

동면 전·후 짱뚱어의 육단백질 및 아미노산 조성의 변화에 관한 연구

박 일웅

호원대학교 식품조리학부

The Study in the Composition Changes of Muscle Proteins and Amino Acids in the Hibernant Fish-Mudskipper (*Boleophthalmus pectinirostris*) before and after Hibernation

Il-Woong Park

Devision of Food & Cooking, Howon University

Abstract

The composition of muscle proteins and free amino acids in the mudskipper (hibernant fish) were investigated before and after hibernation (maturity period: August, hibernation period: November thru. April). It was found that crude proteins were 17.6% in August, 17.5% in November and 16.9% in April, while among the muscle proteins, sarcoplasmic proteins were constituted up to 19.2~20.4%, 58.8~61.3% for myofibrilla proteins, 11.2~13.2% for intracellular proteins and 7.5~8.3% for stroma proteins. Composition changes of the muscle proteins were hardly noted until November but during the hibernation (from Nov. to Apr.) the amount of the sarcoplasmic proteins and the myofibrillar proteins decreased pronouncedly. As for the sarcoplasmic proteins, 14 subunits were found and among them, the amount of 30 kDa and 46 kDa subunits were found to increase slightly in April compared with those in November, while the amount of 35 kDa and 65 kDa subunits were decreased slightly. As for the myofibrilla proteins, 13 subunits were found and detectable changes in their composition were not observed until November but in April the amount of myosin heavy chain was increased by 3%, while the amount of actin decreased by 3% when those are compared with the results in November. The composition of amino acids in the muscle proteins was hardly changed during the observation period. But there were considerable changes of composition of free amino acids. Glycine and alanine were found to be the major free amino acids. The most striking feature was the changes in the glycine and arginine content: the former, which is a dominant free amino acid, was increased by two-fold in April compared with that in August and the latter was increased by two-fold in November and by four-fold in April. It was also found that the amount of essential amino acids (i.e., lysine and histidine) and others (alanine, glutamic acid, serine, aspartic acid and valine) increased significantly during the hibernation period.

Key words: hibernant fish-mudskipper, sarcoplasmic proteins, myofibrillar proteins, arginine, glycine.

서 론

어류는 다양한 환경에 적절히 적응할 수 있는 최적

의 생물체계를 가진 동물로서 특히 서식온도에 따라 체내대사 속도가 매우 민감하게 반응·조절되므로 이에 필요한 고에너지화합물의 생성도 현저히 달라

[†] Corresponding author : Il-Woong Park, Division of Food & Cooking, Howon University, Wolhari 727, Impi, Gusan, Chonbuk 573-718, Korea.

Tel :019-440-8677, Fax :063-450-7239, E-mail : piw@sunny.howon.ac.kr

지게 되는데 이러한 체계는 먹이의 양이나 질과 같은 서식조건은 물론 성, 연령, 어종에 따라서도 차이가 큰 것으로 되어 있어¹⁾ 어체 조성에 미치는 영향도 그만큼 클것으로 예상된다. 우리나라 서·남해안 조간대에서 서식하는 菊匐跳躍性 水陸兩性 망둥어과 어류인 짱뚱어는 옛부터 추어탕과 비슷한 용도로 선호되고 있고 최대성숙기는 5~7월로, 1년생 이상은 13~18.5cm의 크기에, 만 2년 내에 성어로 성장한다^{2,3)}. 또 11월 중순에서 이듬해 4월 중순경까지 약 5 개월간은 땅속 깊숙히 들어가 겨울잠을 자는 동면어로서 Gregory⁴⁾와 Morii 등⁵⁾에 따르면 환경에 따라 폐질소를 암모니아나 요소로 전환하여 배설하는 두 가지 기능이 있고 Iwata⁶⁾는 짱뚱어가 암모니아 독성에 매우 강력한 내성을 가진 어류로 특히 독성에 대한 중추신경 조직의 보호 기능이 잘 발달되어 있다고 하였다. 또한 Ryu⁷⁾는 짱뚱어가 동면 종료 무렵 땅속에서 거의 동사상태로 채취된 후 다시 서서히 소생할 정도로 耐濕, 耐冬性이 매우 강력한 특성이 있다고 하였으며, 김 등⁸⁾은 동면기간 중 짱뚱어육 조성에서 지방질 함량이 줄어든 것에 비해 ATP와 고도불포화 지방산 조성이 큰 폭으로 늘어난데서 혹한에 따른 세포 유동성 조절 기능이 탁월한 어류로 추정하고 생체 에너지원으로 축적된 영양성분 외에 또 다른 공급체계의 상존을 시사하였다. 이밖에 짱뚱어에 관한 연구로는 지방산 조성에 관한 Misra 등⁹⁾의 보고와 Ip 등¹⁰⁾의 생태와 거동, 정 등¹¹⁾의 성성숙 등 주로 생리적 측면에 관한 연구가 있으나 동면에 따른 화학적 분석자료는 찾기가 어렵다. 본 연구에서는 동면기 짱뚱어의 생체대사와 관련한 기초 정보를 얻고자 어체의 생리적 특성과 관련이 있는 단백질 조성과 생체 대사와 긴밀한 관계에 있는 엑스성분(extractives) 중 유리 아미노산 조성을 성숙기와 동면기 전·후기로 나누어 분석, 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 짱뚱어(*Mudskipper, Boleophthalmus pectinirostris*)는 전남 영암군 삼호면 독천마을 앞 해안에서 성숙기(2000년 8월 2일~5일)는 수면상의 것을, 동면직전(2000년 11월 4일~6일)과 동면직후(2001년 4월 13일~15일)는 각각 땅속의 것을 직접 채취(시기별 평균체장 : 13.6~16.1cm, 평균체중 : 20.1~34.2g)하였으며 살아있는 채로 저온실험실(0~4°C)에 옮겨, 수세, 즉살시킨 다음 두부와 내장을 제거하고 각 개체별 정육을 취해 세절, 마쇄하여 분석용 시료로 하였다.

