Korean J. Food Sci. Ani. Resour.
Vol. 32, No. 3, pp. 346~353(2012)
DOI http://dx.do.org/10.5851/kosfa.2012.32.3.346

ARTICLE

산화 촉진 조건에서 한우육의 항산화효소 활성, 지방산화 및 향기패턴의 관계

강선문[1] · 무흘리신 · 김거유 · 조수현[1] · 박범영[1] · 정석근[1] · 이성기*
강원대학교 동물식품응용과학과, [1]농촌진흥청 국립축산과학원

Relationship of Antioxidant Enzyme Activity, Lipid Oxidation, and Aroma Pattern of Hanwoo (Korean Cattle) Beef under Oxidation-promoted Condition

Sun Moon Kang[1], Muhlisin, Gur Yoo Kim, Soohyun Cho[1], Beomyoung Park[1], Seokgeun Jung[1], and Sung Ki Lee*
Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
[1]National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Suwon 441-706, Korea

Abstract

This study was carried out in order to investigate the relationship of antioxidant enzyme activity, lipid oxidation, and aroma pattern of Hanwoo (Korean cattle) beef for 8 d at 15°C/RH 100% under 0% O_2/20% CO_2/80% N_2, 25% O_2/20% CO_2/55% N_2, 50% O_2/20% CO_2/30% N_2, and 75% O_2/20% CO_2/5% N_2-conditions. The reduction of O_2 and the induction of CO_2 were shown in the 25-75% O_2-groups during storage and total change rates of O_2 and CO_2 were followed in order: 25%>50%>75%. Catalase activity was not significantly different among all groups. During storage, glutathione peroxidase activity decreased by increasing the O_2 concentration and was followed at 8 d in order: 0%>25%>50%>75% (p<0.05). From 2 d of storage, TBARS content had significant (p<0.05) differences in order: 0%>25%>50%>75%. The CIE L^* value was higher (p<0.05) in the 25-75% O_2-groups, compared with the 0% O_2-group. During the first time, the CIE a^* value was higher (p<0.05) in order: 0%<25%<50%<75% but was lower (p<0.05) in the 25-75% O_2-groups from 2 d of storage than in the 0% O_2-group. The CIE b^* value was higher (p<0.05) in the 25-75% O_2-groups than in the 0% O_2-group and had significant (p<0.05) differences at 0 and 8 d in order: 0%<25%<50%<75%. Aroma patterns with the electronic nose were clearly discriminated between the 0% O_2-groups and the 25-75% O_2-groups at 8 d of storage. Therefore, high oxygen reduced stabilities of antioxidant enzymes, lipid oxidation, and color in Hanwoo beef. Furthermore, antioxidant enzyme activities and lipid oxidation could affect aroma patterns.

Key words: antioxidant enzyme, lipid oxidation, color, aroma pattern, Hanwoo beef

서 론

산화안정성은 근육식품의 품질에 중요한 요인으로서 지방산화에 큰 영향을 미친다. 저장기간 동안 식육에서는 singlet oxygen, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, lipid peroxyl radical과 같은 free radical에 의해 지방산화가 일어나며, 이는 온도, 빛, 전이 금속이온, heme 단백질, 효소(lipoxygenase)에 의해 촉진된다(Monahan, 2000). 지방산화는 단순히 불포화지방산의 분해 과정으로만 일어나는 것이 아니라, 변색, 악취, 조직감의 변질, 유해물질의 생성, 영양소의 파괴와 같이 복합적인 현상으로 나타난다(Kanner, 1994). 뿐만 아니라 지방산화로 인한 육색의 변질은 소비자 기호도 및 구매율의 저하와 함께 경제적 손실을 불러온다(Smith *et al*., 2000). 그러므로 식육 자체에서 지방산화를 억제하는 능력인 산화안정성이 낮게 되면, 고기의 품질 저하는 더욱 급속히 일어나게 되고 이로 인해 막대한 손실이 발생하게 된다.

동물 근육에는 산화 반응에 대응하기 위한 자체적인 방어 시스템이 존재하고 있다(Decker *et al*., 2000). 이중 항산화효소는 산화 과정 중 가장 첫 단계에서 항산화 작업을 실시하며, 이에 관해서는 catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px)가 가장 많이 알려져 있다. Catalase는 hydrogen peroxide(H_2O_2)를 H_2O와 superoxide anion($O_2^{\bullet-}$)으로 분해하며, SOD는 catalase와

*Corresponding author: Sung Ki Lee, Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea. Tel: 82-33-250-8646, Fax: 82-33-251-7719, E-mail: skilee@kangwon.ac.kr

coupled-enzyme으로서 $O_2^{\cdot-}$을 H_2O_2으로 전환시켜 준다. GSH-Px는 GSH를 이용하여 H_2O_2와 lipoperoxide의 소거작용을 수행한다. 이들의 기능은 가축의 사후에도 정지해 있지 않고 안정적으로 보존되어 식육의 산화안정성에 관여한다(Gatellier *et al*., 2004).

저장육의 향기는 alcohol, aldehyde, hydrocarbon, ketone, sulfur-containing compound 등 다양한 저분자 휘발성 화합물들의 조합이며, 이들은 지방산화에 의해 증가할 뿐만 아니라(Ahn *et al*., 2000), 고기의 항산화 활성에 따라 이들의 함량과 패턴이 달라진다(Descalzo *et al*., 2007; Nam and Ahn, 2003). 현재까지 산패취의 강도와 패턴을 분석하기 위해 solid-phase microextraction(SPME)-GC/MS와 전자코(electronic nose)가 주로 활용되고 있다(Grigioni *et al*., 2000; Morcuende *et al*., 2003). 하지만 전자코를 이용한 향기패턴 연구는 SPME-GC/MS에 의한 향기성분 동정에 비해 극히 낮은 실정이다.

