

넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 육의 死後早期 변화

6. 치사 방법이 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향

조영제 · 이남걸 · 김육용 · 김재현 · 이근우* · 김근배* · 최영준**

부산수산대학교 식품공학과 · *군산대학교 수산가공학과 · **통영수산전문대학 수산가공과

Early Changes after Death of Plaice, *Paralichthys olivaceus* Muscle

6. Effect of Killing Methods on Morphological Changes of Myofibrills and Histological Changes of Muscle

Young-Je CHO, Nam-Geoul LEE, Yuck-Yong KIM, Jae-Hyun KIM, Keun-Woo LEE*, Geon-Bae KIM* and Yeung-Joon CHOI**

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

*Department of Sea food Processing, Kunsan University, Kunsan 573-360, Korea

**Department of Marine Food Science and Technology, Tong-Yeong Fisheries College, ChungMu 650-160, Korea

This study was undertaken to clarify the effect of killing methods on the morphological and histological changes of plaice, *Paralichthys olivaceus* muscle at early stage after killing. Killed samples by the three different methods were stored at 5°C, and the changes in breaking strength of muscle, morphological observation of myofibrills and histological observation of extracellular spaces through storage were monitored.

Samples killed by electrifying in sea water showed the maximum value of breaking strength immediately after killing and then it dropped significantly ($p < 0.05$) until 2.5hrs passed. Breaking strength of samples killed by spiking at the head instantly and dipping in sea water including anesthetic rose steadily over 10hrs and 15hrs after killing, respectively.

In myofibrills prepared from dorsal muscles immediately after spiking at the head instantly, A-band, H-band, I-band, and Z-line in sarcomere were clearly distinguishable each other. Due to muscle contraction by electrical stimulation, it was impossible to distinguish H-band from I-band observed in sarcomere immediately after killing for samples killed by electrifying. But, in the cases of samples killed by spiking and dipping, H-band could be observed dimly until 10hrs and 15hrs storage.

이 연구는 한국과학재단지정 우수공학연구센터인 해양산업개발연구소의 연구비지원에 의하여 수행되었음.

No extracellular space was observed among muscle cells immediately after spiking at the head instantly. Samples killed by spiking at the head instantly and dipping in sea water including anesthetic showed extracellular spaces among all muscle cells after 15hrs and 25hrs storage, respectively. The other hand, samples killed by electrifying in sea water (110V, 30sec.) showed a few extracellular spaces immediately after killing and then it showed extracellular spaces among all muscle cells after 2.5hrs storage.

서 론

어류의 사후, 근육의 energy대사에 영향을 미치는 요인으로는 생전의 생리 조건, 치사 조건, 그리고 사후의 저장 온도등을 들 수 있으며, 이 들 중에서 치사 조건은 안락사시킨 것이 고민사시킨 것보다도 energy소모가 적고, 경직의 진행이 늦을 뿐만 아니라, 선어의 품질 관리면에서도 효과적인 것으로 알려져 있다(Johnston and Moon, 1980). 또, 최근에는 치사 방법이 어육의 화학적인 변화(김등, 1993) 및 물성적인 변화(조등, 1994)에 미치는 영향에 관한 연구들이 보고되어 있다.

생선 핏감의 가치를 결정하는 중요한 인자인 어육의 단단함은 어중에 따라서 결정되어지는 고유 단단함인 background toughness와 사후 초기에 근육의 수축에 의하여 발생하는 actomyosin toughness로 나누어 진다(山本·九山, 1988). 조·이(1994)는 저장 온도가 넙치육의 단단함의 변화에 미치는 원인을 검토하여, 0℃의 저온 저장시에 어육 고유의 단단함인 background toughness의 저하가 일어나지 않는 사후 초기 단계에, myosin과 actin의 결합에 의한 장력의 발생으로 actomyosin toughness가 생성되어서 육의 파괴강도가 증가하며, 또 이 때에 발생된 장력 때문에 생긴 물리적인 힘이 collagen matrix에 가해지므로 그 후에 background toughness가 떨어져서 육의 파괴강도의 저하가 촉진됨을 보고하고 있다.

전보(Cho and Lee, 1993)에서는 넙치를 시료로 하여 치사 방법을 달리하여 5℃에 저장하면서 육질의 단단함을 나타내는 지표인 파괴강도의 변화를 측정 한 결과, 전기 자극사시킨 경우에 치사 직후에 최대값을 나타내었으며 그 값의 감소 속도가 다른 치사 방법보다 가장 빨랐고, 마취사시킨 경우는 즉살보다 육의 파괴강도가 최대가 되는 시간이 연장됨을 보고하였다.

