



돈육 등심의 냉동 및 해동과정이 냉장저장동안 육색소 산화에 미치는 영향

정진연 · 양한술 · 강근호 · 이정일¹ · 박구부 · 주선태*
경상대학교 농업생명과학대학 동물자원과학부, ¹경상남도 첨단양돈연구소

Effect of Freeze-Thaw Process on Myoglobin Oxidation of Pork Loin during Cold Storage

Jin-Yeon Jeong, Han-Sul Yang, Geun-Ho Kang, Jeong-Ill Lee¹, Gu-Boo Park, and Seon-Tea Joo*
Division of Animal Science, College of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University
¹Advanced Swine Research Institute

Abstract

To investigate the effect of β -hydroxyacyl CoA-dehydrogenase(HADH) activity increased by freeze and thaw process on myoglobin(Mb) oxidation without lipid oxidation during, pork loins were collected at postmortem 24 hrs and sliced to steaks (3 cm thickness). Samples were packaged in a polyethylene bag and subjected to fresh group (control), one cycle freeze and thaw group (treatment 1) and two cycles freeze and thaw group (treatment 2), respectively. Samples were measure meat color (CIE L*, a*, b*), the contents(%) of MetMb, thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) value and HADH(β -hydroxyacyl CoA-dehydrogenase) activity at 0, 3, and 7 days of storage at 4°C. Both treatments showed significantly ($p<0.05$) lower L* and higher L* value compared to those of control at 7 days. On the contrary, MetMb contents(%) of treatments were significantly ($p<0.05$) higher than those of control during cold storage. However there were no significant ($p> 0.05$) differences in TBARS values between control and treatments during 7 days. There were significant ($p<0.05$) differences in HADH activity between control and treatments at 3 days of cold storage. Both treatments showed higher HADH activity compared to those of control. These results suggested that the freeze and thaw process could accelerate meat color deterioration, i.e. increased MetMb percentage without lipid oxidation in pork loin during cold storage. This also implied that autoxidation of Mb in freeze and thaw pork loin was influenced by enzyme-catalysed reactions in the tissue that would lead to decreased OxyMb.

Key words : freeze-thaw process, meat color, myoglobin, TBARS, HADH enzyme

서론

식육의 색깔은 소비자가 식육을 구매하는데 있어 가장 중요하게 고려하는 요인으로 식육의 품질을 판정하는 척도로 이용된다. 따라서 숙성기간이나 저장기간 중 육색의 안정성을 확보하면 유통기한의 연장이나 구매력을 향상시키는 등 신선육의 가치를 제고시킬 수 있다. 이렇게 식육의 판매에

있어 가장 중요하게 고려되는 육색은 육색소인 마이오글로빈(myoglobin : Mb)의 화학적 상태에 의해 결정되기 때문에 그 동안 많은 연구들이 마이오글로빈의 특성을 탐구하여 산화를 지연시키는 방법을 모색하는 연구에 집중되어 왔다. 마이오글로빈은 자적색의 환원 마이오글로빈(DeoxyMb)이 산소와 접하면 선홍색의 산소화 마이오글로빈(OxyMb)이 되고 산화가 이루어지면 갈색의 산화 마이오글로빈(MetMb)이 된다. 따라서 환원 마이오글로빈이나 산소화 마이오글로빈이 산화 마이오글로빈으로 산화되는 것을 억제시켜 식육의 색깔이 갈색으로 전환되는 것을 지연시키는 것은 산업적으로 매우 중요한 일이다.

식육의 저장방법 중 냉동저장방법은 장기간 육질을 보존

* Corresponding author : Seon-Tea Joo. Meat Science Laboratory, Division of Animal Science, College of Agriculture and Life science, Gyeongsang National University 900, Kajwa-dong, Jinju-Si, Gyeongnam, Korea. Tel: 82-55-751-5511, FAX: 82-55-752-9866, E-mail: stjoo@gsnu.ac.kr

하기 위하여 널리 이용되고 있는 방법 중의 하나이나, 저장 기간 동안 육질의 저하를 원천적으로 억제할 수는 없다. 즉, 냉동은 식육조직 내에 얼음결정을 형성하여 조직의 구조 및 생화학적 기작을 변화시키고 궁극적으로 단백질 변성을 초래한다. 특히, 식육의 소매판매점에서 신선육과 해동육을 냉장저장하면서 비교해 보면, 해동육의 육색이 저장기간 동안에 신선육에 비해 빠르게 갈색화가 진행되는 것을 관찰할 수 있다. 특히, 장기간 동결상태로 보관하면 지질의 산패, 단백질의 용해성 감소, 근섬유 단백질의 변성, 색택의 변화, 해동에 따른 드립의 손실로 인한 조직의 변화 등이 일어난다(Lee et al., 2004). 그 중, 육색소의 산화는 식육의 품질을 저하시키는 생화학적 주요 요인 중의 하나로 지방산화와 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 왔다. 그러나 최근 본 연구진은 지방산화와 관계없이 냉동·해동된 돈육에서 MetMb이 더 빨리 형성되는 것을 관찰하였다. 일반적으로 식육의 소매 진열 동안 Mb의 산화는 여러 가지 이화학적 및 생화학적 요인들과 관련이 있을 것으로 추론되어져 왔는데, 각종 효소들을 포함하는 다양한 성분들이 냉동 및 해동되는 동안 원래의 존재 위치로부터 근형질로 유리되어 나올 수 있다. 즉, Mb의 산화에 영향을 미칠 것으로 예상되는 HADH(β -hydroxyacyl CoA-dehydrogenase)와 같은 효소는 미토콘드리아로부터 근형질내로 유리되어져 나올 수 있다(Hamm and Gottsmann, 1984; Gottsmann and Hamm, 1984).

