

Mitochondrial Malate Dehydrogenase 활성을 이용한 냉장우육과 냉동우육의 판별법 개발

한규호¹ · 김남규¹ · 이시경² · 조진국³ · 최강덕⁴ · 전유진⁵ · 이치호^{1*}

¹건국대학교 축산식품생물공학전공, ²건국대학교 응용생물화학과
³한경대학교 낙농과학과 & GRRC, ⁴한경대학교 유전체정보학과
⁵제주대학교 해양생물공학과

The Development of Differentiating Method between Fresh and Frozen Beef by Using the Mitochondrial Malate Dehydrogenase Activity

Kyu-Ho Han¹, Nam-Kyu Kim¹, Si-Kyung Lee², Jin-Kook Cho³,
Kang-Duk Choi⁴, You-Jin Jeon⁵ and Chi-Ho Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science & Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

²Dept. of Applied Biology and Chemistry, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

³GRRC and Dept. of Dairy Science, Hankyong National University, Gyeonggi 456-749, Korea

⁴Dept. of Genomic Informatics, Hankyong National University, Gyeonggi 456-749, Korea

⁵Dept. of Marine Biotechnology, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

Abstract

The object of this study is to develop the method for differentiating fresh meat from frozen meat by using the measurement of the mitochondrial malate dehydrogenase in the Korean native cattle. The principle of this experiment is based on the fact that the enzyme proteins associated with mitochondria membrane could be released by freezing. The methods of differentiating fresh meat from thawed, frozen meat were studied by measurements of mitochondrial malate dehydrogenase activity of meat press juice. Fresh and frozen beef were stored at 4, -4, -18 and -77°C for 15-day storage period. A meat press machine using air pressure was manufactured especially for these experiments, and sufficient amount of drip (about 0.15 mL/g) from 1.5 g of beef sample was efficiently obtained under a pressure of 8 kg/cm² generated by the meat pressing machine. The mitochondrial malate dehydrogenase activities of frozen meat drip juices stored at -18 and -77°C were significantly higher than those of fresh and frozen meat samples at -4°C (p < 0.05) during 10-min reaction period. However, the enzyme activities of the frozen meat drip juices (-18 and -77°C) disappeared after 5 minutes of the reaction, which was not observed from the fresh and -4°C frozen meats. The enzyme activity maintained until 12 minutes for the fresh and -4°C frozen meats. From these results, the mitochondrial malate dehydrogenase could be considered as an indicator to differentiate fresh beef from frozen one.

Key words: fresh beef, chilled beef, frozen beef, meat press juice, mitochondrial malate dehydrogenase activity

서 론

최근 우리나라의 1인당 육류 소비량은 계속 증가하고 있으며, 그 시장 규모는 작년 기준 쇠고기 4조원, 돼지고기 3조 2천억 원으로 크게 성장하였다(1).

본격적인 수입개방과 더불어 우육 등 육류의 값은 상대적으로 저렴해지고 냉장육 유통의 증가로 품질이 향상됨으로써 육류 소비는 계속 늘어날 것으로 예상된다. 실질적인 예로 2000년 통계청 자료에서 쇠고기 소비는 1999년 392.7 MT이며 자급도는 61.0%였으나, 2000년 395.9 MT로 자급도가 53.3%로 감소하였으며, 향후 자급도는 점점 감소할 것으로

전망하고 있다. 그러나 수입육은 장기간 동결상태로 보관되는 구조 때문에 단기간 냉장상태로 유통되고 있는 국내산 냉장육에 비하여 기호성이 열등한 것으로 인식되어 있다(2).

냉장육이란 육의 중심부온도가 2°C~4°C를 유지하는 것을 말하며, -2°C~10°C이하에서 저장하는 육을 말한다. 반면 냉동육은 육의 중심부온도가 -15°C이하를 유지하는 것을 말한다. 냉장육의 저장기간은 미생물의 표면 오염정도, 냉장실의 조건온도, 습도 및 진공포장 유무 등에 따라 달라진다. 육의 숙성 촉진이라는 측면에서는 보관온도를 높게 하여야 하나, 오염에 의한 미생물의 증식을 억제하기 위해서는 동결이 발생하지 않는 한 가장 낮은 온도에서 보관하는 것이 좋

*Corresponding author. E-mail: leech@konkuk.ac.kr
Phone: 82-2-450-3681, Fax: 82-2-453-1948

다. 육의 동결점은 -1.7°C 이므로 온도는 가급적 0°C 전후로 저장온도를 낮추는 것이 효율적이라고 알려지고 있다(1).

