



## Mitochondrial Malate Dehydrogenase 활성을 이용한 냉장계육과 냉동계육의 판별법에 관한 연구

이치호\* · 서정희<sup>1</sup> · 이지영 · 류경희  
건국대학교 축산대학 축산가공학과, <sup>1</sup>한국소비자보호원

### Study on the Method of Differentiating between Fresh and Frozen Chicken Meat by Using Mitochondrial Malate Dehydrogenase Activity

Chi-Ho Lee\*, Jung-Hee Seo<sup>1</sup>, Ji-Young Lee and Kyoung-Hee Ryu  
Dept. of Animal Products Science, Faculty of Animal Life Science, Konkuk University  
<sup>1</sup>Korea Consumer Protection Board

#### Abstract

This study was performed to develop the method of differentiation fresh and frozen meat by using the measurement of mitochondrial malate dehydrogenase. The principle of this experiment is based on the fact the enzyme proteins associated with mitochondria membrane could be released by freezing. The methods were studied by measurements of protein concentration of meat press juice, WHC (water-holding capacity), drip loss and mitochondrial malate dehydrogenase enzyme activity. Samples were stored at 4°C and -18°C during storage period, respectively. Protein concentration of meat press juice was ranged from 8.5 mg/mL to 12.7 mg/mL and increased by freezing below at -18°C ( $p < 0.05$ ). The WHC was not significantly different between fresh meat and frozen chicken meat ( $p > 0.05$ ). The amount of drip loss of fresh and frozen chicken meat at 4°C and -18°C was not significantly different ( $p > 0.05$ ). Mitochondrial malate dehydrogenase activity of frozen meat (-18°C) was significantly higher ( $p < 0.05$ ) than that of fresh meat. Also, enzyme activity of frozen meat was maintained at the same level after 3 minutes reaction. But fresh meat had not this reaction. From these results, it suggests that mitochondrial malate dehydrogenase can be used as a promising enzyme to differentiate between fresh and frozen meat.

Key words : chicken meat, frozen, fresh, mitochondrial malate dehydrogenase

#### 서론

닭고기 소비는 증가하는 추세에 있으며 이에 상응하여 닭고기 수입도 늘고 있다. 1997년 7월 1일 닭고기 수입이 전면 개방됨에 따라 닭고기가 수입되기 시작한 이래로 1997년 대비 2003년 닭고기 수입량은 무려 447%나 증가한 수치를 기록했다. 이는 1997년에 비해 2003년의 닭고기 소비량이 22% 증가한 것에 비한다면 수입닭고기 시장의 규모가 급격히 팽

창했음을 시사한다(Hyundai Yanggye, 2003). 현재 닭고기는 냉동상태로만 수입되고 있다. 수입육은 장기간 동결상태로 보관되기 때문에 지질의 산패, 단백질의 용해성의 감소, 근섬유 단백질들의 변성, 색택의 변화, 해동에 따른 드립의 손실로 인한 조직의 경화 등이 일어나며 이러한 요인들은 육의 품질의 저하를 가져온다(Law et al., 1967). 그러나 수입육은 경제적 이윤 측면에서 국내산보다 우위에 있기 때문에 수입육 중 일부가 신선 냉장육으로 둔갑해 판매되는 경우가 적지 않다. 이러한 피해를 방지하기 위해 냉장계육과 냉동계육의 판별법이 요구된다. 현재 육질의 저하를 판별하기 위해서 동결 저장 중 육의 보수성, 용해성 및 점도와 전기영동에 의한 근섬유 단백질들의 변화 등이 조사되었고(Wagner and Anon,

\* Corresponding author : Chi-Ho Lee, Dept. of Animal Products Science, Faculty of Animal Life Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-450-3681, Fax: 82-2-453-1948. E-mail: leech@konkuk.ac.kr