따라서, 본 연구에서는 돈육등심에 있어 냉동과 해동이라는 물리적인 처리가 지방의 산화에 관계없이 HADH 효소 활성을 변화시켜 지방산화와 관계없이 MetMb의 형성이 촉진될 수 있다는 가설을 세우고, 이를 증명하기 위해 돼지 등심근을 냉동과 해동과정을 거쳐 냉장저장하면서 육색소 산화에 관련된 물리적 및 생화학적 효소 변화를 알아보았다.

재료 및 방법

공시재료

상업적으로 도축된 돼지 10두를 무작위로 선정 한 후 사후 24시간에 등심부위를 채취하여 실험실로 운반하였다. 등심부위는 등지방을 제거한 후 등심근(*longissimus lumborum*)만 이용하여 두께 3 cm, 지름 6 cm 크기의 코어로 실험에 이용할 시료를 제조하였다. 시료는 wrap(polyethylene) 포장하여 냉동을 실시하지 않은 대조구와 냉동 후 해동한 처리구에 따라 7일 동안(1, 3 및 7일) 냉장저장(4°C)하면서 실험에 공시하였다.

실험구 설정과 조사항목

시료의 냉장저장은 일반냉장고를 이용하였고 냉동 유무와

냉동·해동 반복수의 방법으로 처리구를 구분하였다. 즉, 대조구는 냉동하지 않은 시료를 4°C의 일반냉장고에 저장하였고, 각각의 처리 방법은 다음과 같다. 처리구는 warp(polyethylene)포장한 후, -65°C에 2시간 급속 냉동한 뒤, 6시간 동안 일반냉장고(4°C)에서 해동한 것을 처리구 1(1회 냉동처리 후 해동)로 하였고, 이 방법을 한 번 더 반복한 처리구 2(냉동과 해동처리를 2회)로 나누었다. 각각의 처리구들은 7일 동안 4°C에서 냉장저장하면서 표면 육색(CIE L*, a*, b*), 육색소의 화학적 상태(MetMb:%), 지방산화도(Thiobarbituric Acid Reactive Substances : TBARS), HADH 효소활성도, 육즙 감량(%), 총 Mb 함량(mg/g) 및 근장단백질 함량(mg/g)의 변화를 조사하였다.

조사항목의 분석방법

표면 육색

육색은 포장을 개봉한 뒤 표면의 수분을 제거하고 Minolta Chromameter (CR-300, Minolta Co., Japan)를 사용하여 동일한 방법으로 10회 반복하여 명도(lightness)를 나타내는 L*값, 적색도(redness)를 나타내는 a*값과 황색도(yellowness)를 나타내는 b*값을 측정하였다. 기기의 표준화 작업은 $Y=93.5$, $X=0.3132$, $y=0.3198$ 인 표준색판을 사용하였다.

육색소의 화학적 조성

육색소의 화학적 조성은 Krzywicki(1982)의 방법으로 측정하였다. 즉 시료 4 g을 취하여 phosphate buffer (pH 6.8, ionic strength 0.04) 20mL에 넣은 후 13,000rpm에서 10초간 균질기(IKA Labortechnik T-25 Basic, IKA Works (Asia) Sdn. Bhd., Malaysia)로 균질하였다. 이때 육색소 추출은 Warriss (1979)의 방법으로 추출하였고, 균질액을 냉암소에서 1시간 방치한 후 5,000 g에서 30분간 원심분리기(Union 5 kr, Hanil, Korea)로 원심분리시켰다. 원심분리된 상층액을 Whatman No. 1 여과지로 여과한 후, 분광광도계(Spectronic® Genesys 5, Milton Roy Company, USA)로 572, 565, 545, 525 nm의 흡광도를 측정하여 다음과 같은 계산식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{MetMb \%} = C_{\text{Met}/c} = -2.514R_1 + 0.777R_2 + 0.800R_3 + 1.098$$

여기에서 R_1 , R_2 , R_3 는 각각 A^{572}/A^{525} , A^{565}/A^{525} , A^{545}/A^{525} 이다.

