근육내에서 효과적으로 Ca²⁺의 농도를 조절하고 있다 (Watabe et al., 1991). 이와 관련된 근소포체의 정확한 작용기구를 구명하기 위하여 근소포체를 조제하고 각종 온도에서 근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성을 측정하였다.

45°C까지는 반응온도의 상승으로 Ca²⁺-ATPase 활성은 증가되었으며 50°C이상의 온도에서는 실패되었다 (Fig. 2). 잉어에서 분리한 근소포체는 55°C에서도 강한 활성을 나타내었다고 하였으나 (Watabe et al., 1991), 넙치 근소포체는 55°C에서 거의 잔존 활성이 나타나지 않는 것으로 보아 잉어의 근소포체에 비하여 열안정성이 떨어진다고 생각된다. 근소포체의 Ca²⁺-ATPase는 Ca²⁺-pump와 밀접한 연관이 있어 근육내의 Ca²⁺의 농도를 효과적으로 조절하여 수축-이완을 제어하고 있다. 110V의 전압에서 각각 15초, 35초 및 60초간 전기자극한 넙치 근육으로부터 조제한 근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성을 25°C, 0.1 mM의 Ca²⁺ 존재하에 측정하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 즉살후의 Ca²⁺-ATPase 활성은 0.430 ± 0.097 μmol Pi/mg · min이었으며, 15초 전기자극은 0.326 ± 0.071 μmol Pi/mg · min, 35초 자극은 0.268 ± 0.032 μmol Pi/mg · min, 그리고 60초 전기자극은 0.231 ± 0.041 μmol Pi/mg · min으로서 전기자극시간이 연장될수록 근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성은 저하되었다. 5°C에 근육을 저장하면서 근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성변화를 살펴본 결과, 즉살한 것은 시간이 경과함에 따라 Ca²⁺-ATPase 활성이 약간 저하하였으며 20시간 저장한 것은 즉살 직후에 비하여 90% 정도 잔존하였으나, 15초 전기자극한 것은 20시간 후에 최초의 55%에 불과하였으며, 35초 전기자극은 20시간 후에 32.5%, 60초간 전기자극은 34.2%에 불과하여 Ca²⁺-ATPase 활성이 저장 중 실패되고 있음을 보여주었다. 이는 전기자극에 의하여 근육의 수축이 즉살한 것에 비하여 빠르게 진행됨을 나타낸다고 볼 수

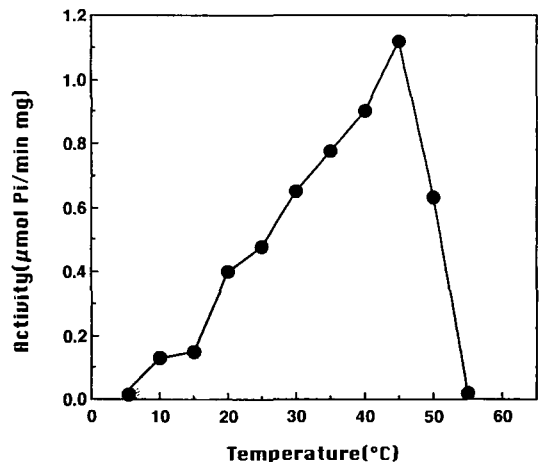


Fig. 2. Influence of temperature on Ca²⁺-ATPase activity of fragmented sarcoplasmic reticulum of plaice muscle.

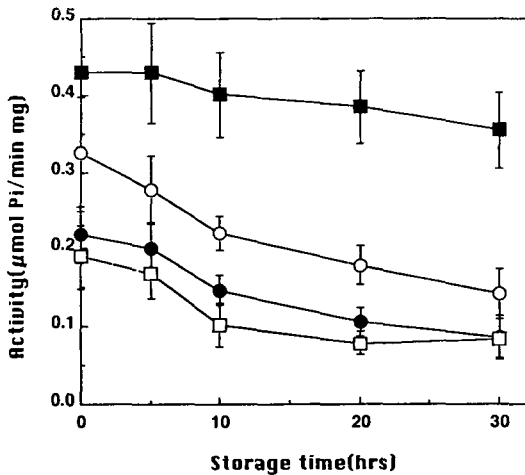


Fig. 3. Changes in Ca²⁺-ATPase activity of fragmented sarcoplasmic reticulum of plaice muscle prepared by electrical stimulation (110V/60 Hz) during storage at 5°C.