2. 단백질 조성

卞 등¹²⁾의 방법에 따라 마쇄육에 1.5배용의 0.1M NaHCO₃를 가해 균질화 한 다음 다시 8배용의 0.58M NaCl · 0.01M NaHCO₃를 가해 4시간 추출, 원심 분리(5000 × g, 20min)하였다. 침전은 같은 방법으로 반복 추출하여 그 상정액을 16배용의 빙냉수로 희석, 원심 분리(5000 × g, 20min)한 침전을 균원 섬유단백질로 그 상정액에 4%가 되도록 trichloro acetic acid를 가해 원심분리(6000 × g, 10min)한 침전구분을 균원질 단백질로 하였다. 그리고 위의 0.58M NaCl · 0.01M NaHCO₃ 추출에서 불용인 침전을 0.1N NaOH로 충분히 추출하여 원심분리(5000 × g, 10min) 과정을 반복한 가용분을 세포내 잔사 단백질로, 불용의 잔사를 기질단백질량으로 하였다. 단백질 농도는 용액상태 분획분은 bovine albumin을 표준으로 하여 micro-Kjeldahl법으로 질소량을 검정한 검량곡선을 기준으로 하여 曾原 등¹³⁾의 방법에 따라 미량 biuret법으로 측정하였으며 잔사분획분 농도와 육중 조단백질 함량은 micro-Kjeldahl법으로 측정하였다.

3. 전기영동

주 단백질로 분획된 균원질 단백질 일부를 취해 卞 등¹²⁾의 방법에 따라 0.5M NaCl · 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)에 투석하고 균원섬유 단백질 획분 일부는 1M NaCl · 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)에 용해, 0.5M NaCl · 0.01M phosphate buffer(pH 7.0)에 투석한 다음 각각을 Laemmli 방법¹⁴⁾에 따라 7.5% SDS(sodium dodecyl sulfate) polyacrylamide slab gel을 사용, 전기 영동을 실시하였다. 분자량이 밝혀진 표준 단백질을 동일 조건에서 사용, 작성한 검량곡선에서 구성단백질의 분자량을 계산하였고 전기영동된 gel상의 농도는 다시 high performance thin layer chromatography scanner(Model Linomat IV, Camag Co, Switzerland)를 이용, 554nm에서 측정하였으며 표준단백질은 electrophoresis calibration kit (Pharmacia LKB, Sweden): myosin (212 kDa), macro globulin(170kDa), galactosidase(116kDa), phosphorylase B (94kDa), transferrin (76kDa), bovine serum albumin(67kDa), glutamic dehydrogenase(53kDa), ovalbumin(43kDa), carbonic anhyd rase (30kDa), soybean trypsin inhibitor(20.1kDa), lactalbumin(14.4kDa)를 사용하였다.

4. 단백질 구성 아미노산과 유리 아미노산 조성

아미노산 조성은 Na high performance column (Beckman 338076, UK)을 이용, high performance 아미노산 분석계 (Beckman system 6300, UK)로 분석하였

으며 단백질 구성 아미노산 분석용은 卍 등¹²⁾의 방법에 따라 마쇄육을 에탄올로 추출, 원심분리 (4000×g, 10min)를 반복하여 유리 아미노산 등 질소화합물을 제거하고 다시 에틸에테르와 아세톤으로 추출, 원심분리를 반복하여 유기용매 가용성분을 제거한 다음 P_2O_5 가 든 데시케이터에서 감압건조시켜 6N-HCl로 가수분해한 것을 분석용 시료로 하였으며 tryptophan은 알칼리분해법으로, cystine은 performic 산화법에 따라 cysteic acid로 산화, 조제하여 측정하였다. 한편 유리 아미노산 분석용은 마쇄육을 70% 에탄올로 충분히 추출하고 에틸에테르로 탈지후 피크린산으로 단백질을 제거한 다음 Dowex 2×8, Cl form(Sigma Co.), 2×4cm column을 통과시켜 피크린산을 제거, 농축하여 시료로 하였다.

5. 통계처리

단백질과 유리 아미노산 조성에 대한 모든 자료는 Statistical Analysis System(SAS) Package¹⁵⁾를 이용하여 분석하였고 조사된 모든 항목에 대하여 유의수준 $p<0.05$ 에서 분산분석 및 Duncan의 다중범위 비교를 통하여 차이를 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 단백질 조성

짱뚱어육의 단백질 조성을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 조단백질을 보면 8월(17.8%)과 11월(17.5%)은 별반 차이가 없으나 동면종료시기 4월은 조금 줄어든