본 연구에서는 치사 방법(즉살, 마취사 및 전기 자극사)을 달리하였을 때에 육의 파괴강도의 변화에 영향을 미치는 원인을 규명하기 위하여 넙치를

시료로 하여 근원 섬유 의 형태학적인 변화 및 근육의 조직학적인 변화에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

전보(김·조, 1992)와 같은 방법으로 넙치를 활어 상태로 실험실로 운반하여 즉살, 마취사 및 전기 자극사시킨 후에 5℃에 저장하면서 시료로 사용하였다.

2. 육의 파괴강도의 측정

전보(Cho, 1992)와 같이 측정하였으며, 실험 평균값은 8~10회 측정하여 평균 ± 표준편차(mean ± S.D.)로 나타내었다.

3. 근원섬유의 형태학적 변화 및 근육의 조직학적 변화의 관찰

전보(조·이, 1994)와 같은 방법으로 관찰하였다. 즉, 근원섬유는 Tokiwa 등(1967)와 Matsumiya (1969)의 방법을 병용하여 정제한 후에 배울 100배로 검경하였으며, 근육의 표본 제작은 Ando 등(1991)의 방법에 따라서 검경용 표본을 제작하여 배울 100배에서 검경하였다.

결과 및 고찰

1. 파괴강도의 변화

치사 방법을 달리하였을 때에 육의 파괴강도의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 파괴강도가 최대값에 도달하는 시간과 그 때의 값은 즉살에서 10시간과 1186.29 ± 55.90g, 마취사에서 15시간과 1189.67 ± 50.32g, 그리고 전기 자극사에서 치사 직후에 1230.60 ± 30.32g으로, 전기 자극사에서 파괴강도가 가장 높았으며 최대가 되는 시간도 가장 짧았다. 또한, 파괴강도가 최대값에 도달한 후의 저하 속도도

6. 치사방법이 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향

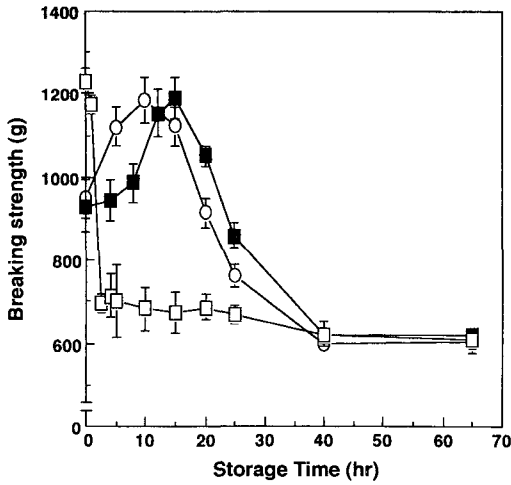


Fig. 1. Changes in breaking strength of plaice muscle during storage at 5°C after killing by various methods.

- Spiking at the head instantly.
- Dipping in seawater dissolved anesthetic(1000ppm of aminobenzoate).
- Electrifying in seawater (100V, 30sec).

전기 자극사에서 가장 빨랐으며, 즉살과 마취사는 거의 비슷하였다.

2. 근원섬유의 형태학적인 변화

치사 방법을 달리한 넙치육을 5°C에 저장하면서 경시적으로 추출한 근원섬유의 형태학적인 변화를 Fig. 2, 3, 4에 나타내었다.

즉살 직후에는 근질의 A대, H대, I대 그리고 Z선이 명료하게 관찰되었다. 즉살한 시료(Fig. 2)는 저장 10시간 후에 myosin과 actin의 결합으로 A대 중앙부의 H대의 구별이 확실하지 않았으며 I대의 간격이 좁아져 있음이 관찰되었다. 마취사시킨 시료(Fig. 3)는 즉살 시료와는 달리 A대 중앙부의 H대가 저장 10시간까지 뚜렷이 관찰되어졌으며, 저장 15시간후에도 희미하게 흔적이 관찰되었다. 한편, 전기 자극사시킨 시료(Fig. 4)는 치사 직후에 A대 중앙부의 H대의 구별이 전혀 불가능하였으며, 즉살 및 마취사시킨 시료보다 근질의 길이가 짧아져 있을 뿐만 아니라 I대의 간격이 좁아져 있음이 관찰되었다. 그리고, 저장 1시간 또는 2.5시간 후의 근원섬유의 형태학적인 변화는 즉살 및 마취사와는 다른 형태로 나타났다.

