

저장기간에 따라 추출된 쇠고기 Actomyosin의 생물활성 변화

정인철 · 김미숙* · 강세주**

대구공업전문대학 식품공업과, *경성대학교 식품공학과

**축협중앙회 축산물등급판정소

Changes in Actomyosin ATPase Activities Extracted from Beef Meat during Postmortem Storage

In-Chul Jung, Mi-Sook Kim* and Se-Ju Kang**

Dept. of Food Technology, Taegu Technical Junior College, Taegu 704-350, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

**National Livestock Co-operatives Federation, Animal Products Grading Service, Kimhae,
Kyungnam 621-840, Korea

Abstract

This study was carried out to compare the extractability and ATPase activity of actomyosin extracted shank, rib and loin muscle of beef meat stored at 8°C. The extractability of actomyosin in shank, rib and loin muscle were 36.74, 72.55 and 56.77mg/g early in the storage, respectively. The extractability of the rib and loin muscle were similar, the shank muscle was processed differently with their. The Mg- and Ca-ATPase activity of the shank muscle rised to 3 days, but decreased the 6th day. And Mg- and Ca-ATPase activity of the rib muscle was similar during storage period, the loin muscle made a slow descent. The strength of Mg- and Ca-ATPase activity showed in the order shank, rib and loin muscle. The EDTA-ATPase activity of the shank and rib muscle was difference according to storage period and ionic strength, but the loin muscle was increase in succession with magnitude of ionic strength.

Key words : actomyosin, extractability, ATPase activity, postmortem storage

서 론

국내에서 소비된 쇠고기는 1985년도에 약 120,000톤이었으나 1990년도에는 약 177,000톤, 1996년도에는 323,000톤으로 각각 증가하였으며, 2000년도에는 약 438,000톤이 소비될 것으로 예상하고 있다¹⁾. 우리나라는 과거부터 쇠고기를 즐겨왔다. 그러나 일을 시키기 위한 도구로써만 소를 사육하였기 때문에 목축업이 발달할 수 없었고 수요에 비해서 공급이 적었기 때문에 가격이 비싸 많이 소비되지 못하였다. 현재는 소득증대, 식생활 향상, 값싼 쇠고기의 수입 등으로 인하여 소비량이 점차 늘어가고 있다. 쇠고기 소비가 늘어감에 따라 품질

을 차등화 하기 위해 등급을 부여하고 부분육으로 구분하여 판매하고 있다. 또 기호성이 우수한 쇠고기를 얻기 위한 연구들이 많이 이루어져서 숙성에 의해 맛이 향상된다는 결과들이 보고되고 있다^{2~4)}. 쇠고기의 양적인 증가뿐만 아니라 질적인 향상이 요구되고 있지만 더 중요한 것은 원료육의 물성을 파악하는 것이다.

축육은 도살후 저장되는 동안 근육중의 glycogen이 혐기상태에서 해당작용에 의해 유산으로 변화되고, 또 ATP가 소실되면서 탄력성이 저하되고 고기가 질겨지는 사후경직기를 맞게 된다. 그러나 저장기간이 경과하면서 고기는 다시 연하여져서 경직전의 수준을 회복한다. 이러한 일련의 변화들은 가축의 종류, 사양조건, 도

살방법, 근육의 부위 등에 따라서 차이가 있다. 동물의 근육은 골격근, 평활근 및 심장근으로 구분되고 있으나 다같이 ATP에 의한 수축 및 이완의 기능을 가진다는 점에서 유사한 것으로 알려져 있다^{5,6)}.

근육단백질의 약 50%를 차지하고 고농도의 염용액에 용해되는 근원섬유단백질은 Ca과 Mg 이온의 존재 유무와 ATP의 상호작용으로 근수축 기능을 담당하고 있는데, 이것은 myosin, actin, tropomyosin, tropomyosin complex, actinin, M-protein 및 C-protein 등으로 구성되어 있다^{7,8)}. 특히 actin-myosin의 상호작용과 ATP의 영향이 근수축 및 이완의 강약에 영향을 미쳐 식육의 질감과 연합의 정도로 나타나기 때문에 actomyosin에 대한 연구가 이루어져 근육의 부위에 따라 또 가축의 종류에 따라 다르다는 것이 밝혀지고 있다⁹⁻¹¹⁾.

