

植物性食用油로 사육한 토끼근육의 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 미치는 금속의 영향

식품영양과 수 남 현 근
식품제조과 전임 강사 장 인 애

I. 서 론

토끼근육의 Myofibrillar protein의 ATPase 활성에 관하여 많은 연구보고가 있으며¹⁻³ 도살 시간 경과에 따른 Myofibrillar ATPase 활성에 관한 보고도 있다.⁴⁻⁶ 그러나 EDTA, Ca²⁺, Mg²⁺ 등이 ATPase 활성에 미치는 영향⁷⁻⁹과 식이에 의한 ATPase 활성에 관하여 몇편 보고된 바¹⁰⁻¹² 있으나 식물성 식용유를 급여한 토끼근육의 ATPase 활성에 억제작용을 할 수 있는 금속이온의 농도에 관하여 거의 조사되어 있지 않았다. 한편 Trypsin으로 처리한 후 ATPase의 활성변화에 대한 보고가 있을뿐이다.¹²⁻¹⁴ 이에 필자는 식물성 식용유로 사육한 토끼근육의 Myofibrillar ATPase 활성에 미치는 EDTA, Ca²⁺, Mg²⁺의 영향을 정량적으로 조사하였으며 Pepsin과 Trypsin의 소화에 미치는 영향도 아울러 조사 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이방법

실험에 사용한 토끼는 Chin-Chilla종으로 전남 화순군 화순읍에서 생후 40일 된것을 구입하여 1개월간 Table 1과 같은 식이로 사육하였다. 실험동물은 각군 2마리 씩 4개군으

Table 1. Composition of Gaecal Dists for Rabbit (Unit: %)

Food	Ingredient	Protein	Fat	Carbohydrate	Ash
Corn	36	7.95	3.23	1.90	1.41
Wheat	36	11.96	1.10	3.16	1.50
Wheat bran	2	28.58	13.73	5.98	13.61
Soybean meal	2	28.58	15.41	6.15	16.02
Soybean rind	7	44.49	1.61	5.97	5.68
Rapeseed rind	7	37.01	2.41	11.50	7.45
Fish meal	10	47.24	2.92	1.25	25.53

Table 2. Saponification and Iodine Numbers, Fatty Acid Composition

Oil	Saponification number	Iodine number	Fatty Acid(%)				
			C 16	C 18	C 18=1	C18=2	C18=3
Perilla	193	201	5.9	1.9	18.3	14.5	58.1
Soybean	189	127	12.7	3.5	24.3	50.2	9.1
Rice bran	183	102	0.4	20.7	46.1	30.8	1.3

로 나누어 사육장의 온도를 $25^{\circ}\pm 3^{\circ}\text{C}$ 로 유지하고 환경에 적응시키기 위하여 6일 동안 기본식이 (Table 1)에 녹색 사료(클로바+아카시아 잎)를 섞어 먹였다. 환경에 적응시킨 다음 실험동물에 기본식이 50g을, 식용유는 5g씩을 급여하였다. 물은 자유로 먹도록 하였으며 사료는 오전 7시 12시, 오후 5시, 9시에 주었다, A(대조군): 기본식이 B군: 기본식이+ 들깨기름 C군: 기본식이+콩기름 D군: 기본식이+미강유

2. 실험재료

식이사육이 끝난 토끼를 공복시에 도살하여 대퇴부에서 근육을 적출하여 4°C 냉장고에 보관하면서 실험하였다.

3. Myofibrillar protein 조제

Myofibrillar protein의 조제는 양¹²의 방법에 따라 행하되 도살후 24시간 이내에 행하였다

4. ATPase 활성도 측정^{15~16}

반응혼합물은 Myofibrillar protein 0.26gm/ml , 1mM MgCl_2 , 1mM ATP , 25mM Tris-HCl buffer(pH 8.0)을 water bath($36\pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 5분동안 배양시키고 4% TCA를첨가하여 반응을 정지시키고 유리된 Phosphorus(Pi)을 정량하여 1mg 의 단백질에서 1분동안에 유리되어 나오는 무기인의 μmole 로서 표시 하였다.