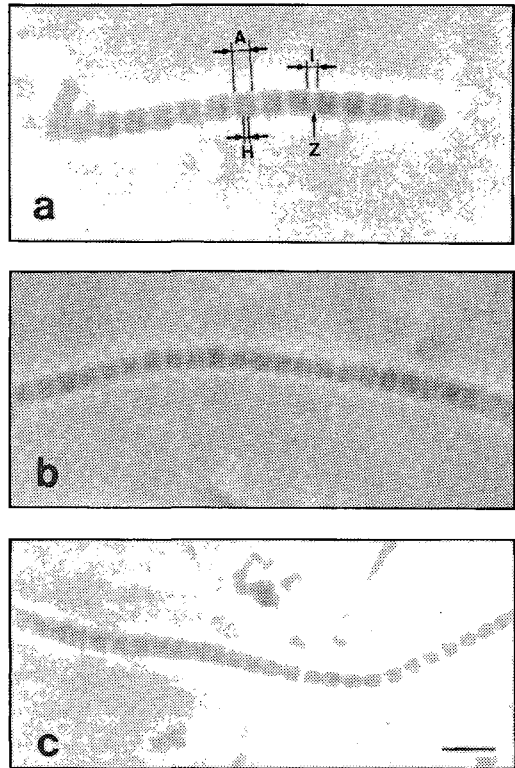


Fig. 2. Phase-contrast micrographs of the myofibrils prepared from plaice muscle during storage at 5°C after killing by spiking at the head instantly.

- a: immediately after killing A: A-band Z: Z-line
 - b: 10hrs storage H: H-band
 - c: 15hrs storage I: I-band
- The bar represents 10µm

상기와 같은 결과는, 저온 저장시에 근소포체의 Ca²⁺ 수용 능력이 저하하여 Ca²⁺이온이 세포내로 방출되어서 ATP분해를 촉진시키기 때문에 myosin과 actin의 결합이 촉진된다는 李(1994)의 보고와 같이, 치사 방법에 따라서 근소포체에 주어지는 자극의 차이로 인하여 Ca²⁺이온이 세포내로 방출되는 속도가 다르기 때문에 ATP분해로 인한 myosin과 actin의 결합에 시간적인 차이가 생기는 것으로 생각된다. 즉, 즉살시킨 경우는 myosin과 actin의 결합에 의한 actomyosin toughness상승으로 저장 10시간후에 파괴강도가 최대로 되는 반면에, 마취사시킨 경우는 파괴강도가 최대로 되는 시간이 15시간후로 연장되는데 이것은 즉살후 5°C 저장시에 저온의 영향에 의한 근소포체의 수축의 정도보다

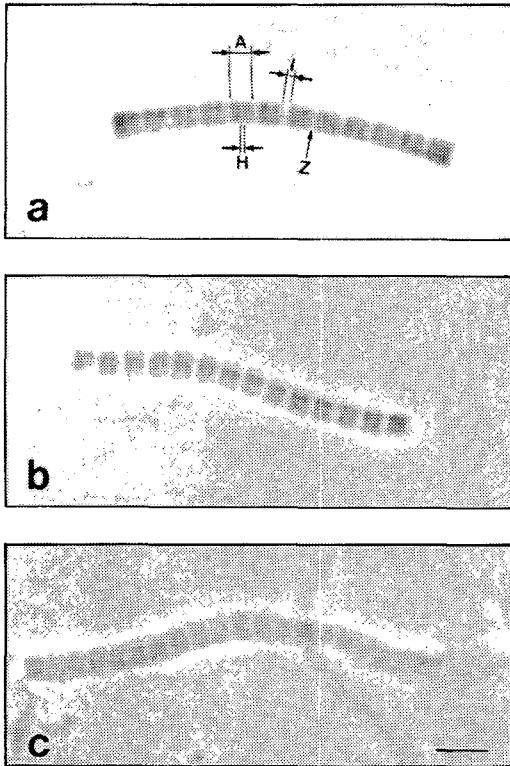


Fig. 3. Phase-contrast micrographs of the myofibrils prepared from plaiice muscle during storage at 5°C after killing by dipping in sea water dissolved anesthetic(1,000ppm of aminobenzoate) for 3min.
 a: immediately after killing
 b: 10hrs storage c: 15hrs storage
 The bar represents 10 μ m

