

# 말쥐치 筋原纖維蛋白質의 熱安定성과 몇 가지 添加劑의 影響

崔 暎 準 · 卞 在 亨

釜山水產大學 食品營養學科  
(1985년 5월 10일 수리)

## Thermal-Denaturation of File Fish Myofibrillar Protein and Protective Effect of Sucrose, Sorbitol and Amino Acids

Yeung-Joon CHOI and Jae-Hyeung PYEUN

Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan,  
Nam-gu, Pusan 608, Korea  
(Received May 10, 1985)

Thermal-denaturation of myofibrillar protein of dorsal skeletal muscle from file fish was investigated by measuring denaturation constant( $K_D$ ) and thermodynamic parameters at various temperatures. The protective effects of sucrose, sorbitol and amino acids when added individually or combined were also discussed.

The denaturation rate as reflected in inactivation of myofibrillar protein Ca-ATPase was followed the first order reaction. The  $K_D$  values at 25°C, 30°C, and 35°C were  $19.52 \times 10^{-5}$ ,  $112.25 \times 10^{-5}$ , and  $247.20 \times 10^{-5}$ , respectively. The activation energy of the reaction at 30°C was 43 kcal/mole.

The protective effects of sucrose, sorbitol, glycine, alanine and Na-glutamate were increased with the concentration but the effects of sorbitol and Na-glutamate decreased beyond 1.0 mole.

Basic amino acids such as arginine and lysine did not revealed any protective effect on the thermal denaturation.

In case of mixed addition, the effects of Na-glutamate to glycine, sorbitol to glycine, and sorbitol to sucrose or sorbitol to Na-glutamate were enhanced 1.2 to 7.0 times as much as that of control (ratio of mixing; 1:1, range of concentration; 0.5 to 1.25 mole).

Under the frozen condition at -20°C, two mixtures such as Na-glutamate to glycine and sorbitol to sucrose apparently revealed the protective effects.

### 緒 論

魚肉의 構成蛋白質은 哺乳動物의 骨格筋을 形成하는 構成蛋白質에 比하여 不安定한 것으로 알려져 있다(Connell, 1958).

筋肉構成蛋白質中 myosin에 관한 研究에서 Connell (1961)은 대구 myosin은 trypsin에 의한 消化와 尿素에 의한 變性を 매우 잘 받는다고 報告하였으며, Yasui 등 (1968)은 myosin의 不安定性은 myosin의

無定形 構造가 원인일 것이라고 報告하였다. Buttkus (1971)는 송어 myosin ATPase의 失活은 토끼 myosin에 比하여 25倍 정도 빠르며, 이는 myosin의 構造上의 特徵때문이라고 하였다. 高土 등(1973)의 報告에 의하면, myosin의 頭部에 해당하는 H-meromyosin(HMM)을 分離하여 ATPase의 安定性を 比較한 結果, myosin의 不安定 構造는 HMM에 局在하고 있다는 사실을 確認하였다. Kimura 등(1979)은 動物의 種에 따라 HMM의 加熱變性에는 뚜렷한 差

異를 보이며, 특히 이 같은 現象은 加熱變性 初期段階에서 나타난다고 報告하였다. 한편, 新井 등(1973, 1976), 橋本 등(1978, 1979, 1982), 田中 등(1982) 및 卞 등(1984)에 의하면 各種 魚類의 myosin 과 筋原纖維蛋白質의 熱에 대한 安定性은 一定 條件下에서 ATPase 의 加熱變性에 따른 變性速度定數로서 比較可能하다고 하였다. 또한 橋本와 新井(1985)는 몇가지 赤色肉魚와 白色肉魚 및 토끼肉의 筋原纖維 ATPase 의 活性을 比較하고 失活은 溫度보다는 pH 에 따라 더 큰 影響을 받는다고 報告하였다. 그리고 變性抑制劑에 관한 研究로서, Noguchi 와 Matsumoto (1971), 그리고 新井와 高士(1973)는 sorbitol 과 sucrose 는 魚肉筋原纖維蛋白質 ATPase 의 冷凍變性에 있어서 各各 變性抑制效果가 있다고 報告하였고, 大泉 등(1981, 1982), 田中 등(1982), 南 등(1984) 및 崔 등(1984)은 糖類 뿐만 아니라 아미노酸類中 特別히 Na-glutamate 가 두드러진 變性抑制效果를 보인다고 報告하였다.

이 같은 背景에서 著者들은 最近 우리나라 沿近海 漁業에서 많은 어획고를 보이며, 魚肉蛋白質의 特性에 관하여 比較的 알려진 것이 적은 말퀴치를 試料로 擇하여, 肉蛋白質의 變性을 가장 민감하게 反映하는 筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性을 測定함으로써 筋原纖維蛋白質의 變性に 미치는 溫도의 影響을 檢討하였으며, 溫度別에 따른 變性的 速度定數를 求하였다. 그리고 併行하여 糖類中 sucrose 와 sorbitol 및 몇가지 아미노酸을 添加했을 때의 變性抑制效果와 各 添加劑의 混成添加에 의한 相乘效果에 대하여도 檢討하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 材 料

實驗에 使用한 말퀴치 (*Novodon modestus*, 體長 20~21 cm, 體重 88~115 g)는 釜山近海에서 1982年 7月 15日~1982年 9月 30日 間에 어획된 것으로 釜山市 南區 廣安洞 魚販場에서 購入하여 各各 生存中에 低溫實驗室(0~4°C)로 運搬하여 即殺시킨 다음, 背肉을 切取하여 筋原纖維蛋白質 抽出試料로 하였다.

