

動物 部位에 따르는 水溶性遊離 Amino 酸의 分布에 對한 研究 (第 1 報)

(緬羊의 筋肉에 對해서)

尹衡植 · 孫泰華 · 朴元吉

慶北大學校 農科大學 農化學科

(1964 年 12 月 7 日 受理)

I. 緒 論

II. 實驗方法

- (1) 試 料
- (2) 試料處理
- (3) Paperchromatograph

III. 實驗 結果 및 考察

IV. 摘 要

V. Summary.

VI. 參考文獻

I. 緒 論

動物에 있어서 含窒素化合物 特히 蛋白質의 代謝關係는 이미 究明되었으며, Amino 酸이 蛋白質分解生成物이란것은 周知의 事實이다. 動物組織內에는 遊離狀態의 Amino 酸이 比較的 多量存在하며 動物의 種類 또는 同一한 種類의 動物이라 할지라도 그 組織에 따라서 그 分布狀態 및 含量에 差異가 있다. 動物의 部位에 따르는 Amino 酸의 分布에 對해서는 小原⁽¹⁾ 및 牛의 筋肉에 對해서 R. T. Hiner 와 그의 共同研究者⁽²⁾들의 研究가 있으며 其他 많은 報告가 있다^(3, 4, 5, 6). 本人等은 數種의 動物에 對해서 各部位에 含有된 遊離 Amino 酸의 種類 및 分布狀態를 paperchromatogram 을 利用해서 檢出하여 蛋白質과 Amino 酸과의 關係及 調理 前後에 있어서의 遊離 Amino 酸의 變化研究에 資코져 本實驗을 했던 것이다.

II. 實驗方法

1) 試料: 緬羊(公生後 2 年 6 個月)을 放血屠殺하여 死後直時 筋肉(第 1 表)을 採取하여 實驗材料로 하였다.

2) 試料處理: 各部位의 實驗材料 5g 을 秤量하여 증류수로 씻은 다음 증류수 100 ml 를 加하여 水液內(約 9°C 內外)에서 適當時間 加熱한 다음 Whatman No. 50 濾過紙로서 殘渣는 沸騰水 20 ml 로서 3 回洗滌하여 洗液을 濾液과 合하였다. 다음 이것을 約 10 ml 가 되게끔 減壓濃縮하여 10% Trichloroacetic

第 1 表

試料番號	試料의 名稱
1	Musculus Masseter 咬筋
2	" Brachiocephalius 膊頭筋
3	" Pectoralis profundus 深胸筋
4	" Longissimus dorsi 育最長筋
5	Musculus Extensor curpi radialis 橈腕伸筋
6	" Flexor capi radialis 橈腕屈筋
7	" Tibialis anterior 前脛骨筋
8	" Flexor digitalis pedis protundus 深趾屈筋
9	" Glutaeus 臀筋
10	" Quadriceps femoris 四頭股筋

acid(T.C.A) 10 ml 를 加하여 24 時間放置後 濾過하여 洗液이 ninhydrine negative 가 될 때까지 殘渣를 5% T.C.A 로 反復洗滌한 다음 이것을 T.C.A 및 脂肪을 除去하기 爲하여 Ether 로 處理하였다. 水溶液性中에 含有된 Ether 는 水浴上에서 蒸발시키고 이 液을 Ion 交換 樹脂(Amberite IR-120 및 IRA-400)로서 無機 Ion 을 除去한다음 減壓濃縮하여 2 ml 가 되게하여 이것을 試料로 하였다.