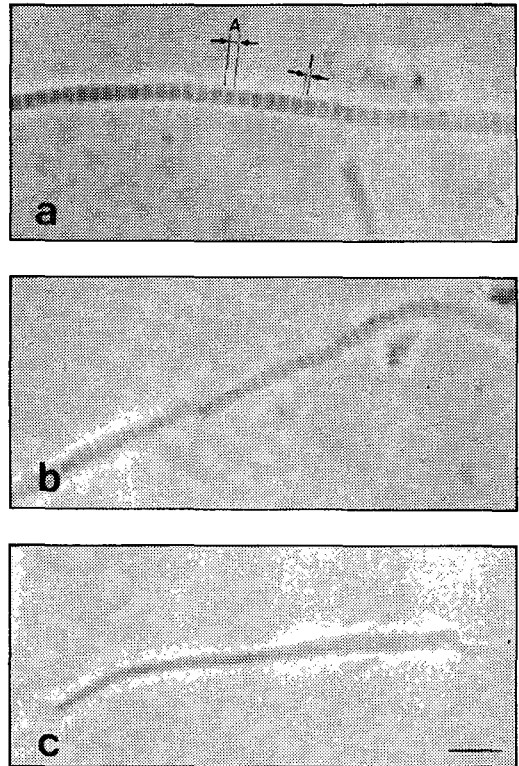


Fig. 4. Phase-contrast micrographs of the myofibrils prepared from plaiice muscle during storage at 5°C after killing by electrifying in sea water (110V, 30sec.).
 a: immediately after killing
 b: 1hr storage c: 2.5hrs storage
 The bar represents 10 μ m

마취의 영향으로 수축의 정도가 적어지기 때문에 Ca^{2+} 이온이 세포내로 방출되는 양이 적어지므로 ATP분해가 지연되며(김 등, 1993), 그 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 myosin과 actin의 결합이 즉살 시료보다 늦어져서 저장 15시간 후에 파괴강도가 최대로 되는 것으로 생각된다. 한편, 전기 자극사 시킨 경우의 근원 섬유 형태학적인 변화가 다른 치사 방법과는 달리 치사 직후에 myosin과 actin의 결합이 관찰되는 결과는, 전기 자극에 의한 근소포체의 수축으로 Ca^{2+} 이온이 일시에 대량으로 세포내로 방출되어서 myosin과 actin의 결합을 촉진시키기 때문이며, 그 결과 actomyosin toughness가 상승되어서 치사 직후에 파괴강도가 최대로 되는 것으로 판단된다.

결론적으로, 치사 방법에 따른 근원섬유의 형태학적인 변화의 차이는 근소포체내에 함유되어 있던 Ca^{2+} 이온의 방출량 및 속도가 치사 방법에 영향을 받으며, 이것이 원인이 되어서 ATP분해 속도에 차이가 생겨서 myosin과 actin의 결합 속도에 차이가 생기게 되는 것으로 판단된다. 그 결과, actomyosin toughness의 상승 그리고 파괴강도 상승의 차이로 연결되는 것이다.

3. 근육의 조직학적인 변화

치사 방법을 달리한 넙치육을 5°C에 저장하면서 경시적으로 육편에 100g/cm²의 압력을 가한 후에 검경용 표본을 만들어서 표면 조직을 광학 현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 5, 6, 7에 나타내었다.

6. 치사방법이 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향

즉살 직후에는 세포와 세포는 서로 접촉하여 간격이 전혀 관찰되지 않았다. 즉살한 시료(Fig. 5)는 저장 10시간까지는 일부의 세포 사이에 약간의 간격만 관찰되었으나, 저장 15시간 이후에는 전체 세포 사이의 간격이 넓어졌다. 마취사시킨 시료(Fig. 6)는 즉살시킨 시료보다 세포 사이의 간격이 관찰되는 시간이 길어졌다. 즉, 저장 15시간까지는 일부의 세포 사이에 약간의 간격만 관찰되었으며, 저장 25시간 후에 전체 세포 사이의 간격이 넓어졌다. 한편, 전기 자극사시킨 시료(Fig. 7)는 상기의 치사 방법들과는 달리 치사 직후에 세포와 세포 사이에 약간의 간격이 관찰되어졌을 뿐만 아니라 저장 1시간후에는 그 간격이 상당히 넓어졌으며, 2.5시간

후에는 전체 세포 사이의 간격이 넓어졌다.