지방산화도

지방산화도는(TBARS)는 Burge와 Aust(1978)의 방법으로 측정하였으며, 시료를 칼로 작게 세분한 후, 세분한 시료 5 g에 BHT(Butylated Hydroxytoluence) 50 mL와 증류수 15 mL를 가해 균질기(IKA Labortechnik T-25 Basic, IKA Works (Asia) Sdn. Bhd., Malaysia)로 13,500 rpm에서 10초간 균질하였다. 균질액 2 mL에 TBA/TCA 혼합용액 4 mL를 넣고 교반기에서 10초간 혼합 후 90°C 항온조에서 15분간 가열 반응시켰다. 냉각수로 식힌 시료는 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Union 5kr, Hanil, Korea)를 시킨 후, 상층액을 회수하여 분광광도계(Spectronic® Genesys 5, Milton Roy Company, USA)로 531 nm의 흡광도를 측정하여 다음과 같은 계산식으로 산출하였다.

$$TBARS = \text{흡광도} \times 5.88$$

HADH 활성도

HADH의 활성도는 Fernandez 등(1999)의 방법으로 측정하였다. 약 2 g의 시료를 약 4~6 mL(시료무게 대비 약 2~3 배)의 0.1 M phosphate buffer(pH 6.0)에 침지시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후, 34 mL를 취하여 분광광도계 측정용 용기에 넣은 뒤 34.4 mM EDTA 70 mL과 0.1 M phosphate buffer(pH 6.0) 880 mL를 넣고 실온에서 3분간 방치하였다. 여기에 1.5 mM NADH 20 mL과 5.9 mM acetoacetyl-CoA 20 mL를 가한 후 반응이 일어나는 3분 동안 매 30초마다 340 nm의 흡광도를 측정하였다. HADH 활성도는 측정된 흡광도의 기울기에 -10^4 를 곱하여 나타내었다.

마이오글로빈 함량

Mb의 함량 측정은 Fleming(1970)의 방법으로 측정하였다. 분쇄한 시료 2 g 취하여 phosphate buffer (pH 6.8, 이온 강도 0.04) 10mL에 넣은 후 13,000rpm에서 10초간 균질기(IKA Labortechnik T-25 Basic, IKA Works (Asia) Sdn. Bhd., Malaysia)로 균질하였다. 이때 Mb의 추출은 Warriss (1979)의 방법으로 추출하였고, 균질액을 냉암소에서 1시간 방치한 후 5,000 g에서 30분간 원심분리(Union 5kr, Hanil, Korea)시켰다. 상층액을 Whatman No. 1 여과지로 여과한 후 추출한 상층액 1 mL에 potassium ferricyanid (0.6mM) 100 μ L과 potassium cyanid(0.8mM) 900 μ L를 넣은 뒤 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 값은 다음과 같은 계산식을 이용하여 Mb의 함량을 산출하였다.

$$Mb \text{ (mg/g)} = \frac{O.D.}{11300} \times \frac{17000 \times 0.25 \times 1000 \times d}{\text{시료무게(g)}}$$

* O.D.=A540nm~700nm, d=회석된 농도의 기울기

근장단백질 함량

근장단백질 함량은 Joo 등(1999)의 방법을 응용하여 측정하였다. 분쇄한 시료 1g을 취하여 냉장보관 중인 potassium phosphate buffer(pH 7.2) 10 mL에 넣은 뒤 균질기(IKA Labortechnik T-25 Basic, IKA Works (Asia) Sdn. Bhd., Malaysia)로 균질하였다. 균질한 시료는 4°C에서 24시간 흔들면서 근장단백질을 추출한 후 1,500 g에서 20분간 원심분리하였다. 원심분리한 상층액의 단백질 농도를 뷰렛방법에 의해 측정하였다.

육즙 감량

포장 전 시료의 무게를 측정하였고, 포장을 개봉하여 시료 표면의 수분을 제거한 후 무게를 측정하여 저장 후 육즙의 감량을 백분율로 산출하였다. 이때 육즙 감량은 다음 식에 의하여 계산하였다.

육즙감량(%) =

$$\frac{\text{포장전시료의무게(g)} - \text{포장개봉후시료의무게(g)}}{\text{포장전시료의무게(g)}} \times 100$$

통계처리

실험에서 얻어진 결과는 SAS/PC⁺(SAS, 1995)을 이용하여 ANOVA 방법으로 분석하였고 처리구간의 평균 비교를 위해 분산분석 및 Duncan의 다중검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

Table 1은 냉장 저장기간 동안 돈육 등심의 냉동 및 해동 과정이 표면 육색에 미치는 영향에 대해 나타난 결과이다. Zhu와 Brewer(1998)에 의하면 돈육(신선육 및 이상돈육)은 저장기간 및 저장상태에 따라 Mb이 산화되어 육색이 저하되며, 육의 상태, 저장 상태에 따라 저하되는 속도는 다르다고 하였다. 본 연구에서도 육색은 저장기간이 길어지면서 저하되는 경향이 명확히 나타났지만, 육색이 저하되는 정도는 처리구에 따라 다르게 나타났다. 즉 명도를 나타내는 L*값의 경우, 냉동하여 해동처리한 처리구가 대조구에 비해 저장 1일부터 유의적으로($p < 0.05$) 낮은 값을 나타내었다. 이러한 경향은 적색도인 a*값에서도 나타났는데, 특히 저장 7일째 냉동과 해동을 2회 실시한 처리구 2가 대조구에 비해 a*값이 유의적으로($p < 0.05$) 낮게 나타났으며 저장 3일째와도 유의적인($p < 0.05$) 차이를 보였다. 이와 같이 명도와 적색도의 유의적인 차이는 식육 표면의 색상을 나타내는 hue 값에 영향을

Table 1. Effect of freeze-thaw process on surface meat color of pork loin during cold storage