우리 나라에서는 식육을 부위에 따라 조리방법을 조금씩 달리하고 있다. 쇠고기의 경우 사태는 육회나 탕거리로, 갈비는 찜이나 불갈비로, 등심은 로스구이 등으로 이용하고 있으며, 특히 사태, 갈비 및 등심은 많이 이용하고 있는 부위들이다. 또 쇠고기를 식육점이나 슈퍼마켓 등에서 주로 구입하여 이용하고 있는데 유통온도가 8℃미만인 것이 많다고 한다¹²⁾. 따라서 유통온도와 저장기간에 의한 식육의 actomyosin의 특성을 밝힘으로써 도축후 쇠고기의 적정 이용시점을 제시할 수 있으리라 생각된다.

본 연구에서는 가정에서 많이 이용하고 있는 사태, 갈비 및 등심의 적절한 이용시점을 제시하기 위한 기초 자료로서 8℃에서 저장하면서 actomyosin을 추출하고 그들의 생물활성을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 사용된 시료는 34개월령의 한우(도체중량 226kg, 암컷)로서 도축후 냉장온도에서 36시간이 경과한 것의 사태, 갈비 및 등심을 분리하여 400g씩 선상저밀도 폴리에틸렌필름(식품포장용 랩 필름, (주) 크린랩)으로 포장하여 8±1℃에서 저장하면서 시료로 하였다.

2. Actomyosin의 추출

도체로부터 분리한 사태, 갈비 및 등심의 결체조직을 제거한 후 마쇄하고 Szent-Györgyi법¹³⁾을 약간 수정하여 추출하였다. 즉 마쇄육에 6배량의 Weber-Edsall 용액을 넣고 15분동안 천천히 교반한 후 4℃에서 24시간 방치하고 9,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상등

액을 얻는다. 상등액에 2배량의 증류수를 가하고 6,000rpm에서 7분간 원심분리하여 얻어진 침전물에 동량의 1M KCl용액을 가하고 9,000rpm에서 10분간 원심분리하는 조작을 3회 반복하여 얻어진 상등액을 actomyosin으로 한다. Actomyosin의 추출성은 550nm에서 흡광도를 측정하고 우유의 카제인을 농도별로 이용하여 작성한 검량선에 의하여 구하였다.

3. Actomyosin의 ATPase활성

0.25mg/ml의 actomyosin용액에 1mM MgCl₂, 1mM CaCl₂ 또는 1mM EDTA와 농도별 KCl, 25mM Tris-HCl buffer(pH 8.0), 1mM ATP의 혼합액을 30℃에서 5분간 반응시키고 20% TCA용액을 이용하여 최종농도가 4%가 되도록 하고 ice bath상에서 반응을 정지시켰으며, 유리된 무기인산을 Fiske와 Subbarow의 방법¹⁴⁾에 따라 정량하였다. ATPase활성은 1mg의 단백질에 의하여 1분동안 유리되는 무기인산(Pi)의 μ mole로 표시하였다.

결과 및 고찰

1. Actomyosin 추출성의 변화

Actomyosin은 근육단백질에 15~20% 정도 존재하고 있으며 myosin과 actin이 약 4:1의 비율로 구성되어 있는데¹⁵⁾, 고농도의 염용액에서 myosin과 actin은 근원섬유의 thick filament와 thin filament로부터 유리되어 actomyosin을 형성하기 때문에 actomyosin의 추출량의 차이는 근원섬유의 치밀도가 다르다는 것을 예상할 수 있다. 본 실험에서는 도살후 약 10℃에서 36시간 경과된 것을 저장 0일로 하여 8℃에서 0, 3 및 6일째에 actomyosin을 추출하고 그 추출양상을 Table 1에 나타내었다.