고기에서 발생하는 산화 과정과 이에 대한 기작은 산화 촉진 요인을 고기에 직접 적용함으로서 정확히 알아낼 수 있다(Batifoulier *et al*., 2002; Mercier *et al*., 2004). 특히, 일반 신선육의 가장 주요한 산화 촉진 요인은 온도와 산소이므로(Kanner *et al*., 1987; Nawar, 1985) 이들을 실제 냉장 온도와 대기의 산소 농도보다 높은 조건으로 적용한다면, 저장육에서 지방산화의 원인과 영향에 대해 명확히 밝혀낼 수 있을 것이다. 따라서 본 연구는 상온 및 산소에 의한 산화 촉진 조건에서 한우육의 항산화효소 활성, 지방산화 및 향기패턴의 관계를 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료의 처리

도축한 지 3일 된 한우 거세우 우둔(*M. semitendinosus*; 1^+B 등급)을 강원도 춘천 소재 N마트로부터 구입하여 이용하였다. 구입한 시료는 본 실험실의 4ºC 저온실로 운송하여 등지방, 결체조직 및 혈액을 깨끗이 제거한 후 6 mm와 4 mm plate의 meat chopper(M-12S, Hankook Fujee Industries Co., Ltd., Korea)로 분쇄하였다. 준비된 세절육은 polystyrene barrier foam tray(Max. O_2 transmission rate: 0.1 cc/cm^2 · 24 h at 23ºC, RH 0%; Max. moisture vapor transmission rate : 7.87 mg/cm^2·24 h at 38ºC, RH 100%; SCB00-096, Cryovac Sealed Air Corp., USA)에 각각 50 g씩 얇게 펴서 담은 다음 3 gas mixer(MAP Mix 9001, PBI Dansensor, Denmark)가 장착된 MAP machine(MAP-E1, HyperVac Co., Korea)을 이용하여 산소, 이산화탄소 및 질소로 충진하였다. 이산화탄소의 비율을 20%로 고정시킨 상태에서 산소의 비율을 각각 0%, 25%, 50% 및 75%로 주입하였으며, 나머지 비율은 질소로 채웠다. 이후 oxygen barrier film(Max. O_2 transmission rate: 0.002 cc/cm^2·24 h at 4.4ºC, RH 100%; Max. moisture vapor transmission rate: 0.39 mg/cm^2·24 h at 4.4ºC, RH 100%; Lid 1050, Cryovac Sealed Air Corp., USA)으로 밀봉하였다. 모든 처리구들은 3반복씩 포장하였으며, 포장 완료 직후 4ºC에서 4시간 동안 방치한 다음 15 ºC/RH 100%의 항온항습기(VC 2057, Vötsch Industrietechnik, Germany)에 넣어 8일 동안 저장하였다. 또한 저장 0일의 시료는 4ºC/4시간의 방치가 끝난 즉시 포장지를 개봉하여 분석하였다.

가스 농도

포장 내부의 가스 농도는 휴대용 가스 분석기(CheckPoint O_2/CO_2, PBI Dansensor, Denmark)를 이용하여 측정하였으며, 질소의 농도(%)는 100 – [산소(%) + 이산화탄소(%)]로 산출하였다.

항산화효소 활성

Catalase와 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성을 분석하기 위해 Renerre 등(1996)의 방법에 의해 육균질물을 제조하였다. 시료 5 g과 50 mM phosphate buffer(pH 7.0) 25 mL를 균질기(Ultra-Turrax T25 basic, Ika Werke GmbH & Co., Germany)로 15,000 rpm에서 15초 동안 균질한 후 2ºC/1,000 g(J2-21 Centrifuge, Beckman Instrument, Inc., USA)에서 15분 동안 원심분리하였다. 분리된 상등액은 지방과 결체조직을 제거하기 위해 Whatman filter paper No. 1으로 여과한 다음 분석에 이용하였으며, 모든 효소들의 활성은 25ºC에서 측정하였다. Catalase 활성은 Aebi(1983)의 방법에 의해 실시하였다. 여액을 29 mM H_2O_2 용액(in phosphate butter, pH 7.0)에 첨가한 후 240 nm(UV-mini-1240, Shimadzu Corp., Japan)에서 30초 동안 흡광도의 감소량을 측정하였다. Catalase 1 unit은 시료 1 g에서 1분 동안 분해시키는 H_2O_2의 μmol수로 나타내었다. GSH-Px 활성은 Flohé와 Günzler(1984)의 방법에 의해 실시하였다. 여액을 1 mM EDTA-1 mM NaN_3-0.5 units/mL glutathione reductase(GSH-R)-0.15 mM NADPH-0.15 mM H_2O_2 용액(phosphate buffer, pH 7.0)에 첨가한 후 340 nm에서 3분 동안 흡광도의 감소량을 측정하였다. GSH-Px 1 unit은 시료 1 g에서 1분 동안 산화시키는 NADPH의 μmol수로 나타내었다.

지방산화

지방산화는 Sinnhuber와 Yu(1977)의 2-thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) method에 의해 실시하였다. 시료 0.5 g과 antioxidant(3%(w/w) BHA-54%(w/w) propylene glycol-3%(w/w) BHT-40%(w/w) Tween 20) 3방울, 1%(w/v) TBA-0.3(%) NaOH 용액 3 mL 및 2.5%(w/v) TCA-3.6 mM HCl 용액 17 mL를 혼합한 후 100ºC water bath에서 30분 동안 가열하였다. 반응액 5 mL를 glass tube에 옮긴

다음 chloroform 3 mL를 넣고 3,500 rpm에서 30분 동안 원심분리(GS-6R Centrifuge, Beckman Instruments Inc., USA)하였다. 이후 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였으며, 최종 결과는 시료 1 kg당 mg malonaldehyde(MA)로 산출하였다.