식육은 동결 중에 지질의 산패, 단백질 용해성의 감소, 근섬유 단백질들의 변성, 색택의 변화, 해동에 따른 drip의 손실로 인한 조직의 경화 등이 일어나며 이러한 요인들이 육의 품질을 손상한다고 보고되었다(3-7). 또한 많은 연구 등을 통해서 동결 처리와 동결 기간 중에 발생하는 변화가 축육과 어육의 품질에 영향을 미친다는 것이 보고되었으며, 근육단백질의 변성, 특히 근섬유 단백질의 변성은 육질 저하의 중요한 요인으로 보고되고 있다(5,6). 따라서 수입된 동결우육은 숙성이 부족한 상태에서 이용되기 쉽고, 일부 우육은 냉동 상태로 유출되어 해동, 재동결로 이어지거나 신선 냉장육으로 둔갑해 판매되는 경우가 적지 않다(2,8).

또한 동결 저장 후에는 해동 drip의 증가, 육의 보수성 감소, 단백질 추출성의 감소, 산패의 증가, 기호성의 감소, 색소의 변화 및 가열감량의 증가, 그리고 조직감의 변화 등의 품질저하를 일으키게 된다(9-19). 따라서 장기간의 유통기간으로 인해 발생할 수 있는 동결 해동 등의 반복으로 육질이 손상될 수 있다(20).

이러한 육질의 상태를 판별하기 위해서 동결 저장 중 육의 보수성, 용해성 및 점도는 물론 전기영동에 의한 근섬유 단백질들의 변화 등이 조사되었고(4,6-8), differential scanning calorimetry(DSC)를 이용한 myofibrillar proteins의 변성 연구가 진행되었다(5). 또한 Gottesmann과 Hamm(21)은 분광광도법과 색택 평가법을 사용하여 β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase(HADH)의 특성을 분석하여 신선육과 동결 후 해동육을 판별하는 실험을 수행하였다. 그리고 Chen 등(22)은 동결 후 해동 시 유출되는 mitochondria내에 존재하는 효소들의 해리 정도의 차이를 응용한 APIZYM(a semi quantitative method)법으로 신선육과 동결-해동육을 구별할 수 있는 연구를 하였다. 그러나 전자의 방법은 육이 -12°C 보다 높은 온도에서 저장되었을 경우 그 구별이 불가능하기 때문에 동결기간이나 해동-재동결의 횟수 등은 알 수 없고, 후자의 방법은 특별한 기술을 요하거나 긴 처리 공정을 필요로 하기 때문에 분석에 어려움이 있다.

이와 같이 냉동육과 냉장육을 판별하는데 있어서 동결에 의한 단백질의 변성을 검토하는 것이 유용한 방법의 하나로 알려져 왔고, 변성 단백질 중의 효소활성차이를 이용하면 손쉽게 냉동우육과 냉장우육의 차별화를 도모할 수 있다.

동결에 의해 mitochondria와 lysosome 과립구 등이 파괴되는 것으로 알려져 있는데(21,22), mitochondria와 lysosome에 존재하는 효소들이 동결저장에 의해 sarcoplasm으로 유출되는 것을 이용하여 이때 유출되는 aconitase(AC), fumarase(FU), glutamate dehydrogenase(GDH), glutamic pyruvic transaminase(GPT), isozyme인 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 malate dehydrogenase(MDH)의 활성을 측정, 비교함으로써 동결 우육과 신선 냉장우육을

판별하는 방법이 연구되어졌다(23-31).

따라서, 본 연구의 목적은 냉동 저장 보관 시 mitochondria 내막에서 근육세포의 sarcoplasm으로 유출된다고 알려진 isozyme인 mitochondrial malate dehydrogenase(NAD^+ oxidoreductase, E.C.1.1.1.37)의 활성 특성과 15일간의 저장 기간, 온도별 그리고 부위별 활성의 차이점을 도출함과 동시에 육의 냉장, 냉동 유무를 측정 판별할 수 있는 손쉬운 방법을 알아내기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

공시 재료

본 실험의 공시재료는 위생적으로 처리된 한우 사태, 등심, 양지 및 우둔 냉장육을 축협(면목동, 서울)으로부터 구입하였고, 구입한 신선 냉장상태의 한우 사태, 등심, 양지, 우둔 부위로부터 과도한 지방과 결합조직을 제거하여 15일간 냉장 및 냉동 저장 하에서 실험에 공시하였다.

시료의 냉장·냉동처리

냉동우육의 경우 일정하게 1.5 g씩 입방체 형태로 시료를 성형 처리하여 폴리프로필렌 봉지에 넣어 진공처리 후, -4°C , -18°C , -77°C 의 냉동고에 보관하였으며, 냉장우육은 $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 냉장고에 보관하였다. 냉장우육 및 냉동우육을 상온(25°C)에서 3시간 동안 해동한 후에 실험에 공시하였다. 여기에 사용된 모든 시약은 Sigma Chemical Co.(USA)에서 구입하여 실험에 이용하였다.

육즙의 채취

냉장우육 및 냉동우육의 동결 후 해동한 우육과 냉장우육에서 발생하는 압착육즙을 채취하여 각각의 단백질 농도와 mitochondrial malate dehydrogenase활성 측정의 시료로 하였다. 압착육즙채취를 일정한 조건 하에서 실시하기 위하여 압착육즙채취기를 대흥공업사(울지로, 서울)에 의뢰하여 주문 제작하였다(Fig. 1). 압착육즙은 8 kg/cm^3 의 압력을 가하여 압착육즙채취를 위한 최적의 조건을 찾았다.