5. 소화율 측정^{17,18}

소화율 측정용 시료는 도살 직후 근육을 적출하여 Dry Oven($80\pm 3^{\circ}\text{C}$)에서 건조 시킨후 Soxhlet 지방추출법에 의하여 5시간동안 지방을 추출하고 잔사를 분쇄하고 100mesh sieve 를 통과시켜 시료로 사용하였다.

시료 0.3gr 을 정칭하여 소화관에 넣고 0.01M HCl 존재하에서 효소 $10\mu\text{g}$ 을 가하고 $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ water bath에서 30분동안 소화시킨후 반응을 종결시키고 Biuret방법으로 단백질을 측정하였다. 검량선은 micro-kjeldahl법으로 행하였다. 소화율을 구하는 식은 다음과 같다.

$$\text{소화율} = 100 - \left(\frac{\text{소화되지 않은 질소의양} \times 6.25}{\text{시료의 조단백질 량}} \right) \times 100$$

III. 결과 및 고찰

1. 근원섬유 단백질의 Mg-ATPase활성

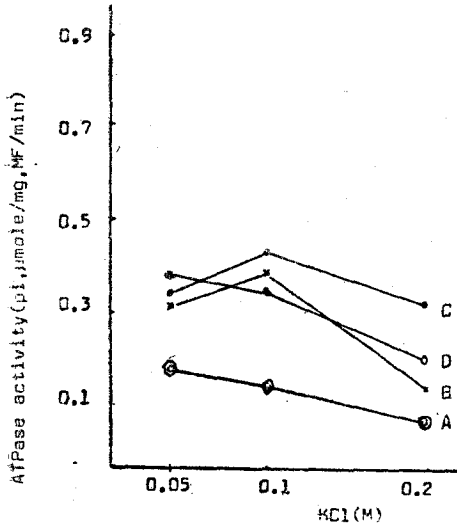


Fig. 1. Effect of KCl on Mg-Activated ATPase Activity on Myofibrill of Rabbit fed Vegetable Oils.

ATPase Assay: 0.25mg/ml Myofibrill
1 mM MgCl₂, 1mM ATP
25 mM Tris-HCl Buffer

A: Control group B: Perilla Oil fed
C: Soybean oil fed D: Rice bran oil fed

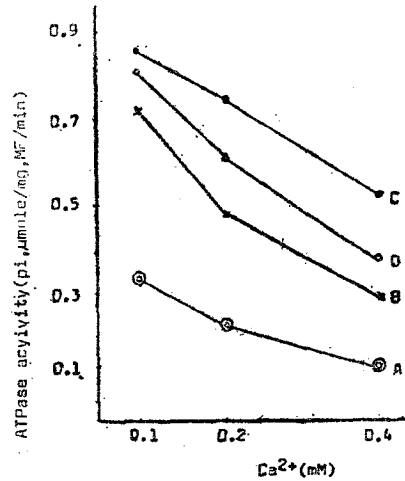


Fig.2. Effect of EDTA on Mg-Activated ATPase Activity of Myofibrill of Rabbit fed Vegetable Oils.

A: Control group B: Perilla oil fed
C: Soybean oil fed D: Rice bran Oil fed

그림1에서 KCl 농도변화에 따라 Mg-ATPase 활성정도를 보여준 것인데 KCl의 농도가 증가 할수록 효소활성은 저하되고 KCl의 농도가 감소하면 효소활성은 증가됨을 보여주고 있다. 그런데 대조군과 실험군 사이에 상당한 차를 보여 식용유를 먹인군의 효소 활성이 더 높게 나타남을 알 수 있었다. 한편 KCl의 농도가 0.5M~1.0M 범위에서 효소활성이 감소된 것을 보여준 군은 콩기름 급여군과 미강유 급여군 이었다.

