

닭고기의 근원섬유 단백질에 관한 연구

1. 飼養期間에 따른 Actomyosin의 추출성과 ATPase 활성 비교

공 양 숙·박 창 식·문 윤 희

부산산업대학교 식품과학과

(1984년 11월 10일 접수)

Studies on the Myofibrillar Protein from Chicken Muscle

1. Variations in Extractability and Some Biological Activities of Actomyosin with Different Feeding Period.

Yang-Sug Gong, Chang-Sik Park and Yoon-Hee Moon.

Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan Sanub University.

(Received November 10, 1984)

Abstract

It was investigated about extractability and biological property(ATPase activity) of actomyosin from skeletal muscle of chicken differed feeding period. The extractabilities of actomyosin from pectoral muscle were increased from 184.5 to 1020.1 mg per 100 g muscle as feeding period prolonged from 3 weeks to 8 weeks. In case of leg-muscles, extractability was revealed the similar tendency as pectoral muscles. EDTA ATPase activity of actomyosin in various chicken muscles for 3 weeks feeding was 0.68 μ mole Pi/mg protein/min., 0.59 for 6 weeks feeding and 0.50 for 8 weeks. The Mg^{+2} -ATPase of actomyosin in various chicken muscles was showed inverted relationship with ionic strength. EGTA (125 μ mole) inhibited Mg^{+2} -ATPase activity to below 0.1 μ mole Pi/mg protein/min. regardless the feeding period.

서 론

식육 가공에 있어서 원료육의 物性을 밝히는 일은 여러가지로 행하여지고 있는데 근 수축 이완에 관여하는 근원섬유 단백질의 특성을 파악하는 측면에서 도 많은 연구가 이루어져 왔다.^{1~6)}

Myosin과 actin이 복합된 actomyosin을 염용액으로 추출할 때 그 추출 양상은 꿀격근 filament의 integrity를 반영할 것으로 예상되지만 대부분의 실험

은 동일 체중을 대상으로 하고 있어서 본 실험은 닭의 飼養期間別로 actomyosin을 추출하고 그 추출성과 몇 가지 생물학적 활성을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재료

부산시 북구 대저동 당리마을에 소재하는 H 養鷄場에서 飼養期間別로(3週齡~8週齡) 구입한 닭의

가슴부위와 다리부위 근육에서 시료를 취하여 같은 양으로 혼합하여 이용하였다.

2. 方法

(1) Actomyosin의 추출

닭을 12시간 繫留 시킨 후 切頭法으로 도살하여 60°C의 물에서 1分間 담근 후에 털을 뽑고 해체하여 지방을 제거 한 다음 chopping하여 Szent-Györgyi法⁶⁾을 약간 변형하여 추출하였는데 그 과정은 Fig. 1과 같다.

Chopped meat

```

Add 6 volumes (v/w) of Weber-Edsall sol'n.  

(μ=0.6)  

Stirring, gently for about 15 min.  

24 hrs. stand by.  

8,000—9,000 rpm centrifuge for 15 min.  

↓  

Supernatant  

2 vol. (v/v) of distilled water (μ=0.2)  

Centrifuge at 6,000 rpm for 7 min.  

↓  

Precipitate  

Dissolve in same vol. of 1.0 M KCl (μ=0.6)  

Centrifuge at 8,000—9,000 rpm for 10 min.  

↓  

Supernatant  

2 vol. of distilled water.  

Centrifuge at 6,000 rpm for 7 min.  

↓  

Precipitate  

Same vol. of 1.0 M KCl.  

Centrifuge at 8,000—9,000 rpm for 10 min.  

↓  

Supernatant  

2 vol. of distilled water.  

Centrifuge at 6,000 rpm for 7 min.  

↓  

Precipitate  

Same vol. of 1.0 M KCl.  

Centrifuge at 8,000 rpm—9,000 rpm for 15 min.  

↓  

Supernatant  

Refined actomyosin.

```

Fig. 1. Extraction of actomyosin

(2) 蛋白質 濃度 및 ATPase 活性測定

단백질 농도 측정은 Micro-Kjeldahl法을 표준화한 Biuret方法, ATPase 활성 측정은 0.25 mg/ml의 actomyosin과 1mM MgCl₂ 또는 EDTA(ethylene diamine tetraacetic acid), 1 mM ATP 및 25 mM Tris-HCl(pH 8.0)의 혼합액을 30°C 수욕상에서 반응시켜 최종 농

도 4% 가 되도록 TCA를 첨가하여 반응을 정지시키고 유리된 무기인(Pi)량을 측정하여 1 mg의 단백질에 의하여 유리되어 나오는 Pi의 μmole로 표시하였다.

결과 및 고찰

(1) 飼養期間에 따른 actomyosin의 추출성

飼養期間이 서로 다른 닭의 가슴부위와 다리부위의 근육으로 부터 추출된 actomyosin의 수율은 Table. 1에서 보는바와 같다.