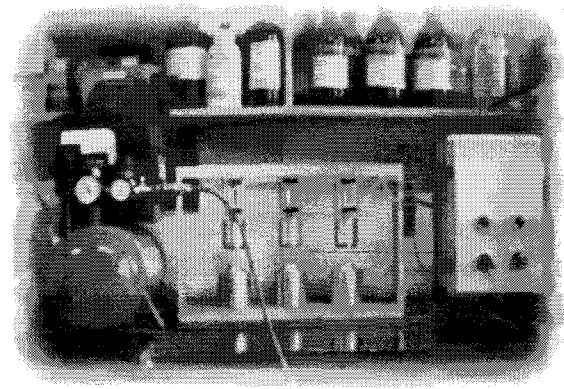
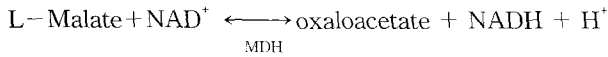


Fig. 1. Meat press machine manufactured for the preparation of meat press juice.

Meat press juice was squeezed under 8 kg/cm^3 with air pressure.

Mitochondrial malate dehydrogenase의 활성 측정
Mitochondrial malate dehydrogenase(EC 1.1.1.37)의 생체 내 citric cycle상에서의 작용은 다음과 같다.



Isozyme인 mitochondrial malate dehydrogenase(NAD⁺ oxidoreductase, E.C.1.1.1.37)의 냉장우육 및 냉동우육에서 해동에 의해 유출되는 육즙의 저장 기간, 저장 온도별 활성의 특이성, 그리고 부위별 활성의 차이점을 도출하기 위하여 효소 활성을 측정하였고 그 실험방법은 Englard and Siegel의 방법(32)을 수정해서 이용하였다.

즉, 0.1 M potassium phosphate buffer(0.1 M K₂HPO₄를 만든 후, 0.1 M KH₂PO₄로 pH를 보정)를 pH 7.4로 보정한 후 2.5 mL 0.12 M glycine-NaOH(pH 10)와 0.3 mL, 0.85 M L-malic acid(1 N NaOH로 pH 7.4로 보정), 0.2 mL, 37.5 mM NAD⁺(pH 6.5)를 미리 준비된 시험관에 넣은 후 28°C 항온수조에서 10분간 정치시킨 후 1 cm light path cuvette에 옮겨, 미리 제조한 완충액을 이용해서 10배로 희석한 50 µL 압착육즙을 이 효소 반응액에 넣어서 흡광도 340 nm에서 10분간 UV-spectrophotometer(ANALAB, UVS-30NP, Korea)를 이용하여 흡광도 변화를 조사하였고, 정확히 1분이 경과할 때마다 흡광도를 기록하였다.

이 효소활성(Unit/mL)은 다음과 같이 계산하여 분당 체적 활성으로 나타내었다.

$$\text{Unit/mL} = \frac{V}{\epsilon \times d \times v} \times \Delta E / \text{min} \times \text{dilution factor}$$

V=volume (3.05 mL)

ε=extinction coefficient for NADH at 340 nm (6.3)

d=light path of the cuvette (here 1 cm)

v=volume of the meat juice (0.05 mL)

ΔE=Decrease in extinction per minute

Dilution factor=10

통계분석

모든 실험은 3회 반복으로 하였고, 실험에서 얻어지는 값들은 SAS(Statistic analytical system institute, Cary, NC, 1988)의 GLM(General Linear Model) program으로 분산 분석하고, Duncan의 다중 검정법으로 실험 값 사이의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

압착육즙 채취방법의 확립

Fig. 1에서 보는 바와 같이 본 연구실에서 제작된 압착육즙채취기를 이용하여 육즙을 채취하였다.

Table 1. Meat juice amounts released from fresh beef sample (shank) by press

Sample weight (g)	Meat press juice amount (mL/g)
5.0±0.17 ^{1)NS2)}	0.029±0.01 ^{NS}
3.0±0.17	0.075±0.11
2.0±0.19	0.115±0.04
1.5±0.1	0.145±0.02
1.0±0.19	0.098±0.05

¹⁾Mean±SD (n=3).

²⁾Not significant.

압착육즙채취기를 이용한 실험결과 5 g과 3 g을 이용했을 때 육즙의 양은 각각 0.029 mL와 0.075 mL이었으며, 2 g, 1.5 g 및 1.0 g의 경우는 각각 0.115 mL, 0.145 mL 및 0.098 mL이었다. 2 g이하를 육즙 채취에 이용하는 것이 대체로 채취량이 많았으며, Table 1에 나타난 것처럼 1.5 g의 육을 8 kg/cm³ 압력으로 1분간 압착하였을 때 g당 채취량이 가장 많았다.