- ; electrical stimulation for 15 sec
- ; electrical stimulation for 35 sec
- ; electrical stimulation for 60 sec
- ; control (spiking at the head instantly)

있으며, Lee et al. (1995)의 보고에서 확인한 바 있다. 또한 35초간 전기자극하여 20시간 저장한 것은 60초 전기자극후 저장한 것과 비교하여 Ca²⁺-ATPase 활성의 실효비율이 거의 비슷하였는데, 이는 110V에서 35초 이상의 전기자극처리는 근소포체의 Ca²⁺ 수용능의 소실에 더 이상의 영향이 없을 뿐만 아니라 과도한 전기자극 처리를 함으로서 근육의 collagen matrix의 붕괴로 인한 생선회의 조직감 저하를 초래할 수 있다고도 볼 수 있다 (윤, 1996).

2. SDS-PAGE pattern의 변화

Fig. 4는 전기자극한 넙치 근소포체를 7.5% polyacrylamide gel을 사용하여 행한 SDS-PAGE 패턴을 나타내고 있다. 넙치 근육에서 분리한 근소포체는 97kDa에 해당하는 단백질을 주성분으로 지니고 있었으며, 또한 약 68kDa에 해당되는 단백질이 주로 나타났는데, 이것은 근소포체내의 Ca²⁺-ATPase와 Ca²⁺ 결합단백질인 calsequestrin인 것으로 판단된다. 전기자극 처리를 함으로서 97kDa의 성분은 뚜렷하게 감소되는 경향을 보이고 있는데, 이것은 Fig. 3에 나타난 바와 같이 전기자극함으로써 Ca²⁺-ATPase 활성의 저하와 깊은 상관관계가 있는 것으로 생각된다. 어류의 근소포체는 전기자극과 같은 물리적인 처리 뿐만 아니라 환경적인 변화에 의해서도 민감하게 반응하는데, 잉어의 경우 생육온도보다 낮은 온도

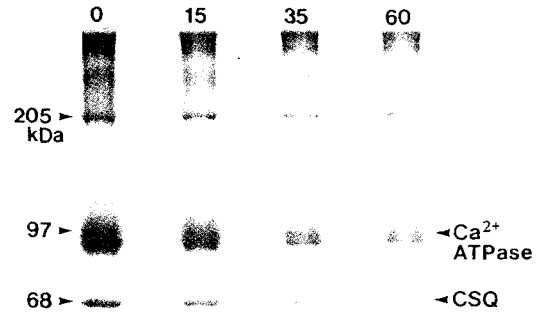


Fig. 4. SDS-PAGE patterns of sarcoplasmic reticulum (SR) from plaice treated by electrical stimulation (110V/60Hz). 30 µg SR was applied to 7.5% polyacrylamide slab gel containing 0.1% SDS. CSQ, calsequestrin.

에 적응시켰을때 동일어류라도 근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성이 변화한다고 하였으며 (Ushio and Watabe, 1993), 잉어 근소포체를 열처리하면 근소포체의 97kDa 성분이 현저하게 소실되었다고 하였다 (Ushio and Watabe, 1994). 또한 저장온도에 따라서 근소포체내에 있는 Ca²⁺의 축적이 달라지며, 저장시간이 길어질수록 근소포체보다는 근원섬유에서 Ca²⁺을 주로 찾아볼 수 있다고 하였다 (Ushio et al., 1991). 그리고 토끼 근소포체를 가압하면 근소포체내의 Ca²⁺의 농도가 변화된다고 하였다 (Suzuki et al., 1993). 이와 같이 근소포체는 각종 조건에 따라 특성이 변화하거나 Ca²⁺의 농도가 변화한다. 이것은 환경적인 변화나 물리적인 요인에 의하여 근소포체의 Ca²⁺ 채널이 영향을 받아 변화되었을 가능성을 내포하고 있다.