사태부위의 actomyosin의 추출성의 변화를 보면 저장 0, 3 및 6일째 각각 36.74, 38.12 및 40.38 mg/g으로 조금씩 증가하는 경향이었으나, 갈비와 등심은 저장 0일째 각각 72.55 및 56.77 mg/g이던 것이 저장 3일째 각각 77.96 및 80.18 mg/g으로 증가하다가 6일째

Table 1. Changes in actomyosin extractability during postmortem storage (mg/g)

Part of muscle	Storage days		
	0	3	6
Shank	36.74	38.12	40.38
Rib	72.55	77.96	57.92
Loin	56.77	80.18	60.87

에는 감소하는 경향이었다. 사태부위는 갈비와 등심보다 저장초기 actomyosin의 추출성이 다소 낮고 또 저장기간에 따른 추출양상도 갈비와 등심은 비슷하게 진행되는 반면 사태는 이와 다른 추출양상을 보이고 있다. 이와 같은 결과는 사태가 운동을 많이 하는 다리에 존재하는 반면 갈비와 등심은 운동량이 적은 몸통쪽에 존재하기 때문에 도살후 진행되는 사후강직의 속도가 다른 것으로 생각된다. Ha⁽⁶⁾는 쇠고기를 4℃에서 7일간 저장했을 때 actomyosin의 추출성은 23.2 mg/g에서 49.5 mg/g으로 2배 이상 증가한다고 하여서 본 실험의 추출양상과는 다소 차이가 있다. 그러나 그가 보고한 것과 차이가 있는 것은 실험에 이용한 부위가 다르고 또 저장온도가 달랐기 때문인 것으로 생각된다.

이상과 같이 쇠고기를 8℃에서 저장하면서 경시적으로 추출하여 조사한 actomyosin의 추출성의 변화는 같은 도체내에서도 사태부위의 thick filament와 thin filament 사이의 치밀성이 갈비나 등심보다 크고 저장기간에 따라 actin과 myosin의 상호작용이나 용해성에 차이가 있다는 것을 의미한다고 할 수 있다.

2. ATPase활성 변화

Mg²⁺이온의 존재하에서 저장기간에 따라 추출된 actomyosin의 ATPase활성 변화를 Fig. 1~3에 나타내었다. 사태의 Mg-ATPase활성(Fig. 1)은 저장 3일

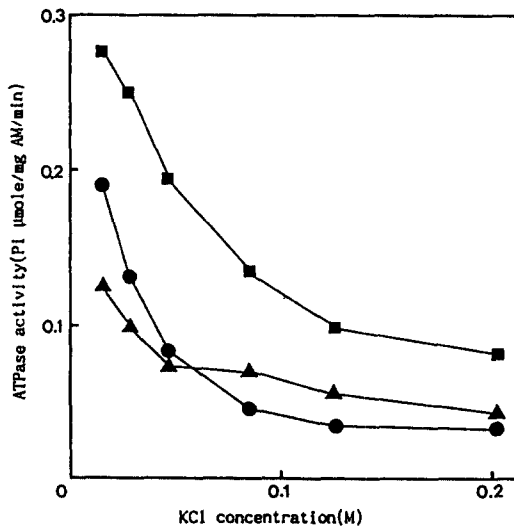


Fig. 1. Changes in Mg-ATPase activities of actomyosin extracted from shank muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg/ml actomyosin, 1mM MgCl₂, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

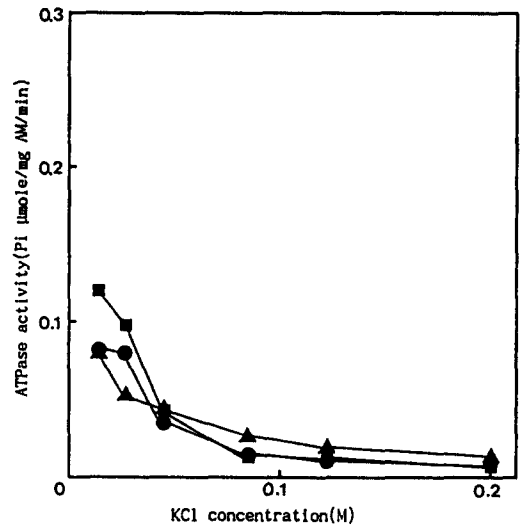


Fig. 2. Changes in Mg-ATPase activities of actomyosin extracted from rib muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg/ml actomyosin, 1mM MgCl₂, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