이상의 실험결과로부터 이후의 실험에 대해서는 1.5 g의 우육을 냉장·냉동하여 실험에 공시하였다.

Mitochondrial malate dehydrogenase 효소 활성

동결에 의해서 유출되는 mitochondria의 효소들은 Lusena(33)에 의해 동결 후 해동한 간의 mitochondria로부터 유출되는 여러 효소의 활성에 대하여 연구된 바 있다.

동결하게 되면 malate dehydrogenase활성을 유도하여, mitochondria 내 이 효소의 결합부위로부터 분리되는 것을 야기한다고 하였다(34).

Mitochondria 막에 손상을 주는 것은 빙결정의 크기보다 빙결정형성 범위에 있다. 따라서 이 손상은 mitochondria의 기계적 손상에 의한 것이기보다 막으로부터 수분의 얼음생성에 의해 제거되는 탈수 작용에 의한 것이다(23,35). 여기서 물은 mitochondria 막 구조를 유지하는데 필요한데, 냉동에 의해 결합수가 제거되면 물의 격자구조가 약해지고, 막의 계속적인 파괴와 변성이 촉진된다고 알려져 있다(23,36).

냉장우육 및 냉동우육 압착육즙의 mitochondrial malate dehydrogenase 활성 비교

각 부위별로 저장온도에 따른 mitochondrial malate dehydrogenase 활성을 측정하여 Table 2에 나타내었다.

냉장우육과 냉동우육 간의 mitochondrial malate dehydrogenase의 분당 활성도는 사태의 경우 냉장우육은 23.63 Unit/mL의 활성을 나타내었고, -4°C는 20.91 Unit/mL, -18°C는 26.43 Unit/mL 그리고 -77°C는 25.90 Unit/mL의 활성을 나타내었다. 동일한 부위에서 저장 온도에 따른 효소의 활성은 냉장우육보다 -4°C를 제외한 냉동 저장 온도(-18, -77°C)에서 모두 유의적으로 높은 효소의 활성을 나타내었다(p<0.05). 동일한 저장 온도에서 각 부위 간에 활성의 차이점은 -77°C에서 냉동우육이 유의적 차이 없이 가장 높은 효소 활성을 나타내었고, 그 저장 온도를 제외하고는 모두

Table 2. Influence of freezing conditions on the activity of the mitochondrial malate dehydrogenase in the meat press juice from various parts of the Korean native cattle

	Temperature (°C)			
	4	-4	-18	-77
Shank	23.34 ± 0.41 ^{1)ba2)}	20.91 ± 0.41 ^{cA}	26.43 ± 0.14 ^{aA}	25.90 ± 0.21 ^{aA}
Flank	17.09 ± 0.07 ^{cB}	20.67 ± 0.34 ^{ba}	26.43 ± 0.69 ^{aA}	26.19 ± 0.48 ^{aA}
Round	18.06 ± 0.62 ^{bb}	17.24 ± 0.27 ^{bb}	28.03 ± 0.89 ^{aA}	27.11 ± 5.75 ^{aA}
Loin	15.15 ± 0.21 ^{cC}	14.04 ± 0.41 ^{dC}	20.72 ± 0.55 ^{bb}	23.48 ± 0.21 ^{aA}

Unit=unit of enzyme activity.

¹⁾Mean ± SD (n=3).

²⁾Values with different small letter superscript in the same column are significantly different (p<0.05).

Values with different capital letter superscript in the same row are significantly different (p<0.05).

유의성 있는 변화량을 나타내었다(p<0.05). 따라서 저장 온도가 낮아질수록 활성은 부위에 상관없이 유의적으로 증가하였다(23). 그러나 냉장우육과 -4°C저장우육에서 효소활성은 유의적인 차이는 없었으며, 이것은 -5°C에서는 근육 내의 유리수 중 80%가 얼게 되고, mitochondria의 손상은 20%의 남아있는 수분이 어는 동안 발생하게 된다(23). 또한 해동시 0~-5°C 범위 온도대가 동결 때보다 오래 지속되지만 0~-5°C의 범위에서는 mitochondria 손상에 많은 영향을 주지 않는다는 사실과도 부합된다(36).

여기서 부위별로 유의적이지는 않지만 효소활성의 차이가 있는데, 부위별로 효소 활성이 다른 것은 미요글로빈 함량과 관련이 있다고 알려져 있다(37).

또 냉장우육의 경우에도 mitochondria 내막에 존재하는 mitochondrial malate dehydrogenase 활성이 측정되었는데, mitochondria는 시료를 세절 시 손상을 입게 되어 압착육즙 내로 그 내부의 효소가 유입될 수 있으므로 일반적으로 냉장우육의 경우에도 mitochondria 내에 존재하는 효소의 활성이 측정될 수 있다는 보고(38,39)와 본 실험결과가 일치하는 것을 볼 수 있었다.

