



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시, 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리, 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지, 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

工學碩士 學位論文

Bioluminescence를 이용한
싱싱회의 유통시간 판정 기술 개발

The logo of Pukyong National University is a circular emblem. It features a stylized 'P' and 'U' in the center, with the university's name in English 'PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY' around the top and in Korean '북경대학교' around the bottom. The logo is light blue and serves as a background watermark.

2008年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 承 美

工學碩士 學位論文

Bioluminescence를 이용한 싱싱회의 유통시간 판정 기술 개발

指導教授 趙 永 濟

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함.

2008年 2月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 承 美

金承美의 工學碩士 學位論文을 認准함

2008年 2月



主 審 工 學 博 士 全 炳 秀 印①

委 員 藥 學 博 士 金 榮 穆 印①

委 員 水 產 學 博 士 趙 永 濟 印①

목 차

서론	1
재료 및 방법	8
1. 원료어	8
2. 실험방법	8
2.1. 추출조건선정	8
2.1.1. ATP 추출용매 선정	8
2.1.2. ATP 추출방법 선정	9
2.1.3. ATP 추출조건 선정	10
2.2. 파괴강도(breaking strength)의 측정	10
2.2.1. 레오메타에 의한 파괴강도 측정	10
2.2.2. 휴대용경도계에 의한 파괴강도 측정	10
2.3. ATP 관련화합물(ATP related compound)의 측정	10
2.3.1. HPLC에 의한 ATP 관련화합물의 측정	10
2.3.2. 루미노메타(Lumitester)를 이용한 RLU값의 측정	12
2.4. 통계처리	12
결과 및 고찰	14
1. 싱성회의 경과시간 판정지표의 검색	14
1.1. 싱성회의 경과시간에 따른 파괴강도 및 ATP 관련물질의 변화	14
1.1.1. 넙치	14
1.1.1.1 파괴강도의 변화	14
1.1.1.2. ATP 관련물질의 변화	14
1.1.2. 농어	15
1.1.2.1 파괴강도의 변화	15

1.1.2.2. ATP 관련물질의 변화	15
1.1.3. 방어	16
1.1.3.1 파괴강도의 변화	16
1.1.3.2. ATP 관련물질의 변화	16
1.1.4. 숨어	17
1.1.4.1 파괴강도의 변화	17
1.1.4.2. ATP 관련물질의 변화	17
1.1.5. 조피볼락	18
1.1.5.1 파괴강도의 변화	18
1.1.5.2. ATP 관련물질의 변화	18
1.1.6. 참돔	18
1.1.6.1 파괴강도의 변화	18
1.1.6.2. ATP 관련물질의 변화	19
1.1.7. 홍민어	19
1.1.7.1 파괴강도의 변화	19
1.1.7.2. ATP 관련물질의 변화	20
1.2. 파괴강도와 ATP 함량과의 상관관계	28
2. 생물발광을 이용한 싱싱회 근육중의 ATP 함량 측정	33
2.1. ATP 함량 측정을 위한 최적 조건 선정	33
2.1.1. 최적의 추출용매 선정	33
2.1.2. 최적의 추출방법 선정	39
2.2. 추출방법 및 실험자간의 오차	42
2.3. 소형균질기를 이용한 어종별, 크기별에 따른 ATP 함량 측정	46
2.3.1 넙치 싱싱회	46
2.3.2 농어 싱싱회	46
2.3.3 송어 싱싱회	47
2.3.4 방어 싱싱회	48

2.3.5 조피볼락 싱싱회	49
2.3.6 참돔 싱싱회	49
2.3.7 홍민어 싱싱회	50
 3. 휴대용경도계에 의한 육질의 단단함 측정방법 확립	58
 4. 싱싱회 경과시간에 따른 RLU 값의 수치화	62
4.1. HPLC와 루미노메타에 의한 ATP 함량의 상관성 분석	62
4.2. 레오메타와 휴대용경도계에 의한 파괴강도 결과의 상관성 분석	65
4.3. 싱싱회 경과시간에 따른 어종별 RLU 값의 수치화	67
 결론	70
 참고문헌	72



The Technology to Evaluate the Circulation Time of 'Shingshinghoe' using Bioluminescence.

Seung-mi Kim

*Department of Food Science and Technology, Graduate
School, Pukyong National University*

Abstract

Bioluminescence techniques based on the detection of light generated enzyme mediated reaction represent some of the fastest assays currently available for the detection of microbial contaminants.

bioluminescence have been developed for the enumeration of ATP on raw fish.

"A study into the technical development of an establishment's food safety system in order to promote the demand for fish using materials for sliced raw fish" was conducted by the Ministry of Maritime Affairs and Fisheries on 7 types of fish that are popular throughout Korea, including the olive flounder, black rockfish, red seabream, yellowtail, and seabass. The study determined that their freshness and chewy texture expired in 10 hours. Accordingly, they proposed guidelines for the gutting, processing, packaging, and transporting of fish.

The raw fish industry's mission was to promote the demand for fish by using materials for sliced raw fish, and also to contribute to the livelihoods of fishermen and people's health in the process. In particular, we were able to prevent *Vibrio* septicemia and food

poisoning, and provided our customers with reliable and safe fish at a cheap price.

Thus, the objectives of this study are is to gain the trust of consumers, promote demand for raw fish, and contribute to the revitalization of maritime industries by developing an easy, on-the-spot method for evaluating the expiration status of fish.

To develop an index for evaluating the freshness of fish, we studied the changes in ATP related materials throughout the progression of time using a lumitester and HPLC, and we also used a Rheometer and portable hardness tester to measure the changes in meat texture. In order to make this index useful in the field, we established a method for using lumitesters for measuring ATP levels, and a portable hardness tester for measuring the level of destruction. We also selected an optimal solvent for measuring ATP levels with a lumitester, and we established a quick and accurate way to sample products in the field. Using our selected solvent and sampling methods, we produced shinshinghoe for each type of fish and studied how their ATP levels changed as time progressed.

As a result, ATP was extracted on the 0.5 M phosphate buffer(pH 6.8) and assayed using bioluminescence of the luciferase enzyme. In order to measure changes in the texture of the fish according to their type, size, storage temperature, and storage time a rheometer and portable hardness tester were used.

서론

우리 국민들의 수산물에 대한 소비량은 1999년 이후 연평균 0.3 % 증가하여 거의 변동이 없는 육류 소비량에 비해 약 20 % 늘고 있다(해양수산부 「어업 생산통계조사」, 한국농촌경제연구원 「식품수급표」, 2007). 이는 IMP(국제통화기금, International Monetary Fund)의 외환위기를 극복하여 소득향상 등으로 사회 전반에 대한 관심이 늘어났고, 육류에 대한 조류 인플레인자(AI : avian influenza), 광우병(BSE : Bovine Spongiform Encephalopathy) 등 육류 파동으로 육류의 안전성 문제가 발생하여 소비자들은 육류를 대체 할 수 있는 식품으로 수산물을 선호하였으므로 수산물의 소비량이 높아졌기 때문이다. 또한, 건강에 대한 관심이 높아져 기능성 성분을 많이 함유한 수산물과 채식의 선호로 웰빙 열풍이 불고 있는 이유이기도 하다. 그러나, 늘어나는 수산물의 소비량에 비해 국내 수산물의 생산량인 수산물 자급률은 매년 조금씩 감소하는 경향으로 정부에서는 수산물 수급 조절과 가격 안정을 위해 수입 수산물의 양을 늘리고 양식 어가에 지원을 통해 양식 산업의 활성화를 도모하고 있으므로 점차 양식 수산물의 생산량은 늘고 있다. 이처럼 늘어가는 양식 수산물의 소비를 위해 정부에서는 양식산 활어를 사용한 저렴하고 안전한 싱싱회 사업을 도입하였다.

싱싱회(Shingshinghoe)란 양식 어류의 소비 촉진을 위하여 양식 활어(活魚)를 바로 잡아 저온숙성하여 미각을 향상시켜 만든 선어회(鮮魚膾) 형태로 쫄깃한 식감과 감칠맛인 미각이 향상되어 선어회와 활어회의 특성을 모두 가진 맛 있는 생선회이다. 또한, 양식산 활어를 바로 잡아 혈액, 껍질, 뼈와 내장 등을 제거한 뒤, 위생적으로 처리하여 저온(0~5℃) 상태에서 보관, 유통시키므로 식중독 및 비브리오 패혈증을 예방하여 안전하게 저렴한 가격으로 보급하고 있다(해양수산부, 2007). 그러나 싱싱회는 유통 시간이 길어지면 육질이 퍼석해져서 씹힘성이 떨어져 상품적인 가치를 잃게 되고, 이런 제품을 먹어본 사람은 싱

싱싱회에 대한 잘못된 편견을 가지게 되어, 쫄깃한 식감이 유지되는 유통시간이 보통 10시간 기준으로 짧아 싱싱회 사업에 문제점을 제시하고 있다. 따라서 싱싱회의 썩힘성이 유지되는 시간인 생명시간내에 소비자들이 먹을 수 있도록 하는 유통시스템의 확립이 무엇보다 중요하며, 싱싱회의 올바른 유통을 위해 싱싱회 생명시간을 판정하는 지표물질이 선정되어야 한다.

ATP(adenosine triphosphate)는 모든 생물에 공급하는 에너지원으로 이용되는 화학물질로 살아있는 생물에는 반드시 존재하고, 세포가 사멸하면 신속히 효소반응을 받아 소실되어지므로, ATP로 생물의 존재 여부를 확인 할 수 있는 지표가 된다. ATP의 함량을 측정하는 방법은 다양하며, 어육의 ATP 관련물질의 분해를 측정하기 위한 다른 방법이 제시되었다(Kennish and Kramer, 1987). 종전의 방법은 어육내에 존재하는 nucleoside와 염기로부터 nucleotide를 분리하기 위해 barium염을 분획하여 추출하였으며, 가장 최근의 추출방법은 perchloric acid(PCA)를 이용하는 방법이나 trichloroacetic acid (TCA)와 acetonitrile 기술이 이용되고 있다. Chunyan et al.,(1995)는 paper chromatography(PC)를 이용하여 IMP를 확인하였고, Saito et al. (1959)의 전통적인 방법인 Ion exchange chromatography를 이용하였으나 최근에는 High performance liquid chromatography(HPLC) 방법으로 대체되고 있으며, Gill(1992)은 C18 역상칼럼을 이용하여 15분 이내에 단백질이 제거된 어육 추출물에서 IMP, inosine, hypoxanthine을 분석하였다. 기타 capillary electrophoresis (Nguyen et al., 1990), phosphorus-nuclear magnetic resonance (Chiba et al., 1991) 등이 이용되어 ATP 관련물질을 분석하여 어육의 신선함을 측정하고자 하였다. 그리고 Tapani(1997)는 North American firefly의 일종인 *Photinus pyralis* 발견된 luciferase라는 효소를 이용하여 어육 내의 ATP 함량을 측정하는 방법이 제시되었으나, 선도측정을 위한 ATP 함량 측정은 ATP가 치사 후 급격히 감소하기 때문에 적절하지 못하다고 밝히고 있다. 그러나 치사 후 일정 시간마다 ATP 함량을 수치적으로 기준을 잡는다면 싱싱회의 신선도를 측정하는 대안으로 유통시간 판정에서는 필수적이라 볼 수 있다. 일반적으로, 생물발광 반응을 이용한 미생물 내에 존재

하는 ATP 함량을 정량분석하여 미생물을 간접적으로 신속히 측정하는 방법으로 식품의 경우 Sharp 등(1970)은 여러가지 식품제조시 생산품의 오염과 손실 및 품질을 관리하는 방법으로 이용 가능성을 제시하였다.

생물발광(Bioluminescence)은 반딧불이(firefly), 해파리 등의 발광동물이 화학적 작용을 거쳐 빛을 내는 현상을 말하며, 발광물질인 luciferin과 luciferase 발광효소에 의해 산화되면서 빛을 내는 효소에 의해 매개되는 반응이다. 효소 반응에 의해 생성되는 빛의 검출을 근간으로 하는 발광 기술은 미생물 오염 검출을 위한 가장 빠른 평가로 현재 음식산업안에서 광범위하게 사용되고 있는 신속기술 중 하나이며, ATP 효소 반응에 의해 ATP가 분해되어 빛을 내는 것이므로, 어육을 파괴하여 근육 조직에 들어있는 ATP 성분들을 분해할 때 luciferase 반응에 의해 나타나는 빛을 측정하여 어육의 ATP 함량을 간접적으로 측정할 수 있다.

생물발광을 이용하는 분석의 기본 원리는 세포생존(cell viability) 유지에 필수적인 요소인 ATP를 측정하는 것이며, 생물발광에서의 빛의 양은 미생물 내부에 존재하는 ATP의 양에 비례하고, 살아있는 미생물은 일정한 양의 ATP를 가지고 있다. 이는 살아있는 세포내에 ATP 수치가 환경적 요소에 의해 매우 다양할 수 있지만 세포내를 채우는 ATP는 보통 일정하게 유지된다. 또한, ATP는 건강한 세포에서는 정확하게 조절되지만, 세포의 죽음과 동시에 급격한 분해가 일어나므로 생물발광에 관련된 luciferase라는 효소를 이용하여 ATP를 측정할 수 있다. Luciferase는 ATP와 특이적인 기질인 D-luciferin과 반응하여 oxyluciferin으로 산화시킨 뒤 빛을 방출시킨다. 발광물질인 D-luciferin이 ATP와 결합하여 D-luciferin-ATP의 복합물을 형성하여 무기인산 H_3PO_4 두 분자를 생성한다. 이 때 D-luciferin은 환원형이 되고 다시 산소와 반응하여 불안정한 에너지 상태에 있게 된다. 따라서 불안정한 상태의 산화산물이 곧 분해되어 oxyluciferin과 AMP를 생성하면서 빛(light)을 낸다(Fig. 1). 이때, 정점의 빛 생산은 한 광자에서 ATP 분자가 소비될때마다 발생하고 Firefly luciferase에서는 400~600 nm로 매우 넓은 스펙트럼의 방출 파장을 만들어 내는데, 보통 540 nm에서 정점을 이루게 된다. 이런 발광기구는

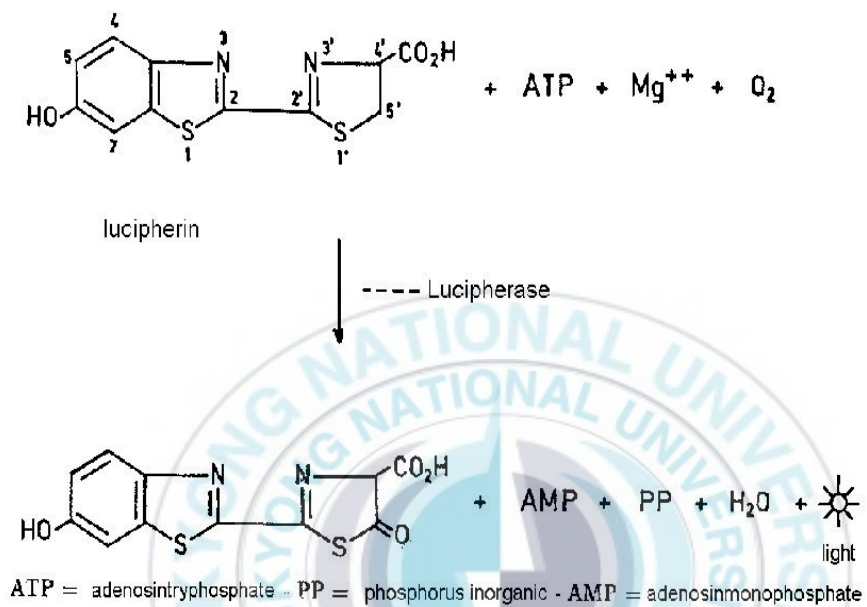
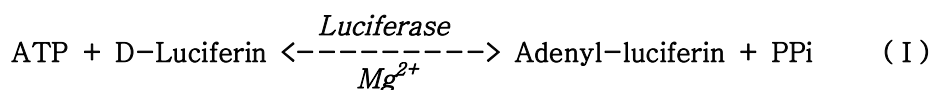


Fig. 1. Structure of bioluminescence reaction catalyzed by luciferase.

북아메리카 반디인 *Photinus Pyralis*의 firefly luciferase, 바다의 갑각류 생물인 *renilla reniformis*의 *renilla luciferase*, 바닷물 벼룩인 *Gausia princeps*의 *renilla luciferase*, *Aequorea victoria*라는 해파리 등에서도 연구되고 있으며, 보통은 firefly에서 많이 연구되었으며, 아래 (I),(II)의 원리를 통해 측정 되어진다(Contag *et al.*, 1997; Bhaumik, S. and Gambhir, S. S., 2002; Bhaumik *et al.*, 2004; Hoffman, R. M., 2004; Tannous *et al.*, 2005).



생물발광은 D-luciferin, ATP, luciferase 및 산소의 존재 하에서 일어나며. ATP가 반드시 필요한 반응이기 때문에 Kinase의 활성을 평가하는데, 이 반응을 이용하기도 한다. 이 밖에도 2가 양이온 중에서 Mg^{2+} , Mn^{2+} , CO^{2+} 등이 있어야 한다는 것도 알려져 있다. Luciferin과 luciferase가 과량으로 존재할 경우 생성되는 빛의 양은 ATP의 양에 직접적으로 비례한다. Fig. 2는 ATP의 농도에 따른 빛의 양의 관계를 나타낸 것으로써 ATP standard를 이용하여 농도에 따라 빛의 양이 안정적으로 비례하는 관계를 볼 수 있다. 그리고 ATP가 생물학적 물질로 세포내외에 고루 분포하고 있으며, 건물기준으로 ATP 함량이 세균의 세포내 2~10 nmol/mg dwt 함량으로 존재하여 세균마다 차이는 있으나 그 차이는 미미하다. 그러므로 ATP 함량의 추출과 분석을 통하여 세균학적 생물량의 간접적인 정량을 위한 luciferin-luciferase 방법이 사용되어 해수, 임상표본들, 우유, 활성 슬러지 등의 세균 함량을 측정하는데 응용되어 왔다. 그리고 Robert and Osmund(1967)는 해양세균의 ATP 함량은 $0.5 \sim 6.5 \times 10^{-9} \mu\text{g}/\text{cell}$ 이라고 보고한 것과 같이, 세균내의 ATP 함량은 극미량으로 이들 함량이 루미노메타(lumitester)를 이용하여 간접적으로 어육

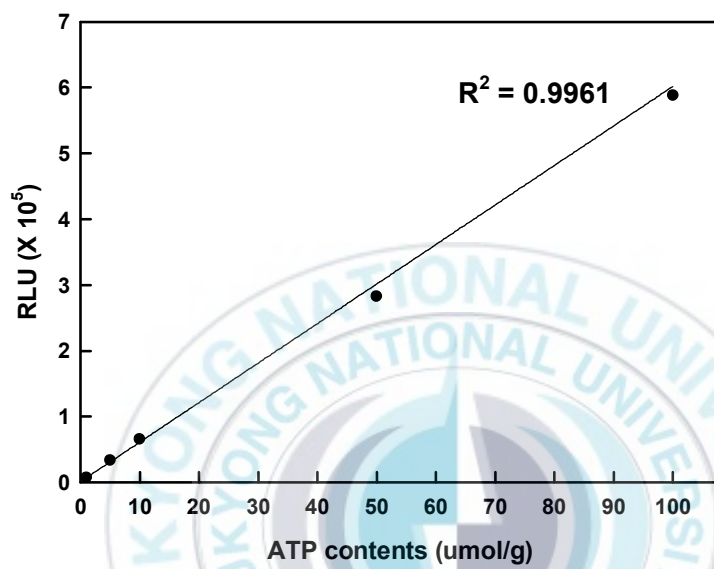


Fig. 2. Standard curve of the ATP concentration to determine with luciferin–luciferase method.

내의 ATP 함량 측정에 미치는 영향은 매우 적다. 이 방법은 기존의 HPLC를 이용하여 분석하고 있는 방법에서의 고가의 장비를 사용하여 어육의 근육에서 ATP를 추출하여 분석하는 시간이 긴 단점을 보완하여 신속, 정확한 결과를 기대 할 수 있다. 그러나 현재 이용되고 있는 생물발광을 이용한 루미노메타의 분석 형태는 미생물의 오염도를 확인하는 방법에 주로 이용되고 있으며, 식품업에서는 HACCP 관리 방안으로 실시간 위생상태의 모니터링을 위해 ATP를 이용한 위생관리 방안으로 위생업체에서 생물발광을 이용한 분석을 통해 수치로써 오염을 평가하고 있다. 오염도 측정에서는 일반 생리식염수에 균을 묻혀 측정하였으나 생리식염수로 어육중의 ATP를 추출하는 것은 불가능하므로 어육 중의 ATP를 추출하는 적합한 추출용매를 선정하고, 선정된 용매를 이용하여 최적의 ATP 추출방법을 확립하여 루미노메타로 빛의 수치를 신속히 측정하는 방법인 luciferase assay kit를 이용한 방법으로 싱싱회 경과시간을 측정하였다. 또한, 싱싱회의 유통시간 판정지표로 어육 에서의 식감에 직접 관계되는 근육의 단단함(Toughness)을 측정하기 위한 방법으로 레오메타와, 휴대용경도계를 가지고 파괴강도의 상관관계를 확인하여 현장에서 판정 지표로써의 이용 가능성을 확인하였다.

본 연구는 현재 유통되고 있는 싱싱회 유통의 올바른 진단을 위한 자료로 어육에 존재하는 ATP의 함량의 정도를 생물발광의 원리를 이용하여 측정하여 유통시간에 따른 어종별 ATP 함량의 범위를 제시하였다.