육색

육색은 포장지를 개봉한 즉시 식품 포장용 선상 저밀도 폴리에틸렌 랩(O_2 transmission rate : 3.53 cc/cm^2 at 24 h·atm; 3M Co., Korea)으로 시료의 표면을 덮은 후 chroma meter(CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan)로 측정하였다. 측정 항목은 CIE(Commision Internationale de Leclairage, 2004) L*(lightness), a*(redness) 및 b*(yellowness)이었으며, calibrate plate(2° observer; illuminant C: Y=93.6, x=0.3134, y=0.3194)의 색도는 L*=97.46, a*=0.08 및 b*=1.81이었다.

향기패턴

시료 1 g을 10 mL 용량의 headspace vial에 넣고, PTFE/silicone septa와 aluminium cap으로 봉압하여 60°C/500 rpm의 agitator에서 600초 동안 휘발성 성분을 추출하였다. 생성된 headspace 향기는 65°C syringe(HS 100 autosampler, Alpha MOS, France)로 2.5 mL씩 채취하여 전자코(FOX 3000, Alpha MOS, Toulouse, France)의 injector에 주입하였으며, 이때 carrier gas(고순도 air)의 flow rate는 300 mL/min이었다. 산출된 전자코 sensor의 반응 값은 Alpha soft program(Version 8.01 software, Alpha MOS, France)의 PCA(principal component analysis)로 처리하였으며, 최종적으로 각 처리구들의 향기패턴을 2차원 그래프에 나타냄으로서 분별도를 확인하였다.

통계분석

본 실험을 통해 얻은 자료는 SPSS(2009) program의 ANOVA(analysis of variance)에 의해 분석하였으며, 각 평균들간의 유의성 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 5% 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

가스 농도의 변화

무산소(0% 산소) 및 산소(25%, 50% 및 75% 산소) 조건에서 15°C/RH 100% 저장 중 가스 농도의 변화는 Table 1과 같다. 무산소 처리구에서는 산소, 이산화탄소 및 질소의 농도 모두 저장기간 동안 유의적인 변화를 보이지 않았다(p>0.05). 하지만 25%, 50% 및 75% 산소 처리구들에서는 저장기간이 지남에 따라 산소의 농도가 지속적으로 감소하였으며, 총감소량은 각각 14.8%, 12.3% 및 8.8%로서 산소의 농도가 증가함에 따라 낮게 나타났다. 반면에 이산화탄소의 농도는 저장기간 동안 유의적으로 증가하였으나(p<0.05), 총증가량은 각각 13.5%, 12.7% 및 10.4%로서 산소의 농도가 증가함에 따라 낮게 나타났다. 하지만 질소의 농도 변화는 뚜렷한 경향을 보이지 않았다. O'Grady 등(2000)의 연구에서도 세절 우육을 20%, 40%, 60%, 80% 산소/20% 이산화탄소로 포장하여 4°C에 10일 동안 저장했을 때, 산소의 농도가 증가함에 따라 산소의 소비와 함께 이산화탄소의 증가가 발생하였다고 동일하게 보고되었다. 하지만 산소의 총감소량과 이산화탄소의 총증가량은 각각 8.14%/7.26%, 7.5%/5.77%, 4.63%/2.63%, 2.24%/0.37%로서 본 실험결과보다 낮은 수준을 나타냈으며, 이러한 이유는 본 실험의 저장 온도(15°C)가 O'Grady 등(2000)의 조건(4°C)보다 높아 산소의 소비가 촉진되었기 때문으로

Table 1. Change of gas concentration for 8 d at 15°C/RH 100% under anaerobic and aerobic conditions

Items[1)]	Storage time (d)	0% O_2	25% O_2	50% O_2	75% O_2
O_2 (%)	0	0.0±0.0	25.1±0.0^{A}	50.2±0.1^{A}	75.3±0.2^{A}
	2	0.0±0.0	22.9±0.3^{B}	49.1±0.2^{A}	74.5±0.7^{AB}
	4	0.0±0.0	21.5±0.1^{B}	46.7±0.4^{B}	73.3±0.3^{B}
	6	0.0±0.0	17.5±0.6^{C}	43.4±1.0^{C}	70.3±0.8^{C}
	8	0.0±0.0	10.3±0.7^{D}	37.9±1.3^{D}	66.5±1.5^{D}
CO_2 (%)	0	20.4±0.1	20.6±0.0^{E}	20.3±0.0^{E}	20.1±0.1^{E}
	2	20.5±0.1	22.5±0.1^{D}	22.6±0.1^{D}	22.4±0.3^{D}
	4	20.7±0.0	24.3±0.2^{C}	25.3±0.2^{C}	24.9±0.0^{C}
	6	20.6±0.0	27.8±0.6^{B}	28.0±0.8^{B}	26.6±0.4^{B}
	8	20.5±0.0	34.1±0.7^{A}	33.0±1.1^{A}	30.5±0.7^{A}
N_2 (%)	0	79.6±0.1	54.3±0.1^{C}	29.5±0.1^{A}	4.6±0.2^{A}
	2	79.5±0.1	54.6±0.3^{BC}	28.3±0.2^{AB}	3.1±0.9^{B}
	4	79.3±0.1	54.2±0.1^{C}	28.0±0.3^{B}	1.8±0.3^{C}
	6	79.4±0.0	54.7±0.3^{BC}	28.6±0.2^{AB}	3.1±0.7^{B}
	8	79.5±0.1	55.6±0.1^{A}	29.1±0.2^{A}	3.0±1.2^{B}

$^{A-E}$Means±S.E. in the same column with different superscripts differ significantly (p<0.05).

사료된다. 또한 저장 중 산소의 감소와 이산화탄소의 증가가 일어난 이유는 고기 내에 존재하는 미토콘드리아의 호흡과 오염 미생물의 대사 작용 때문이며(Zhao *et al*., 1994), 저장 중 발생하는 지방산화와 metmyoglobin의 생성 역시 산소의 소비를 촉진시킨다(Bartowski *et al*., 1982).