16.9%로 같은 기간 미량 지방질이 1.2%에서 0.4%로 대폭 줄어든 것⁸⁾과 큰 차이가 있었다. 이와 같이 대부분 어류의 단백질은 년중 거의 일정한 값을 가지나 산란 회유 도중 연어는 그 함량이 큰 폭으로 줄고 대신 비단백태 질소물과 자가소화활성이 크게 증가하는 것으로 밝혀져 있어¹⁶⁾ 어종과 체력 소모가 단백질 소모와 성질 변화에 중요한 요인이 되고 있다. 다음으로 단백질 조성을 보면 근원질 단백질이 전체의 19.2~20.4%, 근원섬유 단백질은 58.8~61.3%, 세포내 잔사단백과 기질단백은 각각 11.2~13.2%와 7.5~8.3%를 나타내었다. 卍 등¹²⁾의 보고에 비추어 이중 세포내 잔사단백을 근원섬유 단백의 미추출 또는 변성에 의한 불용성 획분으로 추산하면 시료에는 근원섬유 단백질 조성이 70%에 상당한 백신어로 파악되었다. 또 이 결과는 崔 등¹⁷⁾이 보고한 붕어와 가물치, 그리고 志水 등¹⁸⁾에 의한 방어육의 근원질 단백조성비 32.6%, 30.7%와 32%, 근원섬유 단백질 62.0%, 64.1%와 60%, 세포내 잔사단백 4.9%, 4.7% 와 5%, 기질단백 0.6%, 0.4%와 3%와 비교하면 근원질 단백조성은 짱뚱어가 월등히 적으나 근원섬유 단백조성은 훨씬 많은 것으로 나타났다. 차이를 나타내었다. 이 결과를 미루어 볼 때 순간 운동관련 보통육 조성도 훨씬 많을 것으로 추정되며 따라서 이들 어류와 생리적, 생화학적 성질에 차이가 클 것으로 예상된다. 또한 경도에 관련된 기질 단백조성도 짱뚱어가 월등히 높은 특징을 보이고 있는데 이것은 경단백성 피하층조직¹⁹⁾의 분포가 그 만큼 높기 때문으로 葡萄跳躍성 어류의 특징으로 생각되었다. 한편 시기별 개별 조성을 비교해 보면 양적으로나 조

Table 1. Comparison of protein compositions in the muscles of mudskipper from maturity, pre- and post-hibernation period
(g/100g muscles)

Sampling months ¹⁾	Aug.	Nov.	Apr.
Crude protein	18.1 ± 0.26*	17.8 ± 0.13	16.9 ^a ± 0.04
Sarcoplasmic protein	3.42 ± 0.10(20.4) ²⁾	3.20 ± 0.23(20.1)	2.92 ^a ± 0.07(19.2)
Myofibrillar protein	9.86 ^a ± 0.07(58.8)	9.42 ^{ab} ± 0.38(59.2)	9.12 ^b ± 0.06(61.3)
Residual intracellular protein	2.16 ± 0.11(12.9)	2.10 ± 0.09(13.2)	1.70 ^a ± 0.07(11.2)
Stroma protein	1.32 ± 0.14(7.9)	1.19 ± 0.03(7.5)	1.26 ± 0.07(8.3)

* Values are average±standard deviation; n=6.

^{a-b} Significantly different from columns($p<0.05$).

¹⁾ Aug. : the period of maturity(2000. 8.2~5).

Nov. : just pre-hibernation(2000.11.4~6).

Apr. : just post-hibernation(2001.4.13~15).

²⁾ Numericals in parentheses represent percentage distribution to protein fraction in the muscles.

성비에서 동면 직전인 11월까지는 거의 차이가 없으나 동면 직후인 4월에는 조성비가 소폭 늘어난 기질단백질을 제외한 근원질과 근원섬유 2종의 단백질이 조금씩 줄어들었으며, 이중 근원질 단백의 감소가 약간 큰 것으로 판단되었다. 이와 같은 경향은 지방질 조성에서 동면 직후 triglyceride 조성이 대폭 줄어든 것⁸⁾과 크게 대조적이고 또, 鈴木²⁰⁾의 보고에서 절식상태로 겨울을 나는 동안 잉어육의 근원질과 근원섬유 단백질 함량의 감소가 현저하였고 수온이 높은 쪽이 그 차가 크다고 한 결과와도 큰 차이를 보여주고 있는데 이것은 잉어가 짱뚱어와 달리 에너지원으로 주로 단백질을 이용하는 생리적 특성에 기인된 것으로 어종별, 서식환경에 따라 생체대사 패턴에 많은 차이가 있을 것으로 추정되었다.

2. 근원질 단백질 조성

짱뚱어육의 주요단백질인 근원질과 근원섬유 단백질에 대한 전기 영동상은 Fig. 1과 같고 근원질 단백의 구성 subunit별 조성비는 Table 2와 같다. 분석결과를 보면 시기에 관계없이 분자량 크기가 일정한 총14종의 subunit가 검출되었고 이중 35kDa와 30kDa 조성비가 전체의 20.15~21.18%와 15.47~16.30%로 가장 많았고 다음은 81kDa(7.78~8.08%), 230kDa(7.76~7.98%)와 110kDa(7.32~7.55%) 등으로 이들이 전체의 60%를 차지하고 있어 주요 해당계 효소단백으로 추정되었다. Nakagawa 등²¹⁾은 16종 어류의 근원질 단백에서 각기 11종 이상씩의 subunit를 검출하고 도미 등 6종 보통육은 43kDa와 35kDa[], 고등어등 6종 혈합육은 43kDa,