3) paper chromatography. Whatman No I. paper 에 試料를 spot 하여 一次元液媒로서는 n-Butanol : Acetic Acid : Water = 4 : 1 : 2, 二次元液媒로서는 phenol : Water : NH₄OH = 8 : 2 : 0.1(NH₄OH는 展開直前に 加한다)로 展開하였으며 R.f 를 確認하기 爲하여 呈色試藥으로서 0.2% ninhydrine 의 n-butanol 溶液을 使用하였다. 그리고 各 amino 酸의

※ 第 4 次 大韓農化學會總會 및 學術發表會에서 發表 (1963. 4. 20)

spot 確認은 坂口反應⁽⁸⁾ Jaffe 反應⁽⁹⁾ nitroprusside 反應⁽¹⁰⁾ Diago 反應⁽¹¹⁾ KIO₄, Nessler's 試藥에 依한 呈色 白金 試藥에 依한 呈色 Millon 反應⁽⁹⁾ Isatin 反應^(14, 15) 桂皮 Ald-ehyde 呈色⁽⁹⁾ Ehrlich 反應⁽⁹⁾ 等を 利用하였다. 이와같은 反應과 兼하여 同一 paper 上에 試料을 spot 하고 다음 試料과 豫測 Amino 酸의 標準液을 함께 spot하여 展開한 後 0.2% ninhydrin 으로 呈色시킨 다음 部位의 色調과 Rf 等を 参照하여 其部位 Spot 의 Amino 酸을 確認하였다. 그리고 여기서 使用한 標準 Amino 酸은 Cystine, Lysine, Histidine, Asparagine, Serine, Arginine, Aspartic acid, Glycine, Hydroxy-proline, Theonine, Alanine, Glutamic acid, Glutathione, Cysteine, Proline, β-Alanine, Tyrosine 의 22 種이며 全部 -型이다. 試料의 最終形態가 鹽酸鹽 形態이므로 모두 0.1-N HCl 溶液에 溶解한 것을 使用하였다. 同一한 試料에 對해서 平均 3 回 同一한 條件下에서 施行했다.

III. 實驗結果 및 考察

綿羊의 各 部位에 따른 水溶性 遊離 Amino 酸의 分布에 對한 實驗結果를 보면 (表 2 參照) Cystin 은 各組織에서 모두 檢出되었으며 M. masseter, M. tibialis anterior, M. glutaicus 는 다른 組織에 比하여 많은 듯 하며 특히 M. longissimus dorsi 는 顯著한 spot 를 나타내었다. Histidine 는 各 組織에서 나타났고 M. masseter, M. longissimus dorsi, M. extensor, Carpi

radialis, M. glutaicus 가 他組織보다 顯著한 spot 를 나타내었으며 Arginine 도 모두 檢出되었으나 이中 M. longissimus dorsi 의 spot 가 다른 것 보다 뚜렷하였다. Aspartic acid 에 있어서는 M. longissimus 및 M. glutaicus 가 他組織보다 若干 많은 듯 하며 Hydroxy proline 는 M. masseter, M. pectoralis profundus 및 M. flexor digitalis pedis profundus, M. Quadriceps femoris 에서만 不檢出되었다. Threonine 및 glutamic acid 는 어느 組織에서나 檢出되었으나 M. longissimus dorsi, M. glutaicus 에는 glutamic acid 가 他組織에 比하여 顯著하며 Alanine, Proline, Methionine, leucine, glycine, isoleucine, tryptophan 은 어느 組織에서나 檢出되었으나 이中 alanine 는 M. longissimus dorsi, M. tibialis anterior, M. flexor digitalis pedis profundus, M. glutaicus, M. Quadriceps femoris 에 顯著하였다.

M. longissimus dorsi 가 他組織에 比하여 methionine 이 많은 듯 하며 tryptophane 은 M. longissimus dorsi, M. glutaicus 에 많은 듯 하며 Creatine 는 모두 組織에서 檢出되었으며 M. longissimus dorsi, M. glutaicus 에서는 筋肉에 比하여 顯著한 spot 를 나타내고 있는 것은 興味있는 일이다. 어느 筋肉에서나 1~3 種의 未知物質이 檢出되며 특히 longissimus dorsi 에서는 他에 比하여 그 數가 많으며 이 未知物質도 acetyl acetone 反應⁽¹⁶⁾에 陽性인 것으로 보아 他 Amine 態化合物 或은 peptide 및 著者들이 가