3. LSR 및 HSR의 Ca²⁺-ATPase활성 변화

근세포내의 근소포체에 있어서 Ca²⁺ 채널은 흡입과 방출의 2가지 채널이 존재하고 있다. Fig. 5는 근소포체의 단편 (FSR)을 sucrose gradient에 의하여 분리한 근소포체의획분을 나타내고 있는데, LSR은 27~32%의 sucrose농도에서, HSR은 38~45%의 sucrose농도에서 얻을 수 있었다. 그래서 근육을 전기자극처리 하였을때 Ca²⁺ 채널과 관련된 근소포체의 Ca²⁺-ATPase 활성을 알아보았는데, 즉살한 근육에서 분리한 LSR의 Ca²⁺-ATPase 활성은 Table 1에 나타낸 바와 같이 0.367 ± 0.035 µmol

Pi/mg · min이었으며, 15초 전기자극한 것은 0.248 ± 0.021 μmol Pi/mg · min, 35초 전기자극은 0.193 ± 0.028 μmol Pi/mg · min, 60초 전기자극은 0.173 ± 0.031 μmol Pi/mg · min으로서 전기자극 시간이 길어짐에 따라서 점점 저하되었다. 한편, HSR의 Ca²⁺-ATPase 활성변화를 Table 2에 나타내었다. 즉살한 것은 0.102 ± 0.021 μmol Pi/mg · min이었으며, 60초간 전기자극한 것은 0.080 ± 0.024 μmol Pi/mg · min로 별 차이를 보이지 않아 전기자극에 의한 영향은 별로 없다고 판단되었다. 이로 부터

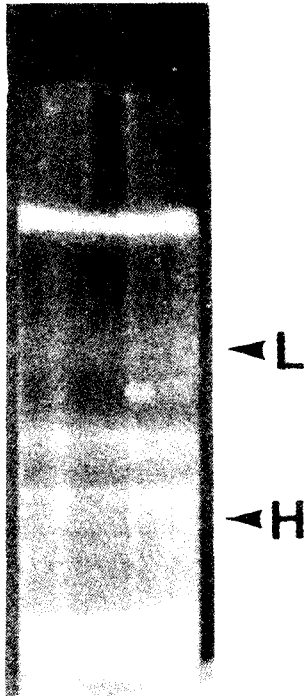


Fig. 5. Fractionation of plaice fragmented sarcoplasmic reticulum by a discontinuous gradient of 27~45% sucrose. L, light SR fraction; H, heavy SR fraction.

Table 1. Changes in light sarcoplasmic reticulum (LSR) Ca²⁺-ATPase activity of the plaice treated by electrical stimulation (110V/60 Hz). Ca²⁺-ATPase was measured in Tris-HCl (pH 7.2) containing 0.1 mM CaCl₂, 0.1M KCl, 1 mM MgCl₂ and 1mM ATP at 25°C

Electrical stimulation time (sec)	Ca ²⁺ -ATPase activity (μmolPi/min · mg)
0	0.367 ± 0.035
15	0.248 ± 0.021
35	0.193 ± 0.028
60	0.173 ± 0.031

Table 2. Changes in heavy sarcoplasmic reticulum (HSR) Ca²⁺-ATPase activity of the plaice treated by electrical stimulation (110V/60 Hz). Ca²⁺-ATPase was measured in Tris-HCl (pH 7.2) containing 0.1 mM CaCl₂, 0.1 M KCl, 1 mM MgCl₂ and 1mM ATP at 25°C

Electrical stimulation time (sec)	Ca ²⁺ -ATPase activity (μmolPi/min · mg)
0	0.102 ± 0.021
15	0.100 ± 0.026
35	0.085 ± 0.018
60	0.080 ± 0.024

근원섬유내의 Ca²⁺을 근소포체로 받아들이는 통로는 LSR에 존재하고 있어 LSR이 전기자극에 영향을 받아 LSR의 Ca²⁺-ATPase 활성이 점차 소실한 것으로 생각되며 근원섬유의 Ca²⁺ 농도는 전기자극에 의하여 증가될 것으로 판단된다.