재료 및 방법

1. 원료어

본 연구에 사용된 어종은 넙치(Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*), 조피볼락(Black rockfish, *Sebastes schlegelii*), 숭어(Common grey mullet, *Mugil cephalus*) 참돔(Red seabream, *Pagrus major*), 농어(Sea bass, *Lateolabrax japonicus*) 및 홍민어(Red drum, *Sciaenops ocellatus*) 등 양식산 6종과 동해에서 어획된 자연산 방어(Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*) 1종인 총 7종의 어종을 부산시 민락동 소재의 계류장인 청수활어에서 활어 상태로 구입하여 실험실로 운반하여 원료어로 사용하였으며, 운반된 활어는 30분~1시간 정도의 순치시간을 가진 후 즉살시키고 비가식 부분인 내장, 표피 및 뼈를 제거한 후, 가식부를 이용하여 싱싱회로 제조하여 빙장하며 실험 재료로 사용하였다. 실험 형태는 싱싱회로 적합한 어종별 크기에 따른 data base를 확립하는 것으로 넙치 600 g, 800 g, 1 kg, 1.2 kg, 농어 800 g, 1 kg, 1.2 kg, 방어 600 g, 800 g, 1 kg, 숭어 400 g, 600 g, 800 g, 1 kg, 참돔 800 g, 1 kg, 1.2 kg, 조피볼락 400 g, 600 g, 800 g, 1 kg, 그리고 홍민어 1.6 kg, 2.5 kg을 기준으로, 전어종의 크기별 오차범위 $\pm 30\sim 50$ g 이내로 구입하였다.

2. 실험방법

2.1. 추출조건 선정

2.1.1. ATP 추출용매 선정

어육의 근육에 존재하는 ATP를 추출하기 위해 PCA(Perchloric acid), TCA(Trichloroacetic acid), 증류수, Phosphate buffer, Glycine buffer, Tris-HCL buffer, Tris-Malate buffer, Tricine, Citrate buffer 및 Borate buffer 등 총 10종의 버퍼를 사용하여 0.1 M, 0.3 M, 0.5 M, 1.0 M의 농도로

제조 후 각각 pH 6.0, 6.5, 6.8, 7.0로 조정하여 제조하고, 제조된 각각의 버퍼에 Sigma사에서 구입한 ATP 표준물질(standard)을 녹여 RLU 값을 측정하였다. ATP 표준물질이 혼합된 추출용매 0.5 mL를 취해 Kit(LuciPack W, Swab test, Kikkoman, Japan)에 주입하여 Kit안의 발광물질 혼합물과 혼합하여 루미노메타(PD-10, Kikkoman, Japan)로 발광수치인 RLU(relative light unit) 값을 측정하였다. ATP 표준물질을 녹여 제조된 추출용매의 RLU 값이 비교적 안정적인 추출용매들을 선정하여, 넙치육에 선정된 버퍼를 취해 ATP 추출실험을 하였다. 추출방법은 근육중의 ATP를 추출하기 위해 넙치육 0.5 g, 추출용매 10 mL를 취해 소형균질기(NISSEI ACE Homogenizer, AM-2, Japan)를 사용하여 ATP를 추출시켜 여과한 추출액을 0.5 mL를 취해 Kit에 주입하여 Kit안의 발광물질 혼합물과 반응 시킨 후 RLU 값을 측정하였다. ATP 표준물질이 혼합된 추출용매를 이용한 실험과 넙치육을 이용한 추출용매 실험을 통한 가장 최적의 RLU 값을 가진 추출용매를 선정하였다.

2.1.2. ATP 추출방법 선정

앞의 실험을 통해 선정된 추출용매를 사용하여 현장에서 이용 가능한 어육중의 ATP를 최대로 추출하는 방법을 선정하기 위해 비닐팩, 시험관, 막자사발, 소형균질기를 이용하였다. 비닐팩을 사용한 방법은 비닐팩에 넙치육 0.5 g, 추출용매 10 mL를 취해 2분간 손가락으로 어육을 문질러 균질화하는 방법으로 균질 후 여과한 추출액을 0.5 mL를 취해 Kit에 주입하여 Kit안의 발광물질 혼합물과 반응시킨 후 RLU 값을 측정하였다. 시험관을 사용한 방법은 시험관에 넙치육 0.5 g, 추출용매 10 mL를 취해 2분간 유리봉으로 어육이 균질되도록 마쇄하였다. 균질 후 방법은 위와 동일하다. 막자사발을 사용한 방법은 막자사발에 넙치육 0.5 g, 추출용매 10 mL를 취해 2분간 막자봉으로 어육이 균질되도록 마쇄하였다. 이후의 방법은 위와 동일하다. 마지막으로 소형균질기를 사용하는 방법은 유리셀에 넙치육 0.5 g, 추출용매 10 mL를 취해 약 40초, 16,000 rpm의 조건으로 ATP를 추출한 후 위와 동일한 방법으로 RLU 값을 측정하였다. 추출 방법에 따른 RLU 값을 비교하여 최적의 추출방법을 선정하였다.

2.1.3. ATP 추출조건 선정

선정된 추출용매와 추출방법을 이용하여 ATP 추출에 적합한 어육의 양과 추출용매 양, 균질시간에서의 최적의 조건으로 소형균질기를 이용하여 ATP를 추출시키는 조건으로 사용육의 양(0.5 g, 1 g, 1.5 g), 추출용매의 양(5 mL, 10 mL, 15 mL) 및 추출시간(30초, 40초, 50초, 1분, 2분)에 따른 RLU 값을 측정하여 최적의 추출조건을 선정하였다.

2.2. 파괴강도(breaking strength)의 측정

2.2.1 레오메타에 의한 파괴강도의 측정

Ando et al.(1991)의 방법에 따라 대상 어종의 등육을 Table 1과 같은 조건으로 측정하였다. 넓치의 경우, 밀면이 평행하게 필렛하여 20×20×10 mm의 크기로 정사각형의 칼집을 위에서 찍은 후에, 칼집위로 돌출된 부분을 잘라내고 육의 두께를 10 mm로 균일하게 하여 측정시료로 사용하였다. 다른 어종의 경우도 측정시료로 사용되는 등육의 처리는 넓치와 동일하다. 파괴강도 값은 직경 10 mm cylinder plunger를 사용하였으며, 속도 60 mm/min 때의 최고 값을 측정하였다. 실험결과는 4~8회 측정하여 평균±표준편차(mean±S.D.)로 나타내었다.

2.2.2. 휴대용경도계에 의한 파괴강도의 측정

밀면이 평행하게 필렛된 등육 부위를 휴대용경도계(FHM-1, Takemura, Japan)를 사용하여 원기둥(cylinder), 반구(hemisphere) 모양의 plunger를 이용하여 대상 어종의 육 표면에 일정한 힘을 가하여 눌러서 육의 단단함을 측정하였다. 실험결과는 4~8회 측정하여 평균±표준편차(mean±S.D.)로 나타내었다.

2.3. ATP 관련화합물(ATP related compound)의 측정

2.3.1. HPLC에 의한 ATP 관련화합물의 측정

Table 1. The condition of measurement of breaking strength on raw sliced fish

Instrument	SUN RHEO Meter Compac-100, Japan
Sample thickness	10 mm ¹⁾
Cylindrical plunger	10 mm ²⁾ in diameter
Crosshead speed	1 mm/sec
Load cell	10 kg
Chart speed	60 mm/m

1) ; simulated a slice of “sashimi”

2) ; simulated the molar tooth

핵산 관련물질은 Iwamoto et al.(1987)의 방법에 따라 추출하였으며, 추출한 핵산관련물질은 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후 탈기하여 HPLC에 10 μ l를 주입하여 분석하였다. 핵산관련 표준물질은 Sigma사에서 구입하여 사용하였다. HPLC는 waters사의 controller 600, TM-600 intelligent pump, dual λ absorbance detector 2487, column oven 410 및 differential refractometer을 사용하였으며, column은 CAPCELL PAK C18(4.6 X250 mm)의 역상분배 column (SHISEIDO, type UG120, 5 μ m)을 사용하였다. 이동상 용액은 2 % triethylamine-phosphoric acid(pH 7.0) 완충용액을 사용하였고, 유속 1.0 mL/min, column 온도 40 $^{\circ}$ C, 검출파장 254 nm, 분석시간 60분 그리고 peak 면적은 auto chromatography data system을 통해 적분하여 계산한 후 각각의 함량을 구하였다.

2.3.2. 루미노메타를 이용한 RLU 값의 측정

소형균질기의 유리셀에 어육 0.5 g, 0.5 M phosphate buffer(pH 6.8) 10 mL를 취해 40초, 16,000 rpm의 조건으로 추출한 후 0.45 μ m membrane filter로 여과한 액 0.5 mL를 Kit에 주입하여 발광물질 혼합물과 반응시킨 후 RLU 값을 측정하였다(Fig. 3). 루미노메타 기기의 최대 검출 한계치는 999,999 RLU이므로 검출 한계치 이상의 데이터가 나올 경우 추출용매로 희석하여 측정하고 측정된 데이터에 희석배수를 곱하여 계산하였다. 또한, 유통시간 10시간 이후의 어육은 상대적으로 어육의 단단함이 저하된 상태이므로 소형균질기를 대신하여 비닐팩을 사용하여 손으로 ATP 추출이 가능하다.

2.4. 통계처리

통계 처리는 SAS 프로그램을 이용한 분산분석표(analysis of variance table : ANOVA table)를 작성하였으며, Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 $p < 0.05$ 에서 결과간의 유의성을 검정하였다.

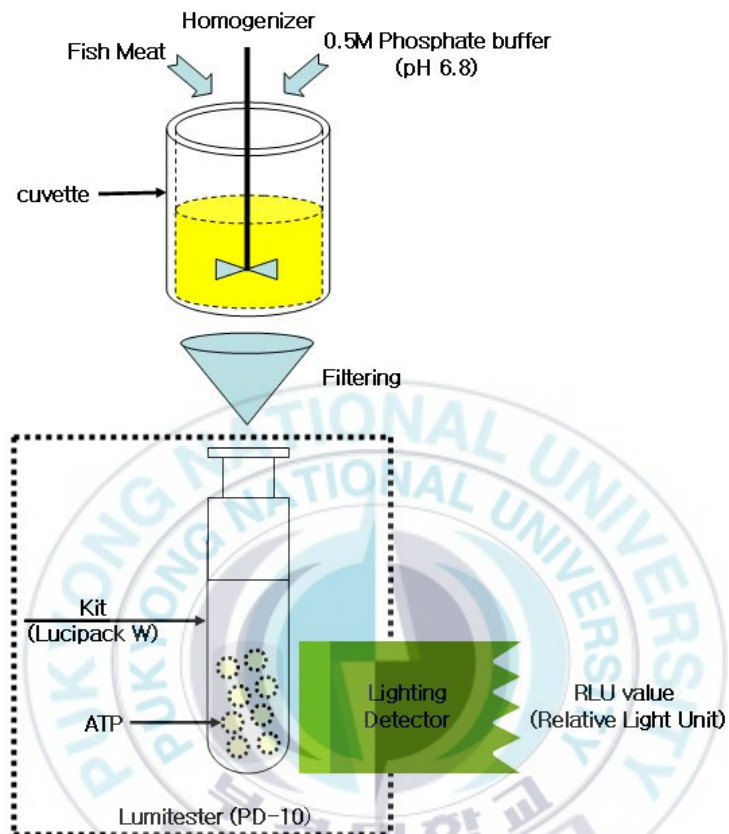


Fig. 3. Schematic diagram for measuring ATP content in the field using the lumitester.

결과 및 고찰

1. 싱싱회 경과시간 판정지표의 검색

1.1. 싱싱회 경과시간에 따른 파괴강도 및 ATP 관련물질의 변화

1.1.1. 넙치

1.1.1.1. 파괴강도의 변화

즉살한 넙치를 싱싱회로 제작하여 빙장 후 경과시간에 따른 파괴강도 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 즉살 직후 넙치의 파괴강도는 1.34 ± 0.04 kg였으며, 시간의 경과와 더불어 파괴강도는 빠르게 상승하여 6시간 후의 파괴강도는 1.58 ± 0.10 kg로 즉살 직후보다 약 17 % 증가하였다($P < 0.05$). 이후 파괴강도는 감소되기 시작하였으며, 저장 12시간에 1.42 ± 0.02 kg으로 즉살 직후와 비슷한 파괴강도 값을 나타내었으며($P > 0.05$), 저장 16시간 이후부터 55시간까지의 파괴강도 값은 유의적인 차이는 없었다($P > 0.05$).

1.1.1.2. ATP 관련물질의 변화

Fig. 5에 넙치를 즉살하여 싱싱회로 제조하여 빙장하면서 육의 ATP 관련물질의 변화를 나타내었다. 넙치육의 ATP 관련물질 총 함량은 약 $9.20 \mu\text{mole/g}$ 이며, 즉살 직후의 ATP 함량은 $7.67 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 서서히 감소하여 파괴강도 값이 최대로 상승한 저장 5시간에서는 $7.34 \mu\text{mole/g}$ 의 ATP 함량을 나타내었다. 또한, 생선회 감칠맛의 주체가 되는 IMP 함량은 0°C 저장 중에 서서히 증가하였으며, 즉살직후에는 $0.23 \mu\text{mole/g}$, 저장 10시간에는 $1.26 \mu\text{mole/g}$ 로 증가하였다. 저장 24시간 이후에는 IMP의

함량이 $5.47 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 40시간에는 $7.38 \mu\text{mole/g}$ 로 급격한 증가를 보이고 있다. 즉, 저장 기간이 길어질수록 생선회의 맛은 좋아지나 근육의 단단함은 급격하게 감소함으로, 우리나라 생선회문화를 고려시에는 근육의 단단함은 즉살직후와 비슷하게 유지되면서, 싱싱회 맛도 좋아지는 저장 10시간이 가장 적합하다고 판단된다. 또한 싱싱회의 경과시간에 따라 ATP 함량이 가장 많이 감소한 반면에 IMP 함량은 경과시간에 따라 증가하였다.

1.1.2. 농어

1.1.2.1. 파괴강도의 변화

Fig. 6은 농어를 싱싱회로 제작하여 빙장 중 파괴강도의 변화를 나타내었다. 저장시간 5시간까지는 파괴강도 값이 증가하였다가 그 이후에 급격히 감소하는 경향을 나타내었다. 즉, 즉살 직후에는 $1.42 \pm 0.09 \text{ kg}$ 의 파괴강도 값이 나타났으며 저장 5시간에 $1.61 \pm 0.07 \text{ kg}$ 의 최대 파괴강도를 나타내었다($P < 0.05$). 넓치와 마찬가지로 5시간 이후부터 감소하기 시작하여 저장 10시간 경과시에는 즉살직후와 마찬가지로 $1.43 \pm 0.17 \text{ kg}$ 의 파괴강도 값을 나타내었다($P > 0.05$).

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 농어 싱싱회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점이 아닌 약 10시간 이내로 유통되어 소비되어야 할 것이다.

1.1.2.2. ATP 관련물질의 변화

Fig. 7은 농어를 즉살하여 0°C 에 저장하면서 육의 ATP 관련물질의 함량변화를 나타내었다. ATP 관련물질의 총 함량은 $6.47 \sim 6.55 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 기간동안 총 함량의 변화는 거의 없었다. 그러나 ATP 함량은 즉살 직후에는 $5.30 \mu\text{mole/g}$, 저장 10시간 $1.60 \mu\text{mole/g}$, 저장 15시간 $0.52 \mu\text{mole/g}$, 저장 25시간에는 $0 \mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내어 ATP 함량은 잔존하지 않았으며, 15시간에는 생선회 맛의 주체인 IMP함량은 $5.65 \mu\text{mole/g}$

로 저장기간 중 가장 높은 함량을 나타냈다. 즉, 앞에서 언급한 바와 같이, 파괴강도 값이 증가함으로써 생선회의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 씹을 때의 식감(쫄깃쫄깃함)이 즉살직후와 비슷하게 유지되고 생선회의 맛도 좋아지는 저장 10시간이 싱싱회의 가장 적합한 유통기간으로 판단된다.

1.1.3. 방어

1.1.3.1. 파괴강도의 변화

Fig. 8에서의 붉은살 생선인 방어는 즉살 직후는 흰살 생선인 넙치 등과 달리 파괴강도 값은 1.25 ± 0.14 kg으로 매우 낮았으며, 저장 중 파괴강도의 상승은 크지 않았으며, 저장 7.5시간까지는 즉살직후의 파괴강도 값과 유의적인 차이가 없었고($P>0.05$), 그 이후에는 파괴강도가 급격하게 감소하였다. 이는 4℃ 저장 중 어육의 사후연화와 콜라겐 Type V와의 상관성을 조사한 Shigemura 등(2003) 보고에서 저장 중 방어육의 파괴강도의 감소율이 저장 3시간에 15%, 6시간에 20%로 즉살직후에 비하여 크게 감소하는 것으로 보고하였다.

따라서 파괴강도를 기준으로 방어 싱싱회의 최적 섭취시간은 파괴강도 값이 즉살 직후와 비슷하게 유지되는 7.5시간 이내에 유통되어 소비되어야 할 것으로 판단된다.

1.1.3.2. ATP 관련물질의 변화

Fig. 9에 즉살한 방어의 0℃ 저장 중 근육 중의 ATP 관련물질의 변화를 나타내었다. ATP 관련물질의 총 함량은 약 $7.29 \sim 7.30 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간동안 총 함량의 변화는 거의 없었다. 그러나 ATP 함량은 즉살 직후에는 $6.13 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장 10시간 에는 $0.43 \mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다. 어육내의 ATP 관련물질은 파괴강도와 밀접한 관계가 있으며, 어육의 사후경직 중 근육의 ATP가 일정수준을 유지하고 있을 때에는 myosin과 actin의 결합에 의하여 수축된 근육은 가역적으로 이완된다. 그러나

ATP의 재생체계가 차단되어 ATP의 함량이 감소되면 myosin과 actin이 불가역적으로 강하게 결합하여 사후 경직이 급속히 진행되어 ATP의 농도가 $1 \mu\text{mole/g}$ 이하로 저하하면 사후경직이 거의 완료된다. 또한 저장 중에 IMP의 함량은 즉살 직후에는 존재하지 않다가 저장시간이 길어질수록 IMP의 함량은 증가하였다. 즉, 저장 5시간에는 $2.78 \mu\text{mole/g}$, 저장 10시간에는 $5.32 \mu\text{mole/g}$ 의 함량이 나타났다.

1.1.4. 승어

1.1.4.1. 파괴강도의 변화

승어를 즉살하여 파괴강도의 변화를 Fig. 10에 나타내었다. 즉살 직후의 파괴강도 값은 $1.28 \pm 0.16 \text{ kg}$ 이었으며, 빙장하여 5시간동안 저장 후에는 $1.47 \pm 0.18 \text{ kg}$ 으로 최대 파괴강도를 나타내었다. 넙치와 농어와 마찬가지로 저장 10시간까지 즉살직후의 파괴강도 값이 유지되었으며, 그 이후에는 감소하였다. Haruhiko and Shimizu(1988)는 일반적으로 경직된 어체는 그 어육도 단단할 것이라고 추측되지만 어체의 사후 경직도와 어육의 단단함은 일치하지 않는다고 보고하였고 Ando et al.(1991)도 어육의 연화는 어체의 사후경직과 달리 저장 초기에 일어나며, Hiroyasu et al.(1990)은 양자간에는 상관관계가 없으며 서로 다른 요인에 의하여 진행된다는 보고와 유사하였다.

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 즉살직후의 파괴강도 값이 유지되는 10시간 이내에 유통되어 소비되어야 할 것으로 판단된다.

1.1.4.2. ATP 관련물질의 변화

Fig. 11은 즉살한 승어를 0°C 에 저장하면서 육의 ATP 관련물질의 변화를 나타낸 것이다. ATP 관련물질의 총 함량은 약 $5.00 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 총 함량의 변화는 거의 없었다. 그러나 ATP 함량은 즉살 직후에는 $3.58 \mu\text{mole/g}$, 저장 6시간 $1.46 \mu\text{mole/g}$, 저장 9시간 $1.10 \mu\text{mole/g}$, 저장 15시간에는 $0 \mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다. 또한 최대의 파괴강도 값을 나타낸

15시간에는 생선회 맛의 주체인 IMP 함량이 $4.02 \mu\text{mole/g}$ 로 저장기간 중 가장 높은 함량을 나타냈다. 즉, 앞에서 언급한 바와 같이 파괴강도 값이 증가함으로써 생선회의 품질에 가장 큰 영향을 미치는 씹을때의 촉감(쫄깃쫄깃함)이 증가하고 생선회의 맛도 좋아지는 저장 10시간이 한국형 싱싱회의 유통에 가장 적합한 유통기간으로 판단된다.

1.1.5. 조피볼락

1.1.5.1. 파괴강도와 사후경직도의 변화

Fig. 4와 Fig. 6에 나타낸 넙치와 농어 등의 흰살 생선의 저장 중 파괴강도의 변화와 유사하게 즉살 초기에는 파괴강도 값이 $1.26 \pm 0.13 \text{ kg}$ 이었으나, 저장 5시간에는 $1.52 \pm 0.13 \text{ kg}$ 으로 증가하였다. 또한 저장 10시간 이후에는 파괴강도가 감소하였으며, 저장 30시간 경과 후에는 파괴강도의 변화가 나타나지 않았다.

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 조피볼락 생선회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점인 약 10시간까지로 넙치와 참돔과 거의 비슷하였다(Fig. 12).

1.1.5.2. ATP 관련물질의 변화

Fig. 13은 조피볼락 싱싱회를 빙장 중 육의 ATP 관련물질의 함량 변화를 나타낸 것이다. 즉살직후의 ATP 관련물질의 총 함량은 $7.00 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 이 때 ATP 함량은 $6.40 \mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다. 빙장 중 ATP 함량은 서서히 감소하였으며, 저장 9시간 경과 후에는 ATP 함량이 $3.7 \mu\text{mole/g}$, IMP 함량은 $2.3 \mu\text{mole/g}$ 으로, 기타 어종과 마찬가지로 IMP 함량은 증가하는 경향을 나타내었다.

1.1.6. 참돔

1.1.6.1. 파괴강도의 변화

즉살한 참돔을 0℃에 저장하면서 파괴강도의 변화를 Fig. 14에 나타내었다. 즉살 직후 참돔의 파괴강도는 1.48 ± 0.79 kg이었으며, 시간의 경과와 더불어 파괴강도는 빠르게 상승하여 5시간 후의 파괴강도는 1.81 ± 0.12 kg을 나타내었다. 파괴강도는 10시간 이후에 급격히 감소되기 시작하였으며, 저장 20시간에 0.85 ± 0.12 kg으로 나타내었다.

