



사후시간 경과가 한우 거세우 배최장근의 pH, 온도, R-value 및 단백질 분해효소 활성화에 미치는 영향

김진형* · 김학균¹ · 박범영 · 조수현 · 황인호 · 김동훈 · 이종문
농촌진흥청 축산연구소 · ¹단양군 농업기술센터

Changes in pH, Temperature, R-values and Calpain Activity of *M. longissimus* from Hanwoo Steer during Rigor Development

Jin-Hyoung Kim*, Hak-Kyun Kim¹, Beom-Young Park, Soo-Hyun Cho,
In-Ho Hwang, Dong-Hun Kim, and Jong-Moon Lee
National Livestock Research Institute, RDA
¹Danyang Agrotechnology

Abstract

The changes in pH, temperature, R-values and μ -calpain and its inhibitor activity of *M. longissimus* from Hanwoo steer were investigated at 1, 3, 9 and 24h postmortem. The pH and temperature of *M. longissimus* were significantly ($p<0.05$) decreased during 24h postmortem time, and were 6.50 and 31.99°C, respectively, at 3h postmortem. R_{248} and R_{250} were increased, but R_{258} was decreased after 9 h postmortem time ($p<0.05$). Calpain I and calpastatin activity were decreased after 3h and 9h postmortem time, respectively ($p<0.05$). pH and temperature showed high positive correlations with R_{258} ($r=0.967$ and $r=0.970$, respectively), calpain I ($r=0.956$ and $r=0.954$, respectively) and calpastatin ($r=0.978$ and $r=0.986$, respectively) but had high negative correlations with R_{248} ($r=-0.982$ and $r=-0.973$, respectively) and R_{248} ($r=-0.983$ and $r=-0.976$, respectively). From these results, the change of postmortem metabolism of *M. longissimus* from Hanwoo steer likely occurred after 9h postmortem time. However, the further study on the establishment of metabolism from Hanwoo between postmortem 3h and 9h are necessary to produce Hanwoo beef with high acceptance in meat quality.

Key words : Hanwoo steer, postmortem, pH, temperature, R-values, μ -calpain and its inhibitor activity

서 론

생체에서 식육으로의 전환 시 근육은 복잡한 메커니즘과 다양한 요인에 의해 대사적, 물리적, 구조적 변화가 발생한다. 이와 같은 변화는 근육이 식육으로 전환되는 과정 이외의 요소인 품종, 성별, 연령, 사육방식(Moloney 등, 2001), 근육의 형태(Olsson 등, 1994), 도살 전·후의 처리(Lahucky 등, 1998), 저장 및 숙성조건(Choi 등, 1995) 등에 의해서도 영향을 받는다.

생체에서의 근육은 호기 또는 혐기적 해당과정을 통해 adenosine 5'-triphosphate(ATP)를 공급받아 필요한 에너지를 생성한다(Stryer, 1988). 그러나 사후의 근육은 혈액을 통해 산소공급을 받을 수 없어 사후 5분 이내에 근육 내에 있는 산소를 모두 소모한다(Lawrie, 1998). 따라서 미토콘드리아에서의 호기적 대사에 의한 ATP 합성은 중단되고 creatine phosphate나 글리코젠이 혐기적 대사과정을 거쳐 ATP를 생성한다. 이때에 생성된 ATP의 양은 극히 제한적이어서 일정 기간이 지나면 모두 고갈되고 혐기적 해당작용의 최종 산물인 젖산이 근육 내에 축적된다. 축적된 젖산은 근육의 pH를 낮아지게 한다(Lawrie, 1998).

근육의 대사 속도는 온도에 의해 영향을 받으며 사후 pH 강하(Purchas 등, 1999), 단백질분해효소 활성화 등에 영향을

* Corresponding author : Jin-Hyoung Kim, National Livestock Research Institute, RDA, 564 Omokchundong, Kwonsungu, Suwon, Korea, 441-350. Tel: +82-31-290-1699, Fax: +82-31-290-1697, E-mail: jhkim702@rda.go.kr

주어 연도를 결정하는 주요한 요소로 작용한다. 사후 혐기적 해당작용 정도와 속도 또한 육질에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(Marsh *et al.*, 1981). 그 중 사후 대사속도는 근육의 연도와 숙성기간을 결정하는 가장 중요한 요인으로 알려져 있다. 사후 대사속도에 따라 근육의 구조 변화 정도가 달라지고 칼슘 이온 방출에 의한 calpain system의 활성 정도가 다르다. 사후 대사와 근육의 물성과의 관계에 대해서는 이미 많은 연구가 수행되었다.