40kDa, 35kDa가, 잉어 등 4종 닭수어는 43kDa가 풍부하다고 하였고 谷口²²⁾도 치어 옥새송어와 1~3년생간에 조성차는 없으나 성장에 따라 저분자 농도가 높고 고분자 농도는 낮아지는 경향으로 성별 차이는 없다고 하였다. 또 최근 김 등²³⁾, Watabe 등²⁴⁾은 온도 순화한 어류에 있어 새로운 subunit 출현 등 환경적응에 의한 근원질 단백의 구조 변화를 시사하였는데 이처럼 어종 또는 부위와 난령 등에 따른 근원질 단백의 조성차는 어류의 생리적 특성과 서식환경 및 식이에 따른 효소군 등의 차이에 기인하는 것으로 생각된다. 한편, 金 등²⁵⁾과 卞 등¹²⁾에 따르면 사후 어체의 근원질 단백질 중 일부 subunit의 조성 변화가 cathepsin 류의 효소에 의한 분해 때문이라고 하였고 Robertson 등²⁶⁾은 절식중 대구의 근원질 단백에서 subunit의 위치나 소실, 새로운 출현 등 어떠한 차이도 없다고 하였다. 본 실험에서도 동면 직후를 보면 양적으로 가장 많은 30kDa와 46kDa 그리고 35kDa, 65kDa 등 수종이 소폭 증·감 경향을 보이고 있어 약간의 차이를 보이고 있으나

Table 2. Comparison of sarcoplasmic protein compositions from mudskipper muscles, as analyzed by subunit distribution on SDSgel electrophoreto grams and densitometry (area %)

Estimated molecular weight ($\times 10^3$ dalton)	Aug. ¹⁾	Nov.	Apr.
230	7.94	7.98	7.76
170	3.73	3.49	3.54
110	7.46	7.32	7.55
81	8.08	7.90	7.78
70	3.44	3.16	3.66
65	5.24	5.43	4.08
53	4.57	4.68	5.26
46	6.51	6.71	7.44
35	21.53	21.81	20.15
30	16.06	15.47	16.30
21	4.91	5.42	5.69
20	3.95	3.90	4.41
17	3.36	3.77	3.23
15	3.22	2.96	3.15

¹⁾ Refer to the footnote in Table 1 of symbol.

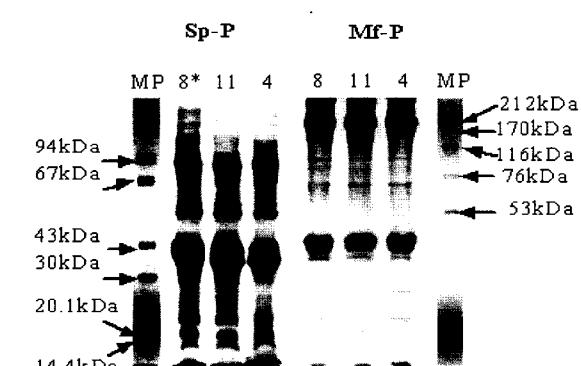


Fig. 1. SDS-PAGE patterns of sarcoplasmic protein and myofibrillar protein in mudskipper muscles (7.5% gel).

*: Month

Abbreviations used: Sp-P, Sarcoplasmic protein; Mf-P, Myofibrillar protein; MP, Marker protein.

월동 전·후 기타 대부분의 subunit조성비는 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 7.5% gel을 통한 이 결과는飢餓나 산란시 어류는 에너지원으로 지방산을 선택적으로 이용하는 특성^{27,28)}이 있고 또, Table 5에서 동면직후 유리아미노산 함량이 대폭 늘어난 것으로 되어 있어 이를 감안하면 동면기간 근원질 구성 단백의 부분적 분해와 관련이 있을 것으로 추정되는데 특히 겨울철을 생식선 성숙을 위한 영양소 요구가 많아서 육성분이 소모되는 시기²⁹⁾로 전제하면 이에대해 상세한 검토도 필요 할 것으로 생각되었다.

3. 근원섬유 단백질 조성

짱뚱어육의 근원섬유 단백질의 조성을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 매시기별로 총 13종의 subunit가 검출되었으며 문자량 크기 역시 변동이 없는 것으로 나

Table 3. Comparison of myofibrillar protein compositions from mudskipper muscles, as analyzed by subunit distribution on SDSgel electrophoreto grams and densitometry (area %)

Estimated molecular weight ($\times 10^3$ dalton)	Aug. ¹⁾	Nov.	Apr.
210	25.31	25.40	28.63
168	8.52	8.83	8.59
121	2.96	3.04	2.91
102	2.43	2.36	2.16
68	2.61	2.51	3.56
43	27.85	27.96	25.03
37	5.81	6.06	5.20
32	3.12	3.04	2.35
28	6.33	6.41	7.47
23	4.97	5.24	4.76
21	2.88	2.52	3.13
17.5	4.51	3.80	3.69
16	2.70	2.83	2.52

¹⁾ Refer to the footnote in Table 1 of symbol.

타났다. 金 등²⁵⁾은 방어의 보통육과 혈합육에서 각각 17개와 16개의 subunit를, 崔 등³⁰⁾은 천연산과 양식산 벤장어육에서 14개와 15개의 subunit를, 南³¹⁾은 7.5%와