4. 근원섬유의 ATPase 활성 및 Ca²⁺-감수성의 변화
 전기자극에 의한 넙치의 rigor mortis의 가속화는 ATP의 소비와 깊은 상관관계가 있으며 (Knos and Taylor, 1987; 이 등, 1995), actin과 myosin간의 해리가 ATP의 소실로 차단되기 때문에 (Pate and Brokaw, 1980), 근육내의 근원섬유는 actomyosin의 형태로 유지되어 사후경직을 가속화 시킨다고 생각된다. 그러나 근원섬유의 actomyosin 복합체는 Ca²⁺이 actin과 myosin간의 결합에 있어서 방아쇠 역할을 하기 때문에 근육에서 Ca²⁺의 농도조절능을 가지고 있는 근소포체를 배제하고는 설명하기가 어렵다. 근소포체는 전기자극에 의해 근원섬유로 방출된 Ca²⁺을 근소포체로 받아들이는 Ca²⁺ 수용능이 저하되므로써 근원섬유의 Ca²⁺ 농도를 상승시키게 되고, 이 Ca²⁺이 troponin C에 결합하여 이완시 myosin과 actin의 결합을 저해하고 있는 troponin I의 위치를 이동시킴으로써 actin과 myosin간의 sliding theory에 의하여 actomyosin complex가 형성되어 경직된다. 그리고 근원섬유는 일정농도 이상의 Ca²⁺을 유지하고 있기 때문에 근육은 수축-이완을 반복하지 못하고 계속 경직된 상태를 유지하고 있다고 생각된다. 그러나 actomyosin complex가 형성되기 위해서는 근소포체에서 근원섬유로 방출된 Ca²⁺에 의하여 활성화되는 근원섬유의 ATPase가 actomyosin 복합체를 형성하는데 어떻게 작용한다든가, 또는 전기자극에 의하여 근원섬유가 영향을 받는지를 살펴볼 필요가 있다.

전기자극시간을 달리한 넙치 근원섬유에 있어서 Ca²⁺이 존재할때 Mg²⁺-ATPase 활성의 변화를 Fig. 6에 나

타내었다. 즉살한 넙치 근원섬유의 Mg^{2+} -ATPase 활성은 $0.726 \pm 0.024 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$ 였으며, 15초 전기자극은 $0.890 \pm 0.039 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$, 35초 전기자극은 $0.910 \pm 0.022 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$ 및 60초 전기자극은 $0.906 \pm 0.068 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$ 으로 전기자극한 것이 즉살에 비하여 높은 ATPase 활성을 나타내었다. 그리고 전기자극 시간을 달리하여 근육을 5°C 에 저장하면서 추출한 근원섬유의 ATPase 활성을 측정된 결과, 저장 5시간 부터 10시간 사이에 ATPase 활성은 현저하게 감소하였으며, 그 이후로 저장시간이 길어짐에 따라 서서히 저하하였다. ATPase 활성의 저하는 60초 전기자극이 가장 빠르게 진행되었으며, 그 다음으로 35초, 15초 순으로 나타났다. 그러나 즉살한 넙치의 근원섬유에 있어서는 저장 10시간 경과 후에 다소 감소하는 경향을 보이다가 그 이후 큰 변화를 나타내지 않았다.

Fig. 7은 근원섬유에 Ca^{2+} 이 첨가되지 않았을때의 Mg^{2+} -ATPase 활성을 나타내었다. 즉살 및 전기자극 15초, 35초, 60초 가하였을때 각각 $0.084 \pm 0.012 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$, $0.143 \pm 0.011 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$, $0.158 \pm 0.011 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$, 및 $0.140 \pm 0.022 \mu\text{mol Pi/min} \cdot \text{mg}$ 으로 나타나 즉살에 비하여 전기자극한 것의 Mg^{2+} ($-Ca^{2+}$)-ATPase 활성이 높았으며 35초 전기자극한 것이 가장 높았다. 또한 5°C 에 저장 중 ATPase 활성을 살펴본 결과, 전기자극의 경우 활성은 감소하는 경향을 보였으며, 즉살은 치사 직후와 비교하여 거의 차이를 나타내지 않았다.