死後強直 전과 死後強直시 또는 숙성된 상태에서 근원섬유 단백질은 추출성에 차이가 있으므로⁷⁾ 모든 시료 채취 및 취급 조건은 동일시 하였는데 일반적으로 飼養期間이 길어지면서 수율이 높아졌다.

특히 가슴부위에서는 5週齡 부터, 다리부위는 7週齡 부터 수율의 차이를 크게 하고 있으며 飼養期間에 관계 없이 다리부위 보다 가슴부위에서 높은 수율을 얻을 수 있었다.

이러한 결과는 꿀격근에 함유되어 있는 단백질의 함량 및 염용액에 대한 추출 양상 또는 치밀성이 체중에 따라 차이가 있을 것이고, 또한 가슴부위와 다리부위 즉 동일 개체내에서도 부위에 따른 차이가 있을 것으로 해석된다.

Actomyosin은 Weber-Edsall 용액에서 24시간 추출되는 것을 일반화 하고 있는데 문등⁸⁾은 그 추출 시간을 달리하였을 때의 추출 양상과 생물활성의 차이를 동물별로 비교 검토하여 특성을 밝힌 바 있다.

본 실험에서도 닭의 飼養期間에 따른 꿀격근의 구성 및 치밀성이 상이할 것으로 추출 시간을 달리 하여 얻어진 단백질의 특성을 검토하였다.

Fig. 2는 추출 시간에 따른 EDTA-ATPase 활성을 나타낸 것인데, 추출 시간이 길어짐에 따라 飼養期間별 생물활성의 차이가 두드러졌다.

Table 1. Effect of feeding period on the yield of actomyosin (mg/100g)

Feeding period (weeks)	Sampled part	
	pectoral	leg
3	184.5	28.6
4	364.0	70.8
5	784.8	137.9
6	926.1	139.5
7	985.2	608.3
8	1020.1	646.2

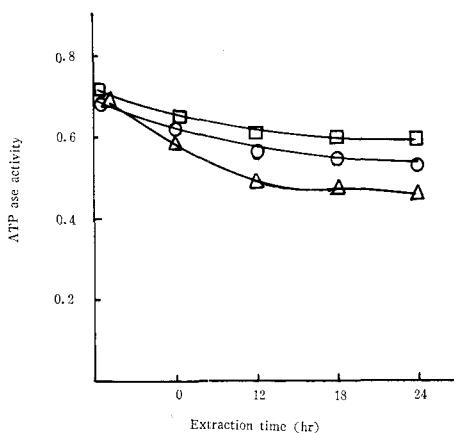


Fig. 2. Effect of extraction time on the EDTA-enhanced ATPase activity.
ATPase assay; 0.25 mg/ml AM, 1mM EDTA, 1 mM ATP, 25 mM Tris-HCl(pH 8.0) and 0.6 M KCl.
Symbol; feeding period, 3(□), 6(○) and 8 weeks(△).

한편 飼養期間에 관계없이 추출 시간이 짧을 때 actomyosin ATPase 활성이 높았다.

이 결과로 추출 초기에 myosin 성분 구성을 비율이 높다는 것을 나타내는 것과 추출 시간이 걸어짐에 따라 actin이 유리되어 actomyosin을 구성하고 있고 飼養期間에 따라 꿀격근 치밀성의 차이가 있음을 알 수 있었다.

이러한 결과를 확인하기 위하여 Mg^{2+} -ATPase의 활성을 검토하였다. Fig. 3의 윗부분에서 보는 바와 같이 Mg^{2+} -ATPase 활성은 飼養期間에 관계없이 추출 시간이 경과함에 따라 점차 높아졌다. 이것은 앞에서 언급 되었던 결과들을 재현시켜 주고 있는 것이라 믿어진다.

그러나 Bodwell 등⁹⁾이 지적한 바와 같이 actomyosin 중의 actin과 myosin의 함량비는 actomyosin의 추출 방법에 따라서 달라지므로 飼養期間을 달리하여 채증별로 actomyosin의 추출성을 파악할 필요가 있으리라 본다.

근원섬유 단백질 중 세포내 Ca^{2+} 과 특이하게 반응하는 단백질인 troponin 중에서 troponin-C는 Ca^{2+} 과 결합되는 성분으로 troponin-I와 같은 mole 수로 결합 형성되고, troponin-T는 tropomyosin과 tropomyosin-C와 결합하는 기능을 갖고, troponin-I는 myosin과 actin의 결합을 억제하여 actomyosin ATPase 활

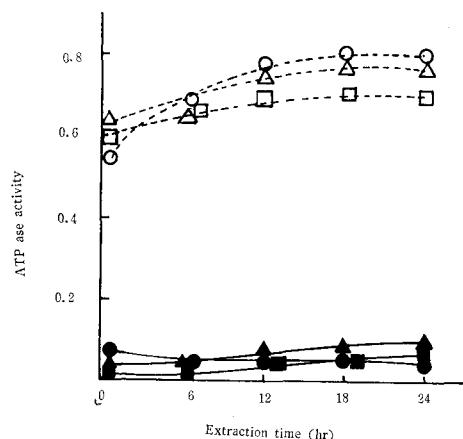


Fig. 3. Effect of extraction time on the ATPase activity of actomyosin extracted from various chicken muscles.