10% gel을 이용 1년생과 3년생 이스라엘 잉어육에서 총 23개의 subunit를 분리하고 나이에 따른 조성차는 거의 없다고 하였는데 근원섬유 단백 조성도 어종이나 부위 등에 따른 차이가 상당할 것으로 생각되었다. Table 3의 subunit를 동정된 문헌자료와 비교하면 210kDa는 myosin heavy chain³²⁾, 43kDa는 actin³³⁾, 37 kDa는 tropomyosin³⁴⁾, 32kDa는 troponin-T²⁵⁾, 28kDa는 myosin light chain-1³⁵⁾, 21kDa는 troponin-I³⁴⁾, 17.5kDa는 myosin light chain-2²⁵⁾, 16kDa는 myosin light chain-3³³⁾로 추정할 수 있었다. 이에 따르면 actin과 myosin heavy chain이 가장 많아 전체의 25.03~27.96%와 25.31~28.63%를 차지하였고 다음은 미지 band인 168 kDa(8.52~8.83%), myosin light chain-I (6.33~7.47%), tropomyosin(5.20~6.06%)순으로 이들 5종이 전체의 75 %를, myosin은 40% 정도를 차지하여 주를 이루었다. 한편 이들 조성을 각 시기별로 비교해 보면 동면 직전 까지는 대부분이 거의 차이가 없으나 동면 직후인 4월은 myosin heavy chain과 actin 농도가 서로 반대로 각 3% 가까이 늘고 줄어들어 비교적 뚜렷한 차이를 나타내었고 이밖에 68kDa와 myosin light chain-1 및 troponin-1 등도 소폭 늘어난 반면 tropomyosin과 troponin-T 등은 소폭 줄어들어 대조를 이루었다. 이러한 경향이 단백질의 분해 등에 따른 결과인지 분명치 않으나 근원섬유 단백이 ATP를 가수분해함으로 균수축 또는 이완을 제어하는³⁶⁾ 구조단백질로서 특히 동면기간 짱뚱어의 서식공을 조사한 결과 Ryu⁷⁾는 온도가 2°C로 어체온도의 급감을 시사하였고 김 등⁸⁾은 동면 직전보다 동면 직후 ATP 조성이 크게 늘어난 것으로 보고하고 있어 이를 감안하면 월동 5~6개월 중 상당기간 지속되었을 것으로 예상되는 균수축과 관련이 있을 것으로 생각되었다. Kim 등³⁷⁾은 ATPase 활성이 계절적으로 차이가 있다고 하였고 Johnstone 등³⁸⁾도 동일 어종도 환경 순화시 생리적 또는 근육의 생화학적 특성이 변하여 다르다고 하였으며 Hwang 등³⁹⁾은 구성단백의 구조 변화를 시사한 바 있는데 이러한 측면에서 볼 때 동면기간 조성상 ATPase 활성이 관계하는 myosin 조성의 증가 추세는 수축인자인 actin과 myosin 전구체인 tropomyosin과의 결합에 따른 결과로, 그리고 Table 5에서 예상되는 creatine-phosphate생성 등은 actomyosin의 생성을 위한 ATP의 보급과 상호 밀접한 관련이 있을 것으로 추정되었다.

4. 단백질 구성 아미노산 및 유리 아미노산조성

짱뚱어육에 대한 매시기별 단백질 구성아미노산과 유리아미노산 조성을 분석한 결과는 각각 Table 4 및

Table 5와 같다. 먼저 Table 4에서 질소 16g에 대한 아미노산 양을 보면 구성아미노산의 양적 비율과 개별 조성이 시기별로 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.³¹⁾ 이스라엘 잉어의 1년생과 3년생간의 단백질 구성아미노산양이 비슷하였고 년령별 차이가 거의 없다고 했는데 동면기간 일부 육단백질 구성 subunit의 조성차에도 이상의 결과를 보인것은 동기간 단백질 조성의 변화가 극히 미미함을 보여주는 것으로 생각되었다. 주요 구성아미노산은 glutamic acid, aspartic

Table 4. Comparison of amino acid compositions of proteins free from fat and non-proteinous N-compounds in mudskipper muscles from maturity, pre- and post hibernation period

Amino acids	(g-A · A/16g of N)		
	Aug. ¹⁾	Nov.	Apr.
Essential amino acid			
Ileu	5.27	5.06	5.29
Leu	8.55	8.49	8.73
Lys	10.11	9.74	9.52
Aromatic amino acid			
Phe	4.88	4.81	4.43
Tyr	3.39	3.49	3.82
Sulfur-containing amino acid			
Cys	1.35	1.22	1.48
Met	3.05	2.97	3.22
Thr	4.61	4.94	4.67
Trp	1.04	0.94	0.98
Val	5.16	5.27	5.45
Non-essential amino acid			
Arg	6.35	6.69	6.72
Gly	4.67	4.78	4.59
Asp	12.79	12.51	11.96
Ser	4.50	4.42	4.33
His	1.35	1.12	1.27
Ala	6.59	6.85	7.04
Glu	17.60	17.25	16.77
Pro	3.80	3.43	3.84
Total	105.06	103.98	104.11

¹⁾ Refer to the footnote in Table 1 of symbol.

acid, lysine, leucine 등으로 전체의 47%를 차지하였고 필수아미노산 비율은 45%로 이스라엘 잉어³¹⁾에서 조사된 결과와 매우 유사하였으나 崔 등³⁰⁾의 보고에서