本 實驗中 筋原纖維蛋白質 抽出 및 ATPase 活性의 測定에 使用한 試藥은 모두 試藥用 特級을, 그리고 實驗에 使用한 試藥 調製用的 물은 모두 증류된 脫이온수를 使用하였다.

한편, 試料魚의 처리와 筋原纖維蛋白質의 抽出은

0~4°C의 低溫下에서 이루어졌음을 附記한다.

### 2. 方 法

#### 1) 筋原纖維蛋白質의 抽出

加藤 등(1977)의 方法으로 抽出하였다.

#### 2) 基質溶液의 調製

1. 210 g의 ATP-2Na·3H<sub>2</sub>O(Sigma 社製)를 약 80 ml의 물에 녹인 다음, 1M Tris 용액으로 pH 7.0으로 맞춘 후, 脫이온 증류수를 加하여 100 ml로 정용하고, -20°C에서 保存하면서 ATPase 活性 測定 基質溶液으로 使用하였다.

#### 3) 糖類 및 아미노酸 存在下에서의 筋原纖維蛋白質의 加熱變性

大泉 등(1982)의 方法에 따라 變性시켰다. 즉, 말퀴치 筋原纖維蛋白質 溶液에 일정 mole 농도가 되도록 조정된 糖類 및 아미노酸類를 단독으로 혹은 混成狀態로 添加하여 溶解하고, 이 현탁액 1 ml씩을 試驗管에 분취하여 30°C로 調節한 恒溫水槽中에서 30分間씩 變性시켰다. 變性시킨 試料를 氷冷하여 加熱變性を 停止하고, 筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性을 測定하였다.

#### 4) 筋原纖維蛋白質 Ca-ATPase 活性의 測定

筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性의 測定은 말퀴치 筋原纖維蛋白質 溶液(蛋白質 濃度: 3~4 mg/ml)을 써서 卞 등(1984)의 報告에 따라 測定 表示하였다.

#### 5) 筋原纖維蛋白質 Ca-ATPase 比活性의 算出

卞 등(1984)의 報告에 따라 算出하였으며, 모든 實驗値는 Q-test를 實施하여 90% 이상 信賴할 수 있는 4~6개의 實驗値로서 回歸直線으로 표시하였다. 또한 糖類, 아미노酸類 및 그 混成液에 對한 保護效果는 30°C에서 30分間 變性시켜 이를  $K_D$  값의 對數値에 對한 mole 濃度 間의 관계로 表示하였다.

#### 6) 蛋白質濃度의 測定

筋原纖維蛋白質의 濃度는 Umemoto(1966)에 의한 Biuret 法으로 測定하였으며, bovine albumin(Merck 製)을 標準蛋白質로 하여 micro-biuret 法과 semi-micro Kjeldahl 法으로 얻은 질소량에 對하여 檢量曲線을 作成하여 測定한 各 蛋白質의 濃度값을 求하였다.

結果 및 考察

1. 말쥐치 筋原纖維蛋白質의 熱安定성

말쥐치 筋原纖維蛋白質을 25°C, 30°C, 35°C에서 加熱하고 각 溫度에서 筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性의 經時的 變化를 測定하여, 그 結果를 Fig. 1에 나타내었다.

말쥐치 筋原纖維蛋白質 Ca-ATPase 失活의 經時的 變化는 어느 溫度에서 行하더라도 一次 反應式으로 나타났다. 이 結果와 關聯하여 Fig. 1에서 나타낸 바와 같이 25°C에서는 120分까지 安定하였으나, 30°C에서는 40分, 35°C에서는 불과 20分 이내에 活性이 消失되었다.

橋本과 新井(1979)는 krill 筋原纖維蛋白質에서의 溫度安定성을 測定한 바에 의하면, 25°C일 때 30分 이내에 活性이 消失된다고 하였으며, 卞 등(1984)은 방어 普通肉 筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性은 30°C일 때 44分만에 半減된다고 報告하였다.

本 實驗의 結果와 比較해 보면, 말쥐치 筋原纖維蛋白質은 krill에 比하여 약 4倍가량 安定하나, 방어 普通肉에 比하여 2倍 以上 溫度에 민감함을 알수 있었다. Fig. 2는 變性速度常數를 加熱溫度와의 Arrhenius式으로 圖式化하여 그 기울기로 부터 活性化에너지 및 熱力學的 函數를 計算하였다.

말쥐치 筋原纖維蛋白質의 加熱 變性時 25°C에서의 活性化 에너지는 43 kcal/mole 이었다. 이 結果와 關聯하여, 橋本 등(1982)이 한대성에서 열대성에 걸친 약 40여종의 어류의 筋原纖維蛋白質 活性化에너지를 測定, 계산한 바에 의하면, 實驗한 모든 魚種이 61.0~99.6 kcal/mole의 範圍에 있다고 하였으며, 田中 등(1982)이 오징어, 무지개 송어, 가다랭이, 토끼의 myosin을 써서 加熱變性に 대한 活性化에너지를 계산한 結果, 오징어를 제외한 모든 myosin의 活性化에너지는 49~52 kcal/mole 이라고 하였다. 이들 報告에 비추어 말쥐치 筋原纖維蛋白質은 다른 魚類의 筋原纖維蛋白質에 比하여 熱에 매우 不安定 하다는 것을 암시하고 있으며, 또한 熱力學的 函數로서 말쥐치 筋原纖維蛋白質의  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ,  $\Delta G$ 를 計算한 結果, 各 42.4 kcal/mole, 66.79 e. u., 22.4 kcal/mole 로서 말쥐치 筋原纖維蛋白質은 溫度의 上昇과 더불어 自由에너지 값에 기여하는 엔트로피의 역할이 증가함을 알수 있었다. 魚種에 따른 熱力學的 函數값의 差異는 HMM이 있는 ATP 結合部位의 構造의 差에 기인하는 것으로 생각된다.