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 참돔 생선회의 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점이 아닌 약 10~12시간으로 넙치와 거의 비슷하였다. 그러므로 조 등(2003)이 밝힌 바와 같이 생선회로 유통하고자 하려면 참돔의 생명시간인 10시간 이내에 소비가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

1.1.6.2. ATP 관련물질의 변화

Fig. 15는 참돔을 0℃ 저장 중 ATP 관련물질의 변화를 나타낸 것으로, 총 함량은 7.95~8.00 μ mole/g이었다. Fig. 5에 나타낸 넙치 근육에서의 ATP 관련물질의 변화와 마찬가지로 저장 중 ATP 함량은 차츰 감소하였다.

이와 같이, 어육 중 근육의 ATP가 일정수준을 유지하고 있을 때에는 myosin과 actin의 결합에 의하여 수축된 근육은 가역적으로 이완된다. 그러나 ATP의 재생체계가 차단되어 ATP의 함량이 감소되면 myosin과 actin이 불가역적으로 강하게 결합하여 사후 경직이 급속히 진행되어 ATP의 농도가 1 μ mole/g 이하로 저하하면 사후경직이 거의 완료된다. Bate-Smith(1948)는 사후경직이 ATP의 소비 후에 근육의 신장성이 사라지면서 발생한다고 보고하고 있으며, Bito et al.(1983)은 일부 어종에서 ATP 함량은 사후경직과 항상 일치하는 것은 아니며, 근수축의 세기는 어종에 따라 다르며 ATP 함량과 경직상태 사이의 관련성의 다양한 요인에 의하여 일어난다고 보고하고 있다.

1.1.7. 홍민어

1.1.7.1. 파괴강도의 변화

즉살한 홍민어를 빙장하면서 파괴강도 및 사후경직도의 변화를 Fig. 16에 나타내었다. 즉살직후 홍민어의 파괴강도는 1.50 kg으로 나타났으며, 다른 어종과 마찬가지로 저장 5시간까지 육질의 단단함이 증가하였으며, 이때의 파괴강도 값은 1.82 kg이었다.

따라서 파괴강도를 기준으로 판단하였을 때 생명시간은 파괴강도 값이 즉살 직후에 비하여 저하된 시점이 아닌 약 10시간까지로 다른 흰살생선과 거의 비슷하였다.

1.1.7.2. ATP 관련물질의 변화

Fig. 17은 홍민어 싱싱회를 빙장 중 육의 ATP 관련물질의 변화를 나타내었다. ATP 관련물질의 총 함량은 약 $5.31 \mu\text{mole/g}$ 이었으며, 저장기간 동안 ATP 관련물질 총 함량의 변화는 거의 없었다. ATP 함량의 변화는 다른 어종과 마찬가지로 저장 기간동안 감소하였는데, 즉살 직후 $4.80 \mu\text{mole/g}$, 6시간 저장 후에는 $3.70 \mu\text{mole/g}$, 24시간 저장 후에는 $0.30 \mu\text{mole/g}$ 의 함량을 나타내었다. 30시간 이후에 ATP 함량은 $0.30 \mu\text{mole/g}$ 이하의 함량을 보였다. IMP 함량은 ATP 함량과는 반대로 저장기간이 길어질수록 증가하였는데, 즉살 직후에는 $0 \mu\text{mole/g}$ 이었으나, 저장 3시간, 6시간에는 각각 $0.7 \mu\text{mole/g}$, $1.4 \mu\text{mole/g}$ 로 함량이 증가하였다. 24시간에는 $3.2 \mu\text{mole/g}$ 로 높은 IMP을 나타내었다.

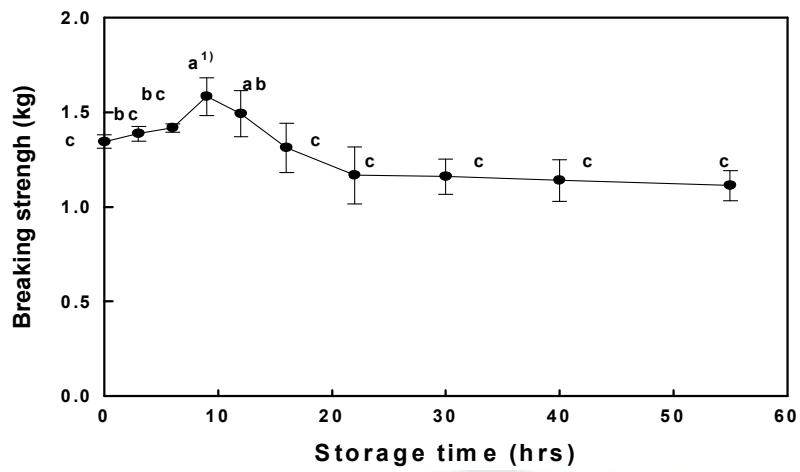


Fig. 4. Changes of breaking strength on the muscle in olive flounder during ice storage.

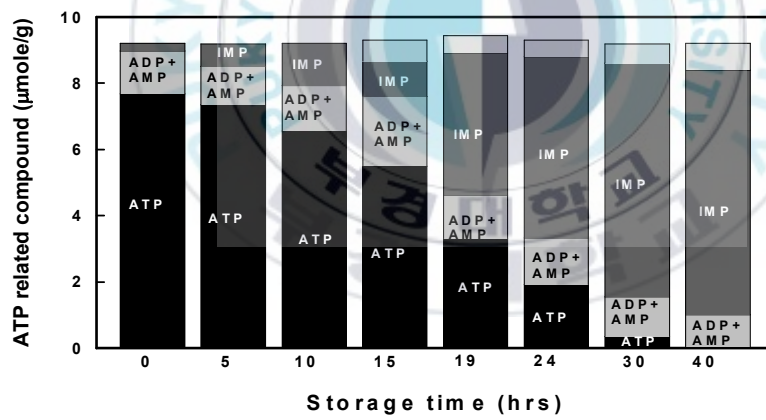


Fig. 5. Changes of ATP related compounds on the muscle in olive flounder during ice storage.

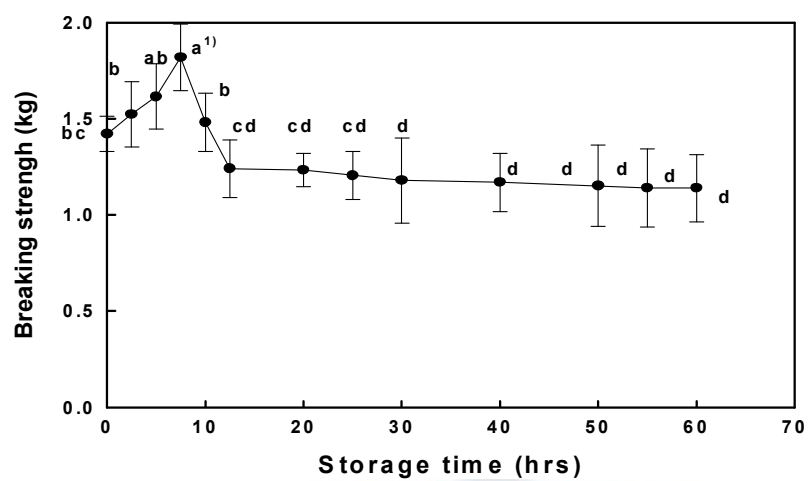


Fig. 6. Changes of breaking strength on the muscle in seabass during ice storage.

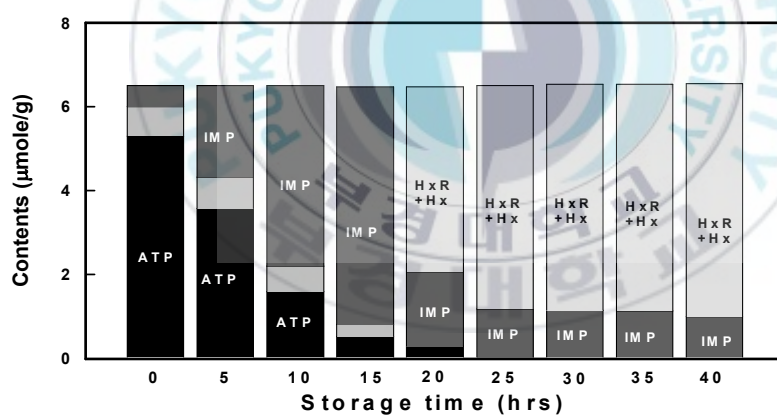


Fig. 7. Changes of ATP related compounds on the muscle of seabass during ice storage.

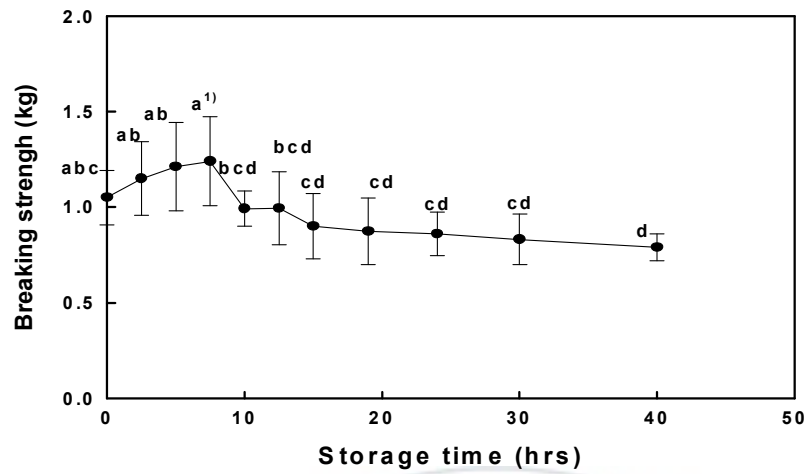


Fig. 8. Changes of breaking strength on the muscle in yellowtail during ice storage.

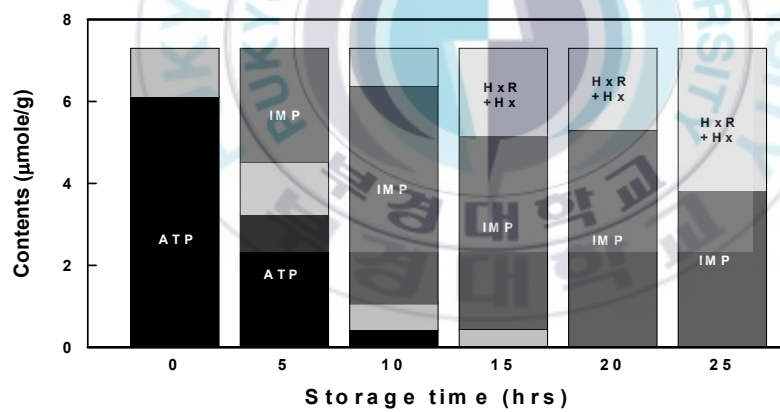


Fig. 9. Changes of ATP related compounds on the muscle of yellowtail during ice storage.

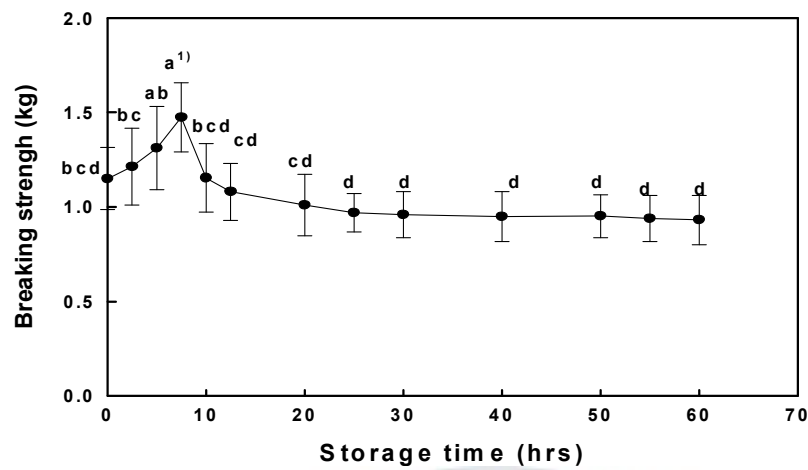


Fig. 10. Changes of breaking strength on the muscle in mullet during ice storage.

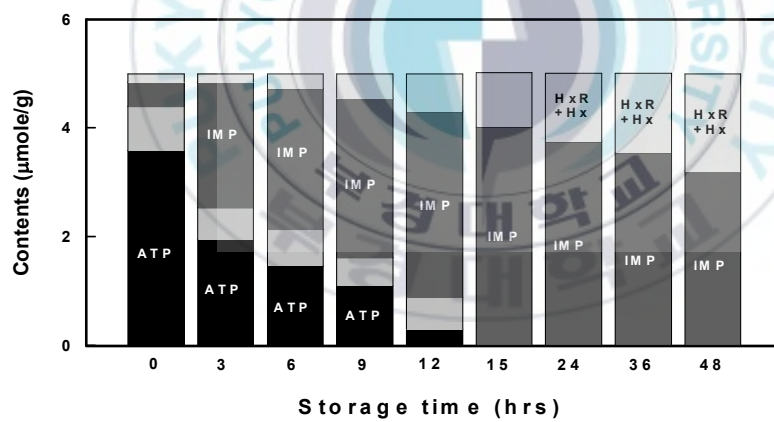


Fig. 11. Changes of ATP related compounds on the muscle of mullet during ice storage.

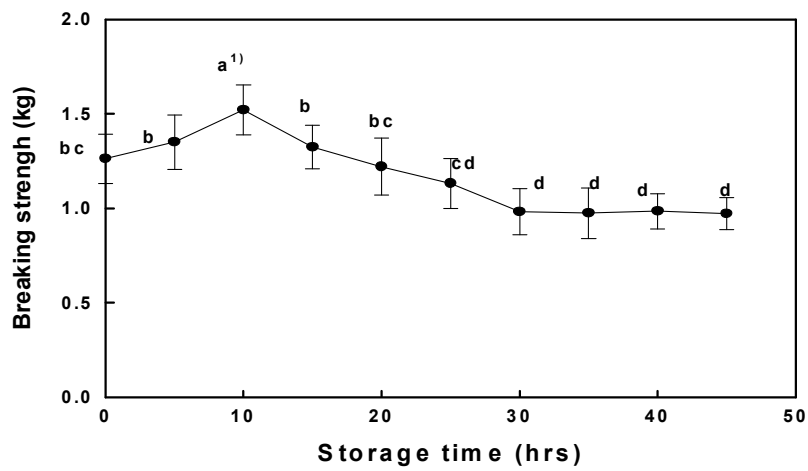


Fig. 12. Changes of breaking strength on the muscle in rock fish during ice storage.

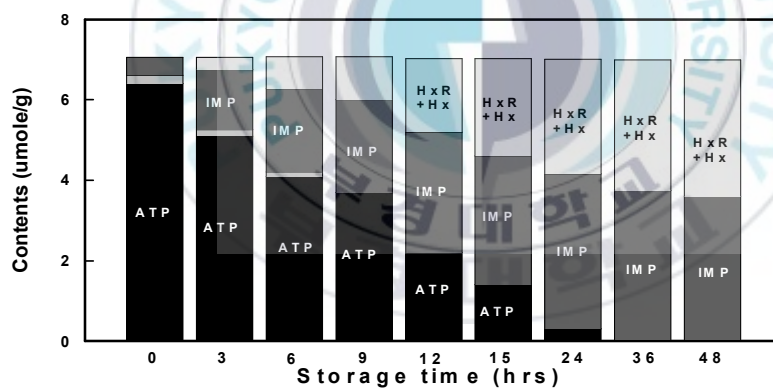


Fig. 13. Changes of ATP related compounds on the muscle of rock fish during ice storage.

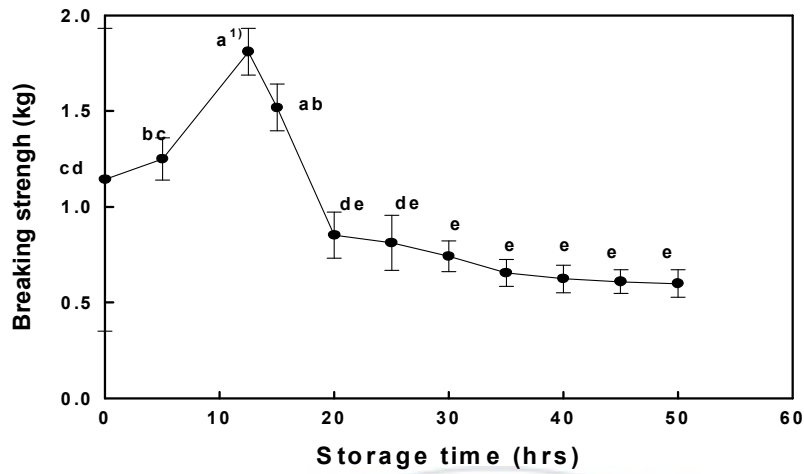


Fig. 14. Changes of breaking strength on the muscle in red seabream during ice storage.

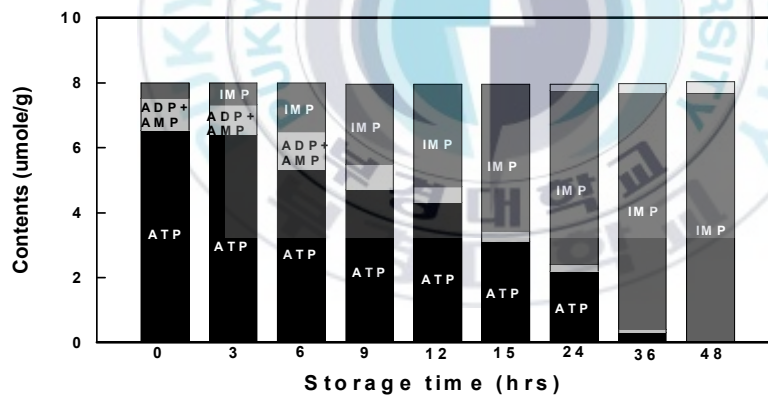


Fig 15. Changes of ATP related compounds on the muscle of red seabream during ice storage.

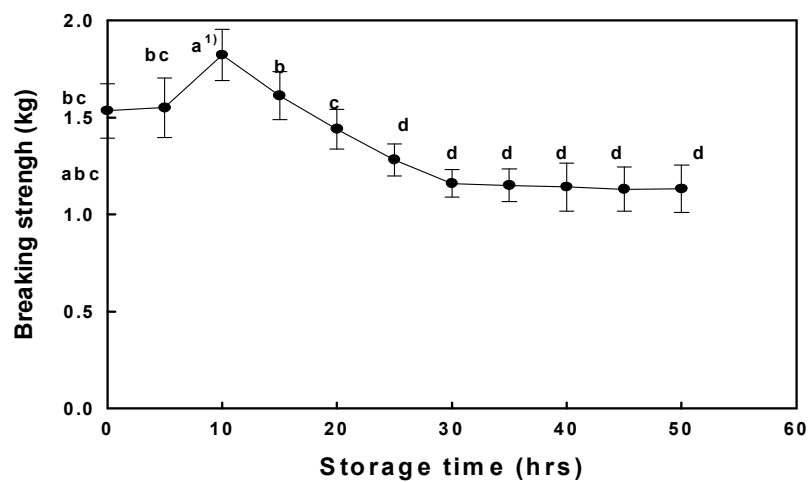


Fig. 16. Changes of breaking strength on the muscle in red drum during ice storage.

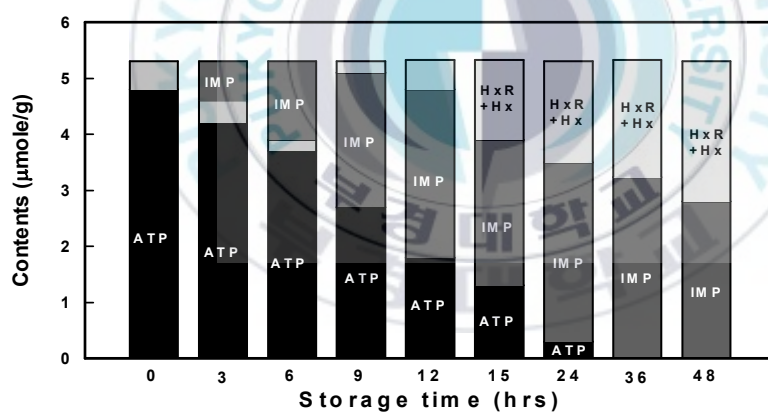


Fig. 17. Changes of ATP related compounds on the muscle of red drum during ice storage.

1.2. 파괴강도와 ATP 함량과의 상관관계

Fig. 18~24는 싱싱회의 경과시간에 따른 파괴강도와 ATP 함량과의 상관관계를 나타내었다. 붉은살 생선인 방어를 제외한 모든 어종에서 싱싱회로 유통되는 시간인 10시간까지는 파괴강도가 즉살직후와 비슷한 값을 유지하였으며, ATP 함량은 어종별로 함량의 차이는 있으나 지속적인 감소 경향을 나타내었다.

어류의 치사 후 맛의 변화는 Nielsen(1995)에 의하여 밝혀졌으며, 첫 번째 맛의 변화는 외관과 씹힘성에 밀접한 관련이 있다고 보고하였고, 씹힘성의 가장 중요한 변화는 사후경직에 의한 것이며, 경직의 개시와 진행은 어류의 종류와 저장온도에 따라서 달라지며, 사후경직의 진행은 ATP 함량의 감소와 밀접한 연관성이 있다고 보고되고 있다(Korhonen et al., 1990).

ATP의 분해는 각 단계마다 관련된 효소의 작용에 의하여 진행되며 분해속도는 어종에 따라 다소 차이가 있고, ATP 관련물질의 함량은 적색육 어류와 백색육 어류에 따라 큰 차이가 없어 대체로 5~10 $\mu\text{mole/g}$ 이며, 어육은 사후 ATP를 소모하면서 수축을 일으키게 된다는 보고와 거의 유사한 경향을 나타내었다.