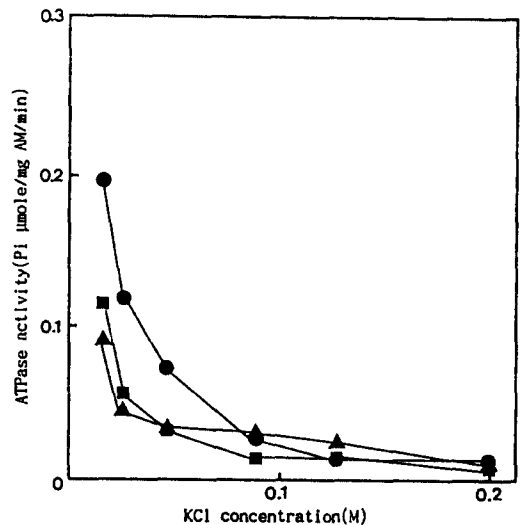


Fig. 3. Changes in Mg-ATPase activities of actomyosin extracted from loin muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg/ml actomyosin, 1mM MgCl₂, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

까지 크게 상승하다가 6일째에는 낮아졌고, 갈비의 ATPase활성(Fig. 2)은 전 저장기간동안 뚜렷한 변화가 없이 비슷하였으며, 등심(Fig. 3)은 저장기간에 따

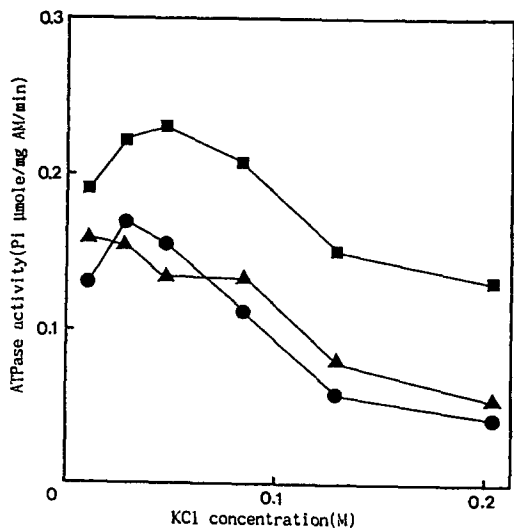


Fig. 4. Changes in Ca-ATPase activities of actomyosin extracted from shank muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg /ml actomyosin, 1mM CaCl₂, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

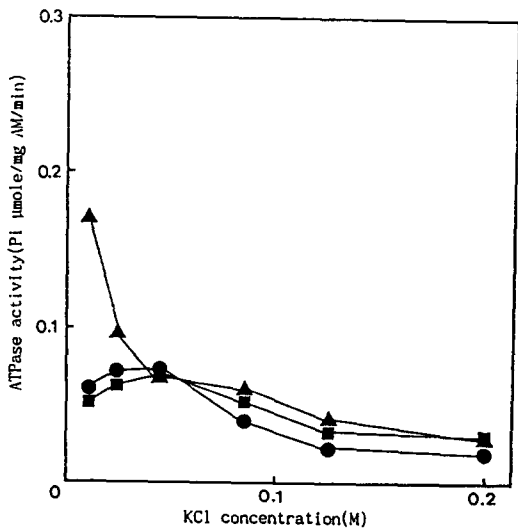


Fig. 5. Changes in Ca-ATPase activities of actomyosin extracted from rib muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg /ml actomyosin, 1mM CaCl₂, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

라 낮아지는 경향이였다. 또 갈비와 등심의 actomyosin은 사태보다 고이온강도 의존성을 보이고 있다. Myosin ATPase활성은 Mg이온에 의하여 저해를 받