1986) 동결에 의해 발생된 근섬유 단백질인 미오신 분자의 변성 정도를 항원-항체 반응특이성 차이로 측정된 면역분석법이 연구 되어져 왔다(Lannari and Zaritzky, 1991). 또한 동결에 의해서 미토콘드리아와 라이소좀 과립구 등이 파괴되는 것으로 알려져 있는데(Chen et al., 1988), 미토콘드리아와 라이소좀에 존재하는 효소들이 동결저장에 의해 근장으로 유출(Dobraszczyk et al., 1987)되는 것을 이용하여 이때 유출되는 AC(aconitase), FU(fumarase), GDH(glutamatedehydrogenase), GPT(glutamate puruvic transaminase), GOT(glutamate oxaloacetic transaminase)와 MDH(malate dehydrogenase)의 활성을 측정, 비교함으로써 동결육과 신선 냉장육을 판별하는 방법이 연구되어졌다(Grau and Hamm, 1953; Jeong, 1997). 본 연구는 계육에 있어서 저장기간과 동결온도에 따른 냉장·냉동육 간의 단백질 함량을 측정하고, 근육 세포 내에 존재하는 mitochondrial malate dehydrogenase의 활성 특성과 저장 기간별, 온도 별 활성의 차이점을 도출하여 육의 냉장·냉동 유무를 판별할 수 있는지 그 적용 가능성을 모색하기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

본 실험의 공시재료는 닭을 구입, 도계하여 냉장상태로 운반, 닭고기 대퇴부위로부터 과도한 지방과 결합 조직을 제거하여 실험에 공시하였다. 시료는 각각 10 g 씩 시료를 처리하여 폴리프로필렌 봉지에 넣어 진공처리한 후, 4°C 냉장고와 -18°C 냉동고에 넣어 보관하였다. 냉동 계육을 상온 25°C에서 3시간 동안 해동한 후 실험에 공시하였다. 본 실험을 위해 제작된 착즙기에 1.5 g의 육(대퇴부위)에 압력(8 kg/cm<sup>2</sup>)을 가하여 발생한 육즙을 멸균된 피펫으로 회수하여 각각의 단백질 농도와 mitochondrial malate dehydrogenase 활성측정의 시료로 사용하였다. 여기에 사용된 시약은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하였다.

### 단백질 함량

육즙 내에 존재하는 단백질 함량을 조사하기 위해 Markwell법(Winger and Fennema, 1976)에 의거하여 측정하였다.

### 보수력 측정

보수력의 측정은 filter paper press 법(Grau and Hamm, 1953)을 응용하여 측정하였다.

### 육즙 손실량

시료를 10 g 측정하여 진공처리한 후, 냉장과 냉동 상태로

15일간 보관하면서 냉장으로 인해 발생하는 육즙손실량을 백분율(%)로 나타내었다.

### Mitochondrial Malate Dehydrogenase 활성 측정

Mitochondrial malate dehydrogenase의 생체 내 citric cycle 상에서의 작용은 아이소자임인 mitochondrial malate dehydrogenase의 냉장, 냉동 육에서 유출되는 드립의 저장 기간 및 온도별 효소 활성의 특이성을 도출하기 위하여 효소활성을 측정하였고, 그 분석 방법은 Siegel 등의 방법(Englard and siegel, 1969)을 수정해서 이용하였다.

### 통계분석

이상의 실험에서 얻어진 결과는 SAS(Statistic Analytical Institute, Cary, NC, 1988)의 GLM(general Linear Model)방법으로 분석하였고 처리 평균간의 비교를 위해 Duncan의 Multiple Range Test가 이용되었다.

## 결과 및 고찰

### 냉장 및 냉동계육 육즙 내의 단백질 함량

Table 1에서 나타낸 바와 같이 육즙 내의 단백질의 함량은 8.5 mg/mL에서 12.7 mg/mL 범위로 나타났다. 동일 저장 기간의 냉장과 냉동저장 시 단백질 함량은 냉동 계육의 경우가 더 높은 수치를 나타내었지만 유의적 차이는 없었다(p>0.05).

### 냉장 및 냉동계육의 보수력 변화

냉장육과 냉동육의 보수력의 변화를 Table 2에 나타내었다. 냉장육의 보수력은 저장 기간 1일 60.5%에서 15일 33.9%로 감소하였고, 냉동상태(-18°C)에서도 모두 유사한 정도로 저장 기간에 따라 감소하였으며 유의적 차이는 없었다(p>0.05). 15일 저장 후에 측정된 보수력에서 냉장육은

Table 1. The protein concentration of fresh and frozen chicken meat

Storage period (days)	Protein concentration (mg/mL)	
	4°C	-18°C
1	8.4±0.45 <sup>a,c</sup>	8.9±0.37 <sup>c</sup>
3	9.7±0.37 <sup>b</sup>	9.5±0.46 <sup>bc</sup>
7	9.4±0.42 <sup>b</sup>	9.9±0.40 <sup>b</sup>
15	11.7±0.40 <sup>Ba</sup>	12.7±0.45 <sup>Aa</sup>

\* Mean±S.D. in triplication.