실험군의 압착육즙 내 mitochondrial malate dehydrogenase의 활성은 10분간 흡광도 변화량을 조사함으로써 계산되었다. 여기서 특이한 점은 등심을 제외한 모든 부위에서 효소반응개시 3분 후에 -4°C에서 동결 저장한 육을 제외하고 동결 저장육의 효소 활성이 떨어지는 것을 확인할 수 있었고, 5분 반응 후에는 그 효소의 활성을 발견할 수 없었다. 또한 냉장우육의 경우는 12분 반응 후 활성이 지속되는 것으로 나타났다. 따라서 Figs. 2~5에서 나타낸 바와 같이 이들 두군 간의 효소활성의 지속시간의 차이를 이용해 냉장우육 및 냉동우육을 판별하는데 이용가능한 것으로 사료되었다.

냉장우육 · 냉동우육의 저장기간별 활성 비교

이러한 결과를 토대로 저장기간에 따른 부위별 mitochondrial malate dehydrogenase의 활성을 측정하였다(Figs. 6~9).

15일간 냉장우육과 냉동우육을 온도에 따라(4, -4, -18 및 -77°C) 저장하면서 그 활성을 측정하였는데, 저장 기간이 길어져도 그 활성의 차이는 유의적으로 변화하지 않고, 모든 실험군(사태, 등심, 양지 및 우둔 부위)에서도 유의적으로

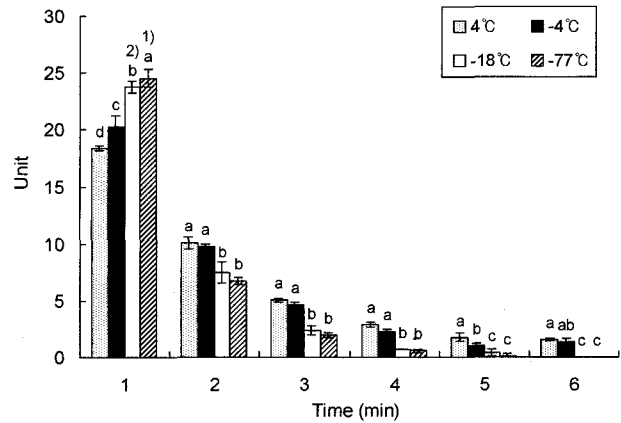


Fig. 2. The mitochondrial malate dehydrogenase activity in the meat press juice from round depending on storage temperature.

¹⁾Mean ± SD (n=3).

²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).

Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

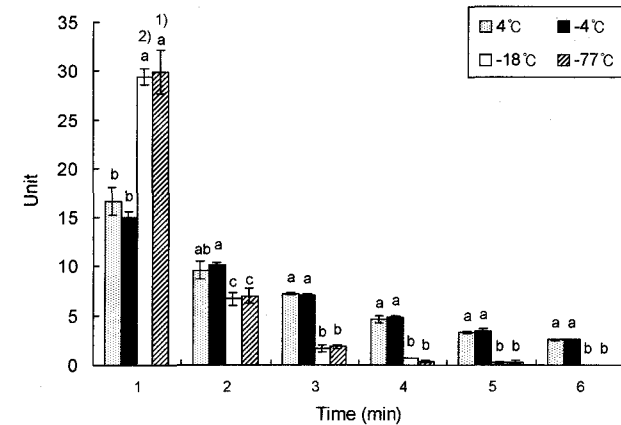


Fig. 3. The mitochondrial malate dehydrogenase activity in the meat press juice from shank depending on storage temperature.

¹⁾Mean ± SD (n=3).

²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).

Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

유사한 활성을 유지하였다(p<0.05). 이러한 결과는 -60°C 이상 냉동 저장 시 냉동육의 활성은 증가하나 유의적으로

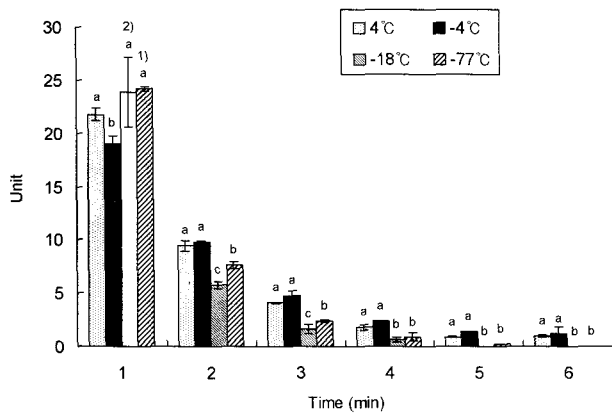


Fig. 4. The mitochondrial malate dehydrogenase activity in the meat press juice from flank depending on storage temperature.