항산화효소 활성의 변화

무산소 및 산소 조건에서 15°C/RH 100% 저장 중 한우육의 항산화효소 활성의 변화는 Table 2와 같다. Catalase (hydrogen peroxide: hydrogen peroxide oxidoreductase, E.C. 1.11.1.6)는 모든 생명체와 호기성 미생물에 존재하는 tetrameric haemin enzyme으로서 다른 효소들에 비해 활성이 매우 강하여 1초당 백만 분자의 H_2O_2를 소거한다(Aebi, 1983). Glutathione peroxidase(GSH-Px; glutathione: hydrogen peroxide oxidoreductase, E.C. 1.11.1.9)는 Se을 함유한 selenoprotein enzyme으로서 생체 조직에서 생성된 H_2O_2와 lipid hydroperoxide를 환원시켜 산화적 손상으로부터 보호해 준다(Christopherson, 1969). 본 실험에서 한우육의 catalase 및 GSH-Px 활성은 332 및 1.29 units/g meat로 나타났다. Mei 등(1994) 및 Gheisari와 Motamedi(2010)의 연구들에서 쇠고기의 catalase 활성은 각각 285 및 435 units/g meat, GSH-Px 활성은 1.33 및 1.63 units/g meat이었다고 보고되었으며, 이는 본 실험과 유사한 수준이었다.

저장기간 동안 catalase 활성은 모든 처리구들에서 점차적으로 감소하였으며, 저장 8일째에는 각각 16.6%, 20.6%, 16.1% 및 21%로 감소된 수준을 보였다. 하지만 처리구들 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다(p>0.05). GSH-Px 활성 역시 저장기간 동안 모든 처리구들에서 유의적으로 감소하였으며(p<0.05), 특히 산소의 농도가 높음에 따라 현저하게 감소하여 저장 2일째부터 4일째까지는 50% 및 75% 산소 처리구들이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 하지만 저장 6일째부터는 75%가 50%를 포함한 다른 처리구들에 비해 가장 낮은 수준을 보였으며(p<0.05), 최종 8일째에는 0%>25%>50%>75% 순으로 유의적인 차이가 나타났다(p<0.05). 뿐만 아니라 저장기간 동안 GSH-Px 활성의 총감소율은 각각 26.6%, 33.3%, 48.1% 및 64.1%로 산소 처리구들이 현저히 높게 나타났으며, 특히 75%의 경우 무산소 및 25%보다 약 2배 가까이 높은 감소율을 보였다. 따라서 저장기간 동안 한우육의 catalase 및 GSH-Px 활성은 감소하였으며, GSH-Px의 감소율이 현저하게 catalase보다 높았다. 또한 catalase 활성과는 달리 GSH-Px 활성은 산소의 농도가 증가함에 따라 빨리 감소하였다.

Insani 등(2008)의 연구에서도 본 실험과 동일하게 쇠고기의 진열 저장(oxygen-permeable PVC film 랩 포장; 4°C/1,900 lux/9일) 중 catalase 및 GSH-Px 활성의 감소뿐만 아니라 GSH-Px의 높은 감소율(62.8%; catalase:34.8%)이 보고되었다. 하지만 본 실험에서는 이들의 연구보다 높은 저장 온도(15°C)와 대기 중 산소(21%)보다 높은 농도의 산소(25-75%)를 저장 조건으로 이용했음에도 불구하고, 항산화효소들의 감소율이 현저하게 낮았다. 이러한 이유는 항산화효소가 온도와 산소보다는 빛에 더 많이 민감하기 때문으로 사료된다. 또한 저장 중 항산화효소 활성이 감소한 이유는 이들 역시 고기 내 단백질 성분으로서 free radical의 공격을 받기 때문이다. 그러나 catalase의 경우 NADPH를 함유하고 있어 free radical에 대한 자체적인 방어 기구를 가지고 있으므로(Aebi, 1983) GSH-Px에 비해 안정성이 높다.

지방산화의 변화

저장 중 지방산화의 지표로서 측정한 TBARS의 결과는 Fig. 1과 같다. 무산소 처리구에서는 저장기간 동안 큰 변화를 보이지 않았던 반면, 산소 처리구들에서는 모든 저장기간 동안 유의적인 증가를 보였다(p<0.05). 또한 저장

Table 2. Change of antioxidant enzyme activity of Hanwoo (Korean cattle) beef for 8 d at 15°C/RH 100% under anaerobic and aerobic conditions

Items	Storage time (d)	0% O_2	25% O_2	50% O_2	75% O_2
Catalase (Units/g meat)	0	322.74±5.90^{A}	336.72±6.65^{A}	335.34±4.14^{A}	333.96±3.03^{A}
	2	314.64±9.80^{A}	315.27±5.65^{B}	328.44±7.90^{A}	327.06±8.48^{A}
	4	309.12±5.52^{A}	316.02±3.95^{B}	299.46±5.82^{B}	297.27±4.48^{B}
	6	273.24±9.32^{B}	297.04±3.70^{C}	287.04±7.30^{B}	288.47±16.62^{BC}
	8	269.10±6.32^{B}	267.43±5.47^{D}	281.52±3.02^{B}	263.92±4.77^{C}
GSH-Px[1)] (Units/g meat)	0	1.28±0.01^{A}	1.29±0.01^{A}	1.29±0.01^{A}	1.28±0.01^{A}
	2	1.24±0.02^{aB}	1.18±0.04^{aB}	1.07±0.01^{bB}	1.04±0.01^{bB}
	4	1.09±0.01^{aC}	1.09±0.01^{aC}	0.91±0.05^{bC}	0.86±0.01^{bC}
	6	1.10±0.01^{aC}	1.06±0.02^{aC}	0.89±0.02^{bC}	0.83±0.02^{cC}
	8	0.94±0.01^{aD}	0.86±0.03^{bD}	0.67±0.03^{cD}	0.46±0.02^{dD}

$^{a-c}$Means±S.E. in the same row with different superscripts differ significantly (p<0.05).
$^{A-D}$Means±S.E. in the same column with different superscripts differ significantly (p<0.05).
[1)]Glutathione peroxidase.