상기와 같은 육편의 조직학적인 변화는 치사 방법을 달리한 어육의 파괴강도의 변화 및 근원섬유의 형태학적인 변화와 밀접한 관계가 있음을 나타내고 있다. 즉, 즉살시킨 시료에서 저장 10시간까지 세포와 세포 사이의 간격이 극히 일부만 관찰되는 것은, 이 시간까지 세포와 세포를 연결시키고 있는 세포의 matrix인 V형 collagen섬유(Duance *et al.*, 1977; Bily *et al.*, 1979)가 손상을 받지 않고 유지되는 상황으로 background toughness의 저하가 일어나지 않았음을 시사하는 것으로 생각되어진다. 또, 이 시점에서 Fig. 2의 근원섬유의 위상차 현미경 관찰의 결과와 같이 myosin과 actin의 결합으로

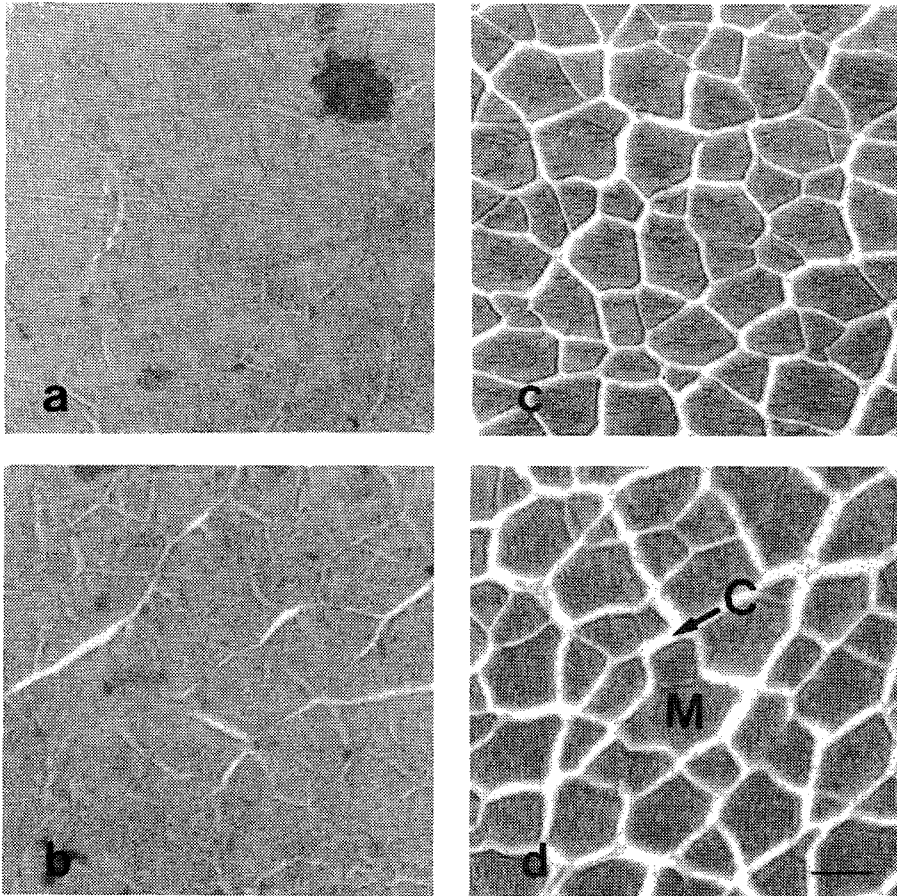


Fig. 5. Light micrographs of plaice muscle compressed at $100g/cm^2$ for 10sec for each duration of storage at $5^{\circ}C$ after killing by spiking at the head instantly.
a: immediately after killing b: 10hrs storage c: 15hrs storage d: 25hrs storage
C: Extracellular matrix structure M: Muscle fiber
The bar represents $100\mu m$