그러나 한우에 대한 사후 대사 변화와 이와 연관된 한우 고기 품질 연구는 매우 드문 편이다. 이 연구는 한우 거세우의 사후 24시간 동안의 대사 특성과 이에 따른 육질 관련 요인의 변화를 구명하여 한우 고기 품질 향상을 위한 기초 자료를 확보하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

한우 거세 수소 6두(약 27개월령)를 축산연구소 도축장으로 운송하여 12시간 계류·절식(절식 체중 507.17 ± 30.93 kg) 시킨 후 도축하였다. 도체(온도 체중 316.23 ± 24.57 kg)는 예냉실($0 \pm 1^\circ\text{C}$)에서 냉각을 시키면서 도축 후 1, 3, 9, 24시간에 좌도체(12~13마디)에서 도체온도와 pH를 측정하였고 우도체(12~14마디) 부위의 *M. longissimus* 를 도축 후 1, 3, 9, 24시간에 채취하였다. 시료는 채취 직후 액체 질소에서 동결시킨 후 R-value 측정, calpain I, II 및 calpastatin의 분리 및 활성 측정, 전자현미경 촬영 시료로 공시하였다. 도축 소요 시간은 도살부터 도체 냉각실 입고까지 20분 이내에 수행되었다.

실험방법

1) pH와 도체온도 측정

도체 pH는 좌도체 늑골 12~13마디의 등심에 pH meter (pH*K21, NWK-Binär GmbH Co., Germany)를 이용하여 측정하였고, 도체 온도는 같은 부분에서 온도계(Delta TRAK FlashLink electronic data logger, USA)를 이용하여 측정하였다.

2) R-value 측정

R-value는 Koh 등(1993)의 방법에 따라 액체질소에 침지한 시료를 분말로 만들어 시료 4 g에 6% perchloric acid 13 ml를 첨가하여 5,000 rpm으로 90초간 균질하였다. 2°C에서 10분간 3,000 g로 원심분리(SCR20BA, Hitachi, Japan)한 다음 상층액을 2M KOH를 이용하여 pH 6.0~6.5로 중화시킨

후 1시간 동안 ice-bath에 정치시킨 다음 상등액을 Whatman #1 filter paper로 여과하였다. 여과된 시료 0.7 mL와 0.1M phosphate buffer(pH 6.5) 3 mL를 혼합한 후 분광광도계(DU-650, Beckman, Germany)를 이용하여 파장 248, 250, 258, 260 nm에서 흡광도를 측정한 다음 측정치 비율로 $R_{248}(A_{248}/A_{260})$, $R_{250}(A_{250}/A_{260})$, $R_{258}(A_{258}/A_{250})$ 값을 계산하였다.