그러므로 싱싱회의 유통시간은 파괴강도와 밀접한 관계가 있고, 앞서 제시된 싱싱회 유통시간내의 ATP 함량은 지속적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 싱싱회는 육질의 단단함이 즉살직후와 비슷하게 유지되는 것이 가장 중요하며, 10시간 이후부터 육질의 단단함은 크게 감소하게 된다. 이런 이유에서 육질의 단단함을 측정하여 싱싱회 경과시간의 판정이 가능할 것이며, ATP 함량을 측정하여 간접적으로 싱싱회 경과시간을 판정할 수도 있을 것으로 판단된다.

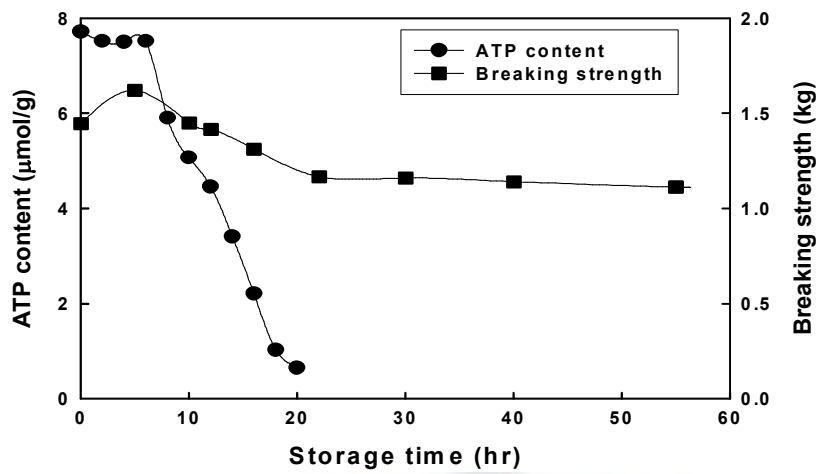


Fig. 18. Changes of breaking strength and the ATP concentration on the muscle of olive flounder during storage ice.

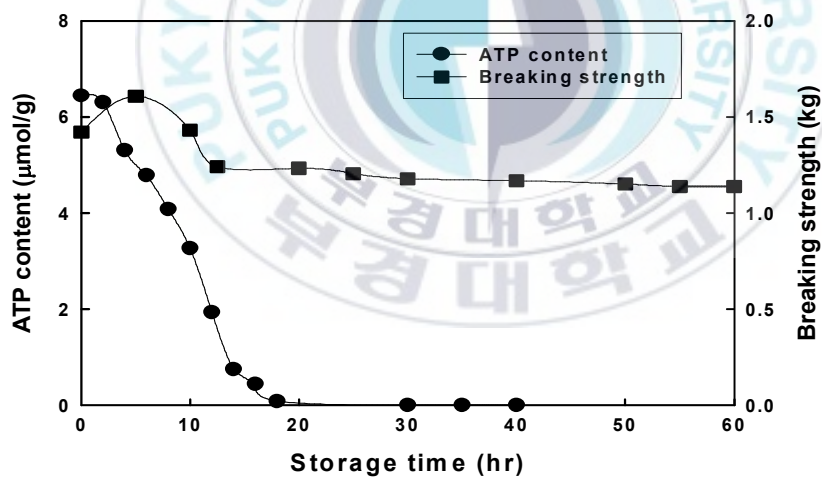


Fig. 19. Changes of breaking strength and the ATP concentration on the muscle of seabass during storage ice.

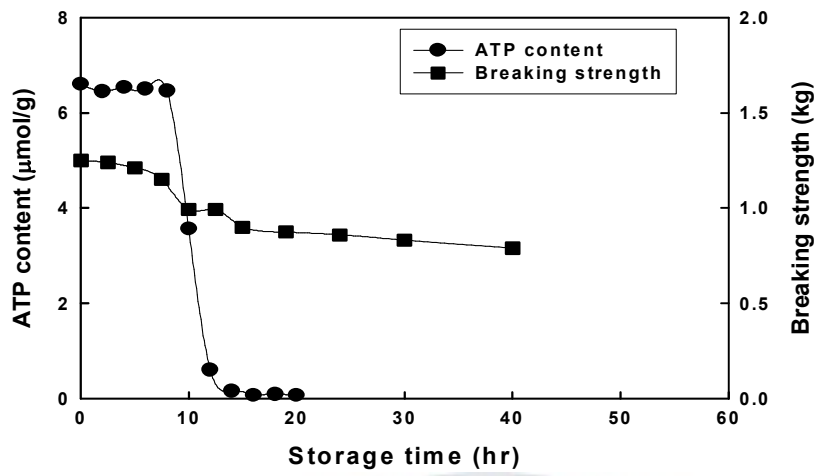


Fig. 20. Changes of breaking strength and the ATP concentration on the muscle of yellowtail during storage ice.

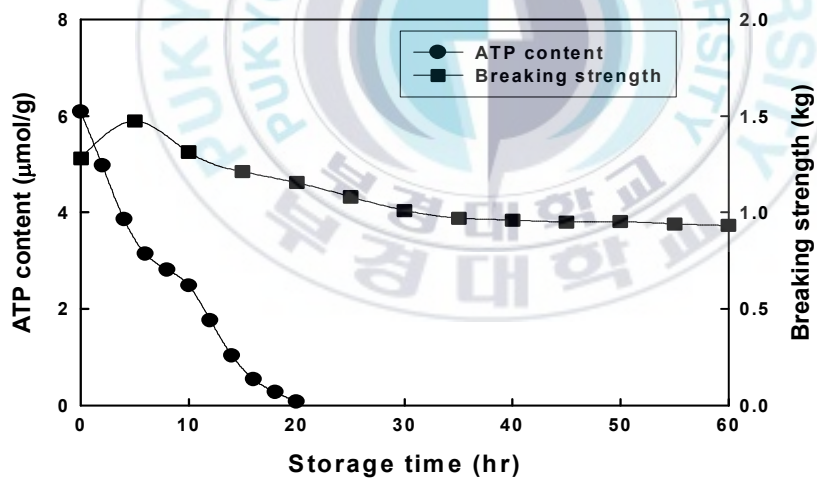


Fig. 21. Changes of breaking strength and the ATP concentration on the muscle of flathead mullet during storage ice.

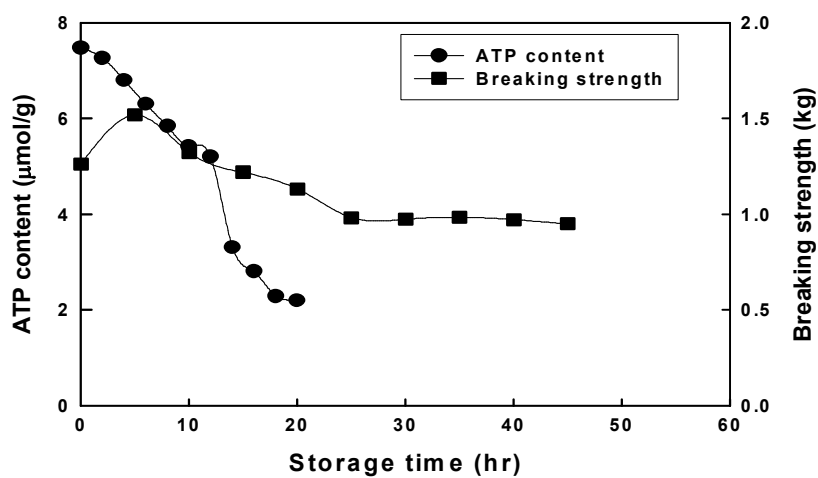


Fig. 22. Changes of breaking strength and the ATP concentration on the muscle of rock fish during storage ice.

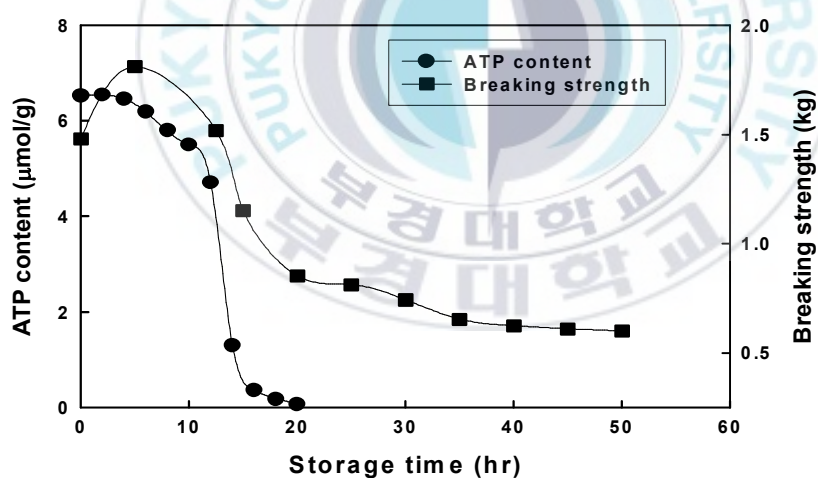


Fig. 23. Changes of breaking strength and the ATP concentration on the muscle of red seabream during storage ice.

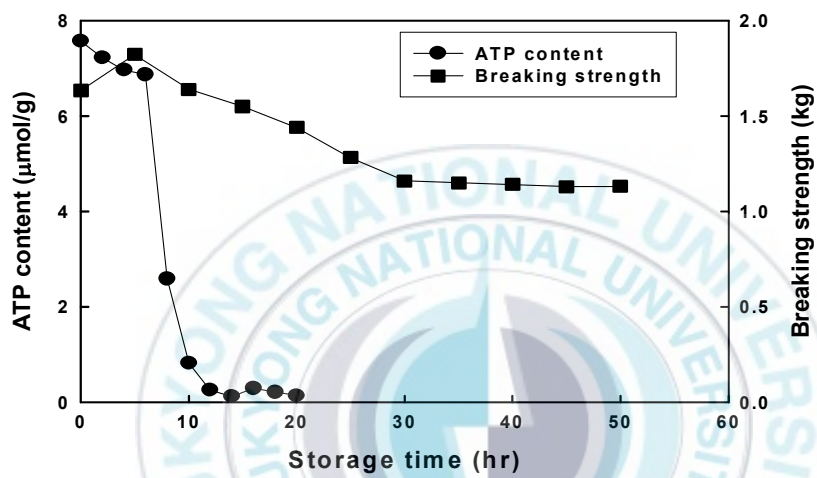


Fig. 24. Changes of breaking strength and the ATP concentration on the muscle of red drum during storage ice.

2. 생물발광을 이용한 싱싱회 근육 중의 ATP 함량 측정

어육 중의 함유되어 있는 ATP가 luciferase를 활성화시켜 빛을 발생하게 되며, 빛의 강도는 ATP 함량에 따라서 달라지므로 RLU(빛의 발광수치)로 어육 중의 ATP 함량을 확인하였다. 기존에 식품의 위생 상태를 확인하는데 이용된 방법은 측정하고자 하는 곳의 표면을 kit에 설치되어 있는 면봉으로 닦고, kit 내의 발광물질 혼합물과 반응시켜 RLU 값을 측정하게 되었으나 어육내에서 ATP를 추출하기 위해서는 표면만을 닦는 형태가 아니라 어육의 근육에 함유하고 있는 ATP를 추출해야 하므로, 어육 중에 있는 ATP의 추출이 용이하고, 루미노메타로 측정이 가능한 최적 추출용매를 선정하며 추출할 수 있는 방법을 확립하고자 하였다.

2.1. ATP 함량 측정을 위한 최적 조건 선정

2.1.1. 최적의 추출용매 선정

전체 추출용매를 농도별, pH별로 제조하여, 이들 추출용매에 8 μ mol의 ATP 표준물질과 어육추출액을 루미노메타로 RLU 값을 측정하여 가장 높은 수치를 보이는 추출용매를 선정하였다.

먼저 0.1 M, pH 6.8의 조건으로 각 추출용매를 제조하여 ATP 표준물질과 반응시켜 RLU를 측정한 결과, Glycine buffer(pH 6.8)는 362,732 RLU, Citrate buffer(pH 6.8), Phosphate buffer(pH 6.8), borate buffer(pH 6.8)는 각각 225,652 RLU, 70,660 RLU, 676,402 RLU 값을 나타내었으며 나머지 추출용매에서는 RLU 값이 나타나지 않았다(Fig. 25). 조사된 결과를 바탕으로 ATP 표준물질을 용해시켜 RLU 값이 나타나지 않은 용액은 제외시키고, 나머지 추출용매에서 ATP 표준물질과 반응한, Glycine buffer, Citrate buffer, Phosphate buffer, Borate buffer를 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M 농도로 pH 6.0, 6.8, 7.5로 제조하여 반응시켰다(Fig. 26).

추출용매의 특성상 Glycine buffer는 pH 1.8, 2.0, 2.5, 2.8, 6.0, 6.8, 7.5, 농도 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M로 조제하여 ATP 표준물질과 반응시킨 결과, 0.1 M, pH 6.8의 Glycine buffer에서만 370,852 RLU로 나타났으며, 동 농도의 pH 2.8에서는 36 RLU, 0.5 M, pH 2.0에서는 2 RLU로 나타났으며, 기타 추출 용매에서는 4배까지 희석하였으나 최대치를 초과하였다(Fig. 26(C)).

Borate buffer, Phosphate buffer, Citrate buffer는 농도 0.1 M, 0.5 M, 1.0 M, pH 6.0, 6.8, 7.5로 각각 조제하여 ATP 표준물질과 반응시켰다. 그 결과, Borate buffer는 0.1 M의 농도에서는 각각 $217,679 \pm 28,090$ RLU (pH 6.0), $664,323 \pm 5,157$ RLU (pH 6.8), $656,707 \pm 24,765$ RLU (pH 7.5)로 나타났다(Fig. 26(D)). 그러나 기타 농도에서는 pH에 의한 용해도 문제로 인하여 제조되지 않아 측정할 수 없었다.

Phosphate buffer는 1 M의 농도에서는 표품을 4배까지 희석하였으나, 최대 검출한계인 999,999 RLU를 초과하였으며, RLU 값이 pH 6.8, 7.5, 6.0순으로 나타났으며(Fig. 26(A)), Citrate buffer는 Phosphate buffer와 마찬가지로의 농도별, pH별로 제조하여 조사 한 결과, 0.5 M, 1.0 M, 0.1 M순으로, pH 7.5, 6.8, 6.0순으로 나타났다(Fig. 26(B)).

위 결과에서 ATP 표준물질을 이용하여 RLU 값을 얻지 못한 추출용매를 제외한, 총 3종의 추출용매를 농도별, pH별로 조제된 Phosphate buffer, Citrate buffer, Borate buffer 10 mL에 어육 0.5 g을 첨가하여 소형균질기를 이용하여 RLU 값을 측정하였다.

Phosphate buffer는 0.1 M에서 ATP 표품과 마찬가지로 4배까지 희석하였으나 기계의 최대치를 초과하였고, 0.3 M에서는 각각 $1,007,841 \pm 16,596$ RLU (pH 6.0), $1,857,031 \pm 85,782$ RLU (pH 6.5), $2,153,742 \pm 91,502$ RLU (pH 6.8), $3,036,936 \pm 230,834$ RLU (pH 7.0)를 나타내었으며, pH 7.5에서는 4배까지 희석하였으나 최대치를 초과하였다. 0.5 M에서도 0.3 M 농도의 phosphate buffer와 마찬가지로 pH가 상승할수록 높은 RLU 값을 나타내었으며, 1 M에서도 기타 농도와 유사한 결과가 나타났으나 pH 7.5에서는 최대치를 초과하였다(Fig. 27(A)).

Citrate buffer는 phosphate buffer와 비슷한 경향으로 pH가 상승할수록 RLU 값도 높아졌으며 0.3 M, 1 M에서는 4배까지 희석하였으나 최대치를 초과하였다. 반면, 0.1 M의 pH 6.0에서는 $449,140 \pm 112,356$ RLU, pH 6.5에서는 $898,817 \pm 104,022$ RLU, pH 6.8에서는 $1,286,510 \pm 63,258$ RLU, pH 7.0에서는 $1,553,825 \pm 74,680$ RLU를 나타내었다. 그리고 0.5 M의 농도에서는 pH별(6.0, 6.5, 6.8, 7.0, 7.5)로 각각 $86,722 \pm 7,682$ RLU, $310,099 \pm 2,423$ RLU, $482,411 \pm 38,216$ RLU, $589,265 \pm 44,292$ RLU, $644,175 \pm 17,272$ RLU 값을 나타내었다. (Fig. 27(B)).

앞서 ATP 표준물질과의 반응에서도 살펴본 바와 같이 Borate buffer는 0.1 M에서만 pH별로 buffer가 조제되었으며, 그 결과 pH 별로 각각 $371,180 \pm 96,229$ RLU(pH 6.0), $414,290 \pm 302,953$ RLU(pH 6.5), $1,090,820 \pm 251,855$ RLU(pH 6.8), $1,253,133 \pm 393,883$ RLU(pH 7.0), $1,054,434 \pm 573,554$ RLU(pH 7.5)으로 나타나 phosphate buffer, glycine buffer에 비하여 낮은 RLU 값을 나타내었다(Fig. 27(C)).

그러나 ATP Bioluminescence assay kit CLS II의 매뉴얼을 살펴보면 *in vitro* 상에는 luciferase 반응이 pH 7.75, 20~22 °C의 조건에서 가장 최상의 반응으로 적합하며, 고농도의 버퍼의 기타 pH를 가지는 시료나 지나친 pH 값을 가지는 시료는 예견하지 않는 빛 반응에 영향을 줄 수 있다고 하였으나 실제 어육의 이용에서는 다소 차이가 있었으며 Tris-buffer 계열이 어육 내에서 ATP를 추출하기에는 용이하나 본 연구가 luciferin-luciferase 혼합물을 이용하여 ATP 함량을 측정하는 것으로, 이 추출용매가 효소반응을 저해하여 RLU 값이 전혀 나타나지 않는 결과를 확인하였다.

이상의 결과를 살펴볼 때, 저온 보관시 염이 형성되는 단점은 있으나 현장에서 희석단계가 나뉘어지면 사용상의 문제점과 농도별, pH별로 가장 잘 반응한 Phosphate buffer를 선정하였으며, 측정된 값들의 편차와 적은 희석단계 등을 고려하여, 0.5 M Phosphate buffer(pH 6.8)를 루미노메타로 어육 중의 ATP 함량을 측정하기 위한 최적의 추출용매로 선정하였다.

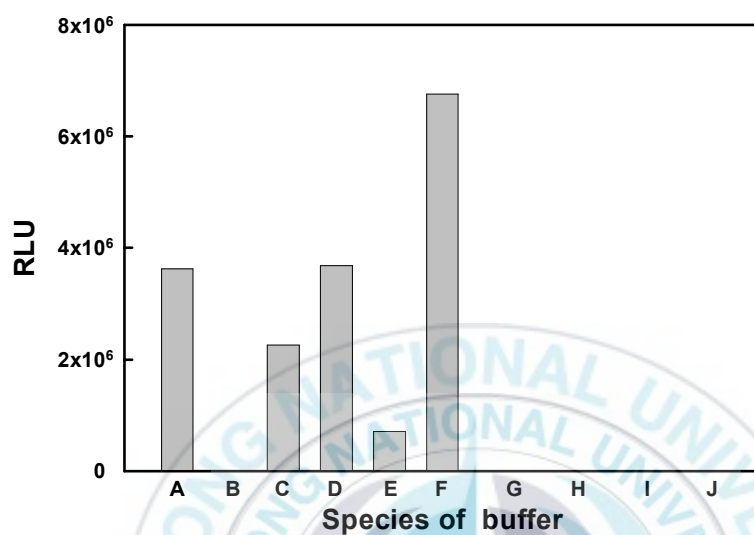
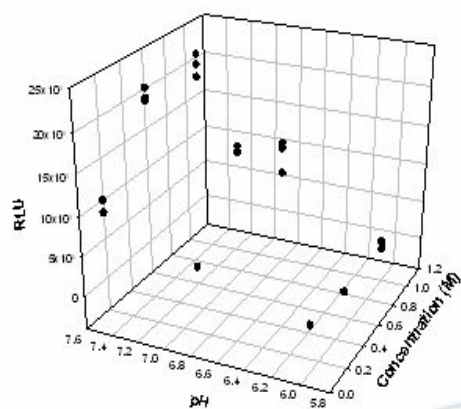
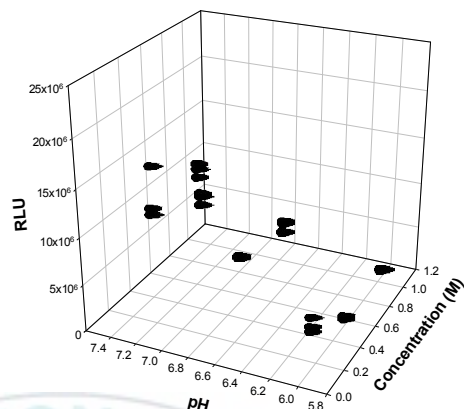


Fig. 25. Change of relative light unit(RLU) by various buffer when reaction with 8 μ mol ATP standard.