2. 근원섬유 단백질의 Mg-ATPase 활성에 미치는 EDTA의 영향

그림2에서 볼 수 있는 것과 같이 대조군의 효소활성이 식물성 기름을 먹인군의 효소활성보다 낮게 나타났으며 EDTA농도가 0.2mM이상에서 효소활성이 현저히 감소됨을 보여주고 있다. 고¹⁹등은 산양육에 EDTA를 가하여 억제작용을 보였는데 저농도의 KCl에서 효과가 크고 고농도에서 효과가 낮았다고 하였다. EDTA첨가로 Myosin-ATPase활성 증가에 관하여 Friess²⁰는 Ca²⁺이 존재하지 않으면 10⁻⁴M 이상에서 Myosin의 탈인산화가 가속화된다고 하였다.

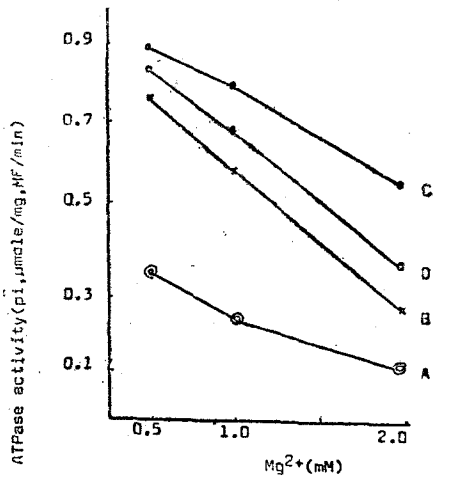


Fig. 3. Effect of Ca^{2+} on Mg-Activated ATPase Activity of Myofibrill of Rabbit fed Vegetable Oils.

A: Control group B: Perilla oil fed
C: Soybean oil fed D: Rice bran oil fed

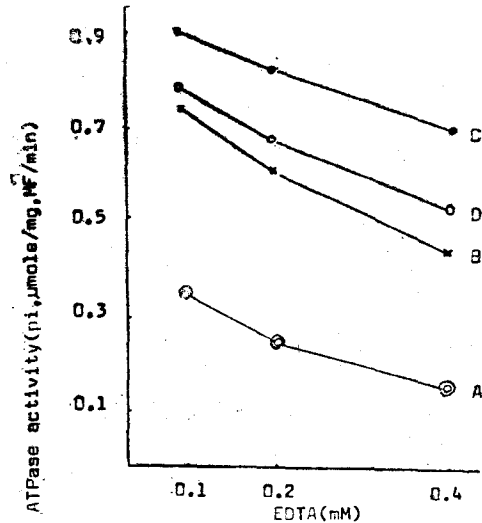


Fig. 4. Effect of Mg^{2+} on Mg-Activated ATPase Activity of Myofibrill of Rabbit fed Vegetable Oils.

A: Control group B: Perilla oil fed
C: Soybean oil fed D: Rice bran oil fed

3. 근원섬유 단백질의 Mg-ATPase 활성에 미치는 Ca^{2+} 의 영향

그림3에서 Ca^{2+} 이 효소활성에 미치는 영향을 나타낸 것인데 Ca^{2+} 농도가 2.2mM을 첨가하면서 효소활성이 감소되어 억제작용을 보여주고 있다. Bendall⁶은 Ca^{2+} 농도가 actomyosin-ATPase활성에 영향을 준다고 하였으며 Ca^{2+} 농도가 증가하면 Myofibrillar ATPase 활성도는 크게 감소된다고 보고하였고 Gergely¹⁰, Huxley¹¹등의 보고한 것과 같은 경향이였다.

4. 근원섬유 단백질의 Mg-ATPase활성에 미치는 Mg^{2+} 의 영향

그림4에서 알 수 있는 것과 같이 Mg^{2+} 의 농도가 1.0mM 이상을 첨가하면 효소활성은 현저히 감소되어 억제작용을 보여주고 있다.