3) Calpain I, II 및 Calpastatin의 분리 및 활성 측정

Koohmaraie(1990)와 Wheeler와 Koohmaraie(1991)의 방법을 다소 변경한 Kim 등(1992)의 방법에 준하여 수행하였다. 사후 1, 3, 9, 24시간에 시료를 채취하여 액체질소에 침지한 다음 -70°C 에 보관 후 실험에 이용하였다. 시료를 막자 사발에 넣어 액체질소를 첨가하면서 분말로 만든 후 시료 5~6 g를 칭량하고 무게를 기록하였다. 여기에 10 volumes의 냉장 보관된 homogenizing buffer(40 mM Tris, 10 mM EDTA, 10 mM 2-mercaptoethanol, 0.2% Triton X-100 pH 7.5, 4°C 보관)를 넣고 균질하였다. 균질액을 4°C에서 30분간 30,000×g로 원심분리 시키고 4겹의 cheese cloth에 여과시킨 다음 glass wool과 Whatman #41로 재차 여과시킨 후 여과액 부피를 측정하고, 1N NaOH를 이용하여 pH 7.5로 적정하였다. 적정한 후 냉장 보관된 3차 증류수를 이용하여 전기전도도를 대략 2m S/cm로 맞추고 DEAE-Sephacel을 이용한 ion-exchange chromatography(2.5×25 cm, flow rate 24 mL/h)를 실시하였다. 시료를 loading 하기 전 buffer A(40 mM Tris, 0.5 mM EDTA, 10 mM 2-mercaptoethanol, pH 7.5, 4°C)로 칼럼을 충분히 세척하여(1일정도) A_{278} 값이 buffer A에 가깝도록 하였다. 비흡착된 단백질을 제거하기 위해 buffer A(칼럼의 5배 분량)로 칼럼을 세척하였으며 elution buffer(buffer A + 100, 200, 400 mM NaCl)를 이용하여 흡착된 단백질을 분획하였다. Calpains의 활성을 측정하기 위해 기질로 casein을 이용하였다. Calpain I, II의 활성도는 분획 1mL와 1mL assay media I(100 mM Tris, 5 mM CaCl_2 , 5 mg/mL casein, 1 mL/L 2-MCE, pH 7.5, 20°C 보관), 1mL assay media II(100 mM Tris, 10 mM EDTA, 5 mg/mL casein, 1 mL/L 2-MCE, pH 7.5, 20°C 보관)를 각각 혼합하여 25°C에서 1시간 배양하고, 동량의 냉장 보관된 10% TCA를 첨가하여 반응을 정지시킨 다음, 원심분리(16,000 g, 15min)한 후 상정액을 취하여 분광광도계로 278 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도를 측정 한 후 다음 식에 대입하여 활성도를 구하였다.

$U/g =$

$$\frac{[(A_{278}, \text{Ca}^{2+}) - (A_{278}, \text{EDTA}) \times (\text{fraction volume}) \times (\text{No of fraction})]}{\text{weight of muscle loaded on to column(g) or mg protein}}$$

사용된 assay media I 은 calpain을 활성화시키는 칼슘이온이 들어 있어 분획내의 calpain이 저질로 casein을 분해하는 반면에 assay media II는 칼슘이온 대신 chelating 효과가 있는 EDTA가 들어 있어 calpain은 활성을 나타내지 못하므로 casein을 분해하지 못한다. 따라서 이 둘의 차이로 calpain의 활성도를 측정할 수 있다. Calpain의 inhibitor인 calpastatin의 활성도 측정은 다음과 같은 배합비로 혼합한 후 측정하였다.

Dispense 150 μ L of CalpainII solution plus;

60 μ L pooled fraction + 90 μ L buffer A solution

50 μ L pooled fraction + 100 μ L buffer A solution

40 μ L pooled fraction + 110 μ L buffer A solution

30 μ L pooled fraction + 120 μ L buffer A solution

20 μ L pooled fraction + 130 μ L buffer A solution

10 μ L pooled fraction + 140 μ L buffer A solution

0 μ L pooled fraction + 150 μ L buffer A solution

Plus 300 μ L assay media I 또는 300 μ L assay media II

위의 혼합비로 혼합한 후 25 $^{\circ}$ C에서 1시간 배양시킨 후 동량의 10% TCA를 첨가하여 반응을 정지시키고, 원심분리(16,000 g, 15min)한 후 분광광도계로 상징액을 취하여 278 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 공식에 대입하여 활성도를 산출하였다.

1. Enzyme standard : $U_{total} = (A_{278}, Ca^{2+}) - (A_{278}, EDTA)$

2. Inhibitor : $U_{total} - [(A_{278}, Ca^{2+}) - (A_{278}, EDTA)]$

3. Regress volume of pooled calpastatin fraction against $U_{down}(Y = a + bX)$

4. Solve for Vol_{50} (volume at which $U_{down} = 0.5U_{total}$)

$$U/g = \frac{0.5U_{total} \times \text{total volume of pooled fraction}}{Vol_{50} \times \text{weight of muscle loaded on to column}(g)}$$

4) 전자현미경 촬영 및 근절 길이 측정

사후 시간에 따라 시료를 각각 다른 위치에서 5개 이상 채취(3 mm \times 1 mm \times 1 mm)하여 10배 부피의 2.5% glutaraldehyde(0.1 M phosphate buffer로 희석한)에 2일간 고정하였다. 고정 후 0.1M cacodylate buffer(pH 7.2)로 15분씩 2회 수세한 다음 1% osmium tetroxide 용액에 2시간 동안 고정시켰다. 다시 0.1M cacodylate buffer(pH 7.2)로 15분씩 2회 수세하고, 탈수과정을 거쳐 Epon mixture(EMbed-812)로 포매하였다. 포매 후 1 μ m의 두께로 박절하여 1% toluidin blue로 염색하고 관찰부위를 선정하였다. 선정된 부위를 초박절편기(MT-6000, RMC, USA)로 50~70nm의 두께로 초박절편하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 다음 공기중에 건조시켰다. 건조시킨 시료를 electron microscope(TEM H-800, Hitachi, Japan)로 75kV에서 관찰하였다.