¹⁾Mean \pm SD (n=3).
²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).
 Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

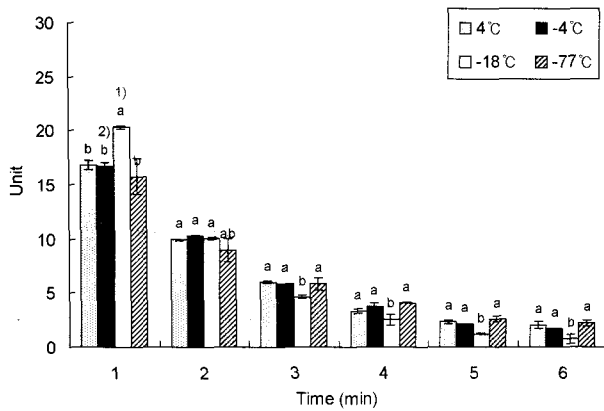


Fig. 5. The mitochondrial malate dehydrogenase activity in the meat press juice from loin depending on storage temperature.

¹⁾Mean \pm SD (n=3).
²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).
 Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

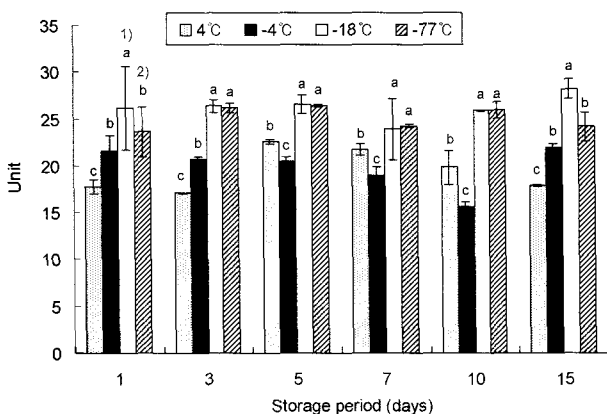


Fig. 6. Changes of the mitochondrial malate dehydrogenase activity of meat press juice from round during storage period.

¹⁾Mean \pm SD (n=3).
²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).
 Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

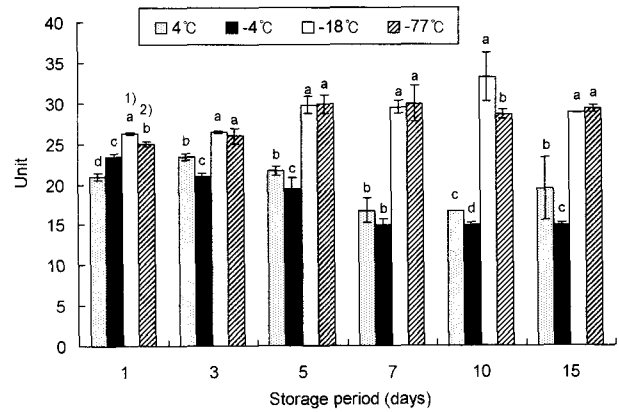


Fig. 7. Changes of the mitochondrial malate dehydrogenase activity of meat press juice from shank during storage period.

¹⁾Mean \pm SD (n=3).
²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).
 Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

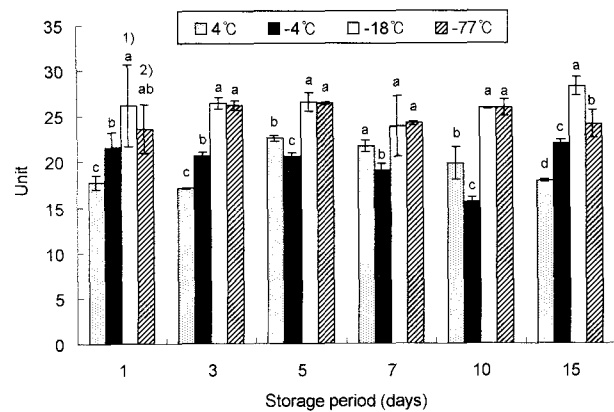


Fig. 8. Changes of the mitochondrial malate dehydrogenase activity of meat press juice from flank during storage period.

¹⁾Mean \pm SD (n=3).
²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).
 Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

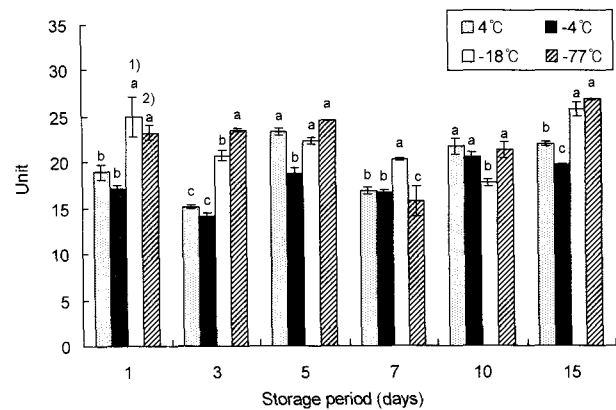


Fig. 9. Changes of the mitochondrial malate dehydrogenase activity of meat press juice from loin during storage period.

¹⁾Mean \pm SD (n=3).
²⁾Values with different small letter superscripts in the same storage period are significantly different (p<0.05).
 Unit=unit of enzyme activity (U/mL).