뱀장어 육단백중 lysine, glycine, aspartic acid, glutamic acid가 전체의 45%를, 봉어와 가물치¹⁷⁾에서는 glutamic acid, lysine, aspartic acid, arginine등이 전체의 46%를 나타내고 있어 어육단백질 아미노산 조성도 어종이나 부위, 서식 조건 등에 따라 다른 것으로 파악되었다. 다음으로 Table 5의 유리아미노산 조성을 보면 총량이 8월 241.30mg%에서 11월은 308.54mg%, 4월은 411.27 mg%로 대폭 늘어나 시기별로 현저한 차이를 보이고 있는데 이와 같이 유리아미노산 함량은 어종뿐만 아니라 동일 어종도 년령이나 계절, 생리적 상태, 서식환경 등에 따라 상당한 영향을 받고 있음을 알 수 있었다.^{1,29)} 개별 조성을 보면 동면중 거의 모든 함량이 늘어나는 경향으로 특히 arginine 함량이 성숙기 8월보다 동면초 11월이 2배 이상 늘었고 동면 직후 4월은 38.49 mg%로 11월보다 2배 이상, 8월보다는 무려 4배 이상 늘어난 점이었다. 또 전기간에 걸쳐 glycine이 전체의 40% 이상을 차지하여 다른 어육에 비해 두드러지게 많은 점이 특징적이었고 다음으로 alanine이 15% 수준으로 이들 2종이 전체의 절반 이상을 차지하였다. 이 결과는 Iwata⁶⁾가 조사한 20% 수준의 함수에서 서식한 짱뚱어의 육과 표피 및 간조직에서 본 실험에서 분석되지 않은 taurine이 36~60%를 차지하여 지배적이었고 다음은 glycine, alanine 등이 많았다는 보고와 일치된 결과로 판단되었다. 시기별로 비교할 때 유리아미노산 총량의 증가는 glycine 때문으로 11월은 1.4배가 늘고 동면 직후인 4월은 성숙기보다 2배가 많은 181.04 mg%로 모든 아미노산중 양적 증가가 가장 현저하였으며 그밖에 alanine과 glutamic acid, serine, aspartic acid, valine 및 lysine, histidine 등 대부분 함량도 유의적인 증가 경향을 나타내었다. 일반적으로 연골어는 근육, 심장, 간장 등에 arginase가 풍부하여 ornithine을 요소로 전환하지만 경골어는 그 기능이 약하고 더우기 암모니아 배설형이기에 이 작용이 극히 미미한 것으로 밝혀져 있으나¹⁾ Gregory⁴⁾는 경골어 짱뚱어의 간 추출물에서 arginase와 ornithine carbamoyltransferase 효소의 높은 활성을 확인하였고 Morii 등⁵⁾도 夏眠을 취하는 아프리카산 담수어 일종인 肺魚(*Protopterus annectens* 와 *P. aethiopicus*)와 같이 짱뚱어도 ornithine 요소 cycle이 관계 됨을 밝힌 바 있다. 이들 결과를 비추어 볼 때 8월은 질소대사에 따른 유독성 암모니아를 주로 아가미나 구강점액, 표피 등을 통해 수중에 직접 배설하다가 동면을 위해 땅속에 들어간 11월은 수량 부족으로 인한 무독화를 위해 간조직에서 요소전환 cycle을 병행, 이 때 생성된 arginine이 육조직등에 분산 분포되어 그 함량이 늘어난 것으로 판단되었다. 한편 Iwata⁶⁾는

Table 5. Comparison of free amino acid compositions in mudskipper muscles from maturity, pre- and post hibernation period
(mg/100g muscles)

Amino acids	Aug. ¹⁾	Nov.	Apr.
Asp	2.29 ± 0.06*(0.8)	2.81 ^a ± 0.15(0.9) ²⁾	3.61 ^b ± 0.10(0.9)
Thr	20.51 ± 0.69 (8.5)	20.12 ± 0.34(6.5)	18.73 ± 1.82(4.5)
Ser	10.17 ± 0.92 (4.7)	14.14 ^a ± 1.66(4.6)	20.38 ^b ± 0.91(5.0)
Glu	6.99 ± 0.42 (3.2)	14.23 ^a ± 1.04(4.6)	19.04 ^b ± 0.84(4.6)
Pro	5.05 ± 3.38 (2.1)	4.51 ± 1.94(1.5)	4.96 ± 1.16(1.2)
Gly	92.53 ± 2.81 (38.3)	127.79 ^a ± 2.36(41.4)	181.04 ^b ± 4.2(44.0)
Ala	35.59 ± 2.59 (15.9)	44.92 ^a ± 1.28(14.6)	51.85 ^b ± 1.21(12.6)
Cys	0.41 ± 0.09 (0.2)	0.18 ± 0.15(0.1)	0.27 ± 0.18(0.1)
Val	1.91 ± 0.52 (1.6)	3.21 ^a ± 0.12(1.0)	5.05 ^b ± 0.42(1.2)
Met	5.23 ± 1.53 (2.2)	6.71 ± 0.84(2.2)	6.45 ± 0.27(1.6)
Ileu	3.01 ^a ± 0.92 (1.2)	2.63 ^{ab} ± 0.36(0.9)	1.14 ^b ± 1.06(0.3)
Leu	2.84 ^a ± 0.36 (1.1)	2.02 ^{ab} ± 0.64(0.6)	1.39 ^b ± 0.74(0.3)
Tyr	1.97 ± 0.33 (0.8)	2.24 ± 0.24(0.7)	2.85 ± 0.95(0.7)
Phe	2.06 ± 0.19 (0.9)	2.51 ± 0.48(0.8)	1.97 ± 0.19(0.5)
His	9.68 ± 0.95 (4.0)	13.74 ^a ± 0.81(4.5)	18.72 ^b ± 0.49(4.5)
Lys	26.44 ± 1.03 (10.8)	29.77 ^a ± 1.04(9.6)	35.33 ^b ± 1.43(8.6)
Arg	8.88 ± 0.46 (3.7)	17.01 ^a ± 1.18(5.5)	38.49 ^b ± 3.06(9.4)
Total	241.30(100)	308.54(100)	411.27(100)

* Values are average±standard deviation; n=6.

^{a-b} Significantly different from columns(p<0.05).

¹⁾ Refer to the footnote in Table 1 of symbol.

²⁾ Numericals in parentheses represent percentage distribution to total free amino acid in the muscles.