이와 같이 전기자극처리에 의한 Mg^{2+} ($+Ca^{2+}$)-ATPase 활성의 증가는 근원섬유를 actomyosin의 형태로 존재하게하여 근육을 경직의 상태로 만든다고 여겨진다. 또한 ATPase 활성은 근세포내의 Ca^{2+} 농도변화에 민감하게 반응하기 때문에 근육내의 Mg^{2+} -ATPase를 활성화시키는 Ca^{2+} 의 농도가 전기자극에 의하여 변화되었기 때문이라고 생각된다. Watabe et al. (1989)은 0°C 에 저장한 넙치의 Mg^{2+} -ATPase가 $5\sim 10^\circ\text{C}$ 에 저장한 넙치의 Mg^{2+} -ATPase 활성에 비하여 높다고 하였으며 이것은 0°C 에서 근육내의 Ca^{2+} 의 농도변화와 밀접한 관련이 있다고 하였다. 그리고 저장시간이 연장됨에 따라서 ATPase 활성의 저하는 최대 경직에 달한 이후 ATP 및 glycogen의 분해로 생성된 lactic acid가 pH를 저하시킴으로서 ATPase가 영향을 받아 저하된 것이라 여겨진다. Kamal et al. (1991)은 정어리의 경우, 저장 중 ATPase 활성이 최대 경직에 도달한 이후 저하된다고 하였으며, Watabe et al. (1989)은 근원섬유의 ATPase 활성은 pH에 대한 의존성이 크다고 보고하였다. 일정시간 경과 후에는 전

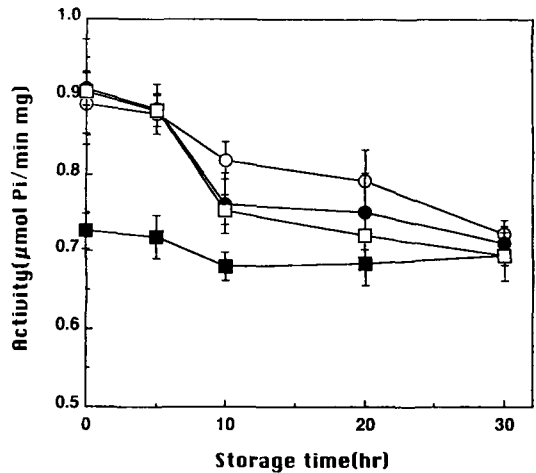


Fig. 6. Changes in Mg^{2+} ($+Ca^{2+}$)-ATPase activity of plaice myofibrils prepared by electrical stimulation (110V/60Hz) during storage at 5°C . Symbols are the same as Fig. 3.

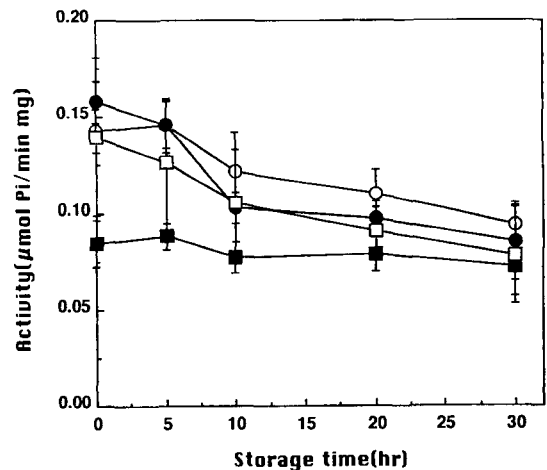


Fig. 7. Changes in Mg^{2+} ($-Ca^{2+}$)-ATPase activity of plaice myofibrils prepared by electrical stimulation (110V/60Hz) during storage at 5°C . Symbols are the same as Fig. 3.