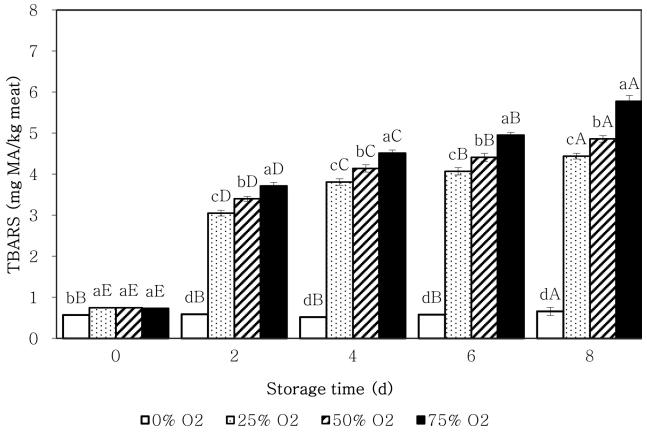


Fig. 1. Change of TBARS content of Hanwoo (Korean cattle) beef for 8 d at 15°C/RH 100% under anaerobic and aerobic conditions. Values are means±S.E. [a-d]Different letters indicate significant differences among treatments within the same storage time (p<0.05). [A-E]Different letters indicate significant differences among storage times within the same treatment (p<0.05).

0일째부터 무산소 처리구보다 유의적으로 높은 TBARS 함량을 보였을 뿐만 아니라(p<0.05), 저장 2일째부터는 25%<50%<75% 순으로 유의적인 차이를 보여 주었다(p<0.05). 특히 저장 8일째에는 각각 4.44, 4.86 및 5.77 mg MA/kg meat로서 저장 0일에 비해 5.9, 6.5 및 7.9배로 증가하여 산소 농도가 증가함에 따라 높은 TBARS의 증가율을 보였다.

본 실험결과와 동일하게 O'Grady 등(2000)과 Zakrys 등(2008)의 쇠고기 저장 실험에서도 산소 농도의 증가에 따른 TBARS 증가가 보고되었다. O'Grady 등(2000)의 경우 20%, 40%, 60%, 80% 산소/20% 이산화탄소로 포장한 세절 우육을 4°C 암실에 10일간 저장했을 때, TBARS 함량이 각각 0.79, 3.11, 3.64 및 4.26 mg MA/kg meat이었으며, 40%, 60% 및 80% 산소 처리구들이 20%보다 유의적으로 높았다고 하였다. 또한 Zakrys 등(2008)의 쇠고기 스테이크 저장(4°C/600 lux) 실험에서는 0%, 10%, 20%, 50% 및 80% 산소 처리구들의 15일째 TBARS 함량은 각각 0.5, 0.5, 0.7, 1.1 및 1.3 mg MA/kg meat이었으며, 이중 50% 및 80% 산소 처리구들이 유의적으로 가장 높았다고 하였다. 하지만 본 실험결과에서 산소 처리구들의 TBARS 함량을 O'Grady 등(2000)과 Zakrys 등(2008)의 결과들에서 유사 또는 동일한 농도의 산소 처리구들과 비교해 보면, 본 실험의 수치가 현저하게 높았다. 이러한 이유는 저장 온도, 빛의 유무, 시료의 분쇄 여부를 통해 예측해 봤을 때, 본 실험의 저장 온도(15°C)가 두 선행 연구들보다 높았기 때문으로 사료된다. 또한 본 실험결과에서 산소 농도의 증가에 따른 TBARS의 빠른 증가는 산소 농도의 증가에 따른 GSH-Px 활성의 빠른 감소와 밀접한 관련이 있다고 사료되며, Hernández 등(2002) 역시 고기에서 지방산화의 촉진 원인은 GSH-Px 활성의 감소 때문이라고 보고하였다.

육색의 변화

저장 중 육색의 변화는 Table 3과 같다. 명도(L^*)는 저장기간 동안 모든 처리구들에서 증가하는 경향을 보였으며, 산소 처리구들이 무산소 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). 또한 75% 산소 처리구가 저장 6일째까지 25%보다 유의적으로 높았으며(p<0.05), 저장 4일과 6일째에는 50%가 25%보다 높은 수치를 보였다(p<0.05). 하지만 저장 8일째에는 산소 처리구들간에 유의적인 차이

Table 3. Change of meat color of Hanwoo (Korean cattle) beef for 8 d at 15°C/RH 100% under anaerobic and aerobic conditions

Items	Storage time (d)	0% O_2	25% O_2	50% O_2	75% O_2
L^*	0	41.38±0.09^{cC}	43.16±0.14^{bE}	43.56±0.19^{abD}	43.97±0.22^{aD}
	2	44.14±0.24^{cB}	45.76±0.22^{bD}	46.36±0.25^{abC}	46.52±0.19^{aC}
	4	45.44±0.23^{cA}	48.35±0.22^{bC}	49.33±0.26^{aB}	49.43±0.23^{aB}
	6	44.95±0.26^{cA}	49.00±0.23^{bB}	49.65±0.24^{aB}	49.95±0.21^{aAB}
	8	45.10±0.27^{bA}	50.30±0.24^{aA}	50.65±0.24^{aA}	50.11±0.18^{aA}
a^*	0	10.43±0.10^{dC}	16.47±0.09^{cA}	17.21±0.08^{bA}	18.30±0.09^{aA}
	2	13.87±0.21^{aA}	8.64±0.09^{dB}	9.41±0.10^{cB}	10.23±0.10^{bB}
	4	13.03±0.16^{aB}	6.71±0.08^{bC}	6.32±0.08^{cC}	6.52±0.08^{bcC}
	6	8.59±0.12^{aD}	6.37±0.07^{bD}	5.92±0.07^{cD}	5.96±0.06^{cD}
	8	6.43±0.09^{aE}	5.85±0.07^{bcE}	5.66±0.07^{cE}	5.74±0.06^{bE}
b^*	0	7.70±0.10^{dA}	8.66±0.10^{cC}	8.99±0.08^{bAB}	9.41±0.10^{aA}
	2	6.35±0.11^{cC}	9.01±0.10^{aAB}	8.32±0.12^{bC}	8.31±0.09^{bC}
	4	6.81±0.10^{cB}	9.06±0.13^{aA}	8.39±0.13^{bC}	8.87±0.13^{aB}
	6	5.93±0.09^{cD}	8.85±0.10^{abABC}	8.67±0.11^{bBC}	9.03±0.11^{aB}
	8	4.66±0.08^{dE}	8.72±0.11^{cBC}	9.04±0.13^{bA}	9.48±0.12^{aA}