ATPase assay; 0.25 mg/ml AM, 1 mM $MgCl_2$, 125 μ M EGTA(Filled line), 1mM ATP, 25 mM Tris-HCl(pH 8.0) and 0.05 M KCl

Symbol; feeding period, 3(□, ■), 6(△, ▲), and 8 weeks(○, ●)

성을 저해한다.¹⁰⁾

그런데 근육의 수축 및 이완은 근세포 속의 Ca^{2+} 농도에 의하여 조절된다는 사실이 밝혀진 이후 glycerol 처리근이 Ca^{2+} 을 chelating하는 EDTA 또는 EGTA에 의하여 이완된다⁶⁾고 하여 Weber¹¹⁾와 Ebashi¹²⁾ 등도 그 결과를 확인하였다.

그러므로 본 실험에서 이용되었던 추출 방법에서 언어진 actomyosin에 조절 단백질 혼입 여부를 검토하기 위하여 Mg^{2+} -ATPase 활성에 대한 EGTA의 영향을 비교하였다.

Fig. 3의 밑부분에서 보는 바와 같이 125 μ M EGTA에서 Mg^{2+} -ATPase 활성은 actomyosin의 추출 시간과 닭의 飼養期間에 관계 없이 뚜렷하게 저해받고 있었다.

이것은 Mg^{2+} 이 존재할 때 EGTA는 근섬유에 대하여 이완 작용제로 이해되고 이 결과로 사양기간과 추출 시간에 관계없이 조절 단백질의 혼입된 actomyosin이 추출되고 있음을 알 수 있었다.

(2) 飼養期間에 따른 actomyosin의 특성

어린 포유동물의 꿀격근에서 추출된 myosin은 성숙한 포유동물의 꿀격근에서 추출된 myosin 보다

ATPase 활성이 낮고 그 활성은 근육이 사람에 따라서 점차적으로 증가한다고 하였다.^{13~15)}

한편 Barany¹⁶⁾는 수축속도가 알려진 여러종류의 근육을 이용하여 Ca^{2+} -activated myosin ATPase 활성을 정비례 한다고 밝힌 바 있고 myosin의 ATPase 활성에서 상당한 유사점과 차이점을 지적하고 있다.

Fig. 4에 나타낸 것은 飼養期間이 3주에서 8주되는 닭의 근육에서 추출된 actomyosin의 Mg^{2+} -ATPase 활성을 염농도별로 비교한 것인데 飼養期間에 관계없이 낮은 이온강도에서 높은 활성을 나타내었고 높은 이온강도에서 낮은 활성을 보였다.

이것은 Maruyama의 보고¹⁷⁾와 같이 저 이온강도에서와 高 이온강도에서는 actin과 myosin의 강하고 약한 상호작용을 갖는다는 이론과 동일한 결과이며 飼養期間에 따라 ATPase 활성의 차이를 나타내었고 특히 ATPase 활성치의 차이점은 0.1 M KCl 부근에서 가장 높았다.

이러한 결과로 飼養期間에 관계없이 닭의 꿀격근에 들어있는 actomyosin의 Mg^{2+} -ATPase 활성을 나타내는 성질은 같지만 myosin과 actin의 구성비는 상이하든지 ATP에 대한 효소적 작용능력이 다르리라고 추측된다.

Fig. 5는 飼養期間에 따른 염농도별로 EDTA-

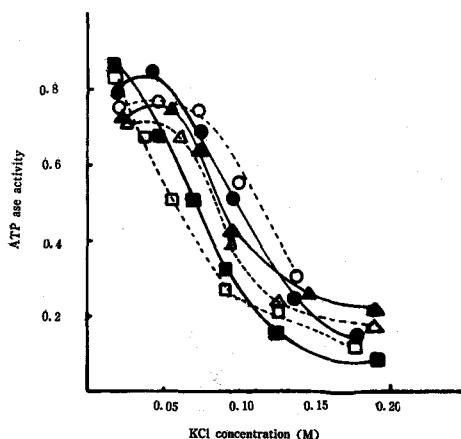


Fig. 4. Mg-activated ATPase activity of actomyosin extracted from various chicken muscles.