기자극을 가한 것이 즉살에 비하여 낮은 ATPase 활성을 나타내었는데, 이것은 전기자극을 가한 것이 최대 경직에 빠르게 도달하게 되고, 이때의 급격히 소모된 ATP의 분해와 더불어 lactic acid가 생성되기 때문에 lactic acid가 느리게 생성되는 즉살에 비하여 pH가 현저하게 저하하여 ATPase 활성에 영향을 미쳤기 때문이라 생각된다.

Table 3은 넙치 근원섬유의 Ca^{2+} -감수성에 대한 전기자극처리의 영향을 살펴본 것이다. 전기자극처리한 넙치 근원섬유의 Ca^{2+} -감수성은 즉살의 경우와 비교하여

차이를 나타내지 않았으며, 자극 후 저장시간에 따라서도 유의성있는 변화를 보이지 않았다. 근육 단백질시험에 있어서 Ca^{2+} -감수성은 근원섬유의 조절계단백질의 특성을 알아보기 위한 지표로 많이 행해졌다 (Watabe et al., 1991; Hashimoto and Arai, 1984). Ca^{2+} -감수성은 온도의존성이 대단히 크다고 보고되고 있으며 (Hashimoto and Arai, 1984), 어류에 있어서 사육수온을 변화시키면 환경수온의 변화에 적응하기 위하여 조절계단백질의 특성이 변화된다 (Guo and Watabe, 1993; Penny and Goldspink, 1981). 또한 잉어 육편을 49°C에서 arai처리하면 육편이 단단해지며, 이를 냉각하여도 Ca^{2+} -감수성이 현저하게 저하되어 육이 actomyosin 상태에서 해리된 상태로 돌아가는 것을 저해한다 (Watabe et al., 1990). 이와 같은 Arai의 경직기구는 Okitani et al. (1983)은 49°C의 온도범위에서 tropomyosin과 troponin 등과 같은 조절계단백질이 비가역적으로 실패되기 때문이라고 하였다. 그러나 본 실험의 결과에서는 전기자극처리에 의하여 근원섬유의 Ca^{2+} -감수성이 차이를 나타내지 않는 것으로 보아 전기자극에 의한 조절계단백질의 영향은 별로 없는 것으로 판단된다.

이상의 결과로 판단하건데, 전기자극에 의하여 근소포체의 Ca^{2+} 수용능의 소실로 근원섬유로 방출된 Ca^{2+} 이 근원섬유의 Mg^{2+} -ATPase를 활성화시켜 근수축을 촉진하게 되고, LSR의 Ca^{2+} -ATPase 활성이 현저하게 저하하여 수축에 사용된 Ca^{2+} 을 근소포체내로 재흡수하는 힘이 낮기 때문에 지속적으로 수축이 진행되는 것으로 판단된다. 그러나 전기자극에 의해서도 HSR과 관련된 막부분의 손상은 적기 때문에 Ca^{2+} 의 누출은 계속 진행된다고 여겨진다.

요 약

생선회의 육질을 향상시키는 연구의 일환으로 어육에 있어서 전기자극에 의한 근수축의 증대원인을 밝히고자 전기자극처리가 근소포체의 특성에 미치는 영향을 살펴 보았다. 넙치 근소포체의 Ca^{2+} -ATPase는 50°C 이상의 온도에서 실패되었으며, 전기자극시킨 경우 즉살한 것에 비하여 낮은 Ca^{2+} -ATPase 활성을 나타내었다. 근육을 5°C에 저장하였을 때 시간이 길어질수록 근소포체의 Ca^{2+} -ATPase는 치사 직후에 비하여 저하되는 경향을 보였으며, 전기자극 시간이 길어질수록 빠르게 저하되었고, 35초와 60초간 전기자극시킨 것은 비슷한 저하속도를 나타내었다. SDS-PAGE 결과, 97kDa과 68kDa의 성분이 주된 구성단백질이었으며, 전기자극시킨 것은 즉살시킨 것에 비하여 97kDa의 성분이 감소되었고 전기자극 시간이 길어질수록 현저하였다. LSR은 27~32% sucrose 농도에서, HSR은 38~45%의 농도에서 얻을 수 있었다. LSR의 Ca^{2+} -ATPase는 전기자극에 의하여 실패되었으며, HSR은 큰 영향을 받지 않았다. 근원섬유의 Mg^{2+} -ATPase 활성은 전기자극처리에 의하여 증가되었으며 자극 시간이 길어질수록 저장 중 $Mg^{2+} (+Ca^{2+})$ -ATPase 활성의 저하는 즉살한 것에 비하여 빠르게 진행되었다. $Mg^{2+} (-Ca^{2+})$ -ATPase 활성의 변화는 $Mg^{2+} (+Ca^{2+})$ -ATPase 활성과 비슷한 경향을 나타내었으며, 전기자극한 것은 저장 중 저하되었으나 즉살한 것은 치사 직후와 비교하여 큰 차이를 나타내지 않았다. 근원섬유의 Ca^{2+} -감수성은 즉살과 전기자극한 것 사이에 차이를 나타내지 않았으며, 저장 중에도 변화를 보이지 않았다.