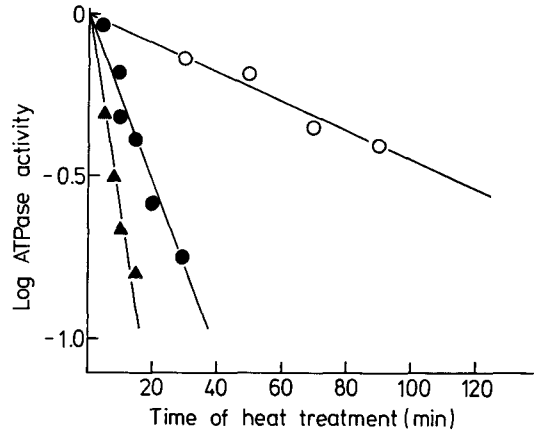


Fig. 1. Inactivation of Ca-ATPase of the myofibrillar protein during heat treatment. The protein was denatured at 25°C(○), 30°C(●) and 35°C(▲).

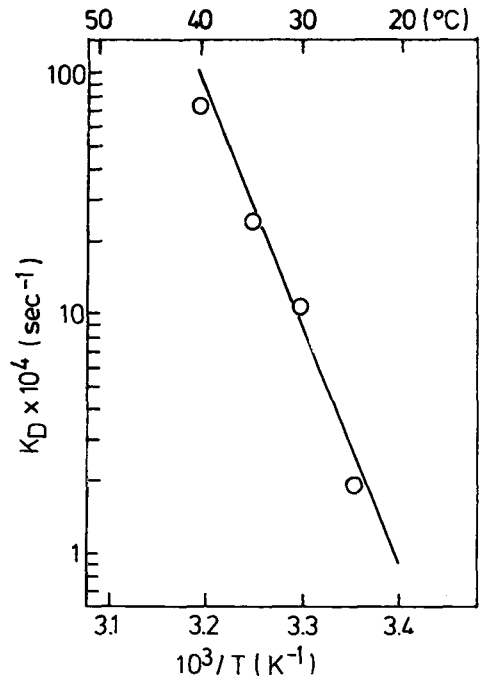


Fig. 2. Arrhenius plots of apparent rate constants for inactivation of Ca-ATPase during heat treatment of the myofibrillar protein.

2. 말쥐치 筋原纖維蛋白質 Ca-ATPase 活性의 貯藏溫度와 時間에 따른 影響

말쥐치 筋原纖維蛋白質을 0°C와 -20°C에서 貯藏하였을 때, 貯藏時間에 따른 筋原纖維蛋白質 Ca-

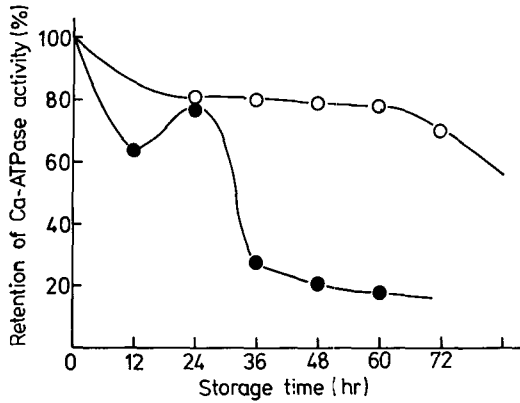


Fig. 3. Changes in Ca-ATPase activity of the myofibrillar protein during storage at 0°C (○) and -20°C (●).

ATPase 活性의 變化를 Fig. 3 에 나타내었다.

Fig. 3에서 알 수 있는 바와 같이 筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性은 0°C에서 24時間 저장했을 때는 최초 活性의 18%가 消失되었고, 그 후 60時間까지는 거의 變化가 없다가, 96시간째에는 초기 Ca-ATPase 活性의 37%에 해당하는 수준으로 까지 감소하였다. 이에 반해 -20°C에서 12시간 저장한 筋原纖維蛋白質의 Ca-ATPase 活性은 처음의 64%이던 것이 36時間부터는 급속히 감소하여, 60時間 저장했을 때는 약 18%에 해당하는 活性만이 남아 있었다.

南 등(1984)은 이스라엘 잉어 actomyosin 은 0°C에서 보다 -20°C에서 Ca-ATPase 活性이 더욱 빨리 消失되었다고 報告한 것과 同一한 結果로서 -20°C가 말린 筋原纖維蛋白質 - KCl - 물의 共融點에 가깝기 때문으로 생각된다.

### 3. 糖類 및 아미노酸類의 變性 抑制 効果

加熱變性時 말린 筋原纖維蛋白質에 미치는 糖類 및 아미노酸類의 影響을 檢討하였다. 즉, 0.25 M 간격으로 sorbitol 0~2.0 M, sucrose 0~2.5 M, alanine 0~1.5 M, glycine 0~1.5 M, lysine 0~1.0 M 그리고 Na-glutamate 0~2.5 M을 含有한 筋原纖維蛋白質 溶液을 30°C에서 30分間 加熱한 다음 Ca-ATPase의 活性을 測定하여  $K_D$  값을 계산한 후, 이를 M 농도에 대한  $\log K_D$ 치로 plot하여 Fig. 4, 5, 6에 나타냈으며, 添加物에 대한 變性抑制 効果값( $\Delta E$ )을 計算하여 Table 1에 나타내었다.