Treatment ¹⁾	Cold storage days				
	Before freeze	1 day	3 day	7 day	
L*	C	53.61±2.31	55.22±1.93 ^A	54.36±1.94 ^A	53.15±1.05 ^A
	T1	53.53±1.26 ^a	52.77±1.54 ^{Ba}	51.90±1.44 ^{Bab}	50.55±0.86 ^{Bb}
	T2	52.60±1.10 ^a	50.69±1.41 ^{Bb}	50.02±1.07 ^{Bb}	51.00±1.08 ^{Bab}
a*	C	7.26±1.15	7.18±1.12	7.11±0.79	6.24±0.37 ^A
	T1	7.29±0.66 ^a	7.00±0.81 ^a	7.20±1.09 ^a	5.80±0.64 ^{ABb}
	T2	6.83±1.15 ^a	6.43±0.98 ^a	6.58±0.94 ^a	5.15±0.44 ^{Bb}
b*	C	5.18±0.90 ^b	6.90±1.00 ^a	7.85±0.59 ^a	7.64±0.46 ^a
	T1	5.10±0.32 ^b	6.91±1.71 ^a	8.12±0.82 ^a	7.72±0.72 ^a
	T2	4.51±1.18 ^b	5.94±2.31 ^{ab}	7.16±0.94 ^a	7.28±0.52 ^a
ΔC	C	8.92±1.39 ^b	10.01±0.99 ^{ab}	10.59±0.92 ^a	9.87±0.52 ^{ab}
	T1	8.90±0.73 ^b	9.92±1.18 ^{ab}	10.86±1.25 ^a	9.65±0.92 ^{ab}
	T2	8.19±1.59	8.84±2.08	9.72±1.30	8.91±0.61
Δh	C	35.48±3.12 ^c	43.92±6.53 ^b	47.98±1.85 ^{ab}	50.82±1.61 ^{Ba}
	T1	35.00±0.80 ^c	44.16±8.75 ^b	48.66±2.84 ^{ab}	53.14±1.87 ^{Ba}
	T2	33.03±3.18 ^c	41.28±9.79 ^b	47.48±1.83 ^{ab}	54.76±1.87 ^{Aa}

¹⁾ C : storage in refrigerator at 4°C without freeze.

T1 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw one cycle.

T2 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw two cycle.

^{A,B} : Means ± SD with difference superscript in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

^{a,b} : Means ± SD with difference superscript in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

미처 처리구 2가 저장 7일째 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 이 같은 결과는 신선육을 냉동한 후 해동하면 표면 육색이 빠른 속도로 어두워지고(낮은 L*) 흐려(낮은 a*) 진다는 것을 의미한다.

Fig. 1은 냉장저장 동안 처리구 간 MetMb의 형성속도를 나타낸 것이다. Table 1에 나타난 표면 육색의 결과로부터 예상되었던 것처럼 대조구에 비해 처리구에서 MetMb이 빠른 속도로 형성되는 것으로 나타났다. 즉, 식육은 냉동과 해동의 과정을 거치고 냉장저장하면 Mb의 산화가 촉진되는 것으로 나타났는데, 특히 냉동과 해동을 2회 실시한 처리구 2의 경우 저장 7일째 식육 내외부에 형성된 MetMb이 20%를 상회하는 것으로 나타나 다른 처리구들과 유의적인($p < 0.05$) 차이를 보였다.

일반적으로 식육의 냉장저장 중 육색의 저하에 결정적인 영향을 미치는 것은 OxyMb이나 DeoxyMb이 산화되어 MetMb을 형성하는 것인데, Mb의 산화는 Mb을 이루고 있는 Heme 단백질의 중심에 있는 철 이온이 Fe^{2+} 에서 Fe^{3+} 로 화학적 변화를 일으키는 것을 말한다(Livingston & Brown, 1982).

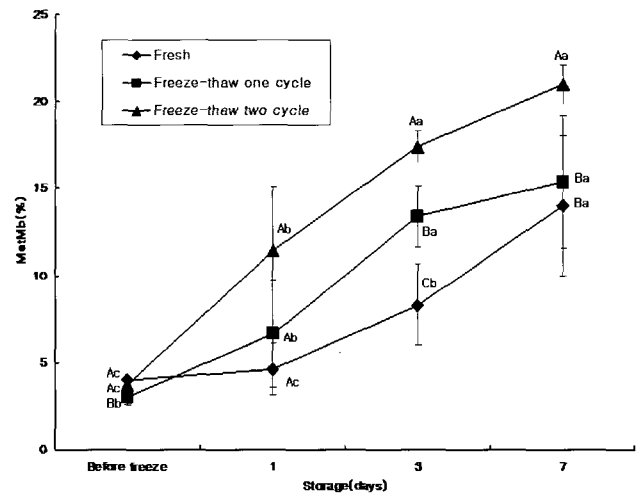


Fig. 1. Changes in metmyoglobin percentage of pork loin for 7 days of storage.