<sup>a-c</sup> Means with different superscript in the same column are significantly differ at p<0.05.

<sup>AB</sup> Means with different superscript in the same row are significantly differ at p<0.05.

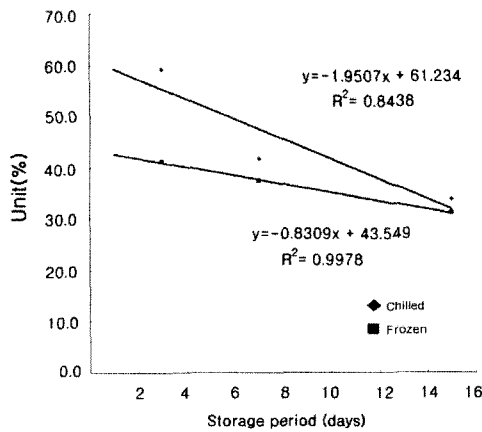
**Table 2. The changes of water-holding capacity (WHC) of fresh and frozen chicken meat**

Storage period (days)	WHC(%)	
	4°C	-18°C
1	60.5±2.81 <sup>*a</sup>	58.7±0.88 <sup>a</sup>
3	59.3±1.79 <sup>Aa</sup>	41.2±4.80 <sup>Bb</sup>
7	41.8±2.95 <sup>b</sup>	37.5±6.12 <sup>bc</sup>
15	33.9±5.89 <sup>b</sup>	30.1±1.78 <sup>c</sup>

\* Mean±S.D. in triplication.

<sup>a-c</sup> Means with different superscript in the same column are significantly differ at p<0.05.

<sup>AB</sup> Means with different superscript in the same row are significantly differ at p<0.05.



**Fig. 1. Changes of WHC of chilled meat and frozen meat.**

33.9%로 냉동육의 30.1%보다 높은 보수력을 유지하였다. 저장 기간에 따른 보수력의 변화는 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 그 저장 온도에 관계없이 모두 감소하는 경향을 보였다. 이 실험 결과는 Miller 등(1962)이 동결에 인하여 육의 보수력이 저하된다는 실험 결과와 Law 등(1967)이 육의 동결저장 기간이 길어짐에 따라 보수성이 저하된다고 보고한 실험 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

**냉장 및 냉동계육의 육즙손실량**

냉장계육 및 냉동계육의 육즙손실량의 변화를 Table 3에 나타내었다. 육즙손실량은 저장기간이 경과함에 따라 증가하였으며, 유의적 차이는 없었다(p>0.05). 냉장계육과 냉동계육을 비교하였을 때, 냉장계육의 육즙손실량이 냉동계육의 육즙손실량보다 낮은 경향을 나타냈다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이 저장 기간이 길어짐에 따라 냉장육과 냉동육의 육즙손실량의 차이는 점차 감소하였다. Bhattacharya 등(1998)은 동결저장기간이 경과할수록 드립 감량이 증가한다고 하였고, Winger와 Fennema(1976)는 동결저장기간이 경과할수록 해동

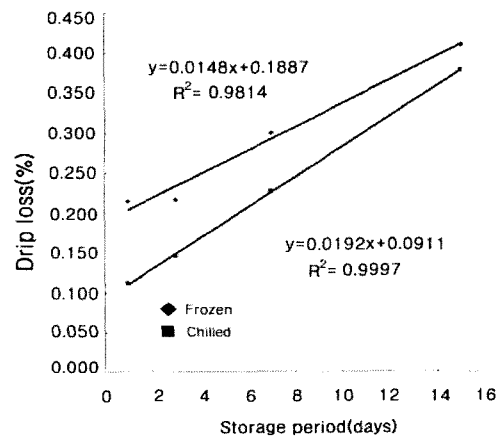
**Table 3. The changes of drip loss of fresh and frozen chicken meat**

Storage period (days)	Drip Loss (%)	
	4°C	-18°C
1	0.11±0.013 <sup>*Bc</sup>	0.21±0.012 <sup>Ab</sup>
3	0.14±0.032 <sup>bc</sup>	0.28±0.083 <sup>ab</sup>
7	0.22±0.054 <sup>b</sup>	0.30±0.064 <sup>ab</sup>
15	0.37±0.043 <sup>Ba</sup>	0.41±0.085 <sup>Aa</sup>

\* Mean±S.D. in triplication.