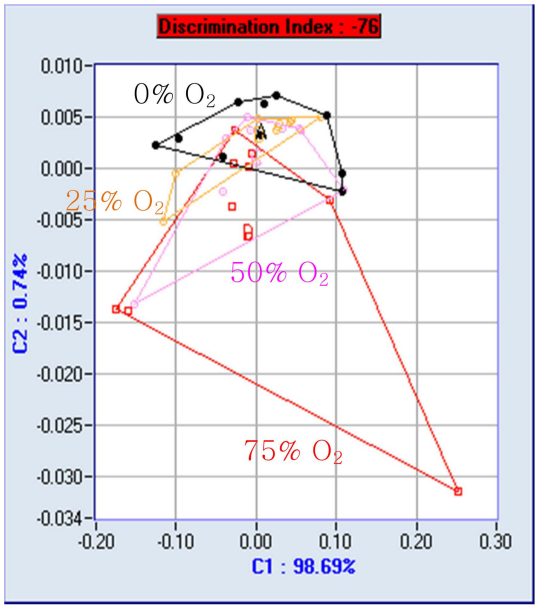
[a-d]Means±S.E. in the same row with different superscripts differ significantly (p<0.05).
[A-E]Means±S.E. in the same column with different superscripts differ significantly (p<0.05).

가 나타나지 않았다(p>0.05). 적색도(a^*)의 경우 저장 0일째에는 75%>50%>25%>0% 순으로 유의적인 차이를 보여주었으나(p<0.05), 산소 처리구들에서 급격하게 감소하여 저장 2일째부터는 무산소 처리구에 비해 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 또한 50% 및 75% 산소 처리구들은 저장 2일까지는 25%보다 높았으나(p<0.05), 저장 4일과 6일째에는 25%보다 낮은 수치를 보여 주었다(p<0.05). 특히 저장기간 동안 적색도의 총감소량은 산소의 농도가 높음에 따라 증가하여 각각 38.3%, 64.5%, 67.1% 및 68.6%를 나타내었다. 황색도(b^*)는 저장기간 동안 산소 처리구들이 무산소 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다(p<0.05). 또한 산소 처리구들에서는 저장 0일째에 산소 농도의 증가에 따라 75% >50%>25% 순으로 높았으나(p<0.05), 저장 2일과 4일째에는 75%와 50%가 25%보다 낮은 경향을 보였다가 최종 8일째에는 다시 75%>50%>25% 순으로 높게 나타났다(p<0.05). 따라서 산소 농도가 높을수록 저장 초기에는 발색의 차이가 발생하여 더 붉은 색깔을 나타내었으나, 이후에는 변색이 더욱 빨리 촉진되어 저장 말기에는 오히려 25-75% 산소가 0%보다 덜 붉게 나타났다.

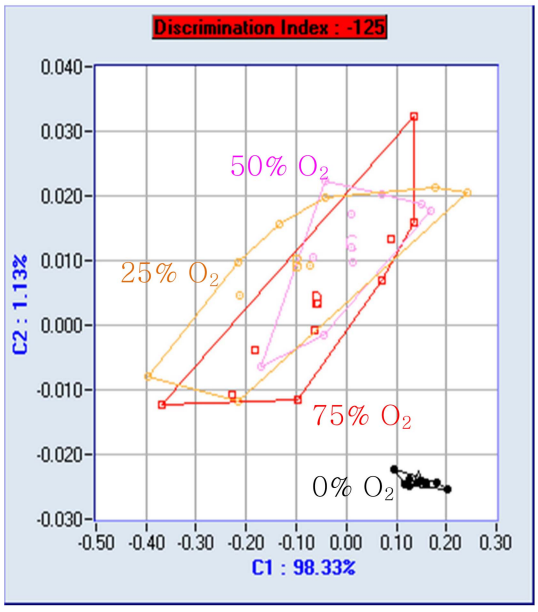
저장 중 육색의 변질은 oxymyoglobn(OxyMb)의 산화로 인한 metmyoglobin (MetMb)의 생성에 의해 발생되며, 이러한 과정은 지방산화로 인해 생성된 free radical에 의해 촉진된다(Faustman *et al*., 2010). 고기의 저장기간 동안 지속적인 MetMb의 축적은 적색도를 감소시키는데(Kerry *et al*., 2000), 본 실험에서 한우육의 저장 중 적색도의 감소 역시 metmyoglobin의 축적으로 인한 현상이다. 뿐만 아니라 산소 농도가 증가함에 따라 적색도의 총감소량이 증가한 이유는 지방산화와 MetMb의 관계로 미루어 봤을 때, 산소 농도의 증가에 따른 TBARS의 증가 때문으로 사료된다. 하지만 최종 저장일에 25-75% 산소 처리구들간에 적색도의 차이가 보이지 않았던 이유는 MetMb의 축적량이 동일했기 때문으로 판단되며, 이에 관해서는 O'Grady 등(2000)의 세절 우육 저장 실험을 통해 알 수 있다. 이들은 시료를 20-80% 산소로 포장하여 4°C에 저장했을 때 저장기간 동안 OxyMb의 함량이 감소하였으며, 최종 저장 10일째에는 산소 농도에 따른 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다. 즉, OxyMb의 감소는 OxyMb의 산화 현상이기 때문에, 결국은 MetMb의 함량에서 차이가 없었다는 것을 의미한다.