Table 1. The protective effect ( $\Delta E$ ) of substances against inactivation of the myofibrillar protein Ca-ATPase

Substance	Effective conc. (M)	Protective effect( $\Delta E/M$ )
Na-Glu	0~1.00	1.25
Gly	0~1.50	0.28
Ala	0~1.00	0.05
Sorbitol	0~1.00	0.58
	1.00~2.00	0.35
Sucrose	0~2.50	0.21

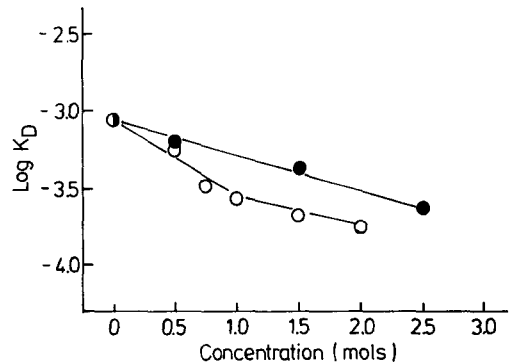


Fig. 4. Logarithmic plots of the apparent rate constants for inactivation of the myofibrillar protein Ca-ATPase at 30°C as a function of concentration of sucrose(●) and sorbitol(○).

Fig. 4에서 나타낸 것과 같이 말린 筋原纖維蛋白質은 sucrose에 의해서 變性이 抑制되어  $\log K_D$  값이 감소되는 것으로 나타났으며, sorbitol 역시 sucrose와 마찬가지로 變性抑制 効果를 보이고 있지만, 1.0 M을 경계로 2단계의 직선식을 나타내고 있었다. 그리고 말린 筋原纖維蛋白質의 變性抑制 効果 값( $\Delta E$ )은 sorbitol이 0.58, sucrose가 0.21이었다. 大泉 등(1981)은 chub mackerel과 정어리의 筋原纖維蛋白質의 糖 및 糖알코올의 加熱變性抑制 効果를 測定하였는데, sorbitol 및 sucrose의  $\Delta E$  값은 0.70 및 0.77이었다고 報告하였다. 이와 比較해 볼 때 말린 筋原纖維蛋白質의 糖에 의한 變性抑制 効果는 고등어와 정어리에 비해 약함을 알 수 있었다.

Fig. 5에서 알 수 있듯이 證성 아미노酸인 alanine은 거의 變性抑制 効果가 극히 微微함을 알 수 있었고, glycine의 경우는 sucrose와 비슷한 變性抑制 効果를 나타내고 있음을 確認할 수 있었다. 그리고 이 때 alanine과 glycine의  $\Delta E$  값은 각각 0.05와

말쥐치 筋原纖維蛋白質의 熱안정성과 몇 가지 添加劑의 影響

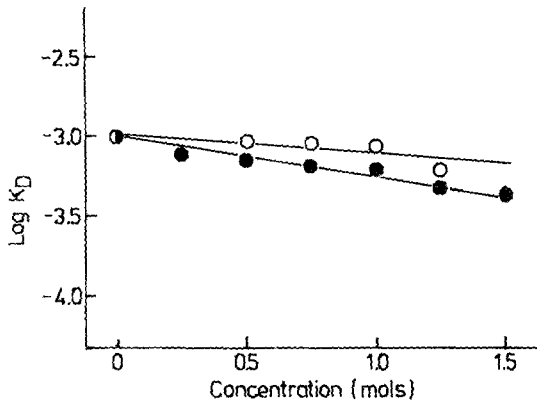


Fig. 5. Logarithmic plot of the apparent rate constants for inactivation of the myofibrillar protein Ca-ATPase at 30°C as a function of concentration of Ala(○) and Gly(●) as neutral amino acids.

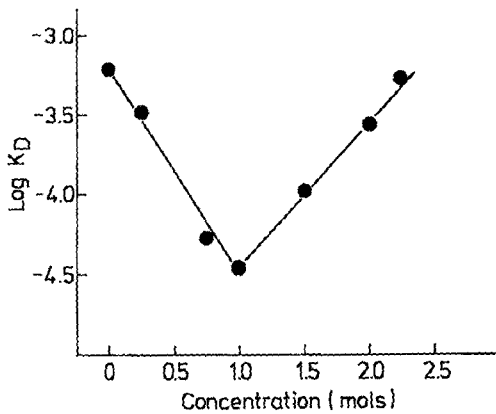


Fig. 6. Logarithmic plot of the apparent rate constants for inactivation of the myofibrillar protein Ca-ATPase at 30°C as a function of concentration of Na-glutamate as an acidic amino acid.

0.28이었다. 이와 더불어 酸性아미노酸으로서 Na-glutamate(Fig. 6)와 鹽基性아미노酸으로서 lysine, arginine을 각각 사용하여 그 효과를測定한 결과, Na-glutamate는 0~1.0 M까지는 ΔE값이 1.25로서 變性抑制效果를 나타내고 있었으며, 1.0~2.5 M까지는 오히려 역의 관계를 보여, 濃度가 增加할수록 效果는 떨어진다는 事實을 確認할 수 있었다. 또한 lysine과 arginine은 濃度增加에 따른 變性抑制效果는 전혀 나타나지 않았는데 0.25 M의 lysine은 0.25 M의 Na-glutamate와 비슷한 效果를 나타내

었을 뿐 그외의 濃度에서는 오히려 變性を 촉진한다는 事實을 알았다. arginine의 경우는 전혀 效果가 없었을 뿐만 아니라, lysine보다도 더욱 熱變性を 급속히 進行시킬 따름이었다. 大泉 등(1932)이 測定한 고등어의 筋原纖維蛋白質에 대한 아미노酸의 變性抑制效果에 관한 報告에서 Na-glutamate의 效果는 약 0.75 M을 중심으로 2 단계의 직선식을 나타낸다고 하며, glycine과 alanine은 各各 ΔE가 0.5로서 비슷한 정도의 變性抑制效果를 가지고, arginine은 0.10으로서 가장 낮았다고 한다. 이러한 結果는 本 實驗値와 다소 差異가 있어서, Na-glutamate를 제외한 다른 아미노酸의 ΔE값은 대체로 낮음을 알 수 있었다.