<sup>a-c</sup> Means with different superscript in the same column are significantly differ at p<0.05.

<sup>AB</sup> Means with different superscript in the same row are significantly differ at p<0.05.



**Fig. 2. Changes of drip loss of chilled meat and frozen meat.**

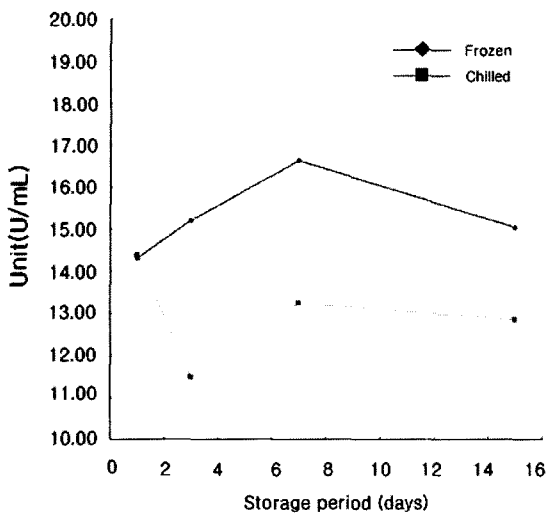
감량과 총 손실량이 증가한다고 하였다.

**Mitochondrial Malate Dehydrogenase 효소 활성**

냉장계육과 냉동계육의 육즙 내의 미토콘드리아 malate dehydrogenase의 활성을 Table 4에 나타내었다. 표에서 나타나는 바와 같이 냉장계육과 냉동계육 간의 mitochondrial malate dehydrogenase의 분당 활성도는 냉장저장육보다 냉동 저장온도(-18°C)에서 모두 유의성 있게 (p<0.05) 높은 효소의 활성을 나타내었다. 실험 군의 육즙 내의 mMDH의 활성은 5분간 흡광도 변화량을 조사함으로써 계산되었다. 효소반응 개시 3분 후에 동결 저장육의 효소 활성이 떨어지는 것을 확인할 수 있었고, 5분 반응 후에는 그 효소의 활성을 발견할 수 없었다. 실험결과 냉동육의 경우는 5분 반응 후 활성이 정지되는 것으로 알 수 있는 반면 냉장계육군은 5분 후에도 효소 활성이 지속되는 것으로 나타났다. Bendall과 Duve에 따르면 freezing은 malate dehydrogenase 활성을 유도하여, mitochondria 내 이 효소의 binding site로부터 분리되는 것을

**Table 4. The changes of mitochondrial malate dehydrogenase (mMDH) activity of fresh and frozen chicken meat**

Storage period (days)	mMDH activity (U/mL)	
	4°C	-18°C
1	14.38	14.32
3	11.47	15.20
7	13.24	16.64
15	12.85	15.03



**Fig. 3. Changes of mMDH activity of chilled meat and frozen meat.**

야기한다고 하였다(Bendall, 1960). Fig. 3에 나타낸 바와 같이 이들 두 군 간의 효소 활성의 지속시간으로 냉장계육 및 냉동계육을 판별하는데 적용 가능한 것으로 사료되었다.