짱뚱어가 공기 노출시 근육 등 각 조직에 다양한 암모니아를 축적할 수 있는 어류로 특히 48시간 공기 노출 결과 뇌조직중 glutamic dehydrogenase와 glutamine synthetase 수준이 수중 호흡중인 망둥어보다 각 10배, 2배가 높아졌고 근육 등 전 조직에 lysine등 일부 필수아미노산을 비롯하여 glutamate, glutamine, alanine, glycine, serine등 주로 비필수아미노산 함량의 증가가 혈저했다고 하였다. 이것은 본 실험과 매우 유사한 결과로서 동면기간 탈수에 의한 스트레스가 암모니아 적체에 따른 아미노산 합성기능을 자극함으로 육세포에서 이를 부분적으로 아미노산으로 전환한 결과 다양한 유리아미노산이 축적되어진 것으로 추측된다⁶⁾. 이와 같은 측면에서 볼 때 짱뚱어는 아미노산의 다양한 합성기능을 가진 매우 특이한 어류로 생각되며 따라서 동면기간 유리아미노산 함량증가가 육단백질의 부분적 분해 또는 폐질소에 의한 합성과 어느 정도

관련이 있는지 상세한 검토가 필요하겠으나 arginine과 glycine이 어체내 근육 활동의 중요 에너지원인 creatine phosphate와 phosphoarginine 및 phosphoglyco-cyamine 등 phosphagen류의 생성원인 물질로 밝혀져 있어^{1,29)} 동면기 5~6개월의 절식기간중 생체에너지 대사에 관련된 중요물질일 것으로 추측되었다.

요약

동면어 짱뚱어에 대해 월동전·후(성숙기: 8월, 동면직전: 11월, 동면직후: 4월) 육단백질과 유리아미노산 조성 등을 각 시기별로 비교, 검토하였다. 조단백질 함량은 8월 17.8%, 11월 17.5%, 4월 16.9%였고 근원질 단백질은 육단백질 전체의 19.2~20.4%, 근원섬유단백질은 58.8~61.3%, 세포내 잔사단백질과 기질단백질은 각각 11.2~13.2%와 7.5~8.3%를 차지하였다. 단백

질 조성을 시기별로 비교한 결과 11월까지는 거의 차이가 없으나 4월은 기질단백질을 제외한 근원질과 근원섬유단백질 2종이 소량 줄었고 조성비로 근원질단백의 감소가 조금 더 큰 것으로 파악되었다. 근원질단백 구성 subunit는 총 14종이 검출되었고 구성 subunit 중 30kDa와 46kDa 등의 조성이 11월보다 4월에 소폭 증가하였고 35kDa, 65kDa 등은 소폭 감소하였으나 기타 대부분은 거의 차이가 없었다. 근원섬유단백질은 총 13개의 subunit가 검출되었고 대부분의 subunit 조성이 11월까지는 거의 비슷하였으나 4월은 동면전보다 myosin heavy chain 조성이 3% 정도 늘어난 반면 actin은 3%정도 줄어들었다. 단백질 구성 아미노산 조성은 전기간에 걸쳐 일정하였고 주요 유리아미노산은 glycine과 alanine이었으며 두드러진 특징은 arginine 함량이 8월보다 11월이 2배, 4월은 4배 이상 늘었고 glycine도 8월보다 4월이 2배 함량으로 모든 아미노산 중 양적 증가가 가장 현저하였다. 기타 alanine, glutamic acid, serine 및 aspartic acid와 valine 등도 동면기간 상당폭으로 증가하였고 lysine, histidine 등의 필수아미노산 함량도 유의적으로 증가하였다.