ATPase assay; 0.25 mg/ml protein, 1 mM MgCl_2 , 25 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM ATP

Symbol; feeding period, 3(■), 4(□), 5(▲), 6(△), 7(●) and 8 weeks(○).

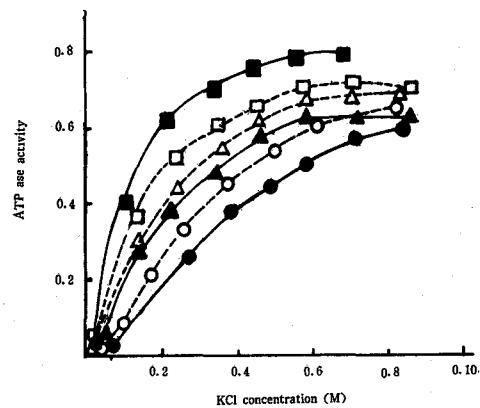


Fig. 5. EDTA-enhanced ATPase activity of actomyosin extracted from various chicken muscles.

ATPase assay; 25 mg/ml protein, 1 mM EDTA, 25 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM ATP.

Symbol; Same as Fig. 4

ATPase 활성을 비교한 것으로 저 이온강도에서 낮은 활성을 보이며 高 이온강도로 갈수록 높은 활성을 나타내었다. 그리고 저 이온강도에서는 飼養期間에 따른 차이점이 별로 나타나지 않았으나 高 이온강도로 갈수록 현저한 차이를 나타내다가 특히 0.5 M KCl 전후에서 많은 차이를 나타내었다.

이것은 飼養期間別로 추출된 actomyosin이 특정 염농도에서 ATPase 활성 차이를 크게 하고 있음을 예상하게 하는 것이다.

요약

飼養期間이 서로 다른 닭의 꿀격근에서 actomyosin을 추출하여 추출성과 생물 활성을 비교하였다.

가슴부위에서 추출한 actomyosin의 추출성은 飼養期間이 3, 4, 5, 6, 7, 8週의 순으로 각각 184.5, 364.0, 784.8, 926.1, 985.2, 1020.1 mg/100 g 이었고 다리부위는 각각 28.6, 70.8, 137.9, 139.5, 608.3 그리고 646.2 mg/100 g 이었다.

飼養期間이 3, 6, 8週인 경우 24시간 추출한 actomyosin의 EDTA-ATPase 활성은 각각 0.68, 0.59, 0.50 $\mu\text{M Pi}/\text{mg protein min.}$ 이었고 Mg^{2+} -ATPase 활성은 각각 0.66, 0.71, 0.75 $\mu\text{moles Pi}/\text{mg protein min.}$ 이었다.

飼養期間에 관계없이 actomyosin의 Mg^{2+} -ATPase 활성은 低 ion 강도에서 높은 활성과 高 ion 강도에

서 낮은 biphasic response를 나타내었고 125 μ mole EGTA로서 Mg^{+2} -ATPase 활성을 0.1 μ mole/mg protein/min 이하로 저해시켰다.

문 헌

1. 문윤희 : 전국 대학원 논문집, 13, 11(1981)
2. Macfarlane, J.J. and Mckenzie I.J. : *J. Food Sci.* 41, 1442(1976)
3. 양룡, 김철재, 문윤희, 유주현 : 한국 식품과학회지, 6(2), 79(1974)
4. Park, H.K., Ito, T. and Fukazawa, T. : *Jap. J. Zootech. Sci.* 46(6), 360(1975)
5. Sung, S.K., Ito, T. and Fukazawa, T. : *J. Food Sci.* 41, 102(1976)
6. Szent-Györgyi, A: In "Chemistry of Muscular Contraction", 2 nd., rev. Academic, Press. New York, 356 (1951)
7. Locker, R.H: *Food Res.*, 25, 304(1960)
8. 문윤희, 황철성, 양룡 : 한국 축산학회지, 26(1), 68(1984)
9. Bodwell, C. E., and McClain, P. E.; In "Chemistry of Animal Tissues", Freeman, San Francisco, CA, 78(1981)
10. 양룡, 양한철 : 축산식품 가공학, (보성출판사, 서울), 301(1984)
11. Weber, A. : *J. Biol. Chem.* 234(10), 2764(1959)
12. Ebashi, S. : *J. Biochem.*, 50(3), 236(1961)
13. Leadbeater, L. & Perry, S. V. : *Biochem. J.* 87, 233(1963)
14. Buller, A.J., Eccles, J., and Eccles, R.M. : *J. Physiol.(London)*. 150, 399(1960)
15. Close, R. : *J. Physiol. (London)*, 180, 542 (1965)
16. Barany, M. : In "The Contractile Process", Little Brown, Boston, MA, 197(1967)
17. Maruyama, K. and Ishikawa, Y.: *Biochem Biophys. Acta.*, 77, 682(1963)