많은 양의 효소들이 유출되지 않는(26) 경향을 나타내었다.

요 약

본 연구는 냉장우육과 냉동우육의 판별법을 개발하기 위하여, 한우 육을 부위별(사태, 등심, 우둔, 양지)로 구입하고 냉장(4±1°C), 냉동(-4, -18, -77°C)상태로 15일 저장하면서 압착육즙채취기를 이용하여 근육 세포내 mitochondria 막에 존재하는 mitochondrial malate dehydrogenase 활성 특성을 비교 연구한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. 본 실험을 위하여 제작된 압착육즙채취기를 이용하여 정량적인 압착육즙을 얻을 수 있었고, 1.5 g의 우육을 이용하였을 때 0.15 mL의 압착육즙을 얻었다. 냉장우육과 냉동우육 간의 mitochondrial malate dehydrogenase의 각 부위별 활성은 사태의 경우 냉장우육은 23.63 Unit/mL의 활성을 나타내었고, -4°C는 20.91 Unit/mL, -18°C는 26.43 Unit/mL 그리고 -77°C는 25.90 Unit/mL의 활성을 나타내었다. 동일한 부위에서 저장 온도에 따른 효소의 활성도는 냉장우육보다 -4°C를 제외한 냉동 저장 온도(-18, -77°C)에서 모두 유의적으로 높은 효소의 활성을 나타내었다(p<0.05). 동일한 저장 온도에서 각 부위 간에 활성의 차이점은 -77°C에서 냉동 저장한 우육이 유의적 차이 없이 가장 높은 효소 활성을 나타내었고, -77°C 저장온도를 제외하고는 모두 유의성 있는 변화량을 나타내었다(p<0.05). 실험군의 압착육즙 내 mitochondrial malate dehydrogenase의 활성은 10분간 흡광도 변화량을 조사함으로써 계산되었다. 등심을 제외한 모든 부위에서 효소반응개시 3분 후에 -4°C에서 동결우육을 제외하고 동결우육의 효소 활성이 떨어지는 것을 확인할 수 있었고, 5분 반응 후에는 그 효소의 활성을 발견할 수 없었다. 냉장우육은 12분까지 활성을 측정할 수 있었다. 15일간 냉장우육 및 냉동우육을 저장 온도에 따라 저장하면서 그 활성을 측정하였는데, 저장 기간이 길어져도 그 효소 활성의 차이는 유의적으로 변화하지 않고, 모든 실험군(사태, 등심, 양지, 우둔 부위)에서 유의적으로 유사한 활성을 유지하였다(p<0.05). 따라서 본 연구 결과로부터 mitochondrial malate dehydrogenase의 활성을 이용하여 냉장우육과 냉동우육 유무를 판별하는데 유효한 지표로 사용 가능한 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 2001년 농림부 농림특정기술개발사업 지원 사업에 의하여 수행된 연구결과이며, 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Informeat. 2000. Meatline. Monthly Meat, Seoul. October, p 89-91.
2. Moon GI, Jung IC, Moon YH. 1994. Physicochemical properties and palatability of beef during storage at 1°C after

- thawing. *Korean J Food Sci* 14: 85-87.
3. Wagner JR, Anon MC. 1985. Effect of freezing rate on the denaturation of myofibrillar proteins. *J Food Technol* 20: 735-737.
4. Wagner JR, Anon MC. 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.
5. Wagner JR, Anon MC. 1986. Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle. II. Influence on solubility, viscosity and electrophoretic behaviour of myofibrillar proteins. *J Food Technol* 21: 547-549.
6. Dobraszczyk BT, Atkins AG, Jeronimidis G. 1987. Fracture toughness of frozen meat. *Meat Sci* 21: 25-28.
7. Lannari MC, Zaritzky NE. 1991. Effect of packaging and frozen storage temperature on beef pigments. *Int J Food Sci Technol* 26: 629-632.
8. Jung IC, Moon YH. 1995. Change in physico-chemical properties and palatability during refrigerated storage after thawing of imported frozen beef tenderloin. *Korean J Food Sci* 15: 156-159.
9. Deatherage FE, Hamm R. 1960. Influence of freezing and thawing on hydration and changes of the muscle protein. *Food Res* 25: 623-627.
10. Crigler JC, Dawson LE. 1968. Cell destruction in broiler breast muscle related to freezing time. *J Food Sci* 33: 248-250.
11. Li KC, Heaton EK, Marine JE. 1960. Freezing chicken thighs by liquid nitrogen and sharp freezing process. *J Food Technol* 23: 241-243.
12. Anon MG, Calvelo A. 1980. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *J Meat Sci* 4: 1-3.
13. Desrosier NW, Tressier DK. 1980. *Fundamentals of food freezing*. AVI publishing company, Inc., Connecticut Westport. p 215-239.
14. Miller AJ, Ackeman SA. 1980. Effects of frozen storage on functionality of meat for processing. *J Food Sci* 45: 1466-1469.
15. Sebranek JG, Sang PN, Rust FE, Topel DG, Kraft AA. 1980. Influence of liquid nitrogen, liquid carbon dioxide and mechanical freezing on sensory properties of ground beef patties. *J Food Sci* 43: 842-845.
16. Jeremiah LE. 1980. Effect of frozen storage and protective wrap upon the cooking losses, palatability and rancidity of fresh and cured pork cuts. *J Food Sci* 45: 187-190.
17. Neer KL, Mandigo RW. 1977. Effects of salt, sodium triphosphate and frozen storage time on properties of a flaked and cured pork product. *J Food Sci* 42: 738-741.
18. Winger RJ, Fennema O. 1976. Tenderness and water holding properties of beef muscle as influence by freezing subsequent storage at -3°C or 15°C. *J Food Sci* 41: 1443-1445.
19. Berry BW. 1990. Changes in quality of all-beef and soy-extended, patties as influenced by freezing rate, frozen storage temperature, and storage time. *J Food Sci* 4: 893-896.
20. Jeong SK. 1997. Measuring DNA damage in beef muscle caused by refrigeration, freezing and γ -irradiation by the comet assay. *MS Thesis*. Konkuk University.
21. Gottesmann P, Hamm R. 1983. New biochemical methods of differentiating between fresh meat and thawed, frozen meat. *Fleischwirsch* 63: 219-222.
22. Chen MT, Yang WD, Guo SL. 1988. Differentiation between fresh beef and thawed frozen beef. *Meat Sci* 24: 223-226.
23. Hamm R. 1979. Delocalization of mitochondrial enzymes during freezing and thawing of skeletal muscle. *Advances*