향기패턴의 변화

전자코는 전자식 화학 sensor array 기술을 이용하여 시료 또는 복합적인 향기의 패턴을 분석하는 장비이며, 전자코의 sensor는 시료의 정성적 또는 정량적 정보를 분석 가능한 신호로 전환시켜 패턴을 분석할 수 있게 해 준다(Gardner and Bartlett, 1994). 일반적으로 패턴의 최종적인 분석은 principal component analysis(PCA)와 discriminant factor analysis가 이용된다. 본 실험에서는 산소 농도에 따른 저장 중 향기패턴(Fig. 2)의 분석을 위해 PCA를 이용하였으며, 처리구들의 향기패턴간에 차이 정도를 분별 지수(discrimination index)로 나타내었다. 분별 지수가 양의 수일 경우 처리구들의 향기패턴이 서로 분리되어 차이가 있는 것이지만, 음의 수일 경우 반대로 차이가 없는 것을 의미한다. 그 결과, 저장 0일에는 분별 지수가 -76이었으며, 모든 처리구들의 향기패턴이 서로 겹쳐져 산소 농도에 따른 차이가 명확히 없는 것으로 나타났다. 저장 8일에는 분별 지수가 -125로 나타났지만, 무산소 처리구와 산



(a) 0 d



(b) 8 d

Fig. 2. Change of aroma pattern of Hanwoo (Korean cattle) beef for 8 d at 15°C/RH 100% under anaerobic and aerobic conditions.

소 처리구들간에 뚜렷하게 분리되어 산소 유무에 따른 차이가 확인되었다. 즉, 8일째에 음의 분별 지수가 산출된 이유는 산소 처리구들간에 차이가 없었기 때문이다.

본 실험과 유사한 연구로서 Limbo 등(2010)은 70% 산소와 30% 이산화탄소로 포장한 세절 우육의 저장(4.3°C, 8.1°C 및 15.5°C) 실험에서 저장온도 및 저장기간에 따른 전자코 sensor response, TBARS, H°(hue-angle)의 뚜렷한 차이가 있었고, 이들간의 큰 연관성이 있음을 확인하였다. 숙성을 제외한 고기의 저장 중에는 지방산화에 의해 여러 가지 휘발성 향기물질이 생성되며, 이들은 냄새에 큰 영향을 미친다(Tikk *et al*., 2008). 본 실험결과를 미루어 볼 때, 처리구들간에 향기패턴의 TBARS 함량과 항산화효소 활성의 차이가 이들의 향기패턴 분별에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 하지만 무산소 처리구와 산소 처리구들간에만 분별할 수 있었고, 25-75% 산소 처리구들간에는분별할 수 없었다. 이러한 이유는 25-75% 내에서 향기패턴에 영향을 줄 만큼 TBARS 함량과 항산화효소 활성의 차이가 없었기 때문일 것이다.

요 약

본 연구는 산화 촉진 조건에서 한우육의 항산화효소 활성, 지방산화 및 향기패턴의 관계에 관해 구명하고자 실시하였다. 15°C/RH 100%와 동일한 이산화탄소의 농도(20%)에서 산소의 농도(0%, 25%, 50% 및 75%)에 따라 8일간 저장하면서 가스의 농도, catalase 및 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성, TBARS, 육색 및 향기패턴을 분석하였다. 가스의 농도는 산소 처리구들에서 저장기간 동안 산소의 감소와 이산화탄소의 증가를 보였으며, 총감소량과 총증가량은 25%>50%>75% 순으로 높았다. Catalase 활성은 저장기간 동안 산소 농도에 따른 차이를 보이지 않았으나, GSH-Px 활성은 저장 중 산소의 농도가 증가함에 따라 급격히 감소하여 8일째에는 0%>25%>50%>75% 순으로 높게 나타났다(p<0.05). TBARS 함량은 산소의 농도가 증가함에 따라 빨리 촉진되어 저장 2일째부터 0%<25%<50%<75% 순으로 높게 나타났다(p<0.05). 육색은 산소 처리구들의 명도(L^*)가 무산소 처리구보다 높았다(p<0.05). 적색도(a^*)는 저장 0일째에 0%<25%<50%<75% 순으로 높았으나(p<0.05), 2일째부터는 산소 처리구들이 낮았다(p<0.05). 황색도(b^*)는 산소 처리구들이 높았으며(p<0.05), 저장 0일과 8일째에 0%<25%<50%<75% 순으로 높게 나타났다(p<0.05). 전자코에 의한 향기패턴은 저장 8일째에 무산소 처리구와 산소 처리구들간에 뚜렷하게 분별되었다. 따라서 산소의 농도가 증가함에 따라 한우육의 항산화효소, 지방산화 및 육색의 안정성이 현저하게 저하되었으며, 항산화효소 활성 및 지방산화가 향기패턴의 차이에 영향을 미친다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(PJ006218201002, PJ907000022011)의 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Aebi, H. E. (1983). Catalase. In: Methods of enzymatic analysis. Bergmeyer, H. U., Bergmeyer, J., and Graβl, M. (eds), Verlag Chemie GmbH, Weinheim, pp. 273-286.
2. Ahn, D. U., Jo, C., and Olson, D. G. (2000) Analysis of volatile components and the sensory characteristics of irradiated raw pork. *Meat Sci.* **54**, 209-215.
3. Bartkowski, L., Dryden, F. D., and Marchello, J. A. (1982) Quality changes of beef steaks stored in controlled gas atmospheres containing high or low levels of oxygen. *J. Food Prot.* **45**, 41-45.
4. Batifoulier, F., Mercier, Y., Gatellier, P., and Renerre, M. (2002) Influence of vitamin E on lipid and protein oxidation induced by H_2O_2-activated MetMb in microsomal membranes from turkey muscle. *Meat Sci.* **61**, 389-395.
5. CIE (2004) Technical report: colorimetry. 3rd ed, CIE (Commision Internationale de Leclairage) Central Bureau, Vienna, Publication 8: 2004.
6. Christopherson, B. O. (1969) Reduction of linoleic acid hydroperoxide by a glutathione peroxidase. *Biochem. Biophys. Acta* **176**, 463-470.
7. Decker, E. A., Livisay, S. A., and Zhou, S. (2000) Mechanisms of endogenous skeletal muscle antioxidants: chemical and physical aspects. In: Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality. Decker, E. A., Faustman, C., and Lopez-Bote, C. J. (eds), John Wiley & Sons, Inc., NY, pp. 25-60.
8. Descalzo, A. M., Rossetti, L., Grigioni, G., Irurueta, M., sancho, A. M., Carrete, J., and Pensel, N. A. (2007) Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle. *Meat Sci.* **75**, 299-307.
9. Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., and Suman, S. P. (2010) Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Sci.* **86**, 86-94.
10. Flohé, L. and Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. In: Methods in enzymology. Packer, L. (ed), Academic Press, Inc., London, pp. 114-121.
11. Gardner, J. W. and Bartlett, P. N. (1994) A brief history of electronic noses. *Sens. Act.* **18**, B211-B220.
12. Gatellier, P., Mercier, Y., and Renerre, M. (2004) Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of Charolais bovine meat. *Meat Sci.* **67**, 385-394.
13. Gheisari, H. R. and Motamedi, H. (2010) Chloride salt type/ionic strength and refrigeration effects on antioxidant enzymes and lipid oxidation in cattle, camel and chicken meat. *Meat Sci.* **86**, 377-383.
14. Grigioni, G. M., Margara, C. A., Pensel, N. A., Snchez, G., and Vaudagna, S. R. (2000) Warmed-over flavour analysis in