근육에 장력이 발생되어서 actomyosin toughness가 증가되므로, background toughness에 actomyosin toughness가 더해져서 저장 10시간 후에 육의 파괴강도가 최대로 되는 것으로 해석된다. 또, 15시간 저장 후에 세포와 세포 사이의 간격이 벌어지는 결과는, 근육의 수축에 의한 장력 발생 때문에 세포와 세포를 연결시키고 있는 V형 collagen섬유가 물리적 손상을 입거나, 또 이 기간 동안에 V형 collagen섬유를 분해시키는 효소의 작용(Ando *et al.*, 1993) 때문에 파괴강도의 저하로 나타난 것으로 해석된다(Fig. 1 참조). 상기의 결과는 전보(조·이, 1994)의 결과와 일치하였다. 또, 마취사시킨 경우에 세포와 세포 사이의 간격이 벌어지는 시간이 24시간으로 즉살 시료보다 길어지는 결과는, 마취사의 경

우 myosin과 actin의 결합에 의한 파괴강도가 최대로 되는 시간이 15시간으로 즉살시킨 시료의 10시간보다 늦어지므로서 collagen matrix취약화의 원인이 되는 물리적인 힘이 가해지는 시간이 즉살 시료보다 늦어져서 collagen섬유의 붕괴가 늦게 진행되었기 때문이라 추측된다. 한편, 전기 자극사시킨 경우는 다른 치사 방법과는 달리 치사 직후에 세포와 세포 사이에 약간의 간격이 관찰되어졌을 뿐만 아니라, 저장 2.5시간 후에 전체 세포 사이의 간격이 넓어진 결과는, 치사 직후에 파괴강도의 상승으로 인한 장력의 발생 때문에 생기는 물리적인 힘이 collagen matrix에 가해져서 취약화하기 때문인 것으로 생각된다. 이러한 결과는 전기 자극시에 결합 조직의 주성분인 collagen의 미세 구조가 빠

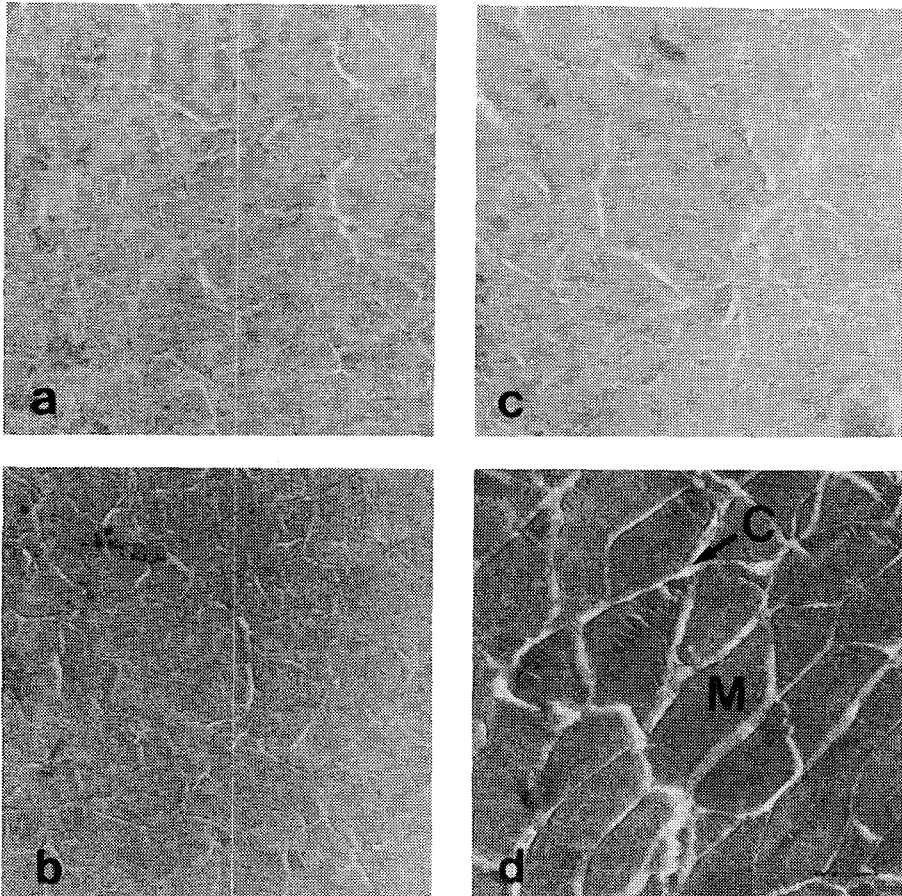


Fig. 6. Light micrographs of plaice muscle compressed at $100g/cm^2$ for 10sec for each duration of storage at $5^\circ C$ after killing by dipping in sea water dissolved anesthetic(1,000ppm of aminobenzoate) for 3min. a: immediately after killing b: 10hrs storage c: 15hrs storage d: 25hrs storage
The bar represents $100\mu m$