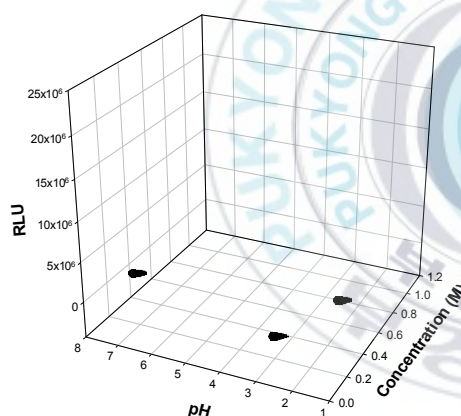
- | | |
|-------------------------------|---------------------------------|
| A : Glycine buffer (pH 6.8) | B : Tris-HCl (pH 6.8) |
| C : Citrate buffer (pH 6.8) | D : Tris-malate buffer (pH 6.8) |
| E : Phosphate buffer (pH 6.8) | F : Borate buffer (pH 6.8) |
| G : Tricine | H : Water |
| I : 20% TCA | J : 10% PCA |



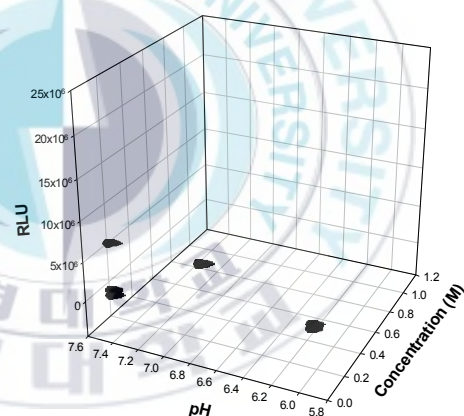
(A) Phosphate buffer



(B) Citrate buffer

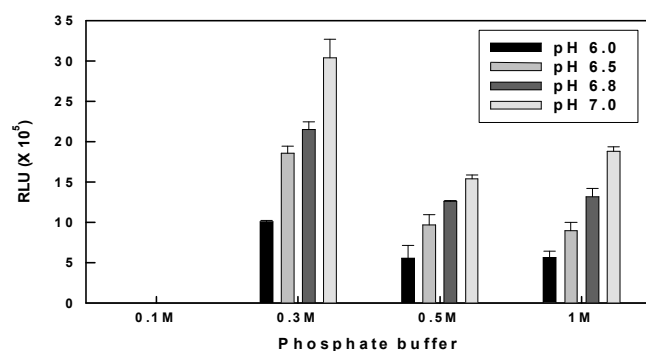


(C) Glycine buffer

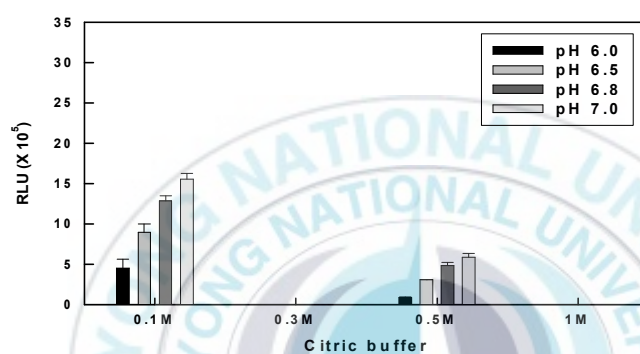


(D) Borate buffer

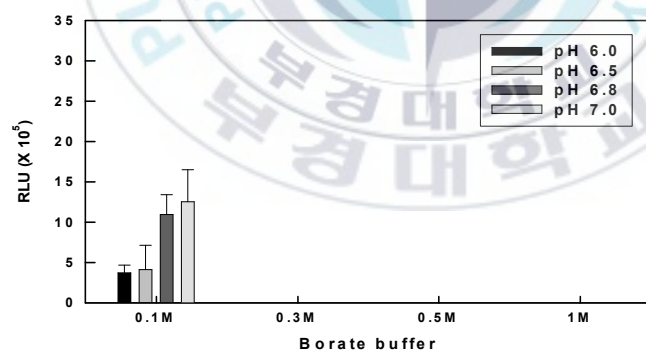
Fig. 26. Changes of relative light unit (RLU) with phosphate, citrate, glycine and borate buffer that reaction with $8\mu\text{mol}$ ATP standard solution by various concentration and pH.



(A) Phosphate buffer



(B) Citrate buffer



(C) Borate buffer

Fig. 27. Changes of relative light unit (RLU) phosphate, citrate, glycine and borate buffer that reaction with extract from olive flounder by various concentration and pH.

2.1.2. 최적의 추출방법 선정

Table 2는 추출용매(0.5 M Phosphate buffer(pH 6.8)) 50 mL에 어육의 양을 각각 0.5 g, 2 g, 5 g으로 취해 ATP 함량을 측정한 결과로 어육 양이 증가할수록 ATP 함량은 증가되는 것을 확인할 수 있었다.

Table 3에서는 ATP 추출방법을 선정하기 위해 소형균질기와 비닐팩을 이용하여 넙치 싱싱회를 빙장 중 경과시간에 따른 RLU 값을 측정하였다. 소형균질기를 이용한 방법은 유리셀에 즉살한 어육 2.5 g과 22.5 mL의 추출용매를 넣고 균질한 후 5분간 방치하고 여과한 후 측정하였으며, 비닐팩을 이용한 방법은 어육 2.5 g에 22.5 mL의 추출용매를 넣고 손으로 약 1분간 주물러서 추출하여 여과한 후 측정하였다. 소형균질기와 비닐팩을 이용하여 추출한 방법은 저장 초기의 측정값에서는 다소 차이가 있었으나, 저장 10시간 이후는 전체적으로 비슷한 감소 경향과 어육의 양이 증가할수록 RLU 값은 증가하는 것을 볼 수 있었다. 그리고, 저장시간 10시간까지는 비닐팩을 사용한 방법이 소형균질기를 사용한 방법보다 추출성능면에서는 낮은 결과를 보였으나, 저장 10시간 이후에는 육질의 단단함이 서서히 물러지는 단계이므로 비닐팩과 소형균질기를 사용한 방법 모두에서 추출성능이 유사한 결과를 가져왔다.

Fig. 28은 비닐팩을 사용하여 최적의 주무르는 시간을 선정하고자 하였다. 추출용매와 사용육의 양이 각각 50 mL, 2.5 g의 경우는 주무르는 동안 어육을 완전히 문지르지 못하는 경우가 발생하여 각각의 양을 5배로 줄여 사용하게 되었다. 그리고 사용되는 근육의 양은 일정하게 하고 손으로 문지르는 시간에 따른 ATP 함량 변화를 조사하였다. 넙치를 싱싱회로 제조하여 10시간 경과 후, 근육 0.5 g, 추출용매 10 mL 그리고 비닐팩을 사용하여 각각 1분, 2분, 3분, 4분간, 5분간 주무른 후 ATP 함량을 조사하였다. 주무르는 시간이 증가할수록 측정되는 RLU 값은 증가하였으나, 2분 이후에는 감소하는 경향을 나타내어 비닐팩을 사용한 ATP 추출시간은 2분으로 선정하였다.

현장에서 ATP 측정을 위해 소형균질기, 비닐팩을 이용하여 ATP를 추출하는 것을 선정하였으나, 비닐팩에서는 싱싱회 저장 10시간까지는 소형균질기에 비해 ATP 추출 성능이 떨어져 부적합하나, 저장 10시간 이후는 소형균질기

Table 2. Changes of the ATP concentration measuring with Lumitester by various muscle weight

(unit : RLU)

Muscle weight	RLU
0.1g/50mL buffer	33,592
2g/50mL buffer	633,995
5g/50mL buffer	805,592

Table 3. Changes of the ATP concentration measuring with Lumitester by various extraction method

(unit : RLU)

	Homogenizer	Clean bag
0 hr	102,594	93,133
8 hr	149,839	125,851
28 hr	1372	899
52 hr	878	672
76 hr	437	743
100 hr	541	331

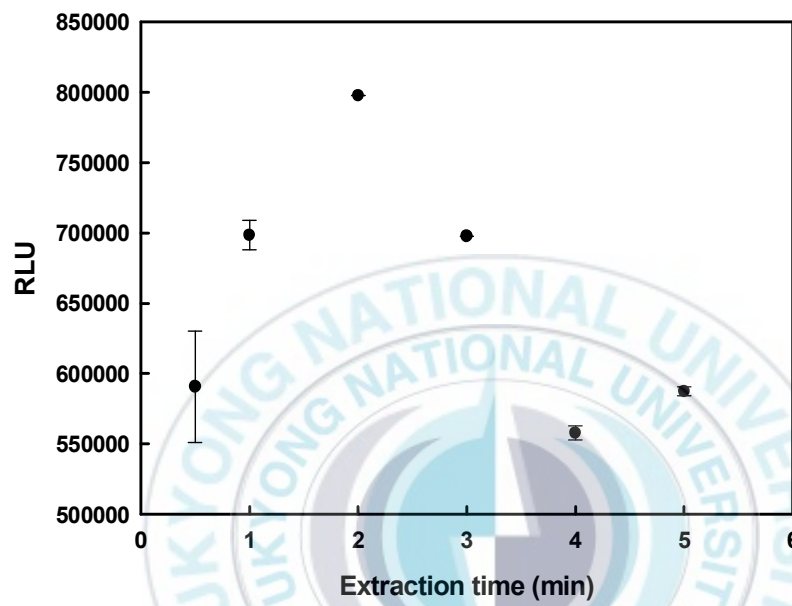


Fig. 28. Changes of RLU on the muscle of olive flounder which passed 10 hrs during ice storage by extraction time.

와 비슷한 추출성능을 가짐으로 적합하였다. 이로써, 어육 0.5 g에 추출용매 10 mL를 넣고 2분동안 손으로 주물러서 추출한 후 RLU 값을 측정하는 방법과 유리셀에 어육, 추출용매를 넣고 40초, 16,000 RPM 조건으로 ATP를 추출하여 RLU 값을 측정하는 방법을 선정하였다.

2.2. 추출방법 및 실험자간의 오차

비닐팩을 사용한 ATP 추출방법은 저장 초기에 실험자간의 가하는 힘이 다른 편차 등이 확인되었으므로 실험자간 오차범위가 적은 추출방법이 필요하다. 추출방법을 달리하여 비닐팩을 이용한 방법(A), 시험관을 이용한 방법(B), 막자사발을 이용한 방법(C), 소형균질기를 이용한 방법(D)으로 실험자들을 달리하여 어육 에서 추출된 ATP를 RLU 값으로 확인하였다 (Fig. 30).

비닐팩을 이용하여 측정하는 방법은 실험자간 각각 $709,162 \pm 47,637$ RLU, $842,081 \pm 39,051$ RLU로 실험자간의 유의적인 차이를 나타내었으며, 시험관을 이용한 방법은 $365,598 \pm 80,413$ RLU, $422,458 \pm 10,417$ RLU으로, 비닐팩 이용한 추출방법보다는 편차는 작았으나, 전체적인 RLU 값은 낮았다. 막자사발을 이용한 방법에서는 $413,892 \pm 118,989$ RLU, $371,115 \pm 136,591$ RLU로 재현성이 매우 낮게 나타났다. 소형균질기를 이용한 방법은 $1,375,477 \pm 21,456$ RLU, $1,326,508 \pm 22,857$ RLU로 실험자간의 편차가 다른 추출방법과 비교하여 매우 낮았으며, 높은 재현성과 기타 추출방법보다 높은 RLU 값을 나타내었다.

본 연구에서는 어종별 싱싱회의 RLU 값을 경과시간에 따라 범위를 설정하여 판정하고자 하므로, 비닐팩을 사용하는 방법은 실험자간의 편차가 심하며, 시험관 및 막자사발을 이용한 방법은 실험자간의 편차 및 재현성 등이 문제가 있어 정확한 판정이 어려울 것으로 판단된다. 그러므로 소형균질기를 이용한 방법을 최적의 추출방법으로 선정하였으며, 그 방법은 다음과 같다(Fig. 29(D)).

Extractive method

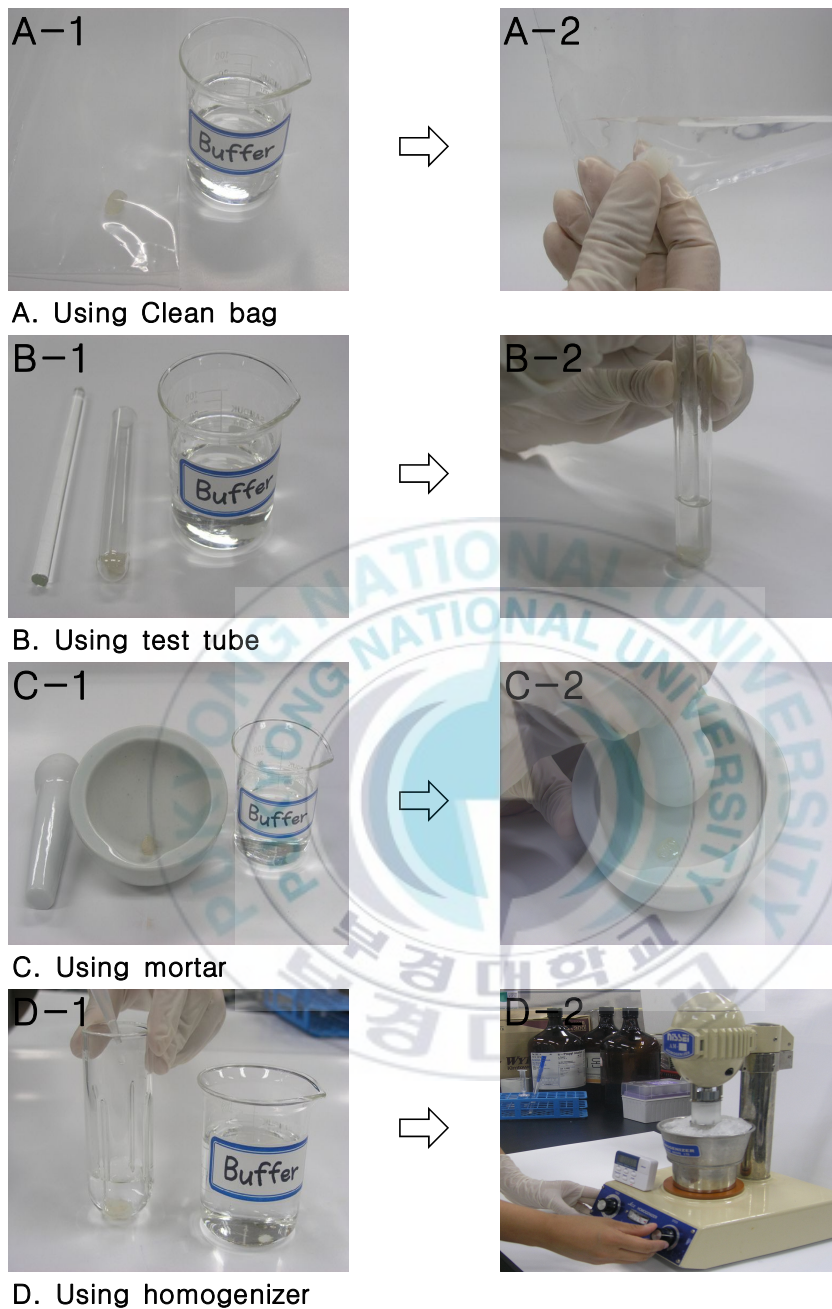


Fig. 29. Extraction method from the muscle of fishes and measuring method of the ATP concentration by lumitester.

Continues

Measuring of the ATP concentration by Lumitester

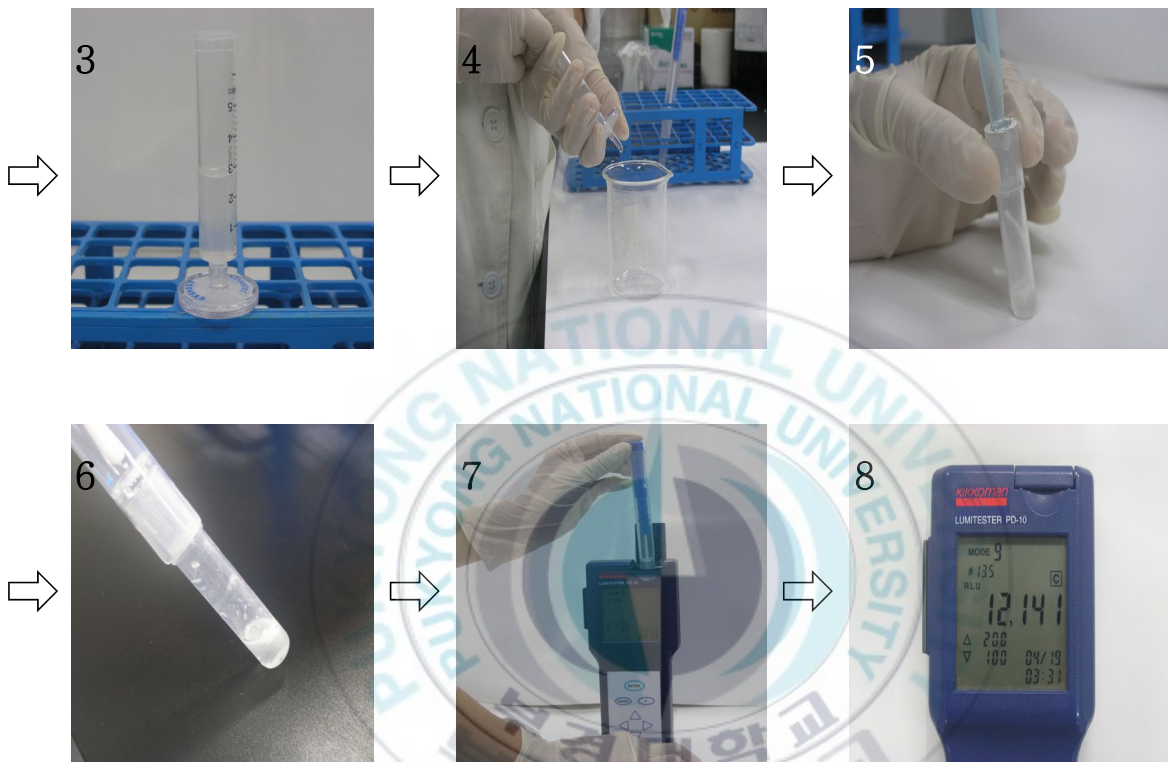


Fig. 29. Extraction method from the muscle of fishes and measuring method of the ATP concentration by lumitester.

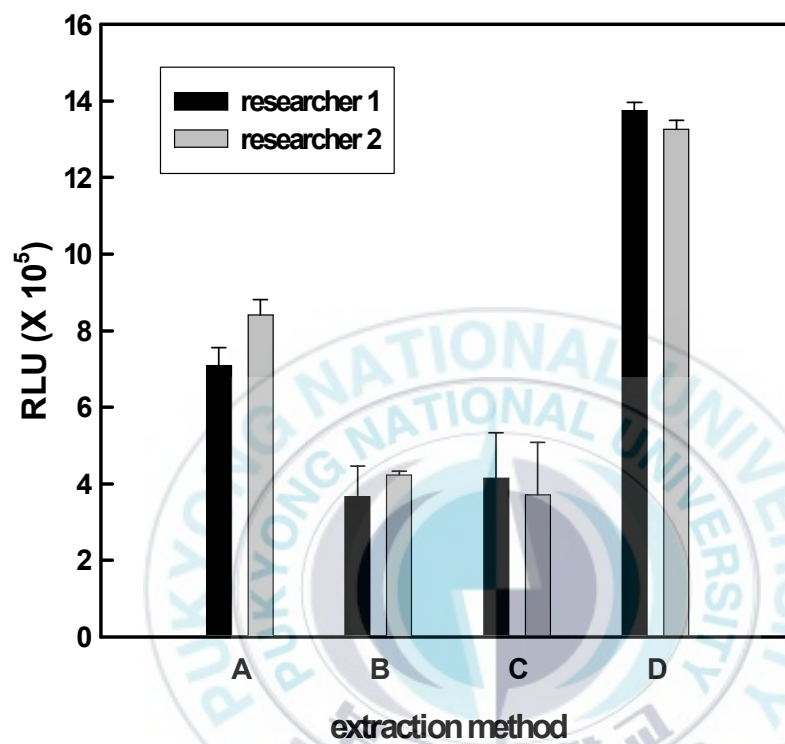


Fig. 30. Difference RLU that two researcher measure the content of ATP on the muscle in olive flounder by various extraction method.

2.3. 소형균질기를 이용한 어종별, 크기별에 따른 ATP 함량측정

2.3.1. 넙치 싱싱회

크기별에 따른 넙치 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP 함량을 측정한 결과, Fig. 31에 나타내었다. 앞서 살펴본 HPLC를 이용한 분석결과와 비슷한 경향으로 감소하였으며, 손으로 주물러서 분석한 결과와 비교하여 10배 정도 높은 값을 나타내었다(Fig. 30).

즉살 이후의 값은 크기별로 $2,154,360 \pm 5,335$ RLU(1,200 g), $1,988,320 \pm 35,016$ RLU(1,000 g), $1,872,930 \pm 21,867$ RLU(800 g), $1,594,359 \pm 15,903$ RLU(600 g)로 크기가 클수록 RLU 값이 높게 나타났다. 저장시간에 따라 RLU 값은 서서히 감소하였으며, 10시간 경과 후에는 $1,616,368 \pm 2,817$ RLU(1,200 g), $1,500,712 \pm 42,460$ RLU(1,000 g), $1,138,013 \pm 16,955$ RLU(800 g), $922,900 \pm 13,161$ RLU(600 g) 값을 나타내었으며, 크기별로 초기값에 비하여 각각 25.0 %, 24.5 %, 39.2 %, 42.1 % 감소하였다. 가장 큰 감소폭을 보인 600 g의 넙치의 경우, 10시간 이후에는 다른 크기와 비슷한 감소폭을 나타내었다. 저장 16시간 경과 시에는 $952,342 \pm 545$ RLU(1,200 g), $665,185 \pm 61,404$ RLU(1,000 g), $516,954 \pm 2,113$ RLU(800 g), $421,700 \pm 12,578$ RLU(600 g)으로 나타났으며, 24시간 경과시에는 크기별로 각각 $68,955 \pm 31,185$ RLU, $7,225 \pm 3,290$ RLU, $6,471 \pm 2,700$ RLU, $6,374 \pm 364$ RLU 값을 나타내어, 크기별로 초기 값의 96.8 %, 99.6 %, 99.7 %, 99.6 %로 감소한 RLU 값을 나타내었다.

그러므로 싱싱회 경과시간에 따른 루미노메타로 측정한 RLU값 범위의 데이터 구축을 통하여 크기별에 따른 경과시간을 계산할 수 있을 것으로 판단된다.