고, Ca이온과 EDTA에 의하여 증가한다. 그리고 myosin ATPase활성은 actin에 의하여 크게 증대되고, actin에 의해 증대된 myosin ATPase활성을 actomyosin type ATPase활성이라 하며 actin과 myosin의 특이한 상호작용의 결과로 나타난다¹⁷⁾. Maruyama와 Ishikawa¹⁸⁾는 저이온강도에서 actin과 myosin의 상호작용이 강하고 고이온강도에서는 약하다고 하였다. 그리고 Perry와 Corsi¹⁹⁾는 고농도의 ATP가 actomyosin을 고이온강도하에서 actin과 myosin으로 분리하여 투명화시킨다고 하였으며, Yang 등²⁰⁾은 투명화 현상이 ATP활성치를 낮게 한다고 하였다. 따라서 본 실험의 갈비와 등심의 actomyosin이 사태보다 actin과 myosin으로 해리되기 쉽다는 것을 의미한다. 이와 같이 근육의 부위와 저장기간에 따라 actomyosin Mg-ATPase활성이 차이가 있는 것은 actomyosin을 구성하고 있는 actin과 myosin의 구성비가 다르든지 ATP에 대한 효소활성이 다르다는 것을 추측할 수 있다.

근육에 존재하고 있는 Ca이온은 actin과 myosin의 상호작용을 억제하는 troponin-I의 기능을 소실시켜 actomyosin을 형성케 하고 actomyosin ATPase에 의하여 생성된 에너지가 근육수축에 이용되고 있다⁷⁾. Fig. 4, 5 및 6은 사태, 갈비 및 등심으로부터 저장기간에 따라 추출한 actomyosin의 Ca-ATPase활성을 나타낸 것이다. 사태 actomyosin ATPase활성의 경우

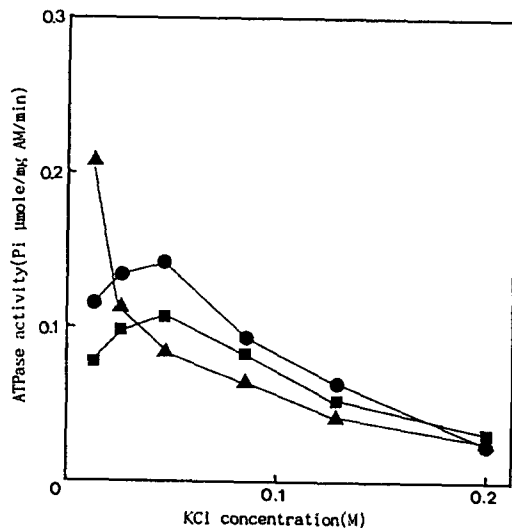


Fig. 6. Changes in Ca-ATPase activities of actomyosin extracted from loin muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg /ml actomyosin, 1mM CaCl₂, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

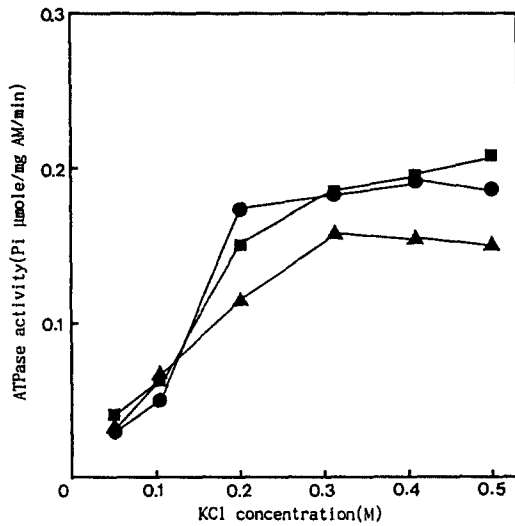


Fig. 7. Changes in EDTA-ATPase activities of actomyosin extracted from shank muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg/ml actomyosin, 1mM EDTA, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