감사의 글

본 연구는 호원대학교 교내 연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

- 土屋靖彦: 水產化學, 水產學全集17, 恒星社厚生閣, 東京. p.3~18, 87~132 (1965)
- 鄭文基: 韓國魚圖譜, 一志社, p.495~497 (1986)
- 小野原隆幸: ムツゴロウの生態1, 漁業生產, 分布および成長について, 佐賀懸有明水試報7, p.123~150 (1980)
- Gregory, R.B. : Synthesis and total excretion of waste nitrogen by fish of the *periophthalmus* (mudskipper) and scartelaos families, *Comp. Biochem. Physiol.*, Pergamon Press. Printed in Great Britain. 57A 33~36 (1977)
- Morii, H., Nishikata, K. and Tamura, O. : Nitrogen excretion of mudskipper fish *Periophthalmus cantonensis* and *Boleophthalmus pectinirostris* in water and on land, *Comp. Biochem. Physiol.*, Pergamon Press Ltd. printed in Great Britain. 60A, 189~193(1978)
- Iwata, K. : Nitrogen metabolism in the mudskipper, *Periophthalmus cantonensis* : Change in free amino acids and related compounds in various tissues under conditions of ammonia loading, with special reference to its high ammonia tolerance, *Comp. Biochem. Physiol.*, Printed in Great Britain. 91A3, 499~508(1988)
- Ryu, B.S. : Taxonomy and ecology of mudskippers, the subfamily *Gobionelliae*(Pisces, Gobiidae) from Korea, Ph. D. Thesis, Chonbuk Natl. Univ.(1991)
- 김명곤, 백승화, 최선남, 김종배, 박일용 : 동면중 짱뚱어筋肉油의 지방질과 중성 및 인지질 조성의 변화, 한국농화학회지, 41(7), 533~538(1998)
- Misra, S., Dutta, A.K., Dhar, T., Ghosh, A., Choudhury, A and Dutta, J. : Fatty acids of the mudskipper, *B. boddaerti*. *J. Sci. Food Agric.*, 34, 1413~1418(1983)
- Ip, K.Y., Chew, S.F and Tang, P.C.: Evaporation and the turning behavior of the mudskipper, *B. boddaerti*. *Zool. Sci.*, 8, 621~623(1991)
- 정의영, 안철민, 이택렬: 짱뚱어, *B. pectinirostris* (Linnaeus)의 성성숙, 한국수산학회지, 24(3), 167~176(1991)
- 卞在亨, 崔暎準, 金正翰, 趙權玉 : 보리새우肉의 부분凍結貯藏中蛋白質 및 아미노酸의組成變化, 韓國水產學會誌, 17(4), 280~290(1984)
- 菅原潔, 副島正美: 生物化學實驗法 7, 蛋白質の定量法, 第2版, 學會出版セソタ, 東京. p.79~82 (1979)
- Laemmli, U.K. : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680~685(1970)
- SAS Institute : SAS/ STAT User Guide, Release 6. 30 edition(1988)
- Ando, S and Hatano, M. : Biochemical characteristics of Chum Salmon muscle during spawning migration, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 52(7), 1229~1235(1986a)
- 崔鎮浩, 林采喚, 崔暎準, 金昌陸, 吳成基 : 봉어 및 가물치의蛋白質 및 아미노酸組成, 韓國水產學會誌, 19(4), 333~338(1986)
- 志水寛, 清水亘 : 水產動物肉た關する研究 -XXVIII 魚類筋肉の蛋白組成, 日本水產學會誌, 26(8), 806~809(1960)
- Yoshinaka, R., Sato, K., Sato, M and Anbe, H. : Distribution of collagen in body of several fishes, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(3), 549~554(1990)
- 鈴木たね子 : 冬季における養殖ユイの生化學的研究 IV, 筋肉たん白の變化, *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 59, 49~54(1969)
- Nakagawa, T., Watabe, S and Hashimoto, K. : Electrophoretic analysis of sarcoplasmic proteins from fish muscle on polyacrylamide gels, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(6), 993~998(1988)
- 谷口順彦 : 電氣泳動法による魚類の種分化および系群分析に關する研究, 高知大學, 水產實驗所研報, 1, 1~145(1974)
- 김태진, 윤호동, 이상민, 김경길 : 성별에 따른 넙치 근원섬유단백질의 생화학적 특성, 한국수산학회지, 30(3), 349~354(1997)
- Watabe, S., Kikuchi, K. and Aida, K. : Cold and Warm

- temperature acclimation induces specific cytosolic proteins in gold fish and carp, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 151~156(1993)
25. 金章亮, 崔暎準, 卞在亨 : 방어 普通肉과 血合肉의 蛋白質 및 아미노酸 組成의 死後變化, *韓國水產學會誌*, **15**(2), 132~136(1982)
26. Robertson, L., Love, R.M. and Cowie, W.P. : Studies on the north sea cod. V. Effects of starvation. 3. Electrophoresis of the muscle, myogens. *J. Sci. Fd. Agri.*, **18**, 563~565(1967)
27. 竹内俊郎, 渡邊武 : コイおよびニジマスの體組成および脂肪酸組成及ぼす絶食および水温の影響, *日本水産學會誌*, **48**(9), 1307~1316(1982)
28. Nakagawa, H. and Kasahara, S. : Effect of Ulva meal supplement to diet on the lipid metabolism of Red sea bream, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **52**(11), 1887~1893(1986)
29. 鴻巣章二, 橋本周久編, 卞在亨, 錢重均共譯 : 水產利用化學, 修學社, 21~56, 109~131(1994)
30. 崔鎮浩, 林菜喚, 崔暎準, 卞大錫, 金昌睦, 吳成基 : 天然 및 養殖産 뱀장어의 蛋白質 및 아미노酸 組成比較, *韓國水產學會誌*, **19**(1), 60~66(1986)
31. 南澤正 : 이스라엘 잉어의 年齡別 筋肉 蛋白質 組成의 比較, *韓國水產學會誌*, **16**(3), 190~196(1983)
32. Samejima, K. and Wolfe, F.H. : Degradation of myofibrillar protein components during postmortem aging of chicken muscle, *J. Food. Sci.*, **41**, 250~254 (1976)
33. 西田清義, 武田恭活, 新 健一 : 南極産オキアミクトシオジンの生化學的性質, *日本水產學會誌*, **47**, 1237~1244(1981)
34. 關伸夫, 令野久仁彥 : コイのトロポジオジンについて, *日本水產學會誌*, **41**, 1135~1141(1975)
35. Watabe, S., Ochiai, Y. and Hashimoto, K.: Identification of 5,5'-dithio bis nitrobenzoic acid (DTNB) and alkali light chains of piscin myosin, *Bull. Japa. Soc. Fish.*, **48**, 827~832(1982)
36. 岡本洋 : ミオシンATPase. 蛋白質核酸酵素, **32**, 142~152(1987)
37. Kim, T.J., Yoon, H.D., Hwang, G.C and Kim, S.J.: physicochemical properties of wild and cultivated flounder muscle protein, *Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency.*, **49**, 187~195(1995)
38. Johnstone, I.A., Frearson, N. and Goldspink, G. : The effects of the environmental temperature on the properties of myofibrillar adenosine triphosphate from various species of fish, *J. Biochem.*, **133**, 735~738(1973)
39. Hwang, G.C., Watabe, S and Hashimoto, K.: Changes of carp myosin ATPase induced by temperature acclimation, *J. Comp. Physiol B.*, **160**, 233~239(1990)

(2003년 9월 4일 접수)