통계분석

결과는 SAS(1998) program을 이용하여 Duncan의 다중검정법으로 각 요인간의 유의성($p < 0.05$)을 비교 분석하였고, 피어슨의 상관계수를 이용하여 변수들간의 상관관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

사후 시간에 따른 한우 거세우 도체의 pH와 온도의 변화는 Table 1과 같다. 도체 pH와 온도는 사후 시간이 경과함에 따라 유의적으로 감소하였고($p < 0.05$), 사후 3시간의 pH가 6.50, 24시간에 5.68에 도달했다. Marsh 등(1987)에 의하면 사후 3시간째의 pH는 연도를 예측할 수 있는 지표로서 사후 대사 속도가 중간정도(pH가 약 6.1일 때)인 경우 연도가 가장 우수하였다고 보고하였다. 본 실험에서는 pH가 6.5로 이 보다는 높아 사후 대사 속도가 낮은 것으로 나타났다. 근육의 pH와 온도는 근육을 질기게 하는 단축현상을 예측하는 지표로 이용되고 있다. Dransfield 등(1992)은 근육의 pH가 6.2이상인 상태에서 도체온도가 10 $^{\circ}$ C 이하일 경우 저온단축 현상이 일어난다고 하였다. 따라서 본 실험의 공시축에서는 저온단축이 발생하지 않은 것으로 추정되었다.

사후 대사속도를 추정할 수 있는 방법 중 하나인 R-value는 사후 근육내 에너지원의 분해산물에 대한 흡광도의 차이를 이용한 방법으로, 사후 강직현상에 의해 근육내 에너지원인 ATP는 점차적으로 탈인산화되어 adenosine 5'-diphos-

Table 1. Change in pH and temperature of *M. longissimus* from Hanwoo steer carcass at different postmortem time

Trait	Postmortem time (hour)			
	1	3	9	24
pH	6.73 \pm 0.02 ^a	6.50 \pm 0.03 ^b	6.07 \pm 0.04 ^c	5.68 \pm 0.02 ^d
Temp. ($^{\circ}$ C)	38.83 \pm 0.11 ^a	31.99 \pm 0.27 ^b	18.58 \pm 0.22 ^c	5.39 \pm 0.21 ^d

^{a-d} Means with different letter in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Table 2. Change in R-values of *M. longissimus* from Hanwoo steer at different postmortem time

Trait	Postmortem time (hour)			
	1	3	9	24
R_{248}	0.818 \pm 0.010 ^c	0.824 \pm 0.011 ^c	1.084 \pm 0.010 ^b	1.331 \pm 0.005 ^a
R_{250}	0.882 \pm 0.009 ^c	0.894 \pm 0.011 ^c	1.129 \pm 0.009 ^b	1.352 \pm 0.004 ^a
R_{258}	1.140 \pm 0.011 ^a	1.118 \pm 0.018 ^a	0.902 \pm 0.016 ^b	0.778 \pm 0.014 ^c

^{a-c} Means with different letter in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

phate(ADP)와 adenosin 5'-monophosphate(AMP)로, 이후 탈아민화되어 inosine monophosphate(IMP)가 되고 inosine으로 사후 대사가 더 진행되면 최종적으로는 hypoxanthine이 된다. 이 측정방법은 adenosine nucleotides(ATP, ADP, AMP)의 최대 흡광도가 258~260nm이고, IMP와 inosine은 248~259nm, 마지막으로 hypoxanthine은 250nm라는 것을 이용한 것이다 (Koh *et al.*, 1993). 본 실험에서는 사후 대사시간에 따라 한우 거세우의 *M. longissimus*를 채취하여 $R_{248}(A_{248}/A_{260})$, $R_{250}(A_{250}/A_{260})$, $R_{258}(A_{258}/A_{250})$ 를 측정하였다(Table 2). R_{248} 과 R_{250} 값은 사후 3시간까지는 유의적인 차이가 없었으나 사후 9시간과 24시간에서 유의적으로 증가하였다. 하지만, R_{258} 값은 사후 시간이 지날수록 감소하였는데 사후 3시간까지는 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 9시간부터 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). 이러한 결과는 Rhee와 Kim (2001)이 보고한 한우 수소 배최장근의 R_{248} 값이 사후 1시간에 0.750, 3시간에 0.785, 9시간에 0.906, 24시간에 1.287로 나타났고, R_{258} 값이 사후 1시간에 1.245, 3시간에 1.251, 9시간에 1.099, 24시간에 0.875로 나타났다는 것과 유사한 경향을 보였다.