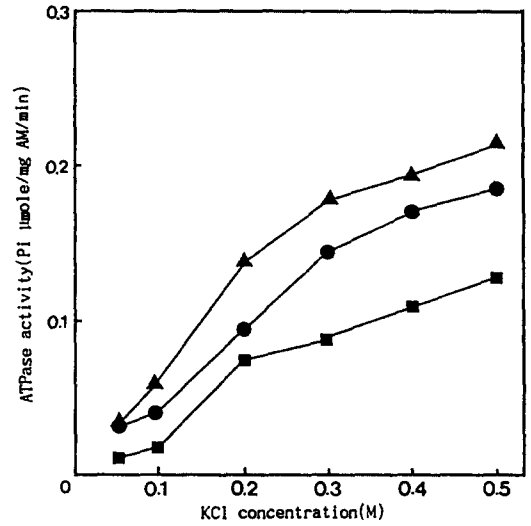


Fig. 9. Changes in EDTA-ATPase activities of actomyosin extracted from loin muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg/ml actomyosin, 1mM EDTA, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

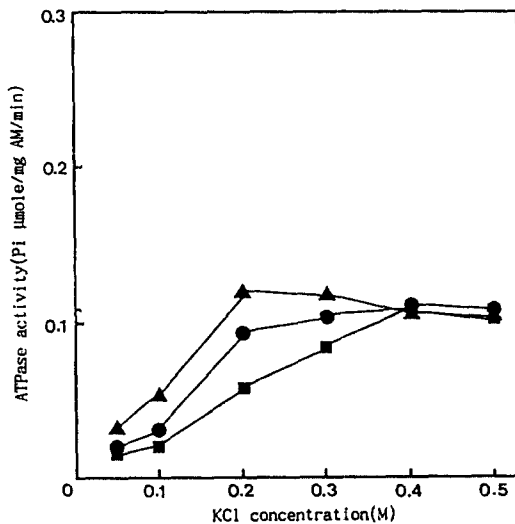


Fig. 8. Changes in EDTA-ATPase activities of actomyosin extracted from rib muscle stored during postmortem 0(●), 3(■) and 6(▲) days. ATPase assay: 0.25mg/ml actomyosin, 1mM EDTA, 25mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM ATP.

(Fig. 4) 저장 3일째 크게 상승하였고, 갈비(Fig. 5)와 등심(Fig. 6)은 저이온강도에서 저장 6일째 활성이 높았을 뿐 이온강도가 커짐에 따라 활성은 유사하게 변화

하였다. Ca-ATPase활성은 부위와 저장기간에 따라 활성의 변화가 일치하지 않았고 고이온강도에서 대체로 낮았다. Barany 등²¹⁾은 Ca-ATPase활성이 부위에 따라 2~3배의 차이가 있다고 하여서 갈비와 등심은 같은 도체내에서도 비슷한 활성을 나타내는 근육구조를 가지고 있지만 사태는 이들과 다르다는 것을 판단케 한다.

Fig. 7 및 9는 각각 사태와 등심의 EDTA-ATPase 활성을 나타낸 것인데 갈비(Fig. 8)의 ATPase활성보다 높은 활성을 나타내고 있다. 그리고 부위별로 저장기간에 따라 활성의 변화에는 조금씩 차이를 보이고 있다. Maruyama와 Ishikawa¹⁶⁾는 고이온강도에서 actomyosin의 EDTA-ATPase활성은 myosin에 기인한다고 하였다. Bowen과 Kerwin²⁰⁾은 myosin의 ATPase활성은 0.6M KCl농도에서 EDTA에 의하여 현저히 증가된다고 보고하였다. 따라서 근육의 부위와 저장기간에 따라 EDTA-ATPase활성에 차이가 있는 것은 actomyosin을 추출할 때 myosin의 추출양상이 부위와 저장기간에 따라 다르다고 추정할 수 있다.

요 약

소의 도체로부터 사태, 갈비 및 등심을 분리하고 8℃에 저장하면서 actomyosin을 추출하여 부위별 저장기

간에 따라 추출성 및 ATPase활성을 비교하였다. Actin과 myosin이 유리되어 형성된 actomyosin의 추출성은 저장초기 사태, 갈비 및 등심이 각각 36.74, 72.55 및 56.77mg/g이었으며, 저장기간에 의한 추출양상은 갈비와 등심이 비슷하였고, 사태는 이들과 다르게 진행되었다. 사태의 Mg- 및 Ca-ATPase활성은 저장 3일까지 상승하다가 6일째 감소하였고, 갈비는 저장기간 동안 비슷하였으며, 등심은 저장기간에 따라 조금씩 낮아지는 경향이였다. 그리고 Mg- 및 Ca-ATPase활성은 사태, 등심 및 갈비의 순으로 크게 나타났다. 사태와 갈비의 EDTA-ATPase활성은 저장기간과 이온강도에 따라 차이를 보였지만 등심은 이온강도가 커짐에 따라 계속 상승하였다.