第 2 表

試料番號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Amino 산 全部 L-型										
Cystine	卅	+	+	卅	+	+	卅	+	卅	+
Histidine	卅	+	+	卅	卅	+	+	+	卅	+
Arginine	+	+	+	卅	+	+	+	+	+	+
Aspartic acid	+	+	+	卅	+	+	+	+	卅	+
Hydroxy proline		+		+	+	+	+		+	
Theonine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamic acid	+	+	+	卅	+	+	+	+	卅	+
Alanine	+	+	+	卅	+	+	卅	卅	卅	卅
Proline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methionine	+	+	+	卅	+	+	+	+	+	+
Tryptophan	+	+	+	卅	+	+	+	+	卅	+
Iso-Leusine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leusine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Creatine	+	+	+	卅	+	+	+	+	卅	+
Unknown	1	1	1	3	2	2	1	2	2	2

+, 卅, 卅 은 色調의 強弱을 表示한 것이다 (+ < 卅 < 卅).

진 22 種의 標準 Amino 酸 以外의 Amino 酸이 아닌
가 思料된다. 그러나 이와같은 分布를 보이는 筋肉
中の 遊離 Amino 酸이 標準 Amino 酸이 R. f 및 色
調 또한 個個의 Amino 酸의 特殊反應等 檢出되었
다 하더라도 遊離狀態라는 것은 斷定하기 어려울듯
하며 未知物質과 함께 加水分解하여 그 狀態를 爾
後 究明코져 한다.

IV. 摘 要

羶羊 筋肉의 部位別로본 水溶性 遊離 Amino 酸의
分布를 調査한 結果

1. 分布 Amino 酸의 種類는 大體로 cystine, histidine, arginine, asparatic acid, hydroxy proline, threonine, glutamic acid, alanine, proline, methionine, tryptophan, leucine, isoleucine, glycine, creatine 과 몇 種의 amine 態化合物이 檢出되었다.

2. 組織別로본 各 Amino 酸의 含量이 많은 것은 M. longissimus dorsi 이고 다음이 M. glutaecus 였다.

3. Amino 酸의 分布는 組織마다 含量의 差는 있는 듯하고, hydroxyproline 이 M. masseter, M. pectorlis profundus, M. flexor digitalis pedis profundus 및 M. Quadriceps fomoris 에서는 negative 이었다.

(Summary)

The distribution of water soluble free amino acids in various parts of sheep muscles were observed. Amino acids of cystine, histidine, aspartic acid, arginine, hydroxy proline, threonine, glutamic acid alanine, proline, methionine, tryptophan, leucine,

iso-leucine, glycine, creatine, and two or four different kinds of amino acid content in each tissues, M. longissimus. Overall, the distribution of content of amino acids are seemed to be different for each tissues, while for hydroxyproline the result was negative.

參 考 文 獻

- 1) 小原哲二郎, 小笠原八十吉, 日本農化學會誌 **34**, 202~208(1960)
- 2) Roberta M. MA. M.B. Mallack and R.I. Hiner, journal of food science p.485 Vol.26 No.5 (1961)
- 3) J. Awapara, J. Biol. Chem, **178**, 113~116(1949)
- 4) J. Awapara, B. Seale, J. Biol. Chem. **194** 4971 (1952)
- 5) Cammarata, P. Sand. Choen P.P. J. Biol Chem, **187** 493(1950)
- 6) Holfreter, J.T.R. Kozsallia and L.L. Miller, Exp. Cell Res, I. 453~459(1950)
- 8) S. Sakaquchi, J. Biol. Chem. (Japan) **5** 25(1925)
- 9) G. Toennies, J. Kolb: Anal Chem, **23** 823(1951)
- 11) K. Satake: Chromatography p. 103~103(1962)
- 12) R. Consden, A.H. Gordon, A.J.P. Matin: Biol. Chem. J. **40** 33(1946)
- 13) H.M. Winegard, G. Toenies, R.J. Block; Science, **108** 506(1948)
- 14) I. Smith: Nature **171** 43(1953)
- 15) A. Saifer. I. Oreskes: Science. **119** 124(1954)