

식물성 식용유로 사육한 토끼근육의 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 미치는 금속의 영향

남 현 근

광주보건전문대학
(1980년 6월 20일수리)

The effect of the divalent Metal ions on the ATPase activity in Myofibrillar protein of the Muscle of Rabbit fed Vegetable Oils.

Hyun Keun Nam

Gwangju Health Junior College

(Received June 20, 1980)

Abstract

The effects of divalent metal ions on the ATPase activity were studied by using myofibrillar protein of rabbit (Chin-Chilla species) fed with vegetable oils.

The results obtained were as follows:

1. The ATPase activity in myofibrillar protein of the rabbit exhibited a common biphasic response, such as 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 0.2mM and over concentration for Mg^{2+} , and in 1.0mM 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.

서 론

토끼근육의 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 관하여 많은 연구보고가 있으며⁽¹⁻³⁾ 도살시간경과에 따른 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 관한 보고도 있다⁽⁴⁻⁶⁾.

또한 여러학자들이 EDTA, Ca^{2+} , Mg^{2+} 등이

ATPase 활성에 미치는 영향과⁽⁷⁻⁹⁾ 식이에 의한 영향에 관하여 보고되었다⁽¹⁰⁻¹²⁾. 그러나 식물성 식용유를 급여하여 사육한 토끼근육의 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 대하여 억제작용을 할 수 있는 금속이온의 농도에 관하여서는 거의 조사되어 있지 않다.

이에 필자는 집토끼를 식물성 식용유를 급여하

여 사육한 토끼의 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 미치는 EDTA, Ca²⁺ Mg²⁺의 영향과 pepsin과 Trypsin에 의한 소화정도를 조사하였기에 이에 보고하는 바이다.

실험재료및 방법

1. 실험동물

실험에 사용한 토끼는 chin-chilla 종으로 전남 화순군화순읍에서 생후 40일 경과 된것을 구입하였다.

2. 실험동물 식이요법

실험동물은 각군 2 마리씩 4 개군으로 나누어

사육장의 온도를 25±5°C로 유지하고 환경에 적응시키기 위하여 6 일동안 기본식이 (Table 1)에 녹색사료(상치일)를 섞어 먹였다. 환경에 적응시킨 다음 실험동물에 기본식이 50g, 식용유 5g씩을 급여하였다. 물은 자유로 먹을 수 있도록 하였으며 사료는 오전 7시, 12시, 오후 5시, 9시에 주었다. 여기 첨가한 식용유는 Table 2와 같다

대조군(A): 기본식이

실험군(B): 기본식이+들깨기름

실험군(C): 기본식이+콩기름

실험군(D): 기본식이+미강유

Table 1. Composition of basal diets 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	28.53	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
Fishmeal	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	C ₁₈₌₂	C ₁₈₌₃
Perllia	193	201	5.9	1.9	18.3	14.5	58.1
Soybean	189	127	12.7	3.7	27.8	50.2	9.1
Rice bran	183	102	0.4	20.7	46.1	30.8	1.3

3. 실험재료

사육이 끝난 토끼를 공복시에 도살하여 대퇴부의 근육을 적출하고 4°C 냉장고에 보관하면서 실험하였다.

4. 근원섬유 단백질의 조제

근원섬유 단백질의 조제는 양¹²⁾의 방법에 따라 행하되 도살 후 24시간이내에 행하였다.

5. ATPase 활성^{15~16)}

ATPase 활성도측정을 위하여 반응 혼합물은 근원섬유 단백질 0.25mg/ml, 1mM MgCl₂ 1mM ATP₁ 25mM Tris-HCl buffer (pH 8.0)를 수욕상 (36±2°C)에서 5분동안 배양시키고 4% TCA를

첨가하여 반응을 정지시키고 유리된 phosphorus (Pi)를 정량하여 1mg의 단백질에서 1분동안에 유리되어 나오는 무기인의 μmole로서 나타냈다.

6. 소화율 측정^{17~18)}

소화율 측정 시료는 도살 직후 근육을 적출하여 dry oven (80±3°C)에서 건조시킨 후 Soxhlet 지방추출법에 의하여 지방을 추출하고 잔사를 풍건시켜 분쇄하여 100 mesh sieve를 통과시켜 시료로 사용하였다.

시료 0.3g을 정칭하여 소화관에 넣고 0.01M HCl 존재하에서 효소 10μg을 첨가하고 36±2°C의 수욕상에서 30분동안 소화시킨 후 반응을 종결시키

코 Biurett 방법으로 단백질을 측정하였으며 검량 선은 micro-kjeldhal 법으로 행하였다. 소화율을 구하는 식은 다음과 같다.