^{A-C} : Means ± SD with difference superscript in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

^{a-c} : Means ± SD with difference superscript in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

이때 형성된 Fe³⁺는 계속 그 화학적 상태를 유지하게 되고, 일부는 Fe⁴⁺로 변화되면서 산화는 지속적으로 이루어져 마침내 MetMb의 갈색으로 고정된다(Baron *et al.*, 2002). 그리고 이러한 MetMb이 식육 표면에 20% 이상 축적이 되면 소비자들은 그 식육의 구매를 기피하게 된다(Chan *et al.*, 1998). 따라서 본 연구 결과 냉동 돈육 등심의 경우 해동 후, 일주일 이내에 판매가 이루어지는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

한편, 앞선 연구보고에 따르면 식육의 냉동 및 해동이라는 외부의 물리적 충격은 식육 내의 이화학적 대사에 전체적으로 부정적인 영향을 미치며(Srinivasan *et al.*, 1997), 근섬유 단백질 변성과 연도 변화(Ang and Hultin, 1989) 및 지방산화에도 영향을 미친다(Benjakul and Bauer, 2001). 그러나 본 실험의 경우, 식육의 냉동과 해동은 육색소단백질의 산화는 초래하였지만 지방산화에는 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. Table 2에 나타난 바와 같이 냉장저장 7일 동안 대조구와 처리구 사이의 TBARS 값은 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 즉, 냉동과 해동에 따른 표면 육색의 변화와 Mb의 산화가 확인되었음에도 불구하고 지방의 산화는 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 냉동과 해동의 과정을 거친 식육의 경우 지방 산화와 무관하게 어떤 특정 기작에 기인하여 육색소의 산화가 촉진되었다는 것을 의미한다.

일반적으로 Mb의 산화와 지방산화는 밀접한 연관이 있으며, 지방산화 과정에서 생성되는 지방산화물 등이 Mb의 산화에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 즉, 지방산화 과정에서 생성되는 산화물들은 육색을 변색시키는 가장 중요한 인 중 하나로(Faustman and Cassens, 1990), Heme 단백질은 세포막 지방산의 산화생성물에 영향을 받는다(Szebeni *et al.*, 1988; Gotz *et al.*, 1994). 이 같은 사실은 이미 오래전 Haurowitz 등 (1941)에 의해 지방산화물이 Heme 단백질에 피해를 입힌다고 보고된 이래, 다양한 연구들이 이의 기작을 탐구하여 육색소 산화를 억제하는 방법을 모색하기 위해 수행되었다. 식육 내에 존재하는 OxyMb의 산화는 지방 산화

에 의해 연속적으로 반응하고(Greene, 1969; Greene *et al.*, 1971), 따라서 지용성이면서 항산화 효과를 가지고 있는 α -Tocopherol의 함량을 식육 내에 증가시키면 지방 산화뿐만 아니라 육색소의 산화가 감소하게 된다(Faustman *et al.*, 1989; Yin and Faustman, 1993; Yin and Faustman, 1994). 최근 Chan 등 (1997)은 이러한 지방과 육색소의 산화적 상관관계에 대한 기본적인 탐구에 더욱더 가까이 접근하였는데, 몇 가지 aldehyde 생성물이 세포막의 지질을 산화시켜 산화물을 생성하고 그 생성물들이 다시 OxyMb에 영향을 미쳐 연속적인 산화를 일으킨다고 주장하였다. 그들은 aldehyde의 생성물을 테스트하게 되면, 특히 α, β -unsaturated aldehyde nonenal과 heptenal이 쉽게 산화가 일어날 수 있다는 것을 입증하였다. Witz(1989)도 α, β -unsaturated aldehyde는 단백질과 매우 쉽게 반응하여 산화작용을 일으킨다고 보고하였고, 특히 이러한 생성물들 중 하나인 4-HNE (4-hydroxynonenal)은 가장 많이 주목받고 있는 생성물로 받아들여지고 있다(Esterbauer *et al.*, 1991). HNE는 식육 내 단백질을 불활성화 시키는데(Szweda *et al.*, 1993), Lee 등(2003)은 Hexanal, hexenal 및 4-HNE 등이 OxyMb의 산화를 촉진한다고 보고하였다.

이 같은 결과는 Benjakul과 Bauer (2001)의 냉동 및 해동에 의한 외부의 물리적 충격이 외부의 물리적 처리를 받지 않은 처리구에 비해 지방산화가 촉진되었다는 보고와 일치하지 않는 결과이다.

한편, 식육이 냉동과 해동이라는 물리적 변화의 과정을 거치는 동안 세포막 및 세포 소기관 등 세포 자체에 손상을 가져와 식육 내에서 이루어지는 다양한 기전들(해당과정, TCA 회로, 전자전달계)이 영향을 받고 그 결과 효소 활성도 등에 불균형이 초래될 수도 있다. 본 연구에서는 그러한 효소들 중 육색소 산화와 관련이 있을 것으로 추정되는 HADH 활성도를 측정된 결과, Table 3에 나타난 바와 같이 냉동과 해동 처리를 한 처리구가 대조구에 비해 냉장저장 1일과 3일째에

Table 2. Changes in thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) of pork loin during cold storage

Treatment ¹⁾	Cold storage days			
	Before freeze	1 day	3 day	7 day
C	0.04±0.01 ^c	0.09±0.38 ^b	0.14±0.01 ^{Aa}	0.15±0.01 ^a
T1	0.04±0.02 ^d	0.09±0.03 ^c	0.12±0.01 ^{Bb}	0.14±0.01 ^a
T2	0.04±0.01 ^c	0.08±0.02 ^b	0.12±0.01 ^{Ba}	0.14±0.01 ^a

¹⁾ C : storage in refrigerator at 4°C without freeze.