사후 근육내 칼슘농도는 calpain I을 활성화시키기에는 충분하지만, calpain II의 경우 30%만이 활성을 갖게 되고(Whipple *et al.*, 1990), 이처럼 calpain II의 활성은 calpain I과 calpastatin에 비해 미약하기 때문에 연화의 속도는 calpain I과 calpastatin의 상대적인 비율로 그 차이를 설명할 수 있다 (Geesink, 1993). 연화의 주도적 역할을 하는 것으로 알려져 있는 calpain I과 calpastatin의 활성을 측정된 결과를 살펴보면(Table 3), calpain I 활성은 사후 3시간부터 유의적으로 감

소하였고($p<0.05$), calpain의 활성을 억제하는 calpastatin은 사후 3시간까지 활성 감소가 약간 나타났으나 유의적인 차이는 없었고, 사후 9시간부터 유의적으로 감소하였는데($p<0.05$). 이러한 결과는 Rhee와 Kim(2001)이 보고와 유사한 경향을 보였다. 잠재적인 연화능력을 예측할 수 있는 calpain I/calpastatin은 사후 9시간 이후 급격히 감소하는 것으로 나타났는데 이는 일반적으로 calpain I이 활성화 되는 시기인 pH 6.2보다 사후 9시간의 pH가 6.07로 낮아졌고, calpain I의 활성으로 calpastatin의 변성을 촉진했기 때문으로 사료된다.

가축은 도살 후 산소가 고갈되면 점진적으로 강직상태가 되어 굳어지게 된다. 근육의 수축현상은 근육이 처한 환경온도에 따라서 상당히 민감하다고 할 수 있다. 모든 근육은 $-1\sim 38^{\circ}\text{C}$ 사이의 온도에서 사후 해당작용중에 어느 정도의 단축이 일어난다고 알려져 있다(Lawrie, 1998). Fig. 1은 사후 근육의 단축도를 알아보기 위하여 TEM 촬영을 한 결과이다. 사후 시간이 경과함에 따라 근절길이의 단축뿐만 아니라 근섬유와 근섬유 사이의 공간이 넓어지는 것으로 보아 근섬유 전체가 단축이 일어나는 것으로 사료된다.

Table 4는 사후 시간이 경과함에 따라 일어나는 대사 변화 실험 항목간의 상관관계를 간단히 나타낸 것이다. pH는 도체온도(0.974), R_{258} (0.967), calpain I (0.956), calpastatin(0.978)과의 상관관계를 나타내었지만, R_{248} (-0.982)과 R_{250} (-0.983)과는 부의 상관관계를 나타내었다. 도체온도는 또한 R_{258} , calpain I, calpastatin에서 각각 0.970, 0.954, 0.986으로 정의 상관관계를 나타내었지만, R_{248} 과 R_{250} 과는 각각 -0.973, -0.976으로 부의 상관관계를 나타내었다. R_{248} 과 R_{250} 은 R_{258} , cal-

Table 3. Change in calpains activity (unit/g muscle) of *M. longissimus* from Hanwoo steer at different postmortem time

Trait	Postmortem time (hour)			
	1	3	9	24
Calpain I	0.43±0.01 ^a	0.39±0.01 ^b	0.34±0.00 ^c	0.25±0.02 ^d
Calpastatin	9.75±0.12 ^a	9.52±0.10 ^a	7.96±0.03 ^b	6.64±0.02 ^c
Calpain I/calpastatin(%)	4.41	4.10	4.27	3.77

^{a-d} Means with different letter in the same row are significantly different ($p<0.05$).