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

결과 및 고찰

1. 근원섬유 단백질의 Mg-ATPase 활성

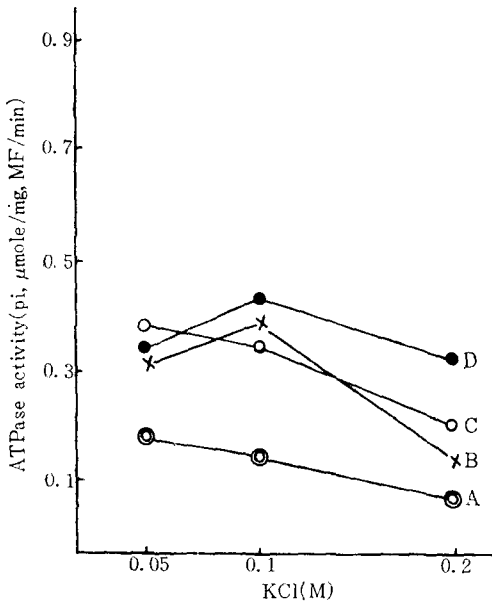


Fig. 1 Effect of KCl on Mg-Activated ATPase activity on myofibrill of rappid fed vegetable oils.

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

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

그림에 KCl 농도변화에 따라 ATPase 활성의 변화를 보여준 것인데 KCl의 농도가 증가할수록 효소활성은 감소되고 KCl의 농도가 감소되면 효소의 활성이 증가된 것을 보여준다. 여기서 보면 대조군과 각 실험군들 사이에 상당한 차를 보여주어 식용유를 먹인군의 효소활성이 더 높았음을 알 수 있었다. 한편 KCl의 농도가 0.5M~1.0M 범위에서 효소활성이 증가되었다가 1.0M 이상에서 활성은 현저히 감소된 것을 보여준 군은 콩기름 급여군과 미강유 급여군 이었다.

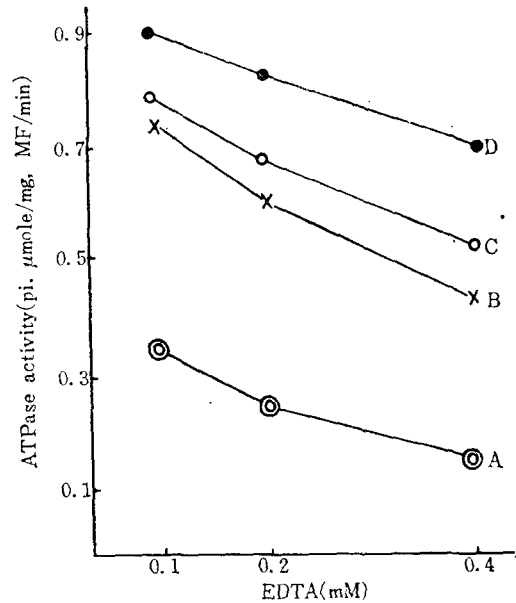


Fig. 2 Effect of EDTA on Mg-Activated APTase activity of myofibrill of rabbit fed vegetable oils.

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

※EDTA 활성측정조건을 명시 KCl 농도가 0.6M 이어야 위의 테에타가 나옴.

2. 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 미치는 EDTA의 영향

그림에서 EDTA 농도가 ATPase의 활성변화를 볼 수 있다. 0.1mM EDTA에서는 활성이 상당히 컸으나 0.2mM 이상의 농도에서 효소의 활성이 현저히 감소됨을 보여주고있다. 이는 EDTA의 농도가 증가하면 활성을 억제하는 능력이 증가됨을 알 수 있다. 고¹⁹⁾등은 산양육에 EDTA를 첨가하여 효소의 활성은 농도와 깊은 관계가 있다고 지적하였다. Friess²⁰⁾는 Ca²⁺ 존재하지 않으면 10⁻⁴M 이상에서 탈인산화반응이 가속된다고 보고하였다.

한편 식용유를 급여한 군의 활성도와 대조군의 활성도와는 큰 차이가 있음을 알 수 있어서 ATPase 활성에 대한 기름의 영향은 근원섬유의 체내합성과 탄수화물 대사사이에 깊은 관계가 있는것으로 사료된다.