2.3.2. 농어 싱싱회

Fig. 32에서 농어의 초기 RLU 값은 넙치에 비하여 매우 낮은 값을

나타내었다. 크기별로 농어는 $1,271,406 \pm 15,432$ RLU(1,200 g), $1,225,014 \pm 548$ RLU(1,000 g), $1,159,264 \pm 15,592$ RLU(800 g)으로 나타났다. 넙치와 마찬가지로 저장시간이 경과함에 따라 RLU 값이 감소하였으며, 1,200 g의 농어는 넙치와 유사하게 24시간 경과 시 ATP가 완전히 분해되었으나 1,000 g과 800 g에서는 저장 20시간에 완전히 분해된 것을 확인할 수 있었다. 저장 10시간 경과시에는 크기별로 $972,557 \pm 8,654$ RLU, $828,805 \pm 18,075$ RLU, $784,272 \pm 9,583$ RLU로 나타났으며, 초기값에 비하여 23.5 %, 32.3 %, 32.4 % 감소하였다. 그리고 저장 16시간에는 크기별로 $36,622 \pm 190$ RLU, $145,940 \pm 7,133$ RLU, $70,396 \pm 3,681$ RLU로 나타났으며, 각각 73.5 %, 88.1 %, 93.9 %의 초기값 대비 감소한 것으로 나타났다. 담수어와 해산어의 빙장 중 ATP 관련물질의 변화를 조사한 보고에 따르면(Shota et al.,1999) 무지개 송어는 ATP 함량이 다른 어종에 비하여 $0.3 \mu\text{mol/g}$ 의 낮은 함량을 나타내었으며, 기타 담수어의 ATP 함량은 $1.4 \sim 4.5 \mu\text{mol/g}$, 해산어는 $2.4 \sim 8.2 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났으나 저장 1일 경과 시에 $0.1 \sim 0.5 \mu\text{mol/g}$ 로 급격히 감소하는 것으로 나타났다. 반면, IMP 함량은 ATP가 감소한 것과 반대로 급격히 증가하였으며, 어종별로 일정시간 이후에는 서서히 감소하는 것으로 보고하고 있어, 본 연구결과에서도 유사한 결과를 도출하였다. 그리고 넙치와 농어 등 어종별 ATP 분해 속도의 차이는 ATP를 분해하는 ATPase 효소 활성이 어종별로 차이가 나기 때문이다.

2.3.3. 송어 싱싱회

Fig. 33의 송어 싱싱회는 다른 실험어들에 비해 가장 낮은 RLU 값을 나타내었다 초기 송어 싱싱회의 크기별에 따른 RLU 값은 각각 $286,189 \pm 9,809$ RLU(1,000 g), $232,062 \pm 3,923$ RLU(800 g), $208,864 \pm 7,896$ RLU(600 g), $157,581 \pm 6,300$ RLU(400 g)로 나타났으며, 1,000 g의 송어에서 다른 크기보다 높은 RLU 값이 나타났다. 저장 8시간이 경과한 송어 싱싱회의 크기별에 따른 RLU값은 $108,521 \pm 8,765$ RLU(초기값 대비 62.1 %감소),

74,868 $\pm$ 1,906 RLU(초기값 대비 67.7 %감소), 58,754 $\pm$ 1,766 RLU(초기값 대비 71.9 % 감소), 51,501 $\pm$ 2,436 RLU(초기값 대비 67.3 % 감소)으로 나타났다. 600 g의 송어 싱싱회는 빙장 16시간이후, 400 g의 송어 싱싱회는 빙장 14시간 이후에 ATP가 검출되지 않았다.

2.3.4. 방어 싱싱회

Fig. 34는 방어 싱싱회의 빙장 중 ATP 함량을 측정한 결과, 크기별에 따른 초기 ATP 함량에 따른 RLU 값은 2,269,516 $\pm$ 12,589 RLU(1,000 g), 2,096,304 $\pm$ 42,890 RLU(800 g), 1,877,916 $\pm$ 23,798 RLU(600 g)으로 나타났으며, 저장 7시간 경과시에는 ATP 함량이 감소하여 크기별로 각각 1,366,445 $\pm$ 9,700 RLU, 1,322,899 $\pm$ 27,316 RLU, 931,944 $\pm$ 584 RLU 값을 나타내었으며 저장 7시간 이후에는 급격히 감소하였다. 빙장 중 흰살은 ATP가 IMP로 급격히 분해되며, 서서히 Inosine이 형성되나, 붉은살은 inosine이 급격하게 축적되어 선도를 판정하는 K값이 증가된다(Murata et al., 1986). 이는 신선한 흰살과 붉은살에 존재하는 NAD(Nicotinamide adenine dinucleotide, 0.8 vs 0.4 μ mol/g)는 저장 초기단계에서 급격하게 감소되기 때문이다.

전갱이를 저장 온도를 달리하여 저장 중 사후경직의 변화를 살펴본 결과, 0 $^{\circ}$ C, 5 $^{\circ}$ C, 15 $^{\circ}$ C에서는 6시간까지는 비슷한 감소경향을 나타내었으나 6시간 이후부터는 급속히 감소하였다. ATP 함량의 급속한 감소로 0 $^{\circ}$ C에서는 12시간 이후에는 검출되지 않았으며, 5 $^{\circ}$ C, 15 $^{\circ}$ C에서는 18시간 이후에 검출되지 않았다. 반면, 10 $^{\circ}$ C 저장된 육에서는 서서히 감소하여 24시간 경과 후에도 1 μ mol/g이 검출되어 다른 온도와 매우 다른 경향을 나타내었다(Misima et al., 1995). 또한 Murata and Sakaguchi(1986)는 방어의 보통육과 혈압육을 각각 빙장 중 ATP 관련물질 변화는 보통육과 혈압육 모두 저장 초기에 ATP는 모두 분해되고 없으며, 보통육에서는 IMP가 증가하다가 ATP가 완전히 소모될 때 최대치를 나타내었다가 감소하기 시작하며, 이때 inosine이 증가하였다. 반면, 보통육은 ATP와 IMP가 저장 초기에 급격히 감소하고 inosine이 증가한

후 저장기간 동안 유지된다고 보고하고 있다.

본 연구 결과에서도 마찬가지로 빙장 중 ATP 함량의 급속한 감소와 12시간 이후에는 ATP 함량이 검출되지 않아, 전갱이 육과 비슷한 경향을 나타내었다.

2.3.5. 조피볼락 싱싱회

Fig. 35의 조피볼락 싱싱회의 크기별에 따른 ATP 함량 변화는 400 g과 600 g에서는 시간이 경과할수록 감소하는 경향을 나타내었으며, 그 중에서 400 g에서는 10시간 경과 후에, 600 g에서는 14시간 경과 후에는 ATP가 거의 분해되었음을 알 수 있었다. 반면, 1,000 g과 800 g에서는 저장기간 동안 서서히 감소하였으며, 저장 1일이 경과 시에는 ATP 함량이 검출되지 않았다. 크기별 조피볼락 싱싱회의 초기값은 $563,409 \pm 11,332$ RLU(1,000 g), $538,797 \pm 1,365$ RLU(800 g), $496,668 \pm 10,635$ RLU(600 g), $464,243 \pm 46,659$ RLU(400 g)으로 나타났으며, 저장 10시간 경과 후에는 크기별로 $334,328 \pm 15,288$ RLU(초기값 대비 40.7 % 감소), $277,896 \pm 3,976$ RLU(초기값 대비 48.4 % 감소), $161,770 \pm 21,459$ RLU(초기값 대비 67.4 % 감소), $70,156 \pm 12,063$ RLU(초기값 대비 84.9 % 감소)를 나타내었다

2.3.6. 참돔 싱싱회

Fig. 36은 참돔 싱싱회를 제작하여 빙장 중 ATP함량을 측정한 결과로써, 다른 어종과는 달리 매우 빠른 ATP 함량의 소모 경향을 나타내었으며, 저장 16시간 이후에는 ATP 함량이 검출되지 않았다.

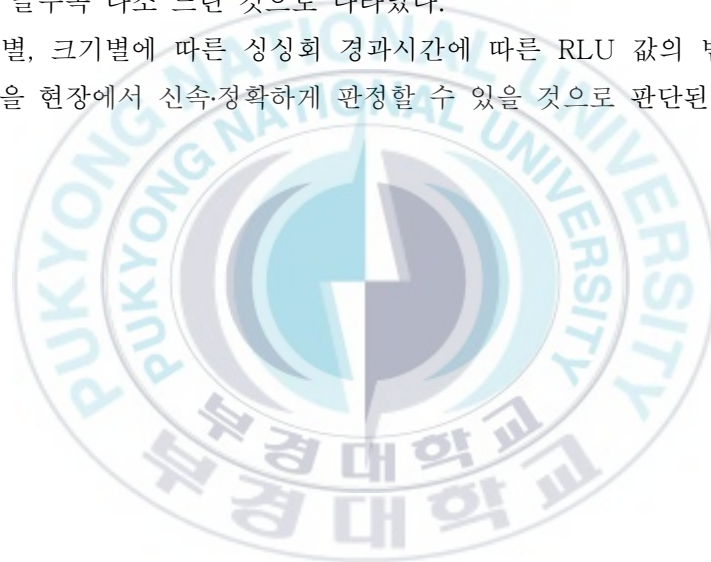
참돔 싱싱회의 초기 ATP 함량은 크기별로 1,200 g, 1,000 g, 800 g에서 $1,691,477 \pm 45,630$ RLU, $1,361,111 \pm 30,175$ RLU, $1,266,640 \pm 25,264$ RLU를 나타내었다. 저장 10시간이 경과 후에는 크기별로 각각 $919,676 \pm 9,591$ RLU, $372,020 \pm 5,542$ RLU, $218,164 \pm 14,549$ RLU로 나타났으며, 초기 ATP 함량에 대한 크기별 RLU 값은 각각 45.6 %, 72.6 %, 82.8 % 감소하였다.

2.3.7. 홍민어 싱싱회

Fig. 37의 홍민어 싱싱회에서도 다른 어종과 마찬가지로 저장시간이 경과함에 따라 ATP 함량의 감소를 확인할 수 있었으며, 2.5 kg의 홍민어는 16시간, 1.6 kg의 홍민어는 12시간 이후에 ATP 함량이 검출되지 않았다. 참돔과 비슷하게 10시간이 경과 후에는 초기 ATP 함량에 대한 RLU 값에 2.5 kg에서는 82.1 %, 1.6 kg에서는 96.5 % 감소되었다.

이상의 결과를 통하여 어종별, 크기별에 따라 초기 ATP 함량에 대한 RLU 값은 다르게 나타났으나 대체적으로 넙치, 방어, 참돔, 홍민어의 초기값이 비슷하였으며, 농어, 송어, 조피볼락은 다른 어종에 비하여 낮은 초기 RLU 값을 나타내었으며, 24시간 이내에 ATP가 모두 분해되는 것을 확인할 수 있었다. 또한 크기별로는 크기가 클수록 다소 높은 RLU 값을 나타내었으며, 감소폭도 크기가 클수록 다소 느린 것으로 나타났다.

그러므로 어종별, 크기별에 따른 싱싱회 경과시간에 따른 RLU 값의 범위를 통하여 경과시간을 현장에서 신속·정확하게 판정할 수 있을 것으로 판단된다.



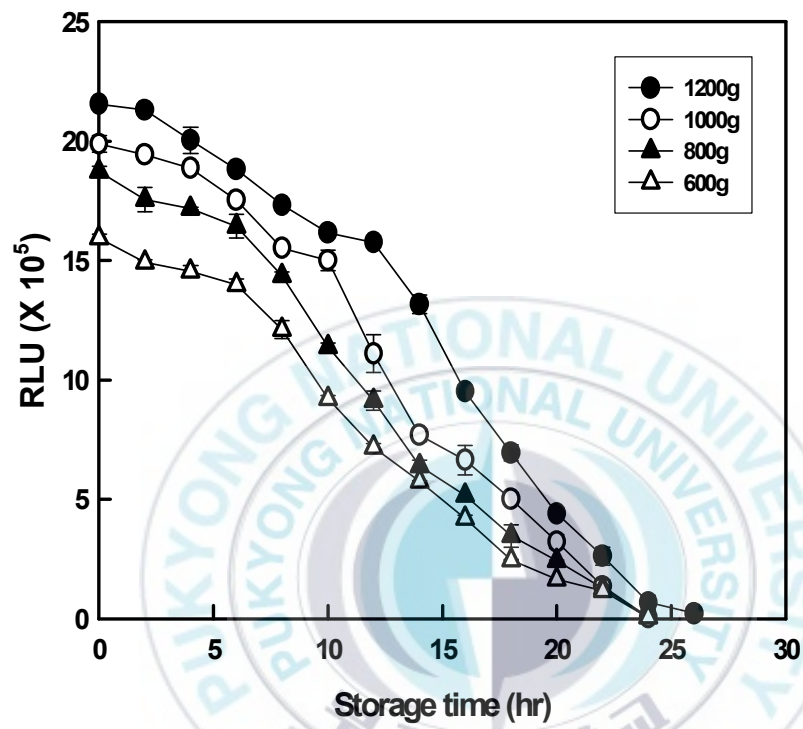


Fig. 31. Changes of RLU on the muscle in Olive flounder during ice storage.

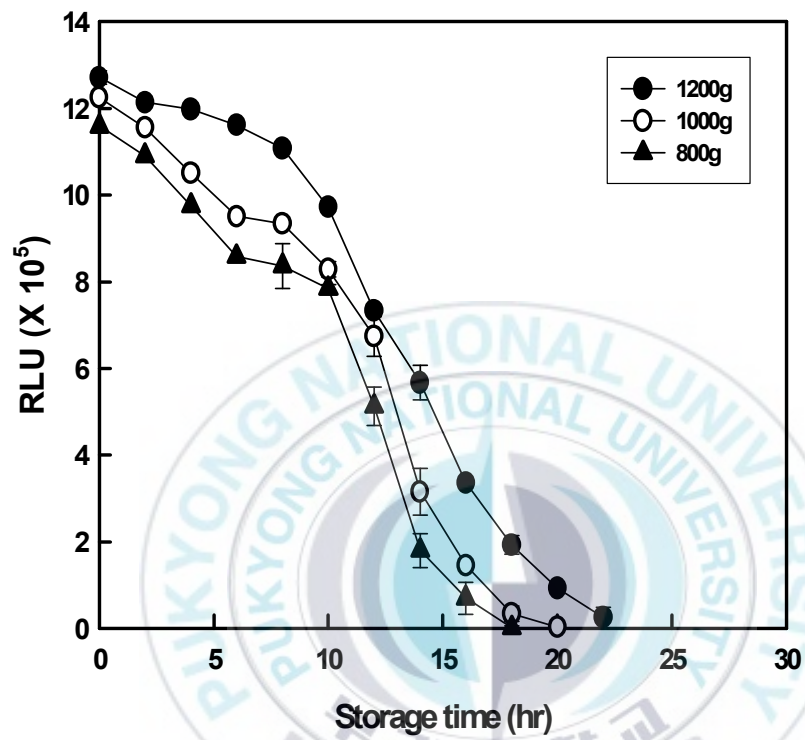


Fig. 32. Changes of RLU on the muscle in Sea bass during ice storage.

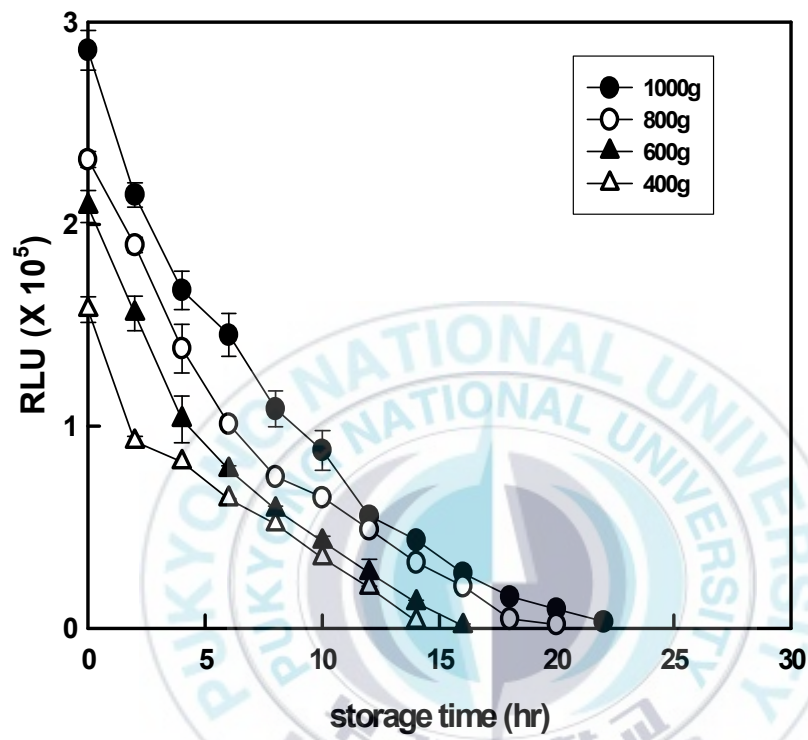


Fig. 33. Changes of RLU on the muscle in Flathead mullet during ice storage.

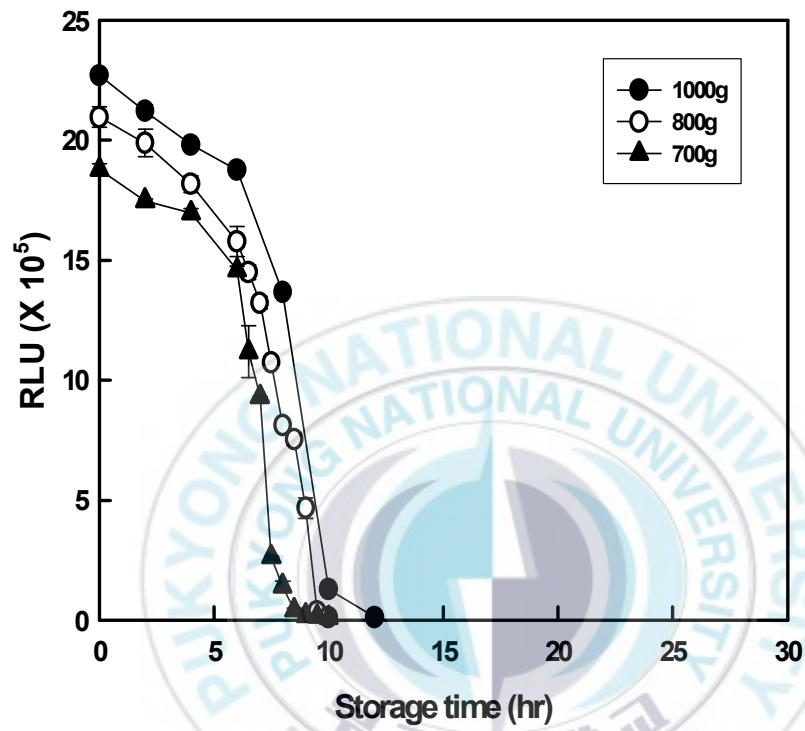


Fig. 34. Changes of RLU on the muscle in Yellowtail during ice storage.

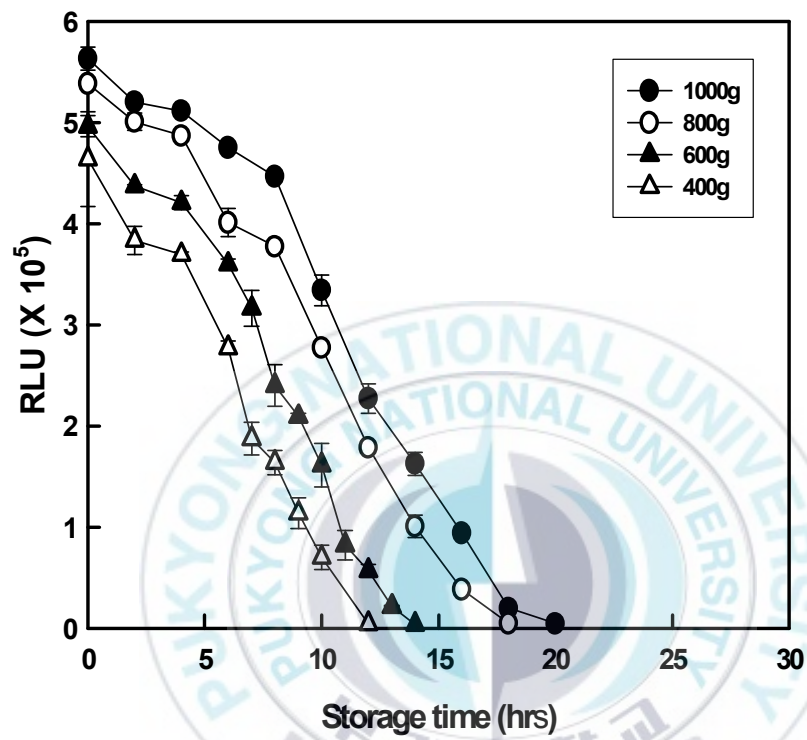


Fig. 35. Changes of RLU on the muscle in Black rockfish during ice storage.

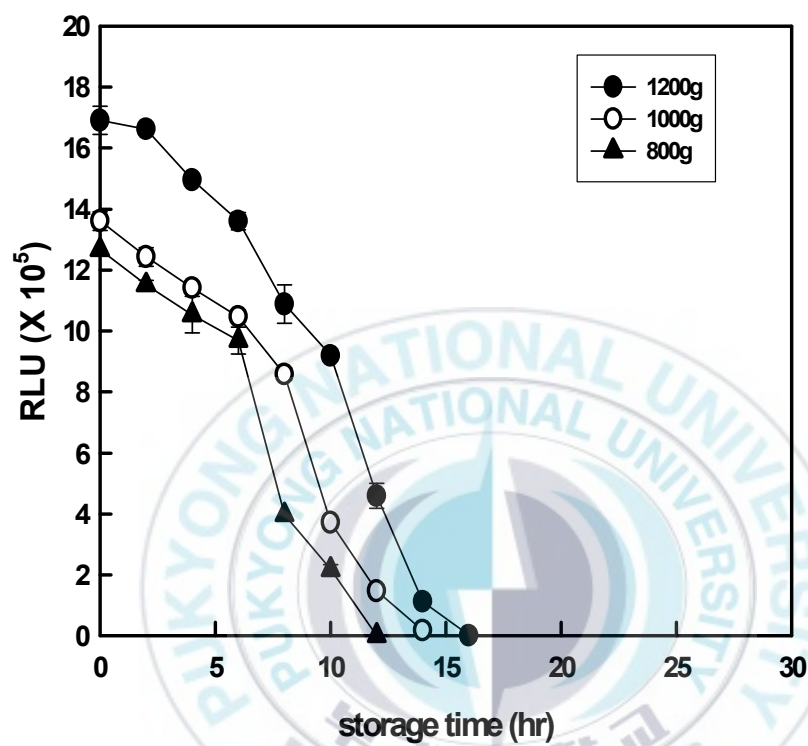


Fig. 36. Changes of RLU on the muscle in Red seabream during ice storage.