Table 4. Simple correlation coefficients between pH, temperature, R-values, calpain I and calpastatin

	Temperature	R_{248}	R_{250}	R_{258}	Calpain I	Calpastatin
pH	0.9743*	-0.9817*	-0.9831*	0.9671*	0.9561*	0.9780*
Temperature		-0.9731*	-0.9756*	0.9700*	0.9543*	0.9856*
R_{248}			0.9999*	-0.9929*	-0.9673*	-0.9827*
R_{250}				-0.9924*	-0.9704*	-0.9850*
R_{258}					0.9425*	0.9820*
Calpain I						0.9488*

* $P<0.001$.

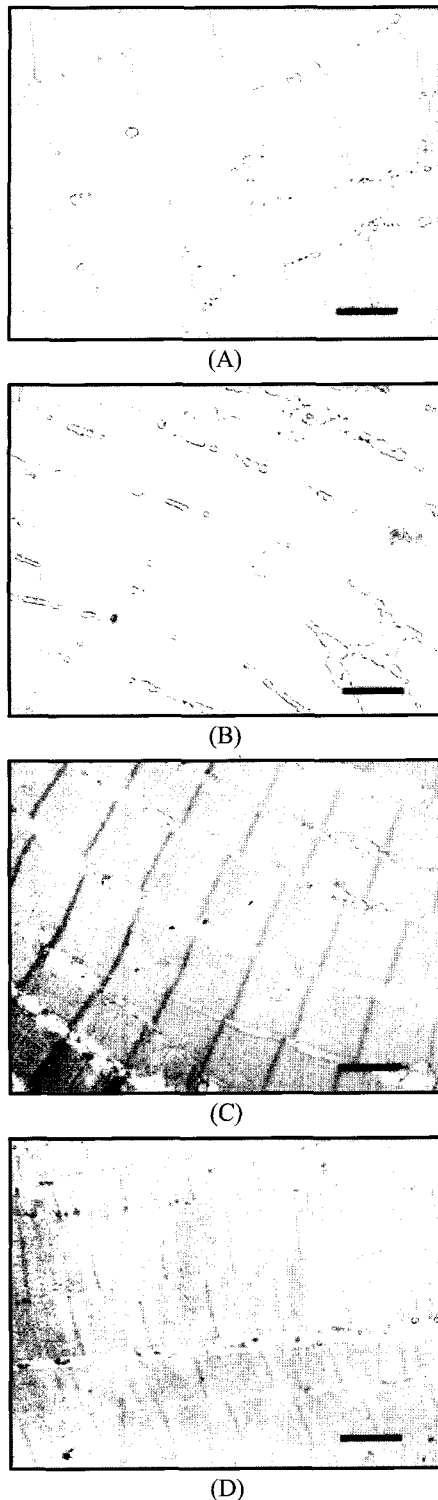


Fig. 1. Transmission electron micrographs of *M. longissimus* from hanwoo steer at different postmortem time (magnification: $\times 10,000$, Bar=952.4 nm). (A) 1h postmortem, (B) 3h postmortem, (C) 9h postmortem, (D) 24h postmortem.

pain I, calpastatin과 -0.97 이상의 부의 상관관계를 보였다. R_{258} 은 calpain I 과 0.943 , calpastatin과 0.982 의 상관관계를