5. 토끼고기의 invitro소화율

식물성 식용유를 급여한 토끼근육의 pepsin과 Trypsin에 의한 invitro소화율을 측정할 결과는 다음 표와 같다.

한편 송아지 근육의 invitro pepsin소화율이 S. Maleth²¹에 의하여 Hellen과 Waster²²는 어분의 invitro 소화과정에서 89% 이상의 소화율을 나타냈다고 하였으며 C. Maten²³는 소 근육 단백질을 여러가지 식용유로 튀겨 소화율을 조사하여 면실유를 먹인것이 높다고 하였다.

Table 3. The Digestibility of Rabbit Muscle Treated with Pepsin at 36°C for 30 Minutes.

Group	Protein of Sample	Undigested Nitrogen	Nitrogen Coefficient	Digestibility (%)
Control	0.287	0.013	6.26	71.66
Perilla Oil	0.490	0.023	6.25	70.62
Soybean Oil	0.346	0.019	6.25	67.93
Rice bran Oil	0.828	0.017	6.25	86.79

Table 4. The Digestibility of Rabbit Muscle Treated with Trypsin at 36°C for 30 Minutes.

Group	Protein of Sample	Undigested Nitrogen	Nitrogen Coefficient	Digestibility (%)
Control	0.287	0.012	6.25	73.87
Perilla Oil	0.490	0.018	6.25	77.93
Soybean Oil	0.361	0.013	6.25	76.52
Rice bran Oil	0.828	0.012	6.25	90.22

한편 pepsin으로 처리하여 미강유를 급여한 군의 소화율이 86.43%로 가장 좋았고, 콩기름 급여군이 67.11%, 들깨기름 급여군이 70.66%, 대조군이 71.78%의 소화율을 나타냈으며 Trypsin으로 처리하면 미강유 급여군이 90.94% 콩기름 급여군이 75.76% 들깨기름 급여군이 77.04% 대조군이 73.87%를 나타냈다. 이상에서 알 수 있는 것은 단백질 소화에서 Trypsin의 작용이 더 강한것을 알 수 있었으며 미강유를 먹인군이 소화율이 가장 높게 나타났다.

IV. 결 론

식물성 식용유를 첨가하여 사육한 토끼근육에서 근원섬유 단백질을 추출하여 ATPase활성과 이것에 미치는 금속의 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 근원섬유 단백질의 ATPase활성은 KCl의 농도가 크면 효소의 활성은 감소되고 농도가 감소하면 효소의 활성은 증가되었으며 식물성 기름을 급여한 군의 ATPase활성이 더 높게 나타났다.

2. 근원섬유 단백질의 ATPase활성에 EDTA는 농도가 0.2mM 이상부터 억제작용이 나타나기 시작하였다.

3. 근원섬유 단백질의 ATPase활성에 미치는 금속으로서 Ca^{2+} 은 농도가 0.2mM 이상에서부터 Mg^{2+} 은 농도가 1.0mM 이상에서 부터 효소활성이 저해되었음을 보여 주었다.

4. 토끼근육의 invitro소화율을 pepsin과 Trypsin으로 처리하여 각각 대조군은 71.66%와 73.87%, 들깨기름 급여군은 70.62%와 77.93%, 콩기름 급여군은 67.93%와 76.52%, 미강유 급여군은 86.79%와 90.22%를 나타내 미강유 급여군의 소화율이 Pepsin, Trypsin의 경우에 가장 좋았고 Trypsin에 의한 소화율이 더 좋게 나타났다.