4. 糖 및 아미노酸이 共存할 때의 變性抑制 效果

糖 및 아미노酸 各各의 變性抑制效果를 實驗한 例에 따라 sucrose와 sorbitol, sorbitol과 아미노酸, 아미노酸과 아미노酸을 가장 效果가 좋았던 mole 수로 混合添加 하였을 때의 말쥐치 筋原纖維蛋白質의 變性抑制效果를 經時的으로 測定하여 control과 함께 Fig. 7에 表示하였으며, 다시 이들 各各의 變性抑制效果를 溫度條件을 달리한 狀態에서 測定하여 K<sub>D</sub>값을 Table 2에 표시하였다.

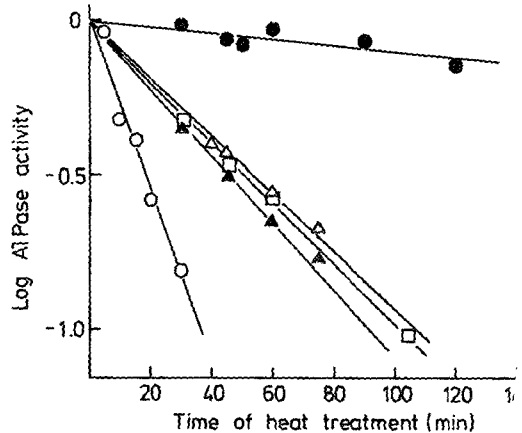


Fig. 7 Cooperative effects of mixtures of sucrose, sorbitol and amino acid on inactivation of myofibrillar protein Ca-ATPase at 30°C. ○-○, control; ●-●, 1M Na-Glu+1.1Gly; △-△, 1M sorbitol+1.25M Gly; □-□, 1M sorbitol+0.5M sucrose; ▲-▲, sorbitol+1M Na-Glu

Table.2.  $K_D$  values of the mixtures at various temperatures

Mixtures	$K_D(\text{sec}^{-1}) \times 10^5$			
	25°C	30°C	35°C	40°C
Control	19.52	112.25	247.20	745.00
1 M Na—Glu+1.25 M Gly	1.38	15.74	61.95	
1 M sorbitol+1.25 M Gly	11.75	33.75	135.50	
1 M sorbitol+0.5 M sucrose	14.95	44.88	157.00	
1 M sorbitol+1 M Na—Glu	15.66	64.31	239.50	

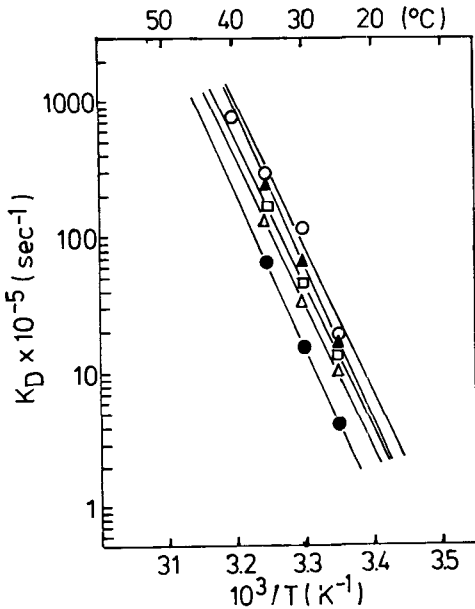


Fig. 8 Arrhenius plots of the apparent rate constants for inactivation of the myofibrillar protein Ca-ATPase under the presence of the mixtures during heat treatment.

○—○, control; ●—●, 1M Na—Glu+1.25M Gly; △—△, 1M sorbitol+1.25M Gly; □—□, 1M sorbitol+0.5M sucrose; ▲—▲, 1M sorbitol+1M Na—Glu

또한 이를 Arrhenius 식으로 圖式化하여 Fig. 8 로 나타내었다. Fig. 8에서 確認할 수 있듯이 添加劑를 獨立的으로 添加하였을 때 가장 效果가 뛰어났던 1 M의 Na-glutamate와 1.25 M의 glycine을 混合했을 때가 變性抑制效果가 우수하였다. 그러나 1 M sorbitol과 1 M Na-glutamate 混合物의 變性抑制效果는 매우 낮음을 알 수 있었다. 이러한 結果는 各 各 單獨으로 添加했을 때의 結果와 一致하지 않음을 알 수 있는데, 原因은 분명치 않으나 各 曲線에 대한 回歸方程式의 상관계수 값이 0.99 이상으로서 충분히 信賴할 수 있는 값이라고 본다. 또한 Table