low temperature-long time processed meat by an electronic nose. *Meat Sci.* **56**, 221-228.
15. Hernández, P., Park, D., and Rhee, K. S. (2002) Chloride salt type/ionic strength, muscle site and refrigeration effects on antioxidant enzymes and lipid oxidation in pork. *Meat Sci.* **61**, 405-410.
16. Insani, E. M., Eyherabide, A., Grioni, G., Sancho, A. M., Pensel, N. A., and Descalzo, A. M. (2008) Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Sci.* **79**, 444-452.
17. Kanner, J. (1987) German, J. B., and Kinsella, J. E. (1987) Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *CRC Crit. Rev. Food Sci.* **25**, 317-364.
18. Kanner, J. (1994) Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.* **36**, 169-189.
19. Kerry, J. P., O'Sullivan, M. G., Buckley, D. J., Lynch, P. B., and Morrissey, P. A. (2000) The effects of dietary α-tocopherol acetate supplementation and modified atmosphere packaging (MAP) on the quality of lamb patties. *Meat Sci.* **56**, 61-66.
20. Limbo, S., Torri, L., Sinelli, N., Franzetti, L., and Casiraghi, E. (2010) Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. *Meat Sci.* **84**, 129-136.
21. Mei, L., Crum, A. D., and Decker, E. A. (1994) Development of lipid oxidation and inactivation of antioxidant enzymes in cooked pork and beef. *J. Food Lipids* **1**, 273-283.
22. Mercier, Y., Gatellier, P., and Renerre, M. (2004) Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Sci.* **66**, 467-473.
23. Monahan, F. J. (2000) Oxidation of lipids in muscle foods: fundamental and applied concerns. In: Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality. Decker, E. A., Faustman, C., and Lopez-Bote, C. (eds), John Wiley & Sons, Inc., NY, pp. 3-23.
24. Morcuende, D., Estévez, M., Ruiz, J., and Cava, R. (2003) Oxidative and lipolytic deterioration of different muscles from free-range reared Iberian pigs under refrigerated storage. *Meat Sci.* **65**, 1157-1164.
25. Nam, K. C. and Ahn, D. U. (2003) Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. *Meat Sci.* **63**, 1-8.
26. Nawar, W. W. (1985) Lipids. In: Food chemistry. Fennema, O. R. (ed), Marcel Dekker, NY, pp. 139-244.
27. O'Grady, M. N., Monahan, F. J., Burke, R. M., and Allen, P. (2000) The effect of oxygen level and exogenous α-tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. *Meat Sci.* **55**, 39-45.
28. Renerre, M., Dumont, F., and Gatellier, Ph. (1996) Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. *Meat Sci.* **43**, 111-121.
29. Sinnhuber, R. O. and Yu, T. C. (1977) The 2-thiobarbituric acid reactive substances, an objective measure of the oxidative deterioration occurring in fats and oils. *J. Jap. Soc. Fish. Sci.* **26**, 259-267.
30. Smith, G. C., Belk, K. E., Sofos, J. N., Tatum, J. D., and Williams, S. N. (2000) Economic implications of improved color stability in beef. In: Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality. Decker, E. A., Faustman, C., and Lopez-Bote, C. J. (eds), John Wiley & Sons, Inc., NY, pp. 397-426.
31. SPSS (2009) PASW 18 Statistics, SPSS Inc., Illinois, USA.
32. Tikk, K., Haugen, J. E., Andersen, H. J., and Aaslying, M. D. (2008) Monitoring of warmed-over flavor in pork using the electronic nose-correlation to sensory attributes and sencondary lipid oxidation products. *Meat Sci.* **80**, 1254-1263.
33. Zakrys, P. I., Hogan, S. A., O'Sullivan, M. G., Allen, P., and Kerry, J. P. (2008) Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Sci.* **79**, 648 -655.
34. Zhao, Y., Wells, J. H., and McMillin, K. W. (1994) Applications of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: review. *J. Muscle Foods* **5**, 299-328..

(Received 2012.4.14/Revised 2012.5.24/Accepted 2012.6.4)