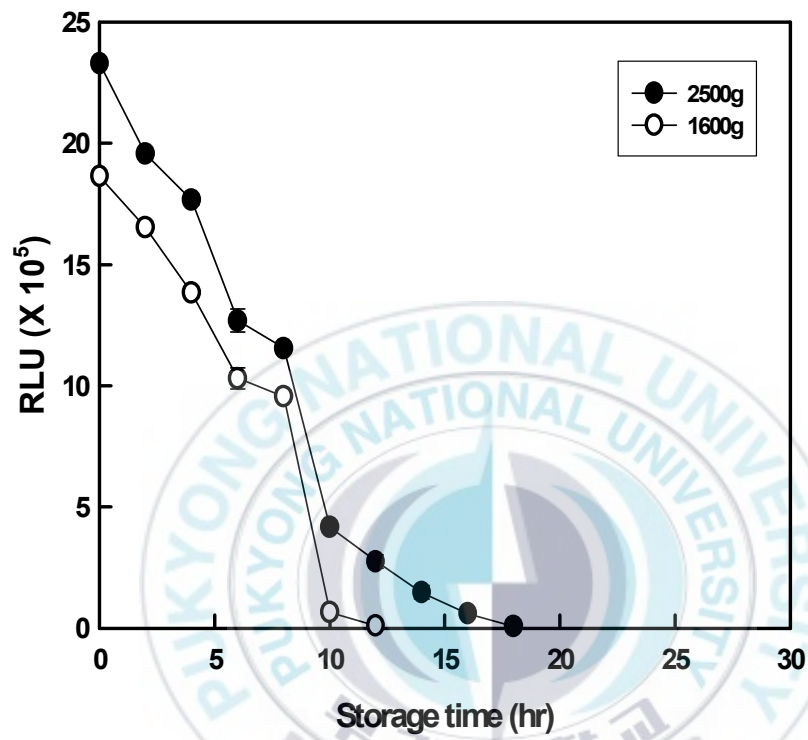


Fig. 37. Changes of RLU on the muscle in Red drum during ice storage.

3. 휴대용경도계에 의한 육질의 단단함의 측정 방법 확립

휴대용경도계를 이용하여 파괴강도 값을 측정하기 위해서 Fig. 38과 같이 원기둥모양과 반구모양의 plunger의 적합성 여부를 확인하고자 하였다. 납치 싱싱회를 제조하여 육표면에 두 가지 모양의 도구를 이용하여 파괴강도 값을 측정한 결과(Fig. 39), 원기둥 모양을 사용한 파괴강도 값은 저장 10시간까지 약간 증가하였다가 감소하는 경향을 나타냈으나, 반구모양을 사용하여 측정한 파괴강도 값의 변화는 저장기간 동안 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 그러므로 레오메타를 이용한 파괴강도 값의 변화와 유사한 결과가 나타나는 원기둥을 이용하여 기타 어종에 대한 파괴강도 값을 측정하였다.

Fig. 40은 휴대용경도계의 원기둥모양 plunger를 이용하여 조피볼락 싱싱회의 파괴강도를 측정한 결과이다. 저장 3시간에는 0.49 ± 0.05 kg, 저장 10시간에는 0.50 ± 0.05 kg의 파괴강도를 나타내어 편차가 크지만 저장 10시간 이후보다는 다소 높은 값을 나타내었다. 저장 10시간까지는 평균 0.5 ± 0.1 kg. 그 이후에는 평균 0.4 kg의 값을 나타내었다.

Fig. 41은 참돔의 저장기간 동안 서서히 감소하는 파괴강도 값을 나타내었으며, 저장 3시간에는 0.40 ± 0.01 kg, 저장 10시간에는 0.42 ± 0.04 kg, 저장 10시간 이후에는 0.32~0.42 kg 사이의 값을 나타내었다.

이상의 결과에서 휴대용경도계를 이용한 파괴강도값 측정은 레오메타를 이용한 경우와 마찬가지로 10시간까지는 파괴강도 값이 일정하게 유지되거나 다소 증가하였다가 저장 10시간 이후에는 감소하는 경향을 나타냈으며, 이는 실험값의 편차가 크며 실험자간의 누르는 힘의 차이 등에 의하여 고도로 숙련된 자에 의해서 실험이 행해져야 하는 문제점 있으므로 현장에서의 싱싱회 유통시간을 판정에는 부적합하였다.



Hardness tester

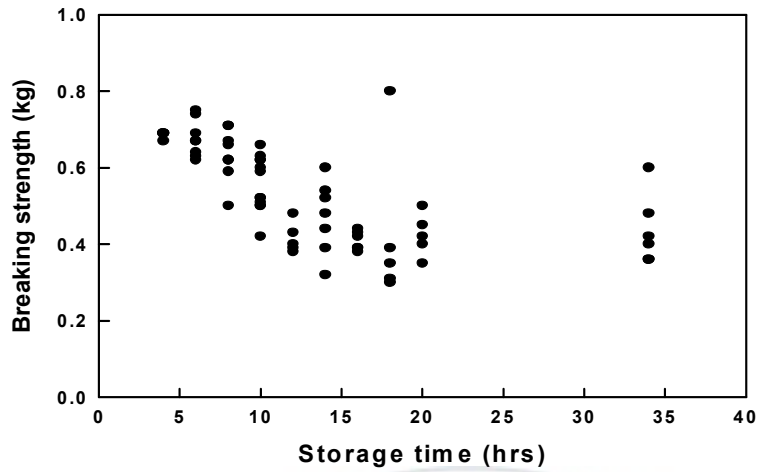
Gauge of Hardness tester



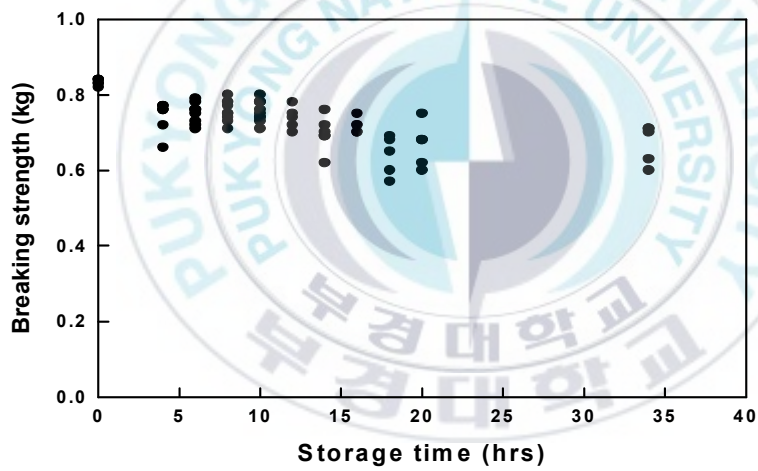
hemisphere plunger

Cylinder plunger

Fig. 38. Hardness tester.



(A) Using of hemisphere plunger



(B) Using of cylinder plunger

Fig. 39 Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in olive flounder during ice storage.

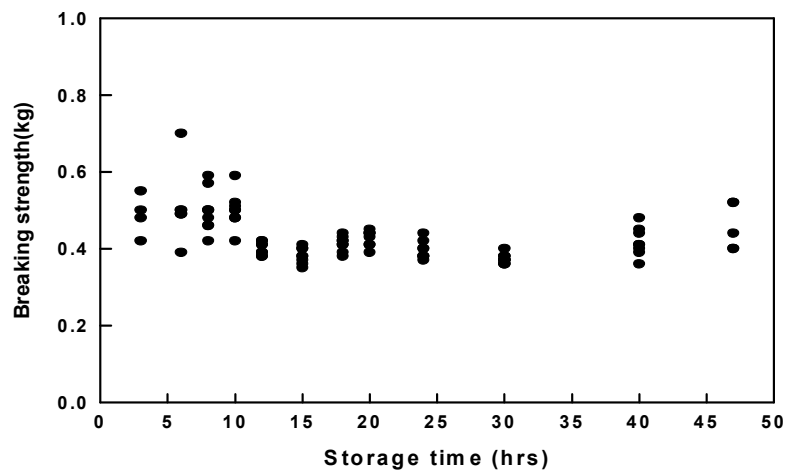


Fig. 40 Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in rock fish during ice storage.

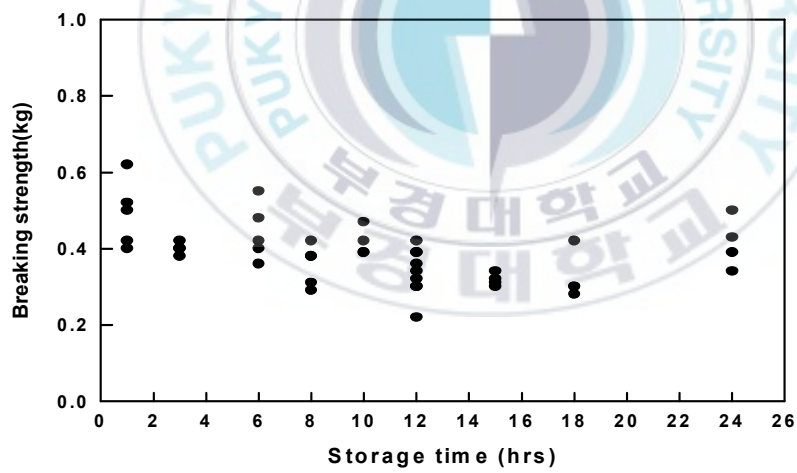


Fig. 41 Change of breaking strength which measured with hardness tester on the muscle in red seabream during ice storage.

4. 싱싱회 경과시간에 따른 RLU값의 수치화

4.1. HPLC와 루미노메타에 의한 ATP 함량 결과의 상관성 분석

1,200 g, 800 g, 600 g 크기의 넙치를 싱싱회로 제작하여 HPLC와 루미노메타를 이용하여 어육 중의 ATP 함량을 측정하였다(Fig. 42). 크기가 클수록 다소 높은 RLU 값을 나타내었으며, HPLC로 분석한 어육 중의 ATP 함량과 루미노메타로 분석한 ATP 함량은 싱싱회 경과시간에 따라 거의 유사하게 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 넙치의 크기별에 따른 RLU 값의 변화와는 초기값이 다소 차이를 보였으나, 저장 10시간 경과 시에는 비슷한 RLU 값을 나타내었다. 1,200 g의 넙치의 초기 RLU 값은 $2,154,360 \pm 5,335$ RLU를 나타내었으며, 이때 HPLC로 분석한 ATP 함량은 $9.81 \mu\text{mol/g}$ 이다. 10시간 경과에는 각각 $1,616,368 \pm 2,817$ RLU, $7.53 \mu\text{mol/g}$, 18시간 경과에는 $694,464 \pm 33,443$ RLU, $1.84 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다. 800 g에서는 초기 RLU 값이 $1,872,930 \pm 21,867$ RLU이며, HPLC로 분석한 결과는 $8.13 \mu\text{mol/g}$ 으로 나타났다. 저장 10시간 경과에는 $1,138,013 \pm 16,955$ RLU, $6.70 \mu\text{mol/g}$, 600 g에서는 초기 RLU 값이 $1,594,359 \pm 15,903$ RLU로 나타났으며 이때 HPLC로 분석한 결과는 $7.89 \mu\text{mol/g}$, 10시간 경과에는 $922,900 \pm 13,161$ RLU, $5.22 \mu\text{mol/g}$ 로 나타났다.

Fig. 43은 어종별 싱싱회 경과시간에 대한 HPLC와 루미노메타를 이용한 어육 내의 ATP 함량을 측정한 결과로써, 두 값들의 감소 경향이 유사하였다. 싱싱회의 경과시간을 실험실에서 고가의 장비인 HPLC로 분석하는 결과와 현장에서 소형균질기를 이용하여 루미노메타를 분석한 결과와의 상관성이 매우 높으므로, 루미노메타를 이용하여 현장에서 신속, 정확한 싱싱회의 경과시간을 판정할 수 있을 것으로 판단된다.

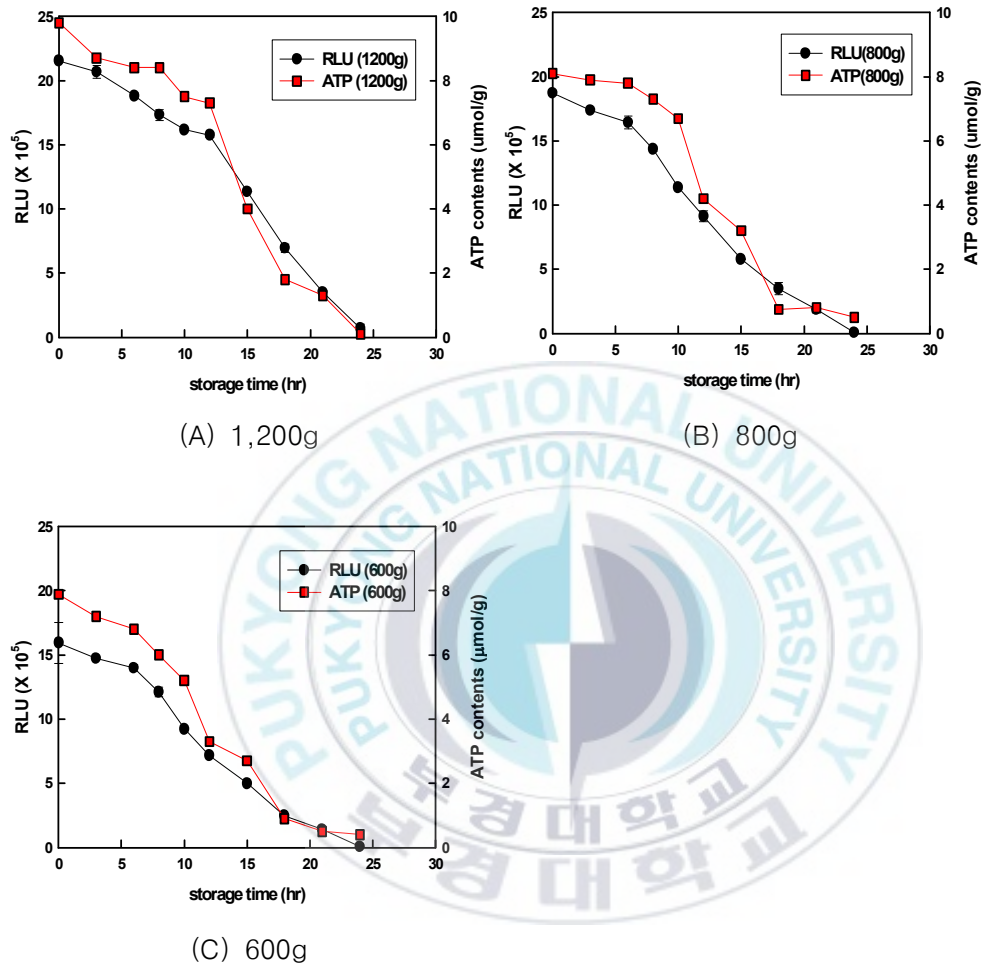


Fig. 42. Relationship between the ATP concentration that measuring with HPLC and Lumitester on the muscle in olive flounder.

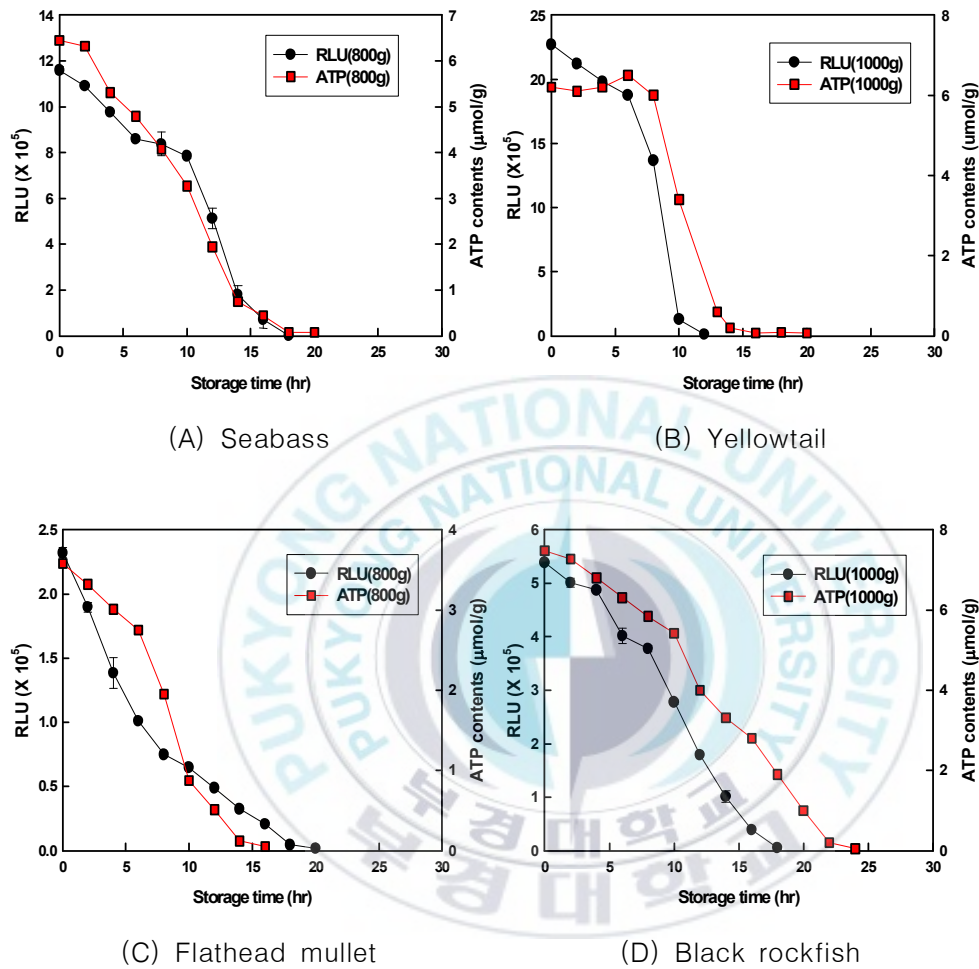


Fig. 43. Relationship between the ATP concentration that measuring with HPLC and Lumitester on the muscle in various fishes.

4.2. 레오메타와 휴대용경도계에 의한 파괴강도 결과의 상관성 분석

레오메타(물성측정기)와 휴대용경도계(과일경도계)를 이용하여 활어의 근육의 단단함을 조사한 결과 값의 차이는 있으나 전체적인 경향은 유사하게 나타나 휴대용경도계를 이용하여 신속한 품질 판정이 가능할 것으로 판정된다. 그러나 활어의 등육을 필렛을 뜨고, 틀을 이용하여 근육을 전처리하기에는 시간적인 부분이 많이 소요되는 문제가 있다. 그러므로 일정형태의 틀을 사용하지 않고 넙치 싱싱회 육에 바로 측정하여 상관성을 조사한 결과, 일정크기의 틀을 이용한 결과와 비슷하게, 레오메타에서 측정한 값에 1 kg 정도 낮게 나타났으며, 두 값의 상관성이 $r=0.69$ 로 측정되었다(Fig. 44). 휴대용경도계를 이용하여 싱싱회의 육에 대한 파괴강도를 측정할때는 실험자간의 누르는 힘이 다르며, 무엇보다 숙련된 기술을 요하는 문제가 있고, 경과시간에 따른 각 값들의 편차가 매우 적어 싱싱회 경과시간을 판정하기에는 다소 어려움이 있을 것으로 판단된다. 이결과 현장에서 싱싱회의 유통시간 판정에 루미노메타를 이용한 RLU 값의 측정은 적합하나 휴대용경도기를 이용한 근육의 단단함 측정은 적합하지 않은 결과를 얻을 수 있다.

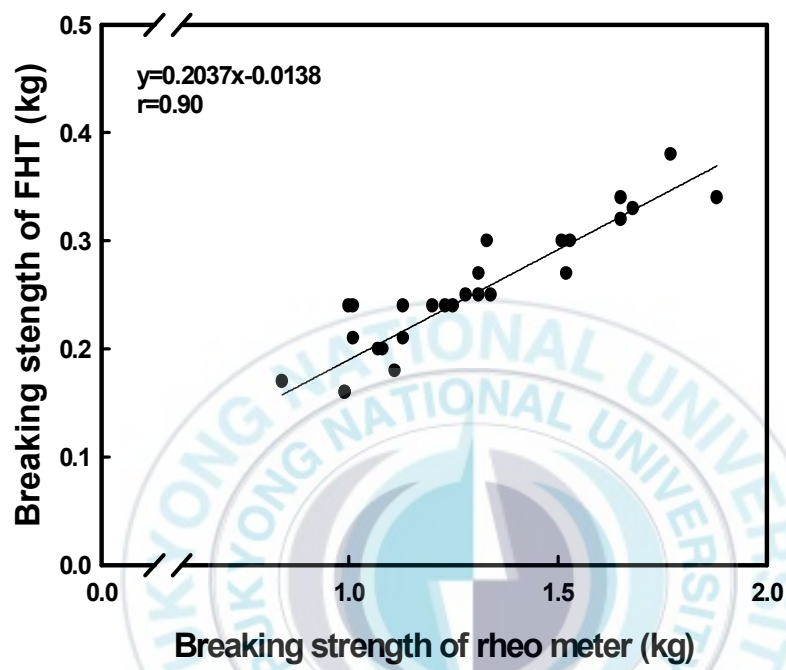


Fig. 44. Relationship between breaking strength that measuring with Rheometer and hardness tester on the muscle in various fishes.