- in Chemistry Series 180*. American Chem. Soc., Washington, DC. p 192-195.
24. Meijer AJ, Vandam K. 1974. The metabolic significance of anion transport in mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 346: 214-244.
 25. Storey K, Bailey BE. 1988. Intracellular distribution of enzymes associate with lipogenesis and gluconeogenesis in fat body of adult cockroach. *Periplaneta Insect Biochem* 8: 125-131.
 26. Tripathi G, Shukla SK. 1987. Study of liver cytoplasmic and mitochondrial malate dehydrogenase of the freshwater catfish. *Clarias batrachus*. *Zool J Physiol* 91: 447-456.
 27. Beeckmans S, Kanarek L. 1981. Demonstration of physical interaction between consecutive enzymes of the citrate acid cycle and of the aspartate-malate shuttle. *Eur J Biochem* 117: 527-535.
 28. Joh T, Takeshima T, Tsuzuki K, Shimada S, Tanase S, Morino Y. 1987. Cloning and sequence analysis of cDNAs encoding mammalian mitochondrial malate dehydrogenase. *Biochemistry* 26: 2515-2520.
 29. Lindvladh C, Rault M, Hagglund C, Mosbach P, Srere A. 1987. Preparation and kinetic characterization of a fusion protein of yeast mitochondrial citrate synthase and malate dehydrogenase. *Biochemistry* 33: 11692-11698.
 30. Velot C, Mixon MB, Teige PM, Srere A. 1997. Model of a quinary structure between Krebs TCA cycle enzymes. *Biochemistry* 36: 14271-14276.
 31. Morgunov I, Srere A. 1998. Interaction between citrate synthase and malate dehydrogenase. *J Biol Chem* 273: 29540-29544.
 32. England S, Siegel L. 1969. Mitochondrial L-malate dehydrogenase of beef heart. *Methods Enzymol* 13: 99-106.
 33. Lusena CV. 1965. Release of enzymes from rat liver mitochondria by freezing. *Canad J Biochem* 43: 1787-1790.
 34. Bendall BS, DeDuve C. 1960. Tissue fractionation studies, 14. The activation of latent dehydrogenase in mitochondria from rat liver. *J Biochem* 74: 444-447.
 35. Tappel AL. 1969. Effect of low temperatures and freezing on enzymes and enzyme systems. In *Cryobiology*. Meryman HT, ed. Academic Press, London and New York. p 163-166.
 36. Luyet BJ. 1968. *Low Temperature Biology of Foodstuffs*. Hawthorn J, Rolfe EJ, eds. Pergamon, Oxford. p 146-158.
 37. Hamm R, Gottesmann P. 1982. Release of mitochondrial enzymes by freezing and thawing of muscle; Structural and analytical aspects. 28th European Meat Research Worker' Congress, Madrid.
 38. Lee JW. 1995. Monitoring the degree of the frozen denaturation of skeletal muscle myosin by ELISA method. *MS Thesis*. Konkuk University.
 39. Lee CH, Seo JH, Lee JY, Ryu KH. 2004. Study on the method of differentiating between fresh and frozen chicken meat by using mitochondrial malate dehydrogenase activity. *J Korean J Food Sci Ani Resour* 24: 151-155.

(2005년 6월 16일 접수; 2005년 11월 16일 채택)