Table 3. Changes in Ca^{2+} sensitivity of myofibrils prepared from plaice muscle by electrical stimulation (110V/60Hz) during storage at 5°C

Storage time (hr)	Ca^{2+} sensitivity (%)			
	No stimulation	15 sec.	35 sec.	60 sec.
0	88.3 ± 2.0	83.8 ± 1.9	82.6 ± 1.3	84.5 ± 2.0
5	88.5 ± 1.2	83.2 ± 1.9	83.4 ± 1.7	85.5 ± 1.9
10	88.5 ± 1.4	85.0 ± 2.5	86.4 ± 1.8	87.2 ± 0.6
20	88.2 ± 1.6	86.0 ± 2.0	86.9 ± 1.3	87.2 ± 0.6
30	89.5 ± 1.3	86.9 ± 1.1	87.9 ± 0.5	88.7 ± 1.1

The Ca^{2+} -sensitivity was calculated from the following equation:

$$[1 - \frac{[Mg^{2+} (+Ca^{2+})-ATPase \text{ activity} / Mg^{2+} (-Ca^{2+})-ATPase \text{ activity}]}{100}] \times 100.$$

참 고 문 헌

Cho, Y. J. and Y. Y. Kim. 1993. Early changes after death of plaice muscle: 2. Temperature dependency on physicochemical and rheological properties. Bull. Korean Fish. Soc., 26 (1), 1~7 (in Korean).

Davey, D.L. and K. V. Gilbert. 1974. The mechanisms of cold induced shortening in beef muscle. J. Food Technol., 9, 51~55.

Ebashi, S. and M. Endo. 1968. Calcium ion and muscle contraction. Prog. Biophys. Mol. Biol., 18, 123~128.

Fiske, C.H. and Y. Subbarow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem., 66, 375~380.

Greaser, M.L., R.G. Cassens and W.G. Hoekstra. 1967. Changes in oxalate stimulated calcium accumulation in particulate fractions from post mortem muscle. J.