### 요 약

본 연구는 미토콘드리아 malate dehydrogenase 활성을 이용하여 냉장계육과 냉동계육의 판별법을 개발하기 위하여 실시되었다. 단백질의 함량은 8.5 mg/mL에서 12.7 mg/mL 범위로 나타났으며, 동일 저장 기간 동안의 온도 별 차이점은 모든 부위에서 1일에서 15일 저장기간이 길어짐에 따라 단백질 함량이 늘어나는 경향을 보인다. 냉장계육의 보수력은 저장 기간 1일 60.5%에서 15일 33.9%로 감소하였으며 유의적 차이는 없었다( $p>0.05$ ). 냉장계육과 냉동계육은 저장 기간이 길어짐에 따라 육즙손실량이 증가하였으며 유의적 차이는 없었다( $p>0.05$ ). 냉장계육의 육즙손실량이 냉동계육의 육즙손실량보다 낮게 나타났다. 냉장계육과 냉동계육 간의 mitochondrial malate dehydrogenase의 활성은 냉동계육이 냉장계

육보다 효소활성이 높게 나타났다. 따라서 본 연구결과로부터 mitochondrial malate dehydrogenase의 활성 여부로 계육의 냉장, 냉동 유무를 판별하는데 유효한 지표로 사용 가능한 것으로 사료되었다.

### 참고문헌

1. Bendall, B. B. and DeDeve. C. (1960) *Biochem. J.* **74**, 444.
2. Bhattacharya, M., Hanna, M. A., and Mandigo, R. W. (1988) Effect of frozen storage conditions on yields, shear strength and color of ground beef patties. *J. Food Sci.* **53**, 690-701.
3. Chen, M. T., Yang, W. D., and Guo, S. L. (1988) Differentiation between fresh beef and thawed frozen beef. *Meat Sci.* **24**, 223-227.
4. Dobraszczyk, B. T., Atkins, A. G., and Jeronimidis, G. (1987) Fracture toughness of frozen meat. *Meat Sci.* **21**, 25-28.
5. England, S. and Siegel, L. (1969) Mitochondrial L-malate dehydrogenase of beef heart, *Methods of Enzymology* **13**, 99-106.
6. Grau, R. and Hamm, R. (1953) Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbindung in muskel. *Naturwissen schaften* **4**, 29-32.
7. N. N. (2003) *Hyundai Yanggye*, May, pp. 41-47.
8. Jeong, S. K. (1997) Measuring DNA damage in beef muscle caused by refrigeration, freezing and gamma-irradiation by the COMET assay. *MS thesis*, Konkuk Univ., Seoul, Korea.
9. Lannari, M. C. and Zaritzky, N. E. (1991) Effect of packaging and frozen storage temperature on beef pigments. *Int. J. Food Sci & Technol.* **26**, 629-633.
10. Law, H. M., Yang, S. P., and Mullis, A. M. (1967) *J. Food Sci.* **32**, 637-641.
11. Lee, J. W. (1995) Monitoring the degree of the frozen denaturation of skeletal muscle myosin by ELISA method. *Master thesis*, Konkuk Univ., Korea.
12. Miller, W. O., Saffle, R. L., and Zikle, S. B. (1962) *Food Technol.* **16**, 72-78.
13. Moon, G. I., Jung, I. C., and Moon, Y. H. (1994) Physicochemical properties and palatability of beef during storage at 1°C after thawing. *Kor. J. Food Sci.* **14**, 85-90.
14. N. A. R. Markwell, S. M., Haas, L. L., and Tolbert, N. E. (1978) A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples.

- Anal. Biochem.* **87**, 206-210.
15. Gottesmann, P. and Hamm, R. (1983) New biochemical methods of differentiating between fresh meat and thawed, frozen meat. *Fleischwirtsch.* **63**(2), 219-221.
  16. SAS (1988) SAS/STAT User's Guide, Release 6.03 ed., SAS Institute, Cary, NC, USA.
  17. Wagner, J. R. and Anon, M. C. (1985) Effect of freezing rate on the denaturation of myofibrillar proteins. *J. Food Technol.* **20**, 735-744.
  18. Wagner, J. R. and Anon, M. C. (1986) Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle. I. Myofibrillar ATPase activity and differential scanning calorimetric studies. *J. Food Technol.*, **21**, 9-18.
  19. Wagner, J. R. and Anon, M. C. (1986) Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle. I. Influence on solubility, viscosity and electrophoretic behaviour of myofibrillar proteins. *J. Food Technol.* **21**, 547-558.
  20. Winger, R. J. and Fennema, O. (1976) Tenderness and water holding properties of beef muscle as influence by freezing subsequent storage at -3 or 15 I. *J. Food. Sci.*, **41**, 1443-1447.

---

(2004. 5. 15. 접수 ; 2004. 6. 9. 채택)