2에서도 나타나 있듯이 1 M의 Na-glutamate와 1.25 M의 glycine을 添加한 말쥐치 筋原纖維蛋白質을 30°C에서 加熱變性 시켰을 때, 無添加時보다  $K_D$  값으로서 약 7배에 달하는 效果가 있는 것으로 나타났다. 1 M sorbitol과 1.25 M glycine의 混合 添加時는 약 3.3배, 1 M sorbitol과 0.5 M sucrose 를 添加 했을 때는 2.5배의 效果가 있었다. 그러나 sorbitol과 Na-glutamate를 각각 1 M씩 混合 添加한 경우에는 25°C에서는 1.2배, 35°C에서는 거의 같은 값을 나타내고 있었다. 또한 전반적으로 溫度가 상승할수록 變性抑制效果가 같은 混合物이라 할지라도 조금씩 減어진다는 것을 確認할 수 있었다. Back(1979)와 Gekko(1981)는 糖類化合物의 경우에는 그 構造가 공통적으로 OH기를 가지고 있음으로서 이 hydroxyl(OH)기가 蛋白質變性を 抑制하는 것이라고 推定하고 있다. 아미노酸 역시 공통적으로 carboxyl(COOH)기와 amino(NH<sub>2</sub>)기를 가지고 있지만, alkyl기가 다양하고, 構造가 보다 複雜하며, 다수의 아미노酸이 물에 난용성이어서 構造와 關聯된 實驗을 하기가 곤란하였다. 다만 本 實驗에서 행한 몇가지 아미노酸으로서 推定하건데, 陰性電荷를 하나 더 가진 酸性아미노酸인 Na-glutamate가 鹽基性 아미노酸에 비하여 變性抑制效果가 강하고 중성 아미노酸인 alanine과 glycine의 경우는 glycine의 경우가 보다 效果가 있는 것으로 나타났다. 또한 특이적으로 陽性電荷를 가진 鹽基性아미노酸인 lysine과 arginine은 전혀 效果를 나타내지 않음으로서 다만 아미노酸의 alkyl기 중에 있는 COO<sup>-</sup>가 筋原纖維蛋白質의 變性抑制機能을 가지고 있는 것으로는 보이거나 本 實驗의 結果만으로는 보다 충분한 설명을 할 수가 없었다.

### 5. 糖 및 아미노酸이 共存할 때의 冷凍 變性 抑制效果

熱變性和 同一한 方法으로 糖 및 아미노酸을 일정 M수가 되도록 말쥐치 筋原纖維蛋白質 溶液에

말쥐치 筋原纖維蛋白質의 熱安定성과 몇 가지 添加劑의 影響

添加하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 貯藏하면서 時間別로 Ca-ATPase 活性의 감소를 測定하여 Fig. 9에 나타내었다. Fig. 9에서 나타낸 바와 같이 混合添加時, 전부가 24 시간까지는 變性抑制效果를 나타내지 못하였으나 24 時間 이후에는 0.5 M sucrose와 1 M sorbitol 混合物 및 1 M Na-glutamate와 1.25 M glycine 을 混合한 蛋白質 溶液에서 冷凍變性 抑制效果를 나타내고 있음을 確認했다. 그러나, 60 시간째에는 無添加時와 같거나, 혹은 그 이하로 Ca-ATPase 活性이 떨어지고 있음을 알았다. Noguchi 와 Matsumoto (1971)가 아미노酸을 비롯한 약 29 種의 添加物을 使用하여 各種 魚類의 冷凍 變性 抑制效果를 檢討한 바에 따르면, glutamic acid, aspartic acid, cysteine 등이 현저한 效果를 보이며, lysine, histidine 등이 다소 效果를 보이고, glycine, isoleucine 등은 전혀 效果가 없다고 報告하였다.

本 實驗의 結果, Na-glutamate와 glycine, sucrose 와 sorbitol, sorbitol과 Na-glutamate, sorbitol과 glycine 의 순으로 變性抑制效果를 나타내고 있는 것으로 보아서 Na-glutamate가 가장 效果가 있는 것으로 보이며, glycine 을 添加하였을 때는 오히려 바람

직 하지 못한 것으로 보였다. 마찬가지로 sorbitol 과 Na-glutamate를 混合添加한 경우에도 거의 變性抑制效果를 나타내지 못하고 있었다.

Noguchi 와 Matsumoto (1971)는 Na-glutamate 에 다른 아미노酸을 添加하더라도 附加 效果는 전혀 나타나지 않으며, 소수성기는 전혀 效果가 없다고 報告한 점에 미루어, 糖類에 아미노酸類를 添加할 때 도 同一한 效果가 나타나는 것으로 推測할 수 있었다. 또한 冷凍 變性に 대한 添加物의 變性抑制效果는 주로 添加한 化合物의 機能基의 치환능력, 공간적인 構造, 다른 物理, 化學의인 性質들이 冷凍 變性を 抑制하는 주된 역할을 담당하고 있다고 한다 (Noguchi 와 Matsumoto, 1971 ; 新井과 福田, 1973).

要 約

말쥐치 肉의 筋原纖維蛋白質을 抽出하고 몇 가지 溫度條件이 그 變性に 미치는 影響을 實驗하였으며, sucrose와 sorbitol 및 아미노酸을 添加하였을 때의 變性抑制效果에 관하여도 比較 檢討하였다.

實驗에서 얻은 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 말쥐치 筋原纖維蛋白質의  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $35^{\circ}\text{C}$ 에서의 變性速度定數( $K_D$  값)는 각각  $19.25 \times 10^{-5}$ ,  $112.25 \times 10^{-5}$ ,  $247.20 \times 10^{-5}$  이었다. 活性化 에너지  $\Delta E$  값은  $43 \text{ kcal/mole}$ , 活性化엔탈피  $\Delta H$ 는  $42.4 \text{ kcal/mole}$ , 活性化 엔트로피  $\Delta S$ 는  $66.79 \text{ e.u.}$ , 그리고 自由에너지  $\Delta G$ 는  $22.4 \text{ kcal/mole}$  이었다.