T1 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw one cycle.

T2 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw two cycle.

^{A,B} : Means ±SD with difference superscript in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

^{a-d} : Means ± SD with difference superscript in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Changes in β -hydroxyacyl CoA-dehydrogenase (HADH) activity of pork loin during cold storage

Treatment ¹⁾	Cold storage days			
	Before freeze	1 day	3 day	7day
C	3.26±0.25 ^d	5.55±0.17 ^{Bc}	7.32±2.27 ^{Bb}	9.65±0.24 ^a
T1	3.66±0.91 ^b	8.99±0.10 ^{Aa}	9.32±0.53 ^{Aa}	9.59±0.47 ^a
T2	3.30±0.23 ^c	9.02±0.23 ^{Ab}	9.29±0.52 ^{Aab}	9.59±0.45 ^a

¹⁾ C : storage in refrigerator at 4°C without freeze.

T1 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw one cycle.

T2 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw two cycle.

^{A,B} : Means ±SD with difference superscript in the same column are significantly different ($p<0.05$).

^{a-d} : Means ± SD with difference superscript in the same row are significantly different ($p<0.05$).

유의적으로($p<0.05$) 높은 것을 확인하였다. HADH는 미토콘드리아(β -oxidation cycle) 내에서 NAD⁺(Nicotinamide adenine dinucleotide)를 이용하여 NADH (Reduced nicotinamide adenine dinucleotide)를 생성시킨다. 이때 생성된 NADH는 미토콘드리아의 이중막으로 이동하여 전자전달효소로 이용되며, 이때 MetMb이 환원효소로서 작용하게 된다(Marin-García and Goldenthal, 2002). 따라서 식육의 냉동과 해동이 이루어지는 동안 미토콘드리아 내에 존재하는 HADH가 근형질로 유리되어져 나온 결과 MetMb를 환원시키는 NADH의 환원력이 저하되어 MetMb의 생성이 촉진된 것으로 사료된다.

일반적으로 식육 내에서 환원효소들의 활성이 좋아지면 MetMb의 형성은 억제된다고 알려져 있다. 특히, NAD⁺, NADH, NADP⁺와 같은 효소들은 세포 내에서 발생하는 다양한 기작에 관여하는 대표적인 효소들로, Mb의 환원에 관여할 뿐만 아니라 해당과정, TCA 회로, 전자전달계에 직·간접적으로 관여한다. 식육은 사후 2~4주 동안 해당과정에 관여하는 효소들 대부분이 활력을 가지고 활동을 한다(Andrews *et al.*, 1952). 하지만 우육과 돈육에서 해당과정, TCA 회로 및 전자전달계 효소의 효소 활동력은 사후 시간 경과에 따라 감소되고(Bodwell *et al.*, 1965), 이러한 현상은 기질의 결핍과 효소의 감소보다는 사후 근육의 제한적인 능력 때문으로 알려졌다(Saleh and Watts, 1968). 따라서 이러한 효소들이 근세포 내에서 외부의 영향으로 균형이 깨진다면 육색소의 산화와 같은 생화학적 반응들이 영향을 받을 수 있다. 예를 들어, Atkinson과 Follett (1973)은 저장기간 동안에 발생하는 육색의 저하는 식육 내에 존재하는 산소의 함량과 크게 관련이 없으며 근육 조직 내의 NAD⁺의 환원력과 연관성이 높다고 보고하였는데, 식육에 NAD⁺를 부가하게 되면 MetMb의 환원력은 증가한다(Watts *et al.*, 1966).

따라서 본 연구 결과, 냉동·해동육의 MetMb의 형성은 지방산화에서 영향을 받는 것이 아니라, 냉동 해동이라는 과정

을 통해 세포내의 효소 기작 및 체계들이 불균형적으로 작용하였고, 이로 인하여 육색소 단백질의 산화가 이루어진 것으로 생각된다. 즉, 냉동과 해동이 이루어지는 동안 미토콘드리아의 파괴가 이루어진 결과 HADH가 근형질로 유리되어 나온 것에 기인하여 미토콘드리아 내에서 NAD⁺를 이용한 NADH의 생성이 억제되어 MetMb의 환원력이 감소된 것으로 사료된다. 하지만 이에 대한 보다 구체적인 기작을 구명하기 위해서는 향후 더욱 세밀한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Table 4는 육즙 감량, 육색소 함량 및 근장단백질 함량을 측정된 결과이다. 육즙 감량은 냉동·해동한 처리구가 대조구에 비해 저장기간 동안 유의적으로($p<0.05$) 높은 것으로 나타났으며, 이와 반대로 육색소와 근장단백질의 함량은 저장기간 동안 대조구에 비해 처리구가 빠르게 감소하는 경향을 보였다. 이 같은 결과는 냉동과 해동을 실시한 처리구는 많은 육즙 감량으로 인한 수분의 손실로 인해 수용성 단백질인 근장단백질 및 육색소 단백질이 감소한 것을 의미한다. 이는 Table 1에 나타난 처리구의 낮은 a* 값의 원인으로 작용한 것으로 생각한다. 따라서 해동육의 경우 각종 효소들을 함유하고 있는 근장단백질이 식육 외부로 추출되어 나온 것도 어느 정도 육색소의 산화에 영향을 미친 것으로 사료된다.