6. 치사방법이 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향

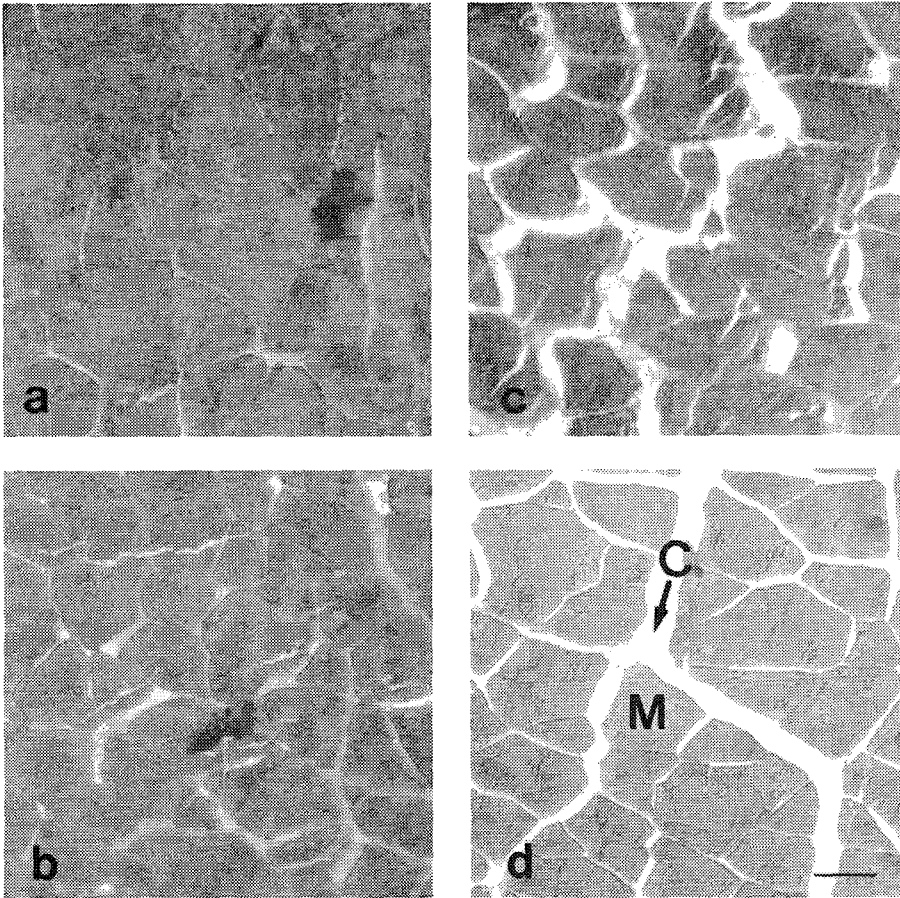


Fig. 7. Light micrographs of plaice muscle compressed at $100g/cm^2$ for 10sec for each duration of storage at $5^\circ C$ after killing by electrifying in sea water (110V, 30sec.).

a: immediately after killing b: 1hrs storage c: 2.5hrs storage d: 5hrs storage

The bar represents $100\mu m$

르게 파괴되어서 연화가 촉진된다는 보고와 일치하는 것으로 생각된다(Shaw and Walker, 1977; Will *et al.*, 1979; 三浦・三上, 1992; Savell *et al.*, 1981; Cross, 1979).

요 약

치사 방법을 달리하여 치사한 넙치육을 $5^\circ C$ 에서 저장하면서 치사 방법이 육의 파괴강도의 변화에 미치는 원인을 규명하기 위하여, 근원섬유의 형태학적인 변화 그리고 근육의 조직학적인 변화에 대하여 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 육의 파괴강도의 상승은 전기 자극사에서 가장 빠르고 최대값도 높았으며, 마취사에서 파괴강도가 최대가 되는 시간이 가장 연장되었다.

2. 근원섬유의 형태학적인 변화는 즉살 직후에는 근질대의 A대, H대, I대 그리고 Z선이 확실히 구별되었으나, 즉살한 시료는 저장 10시간후에 A대 중앙부의 H대 구별이 확실하지 않았으며, I대 간격이 좁아졌음이 관찰되었다. 마취사시킨 시료는 저장 15시간후에도 A대 중앙부의 H대가 희미하게 관찰되었다. 한편, 전기 자극사시킨 시료는 치사 직후에 A대 중앙부의 H대의 구별이 불가능하였으며 I대의 간격이 좁아져있었다.