3. 근원섬유 단백질의 ATPase 활성에 미치는 Mg²⁺ Ca²⁺의 영향

그림에서 Ca²⁺ Mg²⁺의 농도변화에 따른 ATPase 활성의 감소를 볼 수 있는데 Ca²⁺의 경우에 0.2 mM Ca²⁺을 첨가하면서 현저히 감소됨을 보여 주

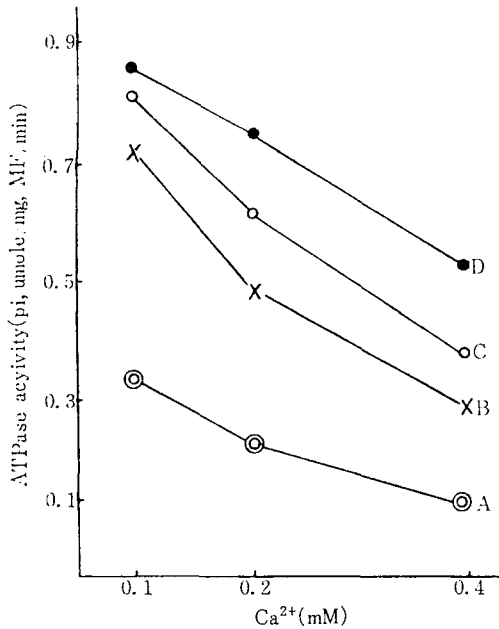


Fig. 3 Effect of Ca²⁺ on Mg-Activated ATPase activity of myofibrill of rabbit fed vegetable oils.

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

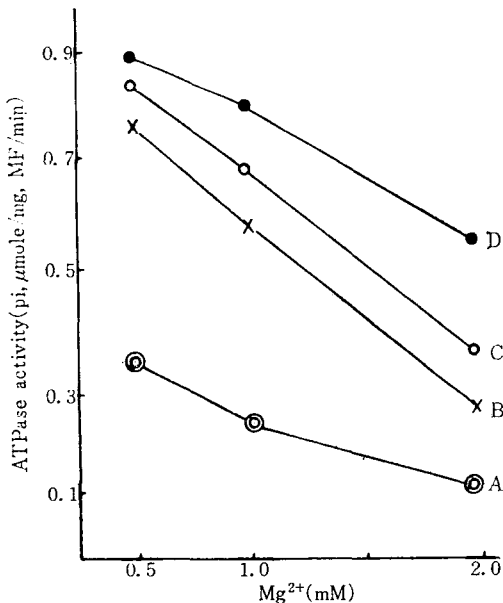


Fig. 4 Effect of Mg²⁺ on Mg-Activated ATPase activity of myofibrill of rabbit fed vegetable oils.

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

었다. 이에 대하여 Bendall⁶⁾은 Ca²⁺은 actomyosin-

ATPase 활성화에 큰 영향을 주며 Myofibrillar-ATPase 활성화도는 Ca²⁺의 농도가 증가하면 크게 감소된다고 하였고, Gergely¹⁰⁾, Huxley¹¹⁾ 등도 보고한바 있다.

Mg²⁺의 경우는 1.0mM 이상의 농도에서 ATPase의 활성이 감소됨을 알 수 있고, 식물성 식용유를 급여한 군들 상호간에는 큰 차이가 없으나 대조군의 효소활성과는 큰 차이가 있다. 이는 Ca²⁺ Mg²⁺이 ATPase 활성화에 주는 억제기능은 식용유를 먹임으로 큰 차를 보여준 것으로 사료된다.

4. 토끼고기의 in vitro 소화율

식물성 식용유를 급여하여 사육한 토끼근육의 pepsin과 Trypsin에 의한 in vitro 소화율을 측정된 결과가 다음표와 같다.

Table 3. The Digestibility of rabbit muscle treated with pepsin at 36°C for 30 minutes.

	Protein of Sample	Undigested Nitrogen	Nitrogen Coefficient	Digestibility
Control	0.287	0.013	5.26	71.66
Perilla Oil	0.490	0.023	6.25	70.62
Soybean Oil		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.

	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

일정량의 토끼근육에 pepsin을 첨가하여 처리한 결과 미강유를 급여한 군의 소화율이 86.43%로 가장 좋았고, 콩기름 급여군이 67.11, 들깨기름 급여군이 70.66% 대조군이 71.78%의 소화율을 나타냈다. 그런데 Trypsin으로 처리하면 미강유 급여군이 90.94%, 콩기름 급여군이 75.76%, 들깨기름 급여군이 77.04% 대조군이 73.87%를 나타내 pepsin으로 처리한 것보다 Trypsin으로 처리한 것이 더 높은 소화율을 보여주었다.