요 약

식육을 냉동한 후, 해동하여 냉장저장하면 육색이 빨리 저하되는 원인을 구명하고자 사후 24시간의 돈육 등심을 냉장(대조구), 냉동과 해동 1회 및 2회(처리구)로 구분하여 7일간 냉장저장하면서 표면육색, 육색소와 지방산화도, HADH 활성도, 육즙 감량, 육색소 함량 및 근장단백질 함량의 변화를 조사하였다. 그 결과 처리구가 대조구에 비해 육색이 빨리 어두워지고 열어지는 것으로 나타났으며 MetMb의 형성도 촉진되는 것으로 나타났다. 하지만 지방산화도는 대조구와

Table 4. Changes in drip loss (%), myoglobin and sarcoplasmic protein contents of pork loin during cold storage

Treatment ¹⁾	Cold storage days				
	Before freeze	1 day	3 day	7day	
Drip loss(%)	C	-	6.78±1.85 ^{Ba}	7.89±1.42 ^{Aa}	10.45±0.20 ^{Bb}
	T1	-	10.51±1.71 ^{AB}	12.08±3.93 ^B	13.36±2.13 ^{AB}
	T2	-	13.93±0.15 ^B	14.69±0.94 ^B	15.52±0.23 ^B
Myoglobin content (mg/g)	C	1.25±0.03 ^{Ba}	1.23±0.01 ^a	1.24±0.08 ^{Aa}	1.08±0.05 ^b
	T1	1.08±0.01 ^{Ca}	1.12±0.05 ^a	1.13±0.03 ^{ABa}	1.01±0.15 ^a
	T2	1.29±0.01 ^{Aa}	1.13±0.13 ^b	1.08±0.09 ^{Bb}	1.02±0.03 ^b
Sarcoplasmic protein (mg/g)	C	75.73±4.17	74.87±3.56	74.20±3.19	73.65±2.04 ^A
	T1	75.20±4.01 ^a	74.53±3.55 ^a	73.28±3.84 ^b	67.55±4.13 ^{Bb}
	T2	76.00±4.20	75.37±3.30	74.15±3.63	71.15±2.83 ^{AB}

¹⁾ C : storage in refrigerator at 4°C without freeze.

T1 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw one cycle.

T2 : storage in refrigerator at 4°C after freeze-thaw two cycle.

^{A-C} : Means ±SD with difference superscript in the same column are significantly different (p<0.05).

^{ab} : Means ± SD with difference superscript in the same row are significantly different (p<0.05).

처리구 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 반면 HADH 활성도는 저장 1일과 3일째 처리구가 유의적으로 높게 나타났다. 또한 처리구가 저장기간 동안 많은 육즙 감량을 보였고 낮은 육색소 함량 및 근장단백질 함량을 나타내었다. 이 같은 결과는 식육을 냉동한 후 해동하여 냉장저장하면 지방산화와 무관하게 육색소의 산화가 이루어지는 것을 의미하며, 그 이유는 냉동과 해동과정에서 미토콘드리아 내에서 HADH가 근형질로 유리되어 MetMb의 환원력이 저하된 결과에 기인한 것으로 사료된다. 또한 각종 효소들을 함유하고 있는 근장단백질의 함량이 감소된 것도 어느 정도 육색소의 산화에 영향을 미친 것으로 생각된다.

참고문헌

- Andrew, M. M., Guthneck, B. T., McBride, B. H. and Schweigert, B. S. (1952) Stability of certain respiratory and glycolytic enzyme systems in animal tissues. *J. Biol. Chem.* **194**, 715-719.
- Ang, J. F. and Hultin, H. O. (1989) Denaturation of cod myosin during freezing after modification with formaldehyde. *J. Food Sci.* **54**, 814-818.
- Atkinson, J. L. and Follett, M. J. (1973) Biochemical studies on the discoloration of fresh meat. *J. Fd. Technol.* **8**, 51-58.
- Baron, C. P., Skibsted, L. H. and Andersen, H. J. (2002) Concentration effects in myoglobin-catalyzed peroxidation of linoleate. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 883-888.
- Benjakul, S. and Bauer, F. (2001) Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis linne*) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles. *Food Chem.* **72**, 207-217.
- Bodwell, C. E., Pearson, A. M. and Fennell, R. A. (1965) Post mortem changes in muscle. III. Histochemical observations in beef and pork. *J. Food Sci.* **30**, 944-954.
- Buege, J. A. and Aust, J. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* **52**, 302-310.
- Chan, W. C. M., Faustman, C. and Decker, E. A. (1997) Oxymyoglobin oxidation as affected by oxidation products of phosphatidylcholin liposomes. *J. Food Sci.* **62**, 709-712.
- Chan, W. K. M., Faustman, C., Velasquez-Pereira, J., McDowell, L. R. and Batra, T. R. (1998) Effects of α -tocopherol on metmyoglobin formation and reduction in beef from cattle fed soybean or cottonseed meal diets. *J. Anim. Sci.* **76**, 1421-1426.
- Esterbauer, H., Schaur, R. J., and Zollner, H. (1991) Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biol. Med.* **11**, 81-128.
- Faustman, C., Cassens, R. G., Schaefer, D. M., Buege, D. R., Williams, S. N. and Sheller, K. K. (1989) Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by dietary supplementation of vitamin E. *J. Food Sci.* **54**, 858-862.
- Faustman, C. and Cassens, R. G. (1990) The biochemical basis for discoloration in fresh meat; A review. *J. Muscle*