3. 근육의 조직학적인 변화는, 즉살 직후에는 세포와 세포의 간격이 전혀 관찰되지 않았으나, 즉살 및 마취사에서는 각각 저장 15시간 및 24시간 후에 전체 세포 사이의 간격이 관찰되었다. 한편, 전기 자극사에서는 치사 직후에 세포 사이에 약간의 간격이 관찰되었을 뿐만 아니라, 저장 2.5시간후에 전체의 세포 사이에 간격이 넓어졌다.

이상의 결과로 부터, 사후 초기에 육의 파괴강도의 변화는 myosin과 actin의 결합에 의한 장력의 발생 및 세포의 matrix구조의 파괴와 깊은 관계가 있음을 알 수 있다.

참 고 문 헌

- Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1991. Post-mortem tenderization of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure. J. Sci. Food Agric., 55, 589~597.
- Ando, M., H. Toyohara, Y Shimizu and M. Sakaguchi. 1993. Post-mortem tenderization of fish muscle due to weakening of pericellular connective tissue Nippon Suisan Gakkaishi, 59(6), 1073~1076.
- Cho, Y. J. and N. G. Lee. 1993. Changes in breaking strength of plaice muscle prepared by different killing treatments. Bull. Korean Fish. Soc., 26(4), 401~402.
- Cho, Y. J. 1992. Relationship between temperature dependency and breaking strength of plaice muscle during low temperature storage. Bull. Korean Fish. Soc., 25(4), 322~323.
- Cross, H. R. 1979. Effects of electrical stimulation on meat tissue and muscle properties - A review. J. Food Sci., 44, 509~523.
- Johnston, I. A. and T. W. Moon. 1980. Exercise training in skeletal muscle of brook trout. J. Exp. Biol., 87, 177~194.
- Savell, J. W., G. C. Smith, Z. L. Carpenter and F. C. Jr. parrish. 1979. Influence of electrical stimulation on certain charcateristics of heavy-weight beef carcasses. J. Food Sci., 44, 911~915.
- Shaw, F. D. and D. J. Walker. 1977. Effect of low voltage stimulation of beef carcass on muscle pH. J. Food Sci., 42, 1140~1144.
- Takahashi, K., T. Fukazawa and T. Yasui. 1967. Formation of myofibrillar fragments and reversible contraction of sarcomeres in chicken pectoral muscle. J. Food Sci., 32, 409~413.
- Tokiwa, T. and H. Matsumiya. 1969. Fragmentation of fish myofibril. Effect of storage condition and muscle cathepsin. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 35, 1099~1109.
- Will, P. A., R. L. Henrickson, R. D. Morrison and G. V. Odell. 1979. Effect of electrical stimulation on ATP depletion and sarcomere length in delay-chilled bovine muscle. J. Food Sci., 44, 1646~1648.
- 김육용·조영제. 1992. 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 육의 사후 초기 변화. 1. 사후 초기 변화와 온도 의존성의 관계. 한국수산학회지, 25(3), 189~196.
- 김재현·이남걸·김육용·이근우·조영제. 1993. 넙치(*Paralichthys olivaceus*)육의 사후초기변화. 3. 치사 방법이 ATP관련 물질과 유산 함량의 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 26(5), 403~408.
- 이근우. 1994. 헛감용 넙치(*Paralichthys olivaceus*)육의 물리·화학적 특성에 미치는 저장 온도의 영향. 부산수산대학교 대학원 박사과정 학위논문.
- 조영제·이남걸·김육용·김재현·이근우·김근배·최영준. 1994a. 넙치(*Paralichthys olivaceus*)육의 사후초기변화. 4. 치사방법이 육의 사후 경직도와 파괴강도에 미치는 영향. 한국수산학회지, 27(1), 1~7.
- 조영제·이근우. 1994b. 넙치(*Paralichthys olivaceus*)육의 사후초기변화. 5. 저장온도가 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 27(2), 114~120.
- 三浦弘之·三上正辛. 1992. 電気刺戟による食肉熟成(1). 畜産の研究, 16(12), 1151~1154.
- 山本啓一·九山工作. 1988. 筋肉(生命現象への化學的アプローチ). 化學同人, 45~50.

1994년 5월 24일 접수

1994년 7월 9일 수리