보였고, calpain I 은 calpastatin(0.949)과 정의 상관관계를 나타내었다. 전체적으로 각 항목간의 상관관계는 높게 나타났고, 특히 간단히 측정이 가능한 pH와 온도를 기준으로 대사변화와 잠재적인 연화능력을 예측할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 한우고기의 품질에 영향을 미치는 사후 대사변화를 구명하고자 사후 1, 3, 9, 24시간별에 따라 한우 거세우 배최장근의 pH, 도체온도, R-value 및 단백질분해효소 활성 측정을 수행하였다. 도체 pH와 온도는 사후 시간이 경과함에 따라 유의적으로 감소하였고($p < 0.05$), 사후 3시간에 6.50 (31.99°C)을 나타내었다. R_{248} 과 R_{250} 값은 사후 9시간부터 유의적으로 증가하였지만, R_{258} 값은 사후 9시간부터 감소하였다($p < 0.05$). Calpain I 활성은 사후 3시간부터 유의적으로 감소하였고, calpastatin 활성은 사후 9시간부터 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). pH와 도체온도는 R_{258} , calpain I, calpastatin에서 0.95 이상의 높은 정의 상관관계를 나타내었지만, R_{248} 과 R_{250} 에서는 -0.97 이상의 부의 상관관계를 보였다. 이상의 결과를 종합하면, 사후 9시간 이후에 대사 변화가 급격히 발생하는 것으로 나타났고, pH와 도체온도의 상관도가 높아 잠재적인 연화능력의 예측이 가능할 것으로 사료되지만, 사후 3시간부터 9시간 사이의 대사변화에 대하여 좀 더 심도 깊은 연구할 필요가 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Choi, Y. I., Kim, Y. K., and Lee, C. L. (1995) Effects of packaging method and aging temperature on color, tenderness and storage characteristics of Korean beef. *Korean J. Anim. Sci.* **37**, 639-650.
2. Dransfield, E., Wakefield, K., and Parkman, I. (1992) Modelling postmortem tenderisation. 1. Texture of electrically stimulated and non-stimulated beef. *Meat Sci.* **31**, 57-73.
3. Geesink, G. H. (1993) Postmortem muscle proteolysis and beef tenderness with special reference to the action of the calpain/calpastatin system. Ph. D. Dissertation. Utrecht, The Netherlands.
4. Kim, Y. S., Sainz, R. D., and Lee, Y. B. (1992) Note on the comparison of calpains I, II and calpastatin activity in two different types of porcine skeletal muscles. *Comp. Biochem. Physiol.* **105A**, 235-237.
5. Koh, K. C., Bidner, T. D., McMillan, K. W., and Kim, M. B. (1993) The relationship between ATP and R-value in

- postmortem bovine *longissimus dorsi* muscle. *Meat Sci.* **33**, 253-263.
6. Koohmaraie, M. (1990) Quantification of Ca⁺-dependent protease activities by hydrophobic and ion-exchange chromatography. *J. Anim. Sci.* **68**, 659-665.
 7. Lahucky, R., Palanska, O., Mojito, J., Zaujec, K., and Huba, J. (1998) Effect of preslaughter handling on muscle glycogen level and selected meat quality traits in beef. *Meat Sci.* **50**, 389-393.
 8. Lawrie, R. A. (1998) Chemical and biochemical constitution of muscle. In R. A. Lawrie, *Lawrie's Meat Science*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. pp. 58-95.
 9. Marsh, B. B., Lochner, J. V., Takahashi, G., and Kragness, D. D. (1981) Effects of early post-mortem pH and temperature on beef tenderness. *Meat Sci.* **5**, 479-483.
 10. Marsh, B. B., Ringkob, T. P., Russel, R. L., Swartz, D. R., and Pagal, L. A. (1987) Effects of early-postmortem glycolytic rate on beef tenderness. *Meat Sci.* **21**, 241-248.
 11. Moloney, A. P., Mooney, M. T., Kerry, J. P., and Troy, D. J. (2001) Producing tender and flavoursome beef with enhanced nutritional characteristics. *Proc. Nutr. Soc.* **60**, 221-229.
 12. Olsson, U., Hertzman, C., and Tornberg, E. (1994) The influence of low temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of rigor mortis, ageing and tenderness of beef muscles. *Meat Sci.* **37**, 115-131.
 13. Purchas, R. W., Yan, X., and Hartley, D. G. (1999) The influence of a period of ageing on the relationship between ultimate pH and shear values of beef *M. longissimus thoracis*. *Meat Sci.* **51**, 135-141.
 14. Rhee, M. S. and Kim, B. C. (2001) Effect of low voltage electrical stimulation and temperature conditioning on post-mortem changes in glycolysis and calpains activities of Korean native cattle (Hanwoo). *Meat Sci.* **58**, 231-237.
 15. Stryer, L. (1988) Glycolysis. In *Biochemistry*, 3rd Edn, p 352. W. H. Freeman and Company, New York, USA.
 16. Wheeler, T. L. and Koohmaraie, M. (1991) A modified procedure for simultaneous extraction and subsequent assay of calcium-dependent and lysosomal protease systems from a skeletal muscle biopsy. *J. Anim. Sci.* **69**, 1559-1565.
 17. Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M. E., and Crouse, J. D. (1990) Effects of high temperature conditioning on enzymatic activity and tenderness of *Bos indicus longissimus* muscle. *J. Ani. Sci.* **68**, 3654-3662.

(2005. 3. 3. 접수 ; 2005. 9. 3. 채택)