參 考 文 獻

1. S. Ehashi and F. Ebashi: *J. Biom Cham.*, **55**: 604, 1964.
2. R. Yang, C.J. Kim, V.H. Moon and J.H. Yu: *Korean J. Food Sci. Technol.*, **6**: 79, 1974
3. M. Fujimaki, A. Okitar, N. Arakawa and O. Takagae: *Agr. Biol. Chem.*, **29**: 700, 1965.
4. Bendall, J.R.: *J. Physiol.*, **114**: 71, 1951.
5. De Fremery D. and M.F. Pool: *Food Res.*, **25**: 73, 1960.
6. Bendall, J.R.: *The structure and function of Muscle*, Academic Press, N.Y. p.227, 1960.
7. Toolsee J. Singh and Jarry H. Wang: *J. Biol. Chem.*, **252**: 625, 1977.
8. M.G. Galo, B. Blojand R. N. Farias: *J. Biol. Chem.*, **250**: 6204, 1975.
9. B.L. Black, J.M. McDonald and L. Jarett: *Arch. Biochem. Biophys.*, **199**: 92, 1980.
10. Gergely, J.: *Fed. Proc.*, **23**: 885, 1964.
11. Huxley, A.F. and H.E. Huxley: *Proc. Roy. Soc.(London) B.*, **160**: 433, 1964.
12. R. Yang, A. Okitani and M. Fujimaki: *Agr. Biol. Chem.* **62**: 2807, 1972.
13. K. Maruyama and S. Nagashima: *J. Biochem.*, **62**: 392, 1967.
14. D.E. Goll, R.M. Robson, J. Temple and M.H. Stromer: *Biochem. Biophys. Acta.*, **226**: 433, 1971.
15. Fiske, C.H. and Subbarow, *J. Biol. Chem.*, **66**: 375, 1925.
16. Dryer, R.L., Tammes, A.R. and Routh, J.I.: *J. Biol. Chem.*, **222**: 177, 1957.
17. 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕之二, 食品分析ハンドブック 建帛社(東京) p.7 1969.
18. A.O. AoC., 10th ed. p.330, 1965.
19. J.Y. Hang, Y.H. Moon and J.B. Koh: *Koren J. Nutri.*, **11**: 37, 1978.
20. E.T. Friess: *Arch. Biochem. Biophys.*, **51**: 17, 1978.
21. S. Maletto: *Chem. Abst.*, **55**: 15770, d. 1961.
22. June Olleg, Hellen and Uatson: *J. Soci. Food Agr.*, **12**: 316, 1961.
23. G. Varela, A. Puyiol, O. Moreiaras and C. Matem.: *Chem. Abst.*, **55**: 843, c. 1961

The Effect of the Divalent Metal Ions on the ATPase Activity of Myofibrillar Protein from Rabbit Muscle fed Vegetable Oils.

Hyun-Keun Nam, In-Yae Chang*

Dept. of Food & Nutrition,

*Dept. of Food Technology**

Gwang-Ju Health Junior College

>Abstract<

In order to study ATPase activity, Myofibrillar protein of Rabbit fed Vegetable oils was extracted from Chin-Chillaspecies. The ATPase activity was tested by using various concentrations of divalent metal ions(Ca^{2+} and Mg^{2+}) in order to determine inhibitory effect.

The results obtained were as follows:

1. The ATPase activity in Myofibrillar protein of Rabbit exhibited a common biphasic response, and the ATPase activity is high at a lower ionic strength and low at a higher ionic strength.

2. The effect of EDTA on the ATPase activity of Myofibrillar protein extracted from Rabbit fed vegetable oils was tested by using various concentrations. The ATPase activity was inhibited from 0.2mM and over concentration of EDTA.

3. The ATPase activity in Myofibrillar protein was decreased remarkably in 0.2 mM and over concentration for Mg^{2+} , and in 1.0 mM and over concentration for Ca^{2+}

4. In vitro, the digestibilities in A,B,C and D groups of Rabbit muscle treated with Pepsin and Trypsin for 30 minutes at 36°C water bath were 71.66%, 73.87%; 70.62%, 77.93%; 67.93%, 76.52%; and 86.79%, 90.22%, respectively.