- Agric. Food Chem., 15, 1112~1119.
- Greaser, M.L., R.G. Cassens, W.G. Hoekstra and E.J. Briskey. 1969. The effects of pH-temperature treatments on the calcium -accumulating ability of purified sarcoplasmic reticulum. J. Food Sci., 34, 633~636.
- Guo, X. F. and S. Watabe. 1993. ATPase activity and thermostability of actomyosin from thermally acclimated carp. Nippon Suisan Gakkaishi, 59 (2), 363~369.
- Hashimoto, A. and K. Arai. 1984. Temperature dependence of Mg-ATPase activity and its Ca-sensitivity of fish myofibrils. Bull. Japan Soc. Sci. Fish., 50 (5), 853~864.
- Hwang, G. C. 1991. Studies on muscle proteins of thermally acclimated carp. Ph. D., 동경대학 농학부 박사청구 논문.
- Johnston, I.A. and T.W. Moon. 1980. Exercise training in skeletal muscle of brook trout. J. Exp. Biol., 87, 177~194.
- Kamal, M., S. Watabe and K. Hashimoto. 1991. Postmortem changes in myofibrillar ATPase of sardine ordinary and dark muscle. Nippon Suisan Gakkaishi, 57 (6), 1177~1184.
- Kim, J.H., N.G. Lee, Y.Y. Kim, K.W. Lee and Y.J. Cho. 1993. Early changes after death of plaice muscle. 3. Effect of killing methods on changes in content of ATP and its related compounds and lactate. Bull. Korean Fish. Soc., 26 403~408 (in Korean).
- Knos, A. C. and D. G. Taylor. 1987. Effect of electrical stimulation and temperature on biochemical changes in beef muscle. Meat Sci., 19, 207~216.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227, 680~682.
- Lee, N. G., M. H. Yang and Y. J. Cho. 1995. Effects of electrical stimulation on physicochemical and rheological properties of plaice, *Paralichthys olivaceus* muscle at early period after death. Bull. Korean Fish. Soc., 28 (1), 23~30 (in Korean).
- Lowry, O.H., N.J. Rosebough, A.L. Farr, R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265~275.
- Okitani, A., S. Kodama, S. Shigemori, T. Ito, T. Nishimura, T. Fukazawa and H. Kato. 1983. The relationship between an optimal condition for cooking of carp "Arai" and heat contracture. Bull. Japan Soc. Sci. Fish., 49 (6), 907~911 (in Japanese).
- Pate, E. F. and C. J. Brokaw. 1980. Cross-bridge behavior in rigor muscle. Biophys. Struct. Mech., 7, 51~63.
- Perry, S. V. and T. C. Grey. 1956. A study of the effects of substrate concentration and certain relaxing factors on the magnesium activated myofibrillar adenosine triphosphatase. Biochem. J., 64, 184~192.
- Suzuki, A., A. Okamoto, Y. Ikeguchi and M. Saito. 1993. Pressure induced Ca²⁺ release from rabbit sarcoplasmic reticulum. Biosci. Biotech. Biochem., 57 (5), 862~863.
- Ushio, H. and S. Watabe. 1993. Effects of temperature acclimation on Ca²⁺-ATPase of the carp sarcoplasmic reticulum. J. Exp. Zool., 265, 9~17.
- Ushio, H. and S. Watabe. 1994. Carp sarcoplasmic reticulum changes due to heat treatment. J. Food Sci., 59 (1), 80~84.
- Ushio, H., S. Watabe, M. Iwamoto and K. Hashimoto. 1991. Ultrastructural evidence for temperature-dependent Ca release from fish sarcoplasmic reticulum during rigor mortis. Food Struct., 10, 267~275.
- Watabe, S., G. C. Hwang, H. Ushio, H. Yamanaka, K. Hatae and K. Hashimoto. 1991. Short thermal treatment effect on carp myofibril and sarcoplasmic reticulum: Possible mechanisms in rigor mortis acceleration by arai treatment. J. Food Sci., 56 (3), 653~656.
- Watabe, S., H. Ushio, M. Iwamoto, H. Yamanaka and K. Hashimoto. 1989. Temperature-dependency of rigor mortis of fish muscle: Myofibrillar Mg²⁺-ATPase activity and Ca²⁺ uptake by sarcoplasmic reticulum. J. Food Sci., 54, 1107~1110, 1115.
- Watabe, S., M. Kamal and K. Hashimoto. 1991. Postmortem changes in ATP, creatine phosphate and lactate in sardine muscle. J. Food Sci., 56, 151~153.
- Watabe, S., H. Ushio, M. Iwamoto, H. Yamanaka and K. Hashimoto. 1989. Temperature dependency of rigor mortis of fish muscle: Myofibrillar Mg²⁺-ATPase activity and Ca²⁺ uptake by sarcoplasmic reticulum. J. Food Sci., 54 (5), 1107~1110.
- 윤성호. 1996. 전기자극이 넙치육의 사후조기의 물리화학적 및 물성적 변화에 미치는 영향. 부산수산대학교 식품공학과 석사학위논문.

1998년 2월 7일 접수

1998년 7월 8일 수리