4.3. 싱싱회 경과시간에 따른 어종별 RLU 값의 수치화

루미노메타를 이용하여 측정된 ATP 함량에 대한 RLU 값을 이용하여 싱싱회 유통시간을 판정하고자 하였다. Fig. 31~37에서 살펴본 어종별, 크기별에 따른 RLU 값의 변화에서 알 수 있듯이, 싱싱회는 어종별로 감소하는 경향이 다르게 나타나므로 하나의 통일된 RLU 값을 모든 어종의 싱싱회 경과시간에 적용하기에는 다소 무리가 있을 것으로 판단되며, 싱싱회의 경과시간에 대한 범위를 하나의 범주로 국한시키기에는 매우 어려움이 있다. 어종별로 각기 다른 RLU 값의 범위를 적용하기 위해서는 어종별로 싱싱회의 경과시간에 따른 ATP 함량의 변화를 정확하게 확인하여야 할 것이다.

그러므로 RLU 값을 이용한 싱싱회 경과시간은 다음의 결과와 같이 어종별, 크기별로 나누어서 범례를 결정하여야 된다. 앞서 살핀, 원료어를 각각 50미씩 싱싱회로 제작하여 빙장 중 ATP 함량을 조사하여 Table 5의 수식을 도출하였으며, 이 수식을 통하여 어종별로 싱싱회 경과시간, 5시간, 7.5시간, 10시간, 15시간, 24시간에 해당되는 RLU 값의 범위를 정하였다(Table 4). 이때, 경과시간에 따라 계산된 값에 대한 5% 내외의 편차를 각 시간별에 따른 RLU 값의 범위로 선정하였다.

Table 4. Equation for the time elapsed of sliced fresh fish (Shingshinghoe)

Fish species	Equation
Olive flounder	
- 1,200 g	$Y=166.90X^3-8170.9X^2+16582.1X+2.11\times10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,000 g	$Y=245.76X^3-9756.94X^2+11549.1X+1.98\times10^6$ ($R^2=0.99$)
- 800 g	$Y=258.68X^3-9235.84X^2-2370.12X+1.86\times10^6$ ($R^2=0.99$)
- 600 g	$Y=232.68X^3-8116.7X^2-2973.94X+1.58\times10^6$ ($R^2=0.99$)
Sea bass	
- 1,200 g	$Y=257.97X^3-10283.8X^2+46322.4X+1.22\times10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,000 g	$Y=200.33X^3-7754.17X^2+13289.5X+1.18\times10^6$ ($R^2=0.98$)
- 800 g	$Y=118.63X^3-5536.74X^2-4693.37X+1.13\times10^6$ ($R^2=0.97$)
Yellowtail	
- 1,000 g	$Y=1212.33X^3-40069.3X^2+112981X+2.19\times10^6$ ($R^2=0.95$)
- 800 g	$Y=-2339.75X^3+5732.52X^2-42590.9X+2.08\times10^6$ ($R^2=0.99$)
- 600 g	$Y=4698.11X^3-95552.4X^2+292180X+1.77\times10^6$ ($R^2=0.92$)
Flathead mullet	
- 1,000 g	$Y=-18.17X^3+1182.43X^2-29830.1X+2.78\times10^5$ ($R^2=0.97$)
- 800 g	$Y=-30.69X^3+1489.66X^2-29349.1X+2.35\times10^5$ ($R^2=0.99$)
- 600 g	$Y=-63.31X^3+2269.32X^2-33234.9X+2.10\times10^5$ ($R^2=0.99$)
- 400 g	$Y=-110.28X^3+2779.02X^2-28106.1X+1.52\times10^5$ ($R^2=0.98$)
Rock fish	
- 1000 g	$Y=138.35X^3-4756.25X^2+12443.1X+5.43\times10^5$ ($R^2=0.99$)
- 800 g	$Y=137.75X^3-4296.73X^2+3255.17X+5.28\times10^5$ ($R^2=0.98$)
- 600 g	$Y=240.10X^3-6313.57X^2+6430.68X+4.81\times10^5$ ($R^2=0.99$)
- 400 g	$Y=259.96X^3-5510.05X^2-8968.32X+4.54\times10^5$ ($R^2=0.99$)
Red seabream	
- 1,200 g	$Y=488.24X^3-16136.7X^2+25405.6X+1.67\times10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,000 g	$Y=644.15X^3-18026.2X^2+30398.5X+1.32\times10^6$ ($R^2=0.97$)
- 800 g	$Y=1125.34X^3-25886X^2+44747.5X+1.23\times10^6$ ($R^2=0.96$)
Red drum	
- 2,500 g	$Y=614.44X^3-11641X^2-115196X+2.31\times10^6$ ($R^2=0.99$)
- 1,600 g	$Y=566.47X^3-15470.9X^2-55032.4X+1.84\times10^6$ ($R^2=0.96$)

Table 5. RLU range for the time elapsed of sliced fresh fish (Shingshinghoe)

Time	5hr	7.5hr	10hr	15hr	24hr
Species					
Olive flounder					
- 1,200 g	1,909,025 ~ 2,109,976	1,752,905 ~ 1,937,422	1,544,349 ~ 1,706,913	1,029,388 ~ 1,137,745	103,320 ~ 114,195
- 1,000 g	1,733,315 ~ 1,915,769	1,540,397 ~ 1,702,544	1,297,279 ~ 1,433,835	747,997 ~ 826,733	32,839 ~ 36,296
- 800 g	1,567,109 ~ 1,732,068	1,360,247 ~ 1,503,431	1,112,825 ~ 1,229,965	588,458 ~ 650,401	56,302 ~ 62,229
- 600 g	1,321,733 ~ 1,460,863	1,139,328 ~ 1,259,258	922,707 ~ 1,019,834	469,707 ~ 519,150	47,476 ~ 52,473
Sea bass					
- 1,200 g	1,165,425 ~ 1,288,101	1,042,896 ~ 1,152,675	867,173 ~ 958,455	448,048 ~ 495,211	-
- 1,000 g	1,023,753 ~ 1,131,516	881,613 ~ 974,414	700,918 ~ 774,698	295,230 ~ 326,306	-
- 800 g	933,796 ~ 1,032,091	791,735 ~ 875,075	615,621 ~ 680,423	203,499 ~ 224,920	-
Yellowtail					
- 1,000 g	1,809,478 ~ 1,999,949	1,230,166 ~ 1,359,657	498,950 ~ 551,471	-	-
- 800 g	1,631,995 ~ 1,803,784	1,041,143 ~ 1,150,737	-	-	-
- 600 g	1,357,886 ~ 1,500,821	540,116 ~ 596,970	-	-	-
Flathead mullet					
- 1,000 g	148,332 ~ 163,946	107,464 ~ 118,776	75,783 ~ 83,761	33,508 ~ 37,035	-
- 800 g	115,577 ~ 127,743	81,441 ~ 90,014	56,796 ~ 62,774	25,040 ~ 27,676	-
- 600 g	88,013 ~ 97,277	58,595 ~ 64,763	39,209 ~ 43,337	7,982 ~ 8,822	-
- 400 g	63,802 ~ 70,518	48,450 ~ 53,550	36,633 ~ 40,489	-	-
Rock fish					
- 1,000 g	478,423 ~ 528,783	405,793 ~ 448,508	313,648 ~ 346,664	120,100 ~ 132,743	13,856 ~ 15,314
- 800 g	431,373 ~ 476,780	350,394 ~ 387,278	255,197 ~ 282,060	71,221 ~ 78,718	33,690 ~ 37,237
- 600 g	366,060 ~ 404,593	261,615 ~ 289,153	146,347 ~ 161,752	-	-
- 400 g	288,707 ~ 319,097	177,145 ~ 195,791	69,608 ~ 76,935	-	-
Red seabream					
- 1,200 g	1,381,908 ~ 1,527,373	1,100,887 ~ 1,216,770	758,695 ~ 838,557	64,730 ~ 71,543	-
- 1,000 g	1,046,763 ~ 1,156,949	765,477 ~ 846,054	442,239 ~ 488,791	-	-
- 800 g	899,892 ~ 994,618	555,058 ~ 613,485	203,504 ~ 224,926	-	-
Red drum					
- 2,500 g	1,443,810 ~ 1,595,790	997,919 ~ 1,102,963	577,961 ~ 638,799	34,742 ~ 38,399	-
- 1,600 g	1,186,431 ~ 1,311,318	756,198 ~ 835,798	293,603 ~ 324,509	-	-

결론

본 연구에서는 현재 유통되고 있는 싱싱회의 선도 관리 측면의 올바른 유통 시스템의 확립을 위해서 제품화된 싱싱회의 유통시간을 판정하는 지표물질을 선정하였고, 이를 측정하기 위해 Bioluminescence 원리를 이용한 기술개발과 어종별 경과시간에 따른 감소되는 범위를 제시하였으며, 결론은 다음과 같다.

1. 유통되고 있는 싱싱회의 유통시간을 판정하기 위한 판정 지표물질로는 생선회의 쫄깃쫄깃한 식감에 관계되는 파괴강도와 어육의 생체에너지의 함량을 측정하는 ATP를 지표물질로 제시하였으나, 휴대용경도계를 이용하는 파괴강도 측정은 실험자간의 동일한 숙련된 기술을 요하는 문제로 인해 판정이 불가능하여 ATP를 싱싱회의 유통시간을 판정하는 지표물질로 선정하였다. ATP의 분석조건으로는 소형균질기로 어육 0.5 g과 0.5 M phosphate buffer (pH 6.8) 10 mL를 취해 40초, 16,000 RPM 조건으로 ATP를 추출하여 루미노메타로 빛의 발광 수치인 RLU 값을 분석하는 방법을 선정하였다.

2. ATP 분석에서 HPLC법의 결과와 루미노메타의 결과가 높은 상관성을 가지므로, 현장에서의 이용 가능한 루미노메타를 이용하여 ATP 함량을 측정하여 싱싱회의 유통시간을 확인할 수 있으며, 어종별 시간에 따른 RLU 값을 싱싱회의 유통시간에 따른 ATP 함량의 감속에 따른 수식을 도출하여 RLU 값의 범위를 설정하였다.

3. 넙치 싱싱회의 RLU 값은 저장 시간에 따라 서서히 감소하여 저장 10 시간 경과 후에는 급격히 감소하였으며, 어종의 크기가 작을수록 초기값에 비해 큰 감소폭을 나타내었다. 저장 16시간에는 전 크기에서 초기값의 96~99 % 감소하였다. 농어 싱싱회에서는 저장 초기에서 저장 10시간까지는 넙치와 유사한

결과를 나타냈으며, 저장 10시간 이후 급격히 감소하여 어종의 크기가 작을수록 초기값에 비해 큰 감소를 나타내었다. 송어 싱싱회는 실험 대상 어종 중 가장 낮은 값을 가졌으며, 전체적으로 저장 초기 이후 시간에 따라 크게 감소하는 경향을 나타내었으며, 방어 싱싱회는 실험 대상 어종 중 초기값이 가장 높았고, 저장 시간에 따라 서서히 감소하였으며, 저장 7시간 이후 급격히 감소하여 저장 8~10시간에는 전체적으로 RLU 값이 거의 검출되지 않았다.

4. 조피볼락 싱싱회의 RLU 값은 시간에 따라 서서히 감소하는 경향을 보이며, 저장 10시간이후에는 1 kg에서는 초기값에 비해 40.7 % 감소한 결과를 800 g, 600 g, 400 g에서는 각각 48.4 %, 67.4 %, 84.89 %의 감소를 나타내었다. 참돔의 경우는 저장시간에 따라 감소하여 8~10 시간 이후에는 급격히 감소하여 12시간 이후에는 전체적으로 RLU 값이 거의 검출되지 않았으며, 홍민어에서는 전체적으로 저장시간에 따라 큰 감소폭을 나타냈으며, 저장 8시간 이후 급격히 감소하여 12~16시간 이후에는 RLU 값이 거의 검출되지 않았다.

본 연구는 ATP를 신속하게 측정하는 방법을 싱싱회의 유통시간 판정을 위해, 어육의 근육에 포함된 ATP 함량을 RLU 수치로 나타내어 저장시간에 따른 범위를 제시하였다. 이는 잘못된 싱싱회의 유통 근결과 싱싱회 유통시간의 부적합 여부를 현장에서 신속, 정확하게 측정하여 싱싱회 산업의 올바른 유통질서를 확립시켜 소비확대, 식문화의 개선과 생선회 관련 산업 및 수산업의 활성화에 기여할 것이라 여겨진다.

참고문헌

Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1991a. Post-mortem tenderization of fish muscle proceeds independently of resolution of rigor mortis. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1165-1169.

Ando, M., H. Toyohara, Y. Shimizu and M. Sakaguchi. 1991b. Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure. *J. Sci. Food Agric.*, 55, 589-597.

Bate-Smith, E.C. 1948. The physiology and chemistry of rigor mortis, with special reference to the aging of beef. *Adv. Food Res.* 1:1.

Bhaumik, S. and Gambhir, S. S. 2002. Optical imaging of Renilla luciferase report gene expression in living mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 377-382.

Bhaumik, S., Lewis, X. Z., and Gambhir, S. S. 2004. Optical imaging of Renilla luciferase, synthetic Renilla luciferase, and firefly luciferase reporter gene expression in living mice. *J Biomed Opt* 9, 578-586.

Bito, M., K. Yamada, Y. Mikumo and K. Amano. 1983. Studies on the rigor mortis of fish: 1. Difference in mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified cutting's method. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 109, 89.

Chiba, A., M. Hamaguchi, M. Kosaka, T. Kokuno, T. Asai and S. Chichibu. 1991. Quality evaluation of fish meat by phosphorus-nuclear

magnetic resonance. *J. Food Sci.*, 56, 660–664.

Chunyan, Y., L. Zhiping, S. Sen and W. Yingxu. 1995. A study on the amount of inosinic acid in the muscle of Songqujiang river carps and the meat keeping time. *Fish. Sci. Taiwan*, 14, 15–17.

Contag, C. H., Spilman, S. D., Contag, P. R., Oshiro, M., Eames, B., Demery, P., Stevenson, D. K., and Benaron, D. A. 1997. Visualizing gene expression in living mammals using a bioluminescent reporter. *Photochem Photobiol* 66, 523–531

Gill, T.A. 1992. Biochemical and chemical indices of seafood quality. In: Huss, H.H., Jakobsen, M and Liston, J. C.(eds.), *Quality assurance in the fish industry*. 1992. Elsevier Science Publishers B.W., Amsterdam. P. 377–388.

Hiroyasu O., K. Ohno and J. Ninomiya. 1990. Changes in texture during cold storage of cultured yellowtail meat prepared by different killing methods. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1673 –1678.

Haruhiko T. and Y. Shimizu. 1988. Relation of the rigor mortis of fish body and the texture of muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1795–1798.

Hoffman, R. M. 2004. Imaging tumor angiogenesis with fluorescent proteins. *Apmis* 112, 441–449

Iwamoto, M., H. Yamanaka, S. Watabe and K. Hashimoto. 1987. Effects of storage temperature on rigor–mortis and ATP degradation in plaice *Paralichthys olivaceus* muscle. *J. Food Sci.*, 52, 1514–1517.

Kennish, J. M. and D. E. Kramer. 1987. A review of high-pressure liquid chromatographic methods for measuring nucleotide degradation in fish muscle. In : Kramer, D. E. and J. C. Liston. Seafood quality determination. Elsevier Science Publisher B. V. Netherlands. P. 209-220.

Korhonen, R. W., T. C. Lanier and F. Giesbrecht. 1990. An evaluation of simple methods for following rigor development in fish. J. Food Sci., 55, 346-348, 368.

Misima, T., J. Fujii, K. Tachibana and M. Tsuchimoto. 1995. Influence of contracture on breaking strength in carp muscle. Fisheries Science, 61, 209-213.

Murata, M. and M. Sakaguchi. 1986. The effects of phosphatase treatment of yellowtail muscle extracts and subsequent addition of IMP on flavor intensity. Nippon Suisan Gakkaishi, 55, 1599-1603.

Nguyen, A. L., J.H.T. Luong and C. Masson. 1990. Determination of nucleotides in fish tissues using capillary electrophoresis. Anal. Chem., 62, 2490-2493.

Niesen, J. 1995. Sensory changes. In huss, H.H. (ed.) Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper. No. 348. Rome, FAO. P. 35-39

Robert D. Hamilton, Osmund Holm-Hansen. 1967. Adenosine Triphosphate Content of Marine Bacteria. Limnology and Oceanography, 12, 319-324.

Saito, T., K. Arai and M. Matsuyoshi. 1959. A new method for

estimating the freshness of fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 24, 749-750.

Sharp, A. N., M. W. Woodrow and A. K. Jackson. 1970. Adenosine triphosphate(ATP) levels in foods contaminated by bacteria. J. Appl. Bacteriol., 33, 758-767.

Shota, T., H. Takashi and S. Morihiko. 1999. The change in content of ATP and its related compounds in freshwater fish muscle during ice storage. Nippon Suisan Gakkaishi. 65, 97-102.

Tannous, B. A., Kim, D. E., Fernandez, J. L., Weissleder, R., and Breakefield, X. O. 2005. Codon-optimized *Gaussia* luciferase cDNA for mammalian gene expression in culture and in vivo. mol ther 11, 435-443

Tapani H. 1997. Adenosine triphosphate breakdown products as a freshness indicator of some fish species and fish products. Espoo, Technical Research Centre of Finland,. VTT Publications 297. p. 21.

김육용 · 조영제. 1992. 넙치육의 사후조기 변화: 1. 사후 조기변화와 온도의 존성의 관계. 한국수산학회지, 25, 189-196.

김재현 · 이남걸 · 김육용 · 이근우 · 조영제. 1993. 넙치육의 사후조기 변화: 3. 치사방법이 ATP관련물질과 유산함량의 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 26, 403-408.

박광서, 2007. 해양수산동향. 한국해양수산개발원.

옥영수, 2007. 넙치 양식업의 실태분석과 향후 발전방향. 월간해양수산, 271, 44-60.

이남걸 · 양무희 · 조영제. 1995. 전기자극이 넙치육의 사후조기의 물리화학적 및 물성적 변화에 미치는 영향. 한수지, 28, 23-30.

이남수. 2007. 양식 조피볼락의 수급불균형과 소비구조 변화. 월간해양수산. 271. 6-23.

조영제 · 김육용. 1993. 넙치육의 사후조기 변화: 2. 물리화학적 및 물성적 특성의 온도의존성. 한국수산학회지, 26, 1-7.

조영제 · 이남걸 · 김육용 · 김재현 · 이근우 · 김근배 · 최영준. 1994a. 넙치육의 사후조기 변화: 6. 치사방법이 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 27, 327-334.

조영제 · 이근우. 1994b. 넙치육의 사후조기 변화: 5. 저장온도가 근원섬유의 형태학적 및 육의 조직학적인 변화에 미치는 영향. 한국수산학회지, 27, 114-120.

조영제, 조민성, 김상무, 최영준. 1997. 마취사 및 무방혈이 넙치육의 사후조기의 물리화학적 변화에 미치는 영향, 한국수산학회지, 30, 589-594.

조영제, 2002. 생선회 100배 즐기기, 한글그라픽스.

조영제. 2004. 생선회가 웰빙이다, 한글그라픽스.

조영제. 2006. 생선회감 바로 알기, 한글그라픽스.

조영제 등, 2003. 횡감용 선어류의 소비촉진을 위한 안전성 확보기술 개발에 관한 연구. 해양수산부

조영제 등, 2004. 양식산 활어의 신속, 정확한 품질판정 기술개발에 관한 연구, 해양수산부

감사의 글

부족한 논문이 완성되기까지 세심한 지도와 끊임없는 관심으로 지도해 주시고, 지금도 기억에 남는 교수님과의 인연의 시작이 제가 이 자리에 있을 수 있었으리라 생각합니다, 지도교수님이신 조영제 교수님께 깊은 존경과 감사의 말씀을 전하고 싶습니다.

그리고, 논문발표와 심사과정에서 미처 착안하지 못한 부분까지도 교열하여 주시고 조언을 아끼지 않으신 전병수 교수님과 김영목 교수님께도 깊은 감사를 드립니다. 또한, 대학과 대학원의 모든 과정에서 식품공학도로 항상 자부심을 갖도록 인도해 주시고, 많은 지식과 지혜로움까지 일깨워 주신 이근태 교수님, 김선봉 교수님, 양지영 교수님, 이양봉 교수님, 안동현 교수님께도 깊은 감사를 전하고 싶습니다.

그리고, 수산가공실험실로 인연이 되어 항상 후배들을 걱정하시고 바르게 이끌어 주신 김태진 선배님, 이남걸 선배님과 늘 저희 못난이들을 대신하여 밤낮 고생만 하시는 심길보 선배님을 비롯한 이기봉 선배님, 김배의 선배님, 정호진 선배님, 김윤철 선배님, 오상민 선배님, 박철운 선배님, 김지연 선배님과 수산가공실험실을 사랑하시는 모든 선배님께 감사드립니다. 또한, 석사 생활동안 식구나 다름없이 지낸 동기 명진과 현규에게도 감사드리며, 후배 도훈, 성식, 윤석, 혜림, 윤강, 상원, 휘국, 호수, 두성, 희진, 명하, 원준, 아연, 용훈, 수현, 지년, 보경, 민경 후배들과 박지연을 비롯한 식품공학과 다른 실험실 식구들과 노현주 간사님에게도 고마움을 전하고 싶습니다.

그 외에도 항상 자주 만나지는 못해 늘 미안한 친구 선영, 상희, 은주, 효진, 혜영, 선희, 미애, 유정, 진숙을 비롯한 친구들과 옥정, 진화, 숙희, 갑미, 은경 등의 동생들과 손아형 선배를 비롯한 모든 선배님께도 감사드립니다.

마지막으로, 동생이지만 늘 친구와 다름없는 승애와 항상 큰 웃음과 든든한 집의 대들보 역할을 하는 병노 오빠와 늘 사랑과 믿음으로 감싸 주시고 편하게 쉬실 나이신대도 못난 자식들로 인해 고생만 하시는 부모님께 머리 숙여 감사드립니다. 부모님에 대한 저의 마음은 평생을 효도로 꼭 약속드리겠습니다.

늘 건강하시고 늘 행복하시길 바랍니다.