2. 말쥐치 筋原纖維蛋白質이  $0^{\circ}\text{C}$ 에서 96 시간 경과했을 때는 최초 活性의 53%가 감소하였고,  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 60 시간이 경과했을 때는 약 72%가 감소했다.

3. 농도별 添加劑의 加熱變性に 對한 억제 效果는  $1 \text{ M Na-Glu} > 1 \text{ M sorbitol} > 1.25 \text{ M Gly} > 0.5 \text{ M sucrose} > 1.25 \text{ M Ala}$ 의 順이며, 變性抑制效果 값  $\Delta E$ 는 Na-Glu가 1.25, sorbitol이 0.58, Gly이 0.28, sucrose가 0.21, Ala이 0.05 이었다.

4. 混成 添加時는  $1 \text{ M Na-Glu} + 1.25 \text{ M Gly} > 1 \text{ M sorbitol} + 1.25 \text{ M Gly} > 1 \text{ M sorbitol} + 0.5 \text{ M sucrose} > 1 \text{ M sorbitol} + 1 \text{ M Na-Glu}$  순으로 加熱變性抑制效果를 가지고 있으며, 이들의  $K_D$  값은 위의 순서대로  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 각각  $1.38 \times 10^{-5}$ ,  $11.75 \times 10^{-5}$ ,  $14.95 \times 10^{-5}$ ,  $15.66 \times 10^{-5}$  으로서 無添加時보다 7~1.2 배의 效果를 나타내고 있었다.

5. 混成 添加時의 熱力學的 函數로서 活性化 에너지, 活性化 엔탈피, 活性化 엔트로피, 自由에너지는

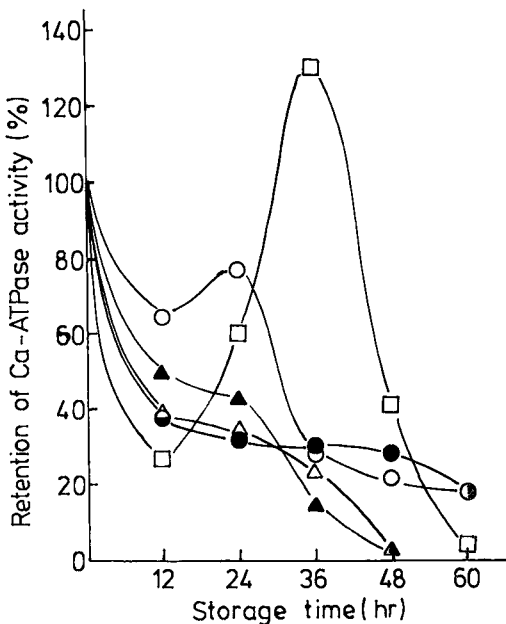


Fig. 9. Protective effect of the mixtures on the myofibrillar protein Ca-ATPase activity during frozen storage.

○-○, control; □-□, 1M Na-Glu+1.25M Gly; △-△, 1M sorbitol+1.25M Gly; ●-●, 1M sorbitol+0.5M sucrose; ▲-▲, 1M sorbitol+1M Na-Glu

Na-Glu+Gly 일 때, 68.4 kcal/mole, 67.8 kcal/mole, 146.70 e. u., 24 kcal/mole 이며, sorbitol+Gly 은 44 kcal/mole, 43.4 kcal/mole, 69.14 e. u., 22.8 kcal/mole, sorbitol+sucrose 는 42.7 kcal/mole, 42.1 kcal/mole 65.26 e. u., 22.6 kcal/mole 이고, sorbitol+Na-Glu 는 49 kcal/mole, 48.4 kcal/mole, 86.49 e. u., 22.6 kcal/mole 이었다.

6. 冷凍中の 變性抑制効果는 1 M Na-Glu+1.25 M Gly/1 M sorbitol+0.5 M sucrose > 1 M sorbitol+1.25 M Gly ~ 1 M sorbitol+1 M Na-Glu 의 순으로 좋았다.