한편 송아지근육의 in vitro pepsin 소화율이

Maleth⁽²⁶⁾에 의하여, Hellen과 Watson⁽²²⁾은 어분의 in vitro 소화과정에서 89% 이상의 소화율을 얻었다고 하였고, Mater⁽²³⁾는 소근육 단백질을 여러가지 식용유를 튀겨 소화율을 조사하여 면실유로 튀긴 것이 가장 좋았다고 하였다.

이런점으로 보아서 사육할 때의 기름을 먹이면, 또 기름의 종류에 따라 소화율은 상당한 차이가 있음을 알 수 있다.

요 약

식물성 식용유를 기본식에 첨가하여 일정한 조건하에서 사육한 토끼 근육에서 근원섭유 단백질을 추출하여 ATPase 활성과 이에 미치는 EDTA, Ca²⁺, Mg²⁺ 등의 여러가지 농도변화에 따른 활성도 저해 양상을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 근원섭유·단백질의 ATPase 활성은 KCl의 농도가 크면활성은 감소되고, 농도가 감소되면 활성은 증가되었으며 대조군보다 식용유를 급여한 군이 더 높았다.

2. EDTA의 농도변화에 따른 ATPase 활성은 0.2mM EDTA 이상부터 활성방해작용이 현저히 나타났다.

3. Ca²⁺ Mg²⁺이 ATPase 활성에 미치는 영향을 보면 0.2mM Ca²⁺ 이상의 농도에서 부터, 1.0mM Mg²⁺ 이상의 농도에서 부터 ATPase 활성 방해작용이 뚜렷이 나타났다.

4. In vitro 소화율은 pepsin으로 처리하여 대조군이 71.66%, 들깨기름 급여군이 70.62%, 콩기름 급여군이 67.93%, 미강유 급여군이 86.79% 이었고, Trypsin으로 처리하면 대조군이 73.87%, 들깨기름 급여군이 77.93% 콩기름 급여군이 76.52%, 미강유 급여군이 90.22%를 보였다. 이는 pepsin에 의한 소화보다 Trypsin에 의한 소화력이 더 좋음을 나타내며 식물성 기름을 급여한 군의 소화율이 더 좋음을 알 수 있었다.

References

- 1) Ebashi S. and Ebashi F.: *J. Biochem.*, **55**, 604 (1964).
- 2) Yang R., Kim C. J., Moon Y. H. and Yu J. H.: *Korean J. Food Sci. Technol.*, **6**, 79 (1

- 974).
- 3) Fujimaki M., Dkitar A., Arakawa N. and Takagee D.: *Agr. Biol. Chem*, **29**, 700 (1965).
- 4) Bendall, J.R.: *J. Physiol.*, **114**, 71 (1951).
- 5) De Fremery D. and Pool M.F.: *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 Jerry H. Wang: *J. Biol. Chem.*, **252**, 625 (1977).
- 8) Galo M.G., Bloj B. and Farias R.N.: *J. Biol. Chem.*, **250**, 6204 (1975).
- 9) Black B.L., McDonald J.M. and Jarett L.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **199**, 92 (1980).
- 10) Gergely, J.: *Fed. Proc.*, **23**, 885 (1964).
- 11) Huxeley, A. F. and Huxeley H. E.: *Proc. Roy. Soc. (London) B*, **160**, 433 (1964).
- 12) Yang R., Dkitani A. and Fujimaki M.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 2087 (1972).
- 13) Maruyama K. and Nagashima S.: *J. Biochem.*, **62**, 392 (1967).
- 14) Goll D.E., Robson R.M., Temple J. and Stromer M.H.: *Biochem. Biophys. Acta.*, **22**, 6, 433 (1971).
- 15) Fiske, C.H. and Subbarow, Y.: *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925).
- 16) Dryer, R.L., Tammes, A.R. and Routh, J.I.: *J. Biol. Chem.*, **222**, 177 (1957).
- 17) , , , p. 7, (1989).
- 18) A. D. A. C., 10th ed. p.330, (1965).
- 19) Hong J. Y., Moon Y. H. and Koh J. B.: *Korean J. Nutri.*, **11**, 37 (1978).
- 20) Friess E. T.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **51**, 17 (1978).
- 21) Maletto S.: *Chem. Abst.*, **55**, 15770 (1961).
- 22) June Olleg, Hellen and Watson: *J. Soci. Food Agr.*, **12**, 316 (1961)
- 23) Varela G., Puyiol A., Moreiaras D. and Matem. C.: *Chem. Abst.*, **55**, 843 (c. 1961).