- Foods*, **1**, 217-243.
13. Fernandez, M., Mano, S., Garcia de Fernando, G., Ordonez, J. A. and Hoz, L. (1999) Use of β -hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase (HADH) activity to differentiate frozen from unfrozen fish and shellfish. *Eur. Food Res. Technol.* **209**, 205-208.
 14. Gottesmann, P. and Hamm, R. (1984) Lipoamide dehydrogenase, citrate synthase and beta-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase in skeletal muscle. I. Determination of activity in tissue extracts. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-untersuchung Und-forschung*. **178(5)**, 366-370.
 15. Gotz, F. M., Hertel, M., and Groschel-Stewart, U. (1994) Fatty acid binding of myoglobin depends on its oxygenation. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **375**, 387-392.
 16. Greene, B. E. (1969) Lipid oxidation and pigment changes in raw beef. *J. Food Sci.* **34**, 110-113
 17. Greene, B. E., Hsin, I. and Zipser, M. W. (1971) Retardation of oxidative color change in raw ground beef. *J. Food Sci.* **36**, 940-944.
 18. Hamm, R. and Gottesmann, P. (1984) Lipoamide dehydrogenase, citrate synthase and beta-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase in skeletal muscle. IV. The effect of storage of bovine and swine muscles at 2 degrees C on their activity and subcellular distribution. *Zeitschrift fur lebensmittel-untersuchung und-forschung*. **179(3)**, 205- 209.
 19. Haurowitz, F., Schwerin, P. and Yenson, M. M. (1941) Destruction of hemin and hemoglobin by the action of unsaturated fatty acids and oxygen. *J. Biol. Chem.* **140**, 353-359.
 20. Joo, S. T., Kauffman, R. G., Kim, B. C. and Park, G. B. (1999) The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine *longissimus* muscle. *Meat Sci.* **52**, 291-297.
 21. Krzywicki, K. (1982) The determination of haem pigments in meat. *Meat Sci.* **7**, 29-36.
 22. Lee, C. H., Seo, J. H., Lee, J. Y. and Ryu, K. H. (2004) Study on the method of differentiating between fresh and frozen chicken meat by using mitochondrial malate dehydrogenase activity. *Kor. J. Food. Sci. Ani. Resour.* **24(2)**, 151-155.
 23. Lee, S., Joo, S. T., Alderton, A. L., Hill, D. W. and Faustman, C. (2003) Oxymyoglobin and lipid oxidation in yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) loins. *J. Food Sci.* **68(5)**, 1664-1668.
 24. Livingston, D. J. & Brown, W. D. (1982). The Chemistry of myoglobin and its reactions. *Food Technology*, **35(5)**, 244-252.
 25. Marín-García, J. and Goldenthal, M. J. (2002) Fatty acid metabolism in cardiac failure; biochemical, genetic and cellular analysis. *Card. Res.* **54**, 516-527.
 26. Saleh, B. and Watts, B. M. (1968) Substrates and intermediates in the enzymatic reduction of metmyoglobin in ground beef. *J. Food Sci.* **33**, 353-357.
 27. SAS (1995) SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
 28. Srinivasan, S., Xing, Y. L., Blanchard, S. P. and Tidwell, J. H. (1997) Physicochemical changes in prawns (*Machrobrachium rosenbergii*) subjected to multiple freeze-thaw cycles. *J. Food Sci.* **62**, 123-127.
 29. Szebeni, J., Huse, H., Eskelson, C. K., Watson, R. R. and Winterhalter, K. H. (1988) Interaction of hemoglobin derivatives with liposomes. Membrane cholesterol protects against the changes of hemoglobin. *Biochemistry.* **27**, 6425- 6434.
 30. Szwedda, L. I., Uchida, K., Tasi, L. and Stadtman, E. R. (1993) Inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal. *J. Biol. Chem.* **268**, 3342-3347.
 31. Warriss, P. D. (1979) The extraction of haem pigments from fresh meat. *J. Fd. Technol.* **14**, 75-80.
 32. Watts, B. M., Kendrick, J., Zipser, M., Hutchins, B. and Saleh, B. (1966) Enzymatic reducing pathways in meat. *J. Food. Sci.* **31**, 855-862.
 33. Witz, G. (1989) Biological interactions of α,β -unsaturated aldehydes. *Free Radical Biol. Med.* **7**, 333-349.
 34. Yin, M. C. and Faustman, C. (1993) The influence of temperature, pH and phospholipid composition upon the stability of myoglobin and phospholipid; a liposome model. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 854-847.
 35. Yin, M. C. and Faustman, C. (1994) The influence of microsomal and cytosolic components on the oxidation of myoglobin and lipid *in vitro*. *Food Chem.* **51**, 159-164.
 36. Zhu, L. G. and Brewer, M. S. (1998) Discoloration of fresh pork as related to muscle and display conditions. *J. Food Sci.* **63(5)**, 763-767.
-
- (2005. 2. 22. 접수 ; 2005. 12. 4. 채택)