## 文 獻

- 新井健一·高士令二. 1973. 魚類筋肉構成たんぱく質に関する研究—XI. コイ筋肉アクトミオシン ATPase의 冷凍變性について. 日水誌 39(5), 533—541.
- 新井健一·福田道代. 1973. 魚類筋肉構成たんぱく質に関する研究—XII. コイ筋肉アクトミオシン ATPase의 加熱變性について. 日水誌 39(6), 625—631.
- 新井健一·川村久美子·林千恵子. 1973. 各種魚類筋肉アクトミオシン ATPase의 溫度安定性について. 日水誌 39(10), 1077—1085.
- Arai, K., A. U. Hasnain and Y. I. Takano. 1976. Species specificity of muscle proteins of fishes against thermal and urea denaturation. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 42(6), 687—695.
- Back, J. F., D. Oakenfull and M. B. Smith. 1979. Increased thermal stability of proteins in the presence of sugars and polyols. Biochemistry. 18(23), 5191—5196.
- Buttkus, H. 1966. Preparation and properties of trout myosin. J. Fish. Res. Bd. Canada. 23 (4), 563—572.
- Buttkus, H. 1970. Accelerated denaturation of myosin in frozen solution. J. Food Sci. 35, 558—562.
- Buttkus, H. 1971. The sulfhydryl content of rabbit and trout myosins in relation to protein stability. Can. J. Biochem. 49, 97—107.
- 崔 暎 準 · 卞 在 亨 · 鄭 甫 泳. 1984. 방어 普通肉과 血合肉 筋原纖維蛋白質의 熱安定性—II. 糖 및 아미노 酸에 의한 變性抑制. 釜山水大研報 24(2), 21—26.
- Chosk, S. P. 1981. The mechanism of skeletal muscle myosin ATPase. In Interaction of myosin active center with ATP and with ADP. J. Biol. Chem. 256(21), 10954—10960.
- Chosk, S. P. 1981. The mechanism of skeletal muscle myosin ATPase. The mechanism of ADP interaction. J. Biol. Chem. 256(21), 10961—10966.
- Connell. J. J. 1961. The relative stabilities of the skeletal muscle myosins of some animals. Biochem. J. 80, 503—509.
- Gekko, K. and S. N. Timasheff. 1981. Mechanism of protein stabilization by glycerol. Preferential hydration in glycerol water mixtures. Biochemistry 20, 467—476.
- 橋本昭彦·新井健一. 1978. 數種の魚類の筋原纖維 Ca-ATPase의 安定性に及ぼす pH と 溫度의 影響. 日水誌 44(12), 1389—1393.
- 橋本昭彦·新井健一. 1979. 南極産オキアミ筋原纖維 Ca-ATPase의 溫度安定性. 日水誌 45(11), 1453—1460.
- 橋本昭彦·新井健一. 1985. 各種魚類の筋原纖維 Ca-ATPase의 變性速度に及ぼす pH と 溫度의 影響. 日水誌 51(1), 99—105.
- 橋本昭彦·小林章良·新井健一. 1982. 魚類筋原纖維 Ca-ATPase活性의 溫度安定性と 環境適應. 日水誌 48(5), 671—684.
- Hamoir, G., H. A. McKenzie and M. B. Smith. 1959. The isolation and properties of fish myosin. Biochim. Biophys. Acta. 40, 141—149.
- Hasnain, A. U., K. Arai and T. Saito. 1973. Comparative study on the thermal and the urea denaturation of actomyosin Ca-ATPase from Sei whale, Blue fin tuna, and flat fishes. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 39(11), 1195—1200.
- Johnston, I. A., N. J. Waleshy, W. Davison, and G. Goldspink. 1975. Temperature adaptation in myosin of Antarctic fish. Nature, 254, 74—75.
- Johnston, I. A. and G. Goldspink. 1975. Thermodynamic activation parameters of fish myofibrillar ATPase enzyme and evolutionary adaptations to temperature. Nature, 257, 620—622.



말리치 筋原纖維蛋白質의 熱安定성과 몇 가지 添加劑의 影響

- 加藤登・内山均・塚本志朗・新井健一. 1977. 魚類筋原纖維 ATPase의 生化學的研究. 日水誌 43(7), 857-867.
- Maruta, H., and E.D. Korn. 1981. Proteolytic separation of the actin activatable ATPase from the phosphorylation site on the heavy chain of Acanthamoeba myosin IA, J. Biol. Chem. 256(1), 503-506.
- 南澤正・崔英準・卞在亨. 1984. 이스라엘 잉어 actomyosin의 熱安定성과 그 保護. 韓水誌 17(4), 271-279.
- Noguchi, S., and J.J. Matsumoto. 1971. Studies on the control of the denaturation of fish muscle proteins during frozen storage-Ⅱ. Preventive effect of amino acid and related compounds. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 37(11), 1115-1122.
- Ojima, T., K. Nishita, and S. Watanabe. 1981. Reversible changes in the ATPase activity and in the regulatory light chain content upon heat(30°C)-treatment of "ADAZARA" striated adductor myosin. J. Biochem. 89, 1333-1335.
- Ooizumi, T., K. Hashimoto, J. Ogura, K. Arai. 1981. Quantitative aspect for protective effect of sugar and sugar alcohol against denaturation of fish myofibrils, Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 47(7), 901-908.
- 大泉 徹・橋本浩二・小倉潤子・新井健一. 1981. 魚類筋原纖維の加熱變性に對する糖および糖アルコールの保護効果の定量的考察. 日水誌 47(7), 901-908.
- 大泉 徹・山村寛仁・新井健一. 1982. サバ筋原纖維の加熱變性に對するアミノ酸類および糖類の協同保護効果. 日水誌 48(2), 219-226.
- 卞在亨・崔英準・鄭甫泳. 1984. 방어普通肉斗 血合肉 筋原纖維蛋白質의 熱安定性-I. 熱安定性の比較, 釜山水大研報 24(2), 13-20.
- 關仲夫・渡邊孝博. 1982. 코이貯藏肉から調製した筋原纖維の形態および生化學的性質の變化. 日水誌 48(4), 517-524.
- 田中晴生・木村郁夫・新井健一・渡邊静雄. 1982. 魚類およびスルメイカミオシンの加熱變性における初期變化. 日水誌 48(3), 445-453.
- 高士令二. 1973. 魚類筋肉構成たんぱく質に関する研究-VIII. 코이およびテイラピア背筋肉ミオシンとウサギ骨格筋ミオシンの比較. 日水誌 39(2), 197-205.
- 内山 均・加藤登・工藤雄司・新井健一. 1978. 魚類筋原纖維の生化學的研究. 各種魚類筋原纖維 Ca-ATPaseの溫度安定性の比較. 日水誌 44(5), 491-497.
- Umemoto, S. 1966. A modified method for estimation of fish muscle protein by Biuret method. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 32, 427-431.
- Yasui, T., H. Kanakami and F. Morita. 1968. Thermal inactivation of myosin A-adenosine triphosphatase in the presence of F-actin. Agr. Biol. Chem. 32(2), 225-233.
- Yasui, T., J. Morita and K. Takahashi. 1966. Inhibition by some neutral organic solutes of the denaturation of myosin A-adenosine triphosphatase. J. Biochem. 60(3), 303-315.