참고문헌

1. 미트저널 : 소비자장 "미로속", 구조조정 본격화. 3월호, p. 76 (1997).
2. Field, R. A., Riely, M. L. and Chang, Y. : Free amino acid changes in different aged bovine muscles and their relationship to shear value. *J. Food Sci.*, **36**, 611 (1971).
3. Minks, D. and Stringer, W. C. : The influence of aging beef in vacuum. *J. Food Sci.*, **37**, 736 (1972).
4. 沖谷明紘, 松石昌典, 根岸晴夫, 吉川純夫 : 凍結貯藏牛肉の解凍後貯藏に於ける食味 性の向上. *日畜會報*, **61**, 990 (1990).
5. Bendall, J. R. : Postmortem changes in muscle: in "The Structure and Function of Muscle." 2nd ed. Academic Press, New York, vol. 2. p. p. 243-248 (1973).
6. Asghar, A. and Pearson, A. M. : Muscle structure and composition. *Adv. Food Res.*, **20**, 54 (1980).
7. Huxley, H. E. : The mechanism of muscle contraction. *Science*, **164**, 1356 (1969).
8. Ebashi, S. and Nonomura, Y. : Proteins of myofibril: in "The Structure and Function of Muscle." 2nd ed. Academic Press, New York, vol. 2. p. p. 285-292 (1973).
9. Cassens, R. G. and Cooper, C. C. : Red and white muscle. *Adv. Food Res.*, **19**, 1 (1971).
10. Maruyama, K. and Gergely, J. : Interaction of actomyosin with adenosin triphosphate at low ionic strength. *J. Biol. Chem.*, **237**, 1095 (1962).
11. Hay, J. D., Currie, R. W. and Wolfe, F. H. : The effect of aging on physicochemical properties of actomyosin from chicken breast and leg muscle. *J. Food Sci.*, **37**, 346 (1972).
12. 이수미, 염건웅, 장정옥, 민상기 : 국내 냉장, 냉동 쇼케이스의 온도관리 실태 와 문제점. 한국축산식품학회 추계심포지움초록. p. 94 (1996).
13. Szent-Gyorgyi, A. : The chemistry of muscular contraction. 2nd ed. Academic Press, New York, p. 1 (1951).
14. Fiske, C. H. and Subbarow, Y. : The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925).
15. Pearson, A. M. : Advance in meat research. AVI Pub., New York, p. 48 (1987).
16. Ha, J. U. : Studies on the nature of myofibrillar protein extracted from meat during postmortem storage. Ph. D. Program in animal products science graduate school of Kon-Kuk University (1985).
17. Chaplain, R. A. : The allosteric nature of substrate inhibition of insect actomyosin ATPase in presence of magnesium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **22**, 248 (1966).
18. Maruyama, K. and Ishikawa, Y. : Effect of magnesium and calcium on the ATPase activity of actomyosin at low ionic strength. *Biochem. Biophys. Acta.*, **77**, 682 (1963).
19. Perry, S. V. and Corsi, A. : Extraction of proteins other than myosin from the isolated rabbit myofibril. *Biochem. J.*, **68**, 5 (1958).
20. Yang, R., Okitani, A. and Fujimaki, M. : Studies on the myofibril from the stored muscle. *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1965 (1970).
21. Barany, M., Barany, K., Rechar, T. and Valpe, A. : Myosin of fast and slow muscle of the rabbit. *Arch. Biochem. Biophys.*, **109**, 185 (1965).
22. Bowen, W. J. and Kerwin, T. C. : A study of the effects of ethylene diaminetetra-acetic acid on myosin adenosin triphosphatase. *J. Biol. Chem.*, **211**, 237 (1954).

(1997년 9월 8일 접수)