

## 해바라기씨중의 식용단백질에 관한 연구

단백질의분리 및 그의 화학적 조성에 관한 연구

趙 聖 熙 · 金 俊 平\*

中央大學校 文理科大學 化學科 · \*農科大學 食品加工學科

(1977년 4월 4일 수리)

## Isolation of Sunflower Seed Protein and its Chemical Composition

by

Sung-Hye Cho and Jun-Pyong Kim\*

Department of Chemistry, \*Department of Food Technology  
University of Chung-Ang, Seoul

### Abstract

We have investigated for amino acid composition and molecular weight of the sunflower main protein which was purified by Sephadex column. The results were obtained as follow.

1. The salt-soluble sunflower proteins were highly dispersible in 0.02M sodium phosphate buffer, containing 10% sodium chloride.
2. The sunflower proteins were characterized by comparatively high levels of essential amino acids.
3. Seven bands of component of sunflower proteins were found in disc electrophoretic gel column.
4. The sunflower main protein was purified by Sephadex G-150 and A-25 column chromatography
5. The molecular weight was estimated 86,000 for the sunflower main protein.

### 서 론

한국과 같이 쌀을 주식으로 하는 국민들은 식생활개선택으로 특히 단백질의 보충을 위한 여러종류의 식품이 널리 개발되어야 한다. 이런 점에서 해바라기씨 脫脂粕은 좋은 자원이 될 것으로 기대된다. 해바라기씨 脫脂粕은 단백질의 함량이 다른 脫脂粕들의 것 보다 비교적 많은 것으로 보고되었다. (1-2) Pettit등의 연구에 의하면 (3-7) 해바라기씨 脫脂粕은 사료로 이용될때 영양학적인 면에서 상당한 효과를 얻을수 있다고 보고되었다. 최근에는 해바라기씨 단백질의 화학적 성질을 규

명하기 위하여 Schwenke<sup>(8)</sup>와 Mohammad<sup>(9)</sup>는 염추출 단백질을 acryl amide gel 전기 이동법에 의하여 조사하였고 Rucci<sup>(10)</sup>와 Masao<sup>(11)</sup>는 용매의 조건을 달리한 단백질의 추출방법을 조사하였다. 또한 Gheyasuddin<sup>(12)</sup>는 구형단백질의 일반적인 성질을 조사하였다. 그러나 해바라기씨 단백질의 화학적 규명은 아직도 일반적인 것만을 추리할 수 밖에 없다 더우기 한국에서 재배된 것에 관한 연구는 거의 진행되지 않았다 이에 저자들은 해바라기 脫脂粕의 이용도를 보다 효율적으로 하기 위한 일환으로서 이 단백질을 추출하여 정제한 다음 그의 화학적 조성의 일부를 규명하였다.

실 험

결과 및 고찰

1. 시료조제

공시재는 한국 경기도 수원 에서 재배된 해바라기씨 로서(*Helianthus annus*)껍질을 제거하고 분쇄한 다음 100~150 mesh로 정선하였다. 그리고 이를 soxhlet장 치에 의하여 n-hexane을 용매로 16시간 처리하였다.

2. 분 석

脫脂粕의 일반성분은 A.O.A.C.방법<sup>(13)</sup>에 의하여 분석하였다. 아미노산의 분석은 투석하여 염을 제거한 단백질시료에 6N 염산을 가하여 진공으로 봉하고 105°C에서 22시간 가수분해를 한 다음 자동아미노산 분석기(Hitach KLA-3B)를 사용하였다.

Disc 전기이동은 투석하여 염을 제거한 단백질시료를 Reisfeld의 방법<sup>(14)</sup>에 따라 처리한 다음 glycine buffer (pH8.0)중에서 전개하였다. 이때 전류는 column(6×80mm)한개당 4~5mA를 통하였다.

주단백질의 분자량은 Stokolsa<sup>(15)</sup>의 SDS-polyacrylamide gel 전기이동법에 의하여 결정하였다. 이때 단백질시료는 Sephadex에 의하여 완전히 정제된 것이고 이는 다시 투석하여 염을 제거한 다음에 사용하였다. 그리고 polyacrylamide-gel은 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.2)중에서 column(5×100mm) 한개당 6mA의 전류를 통하였다. 분자량 측정용 표준물질은 chymotrypsinogen(25,700) ovalbumin(4,300), serum albumin(68,000) paramyosin(100,000), β-galactosidase (130,000)등을 사용했다.

3. 염용해성 단백질의 추출

탈지된 시료에 1.5, 2.5, 5, 10, 15, 20%의 염화나트륨용액을 각각 함유시킨 0.02M sodium phosphate buffer (pH 7.0)를 가하고 실온에서 80분간 방치한 다음 각각의 염용해성 단백질을 추출하였다.

4. 단백질의 정제<sup>(16-19)</sup>

전개용매는 2.5%염화나트륨용액을 함유시킨 0.02M sodium phosphate buffer(pH 7.0)를, 그리고 Sephadex는 G-150과 A-25를 사용하였다. Sephadex를 충전한 column(1.5×50cm)은 먼저 전개용매로 전처리한 다음 투석하여 염을 제거한 단백질 시료를 주입하였다. 유출액은 automatic fraction collector로 4ml씩 받고 분광광도계(Shimadzu MPS-50L)로 280mμ에서 그들의 흡광도를 측정하였으며, 이로써 fraction들을 설정하였다.

1. 脫脂粕의 일반성분

해바라기씨 脫脂粕의 일반성분함량은 표 1과 같다. 이 표에서 조단백질의 함량은 48.23%로서 비교적 많은 함량을 나타낸다.

2. 염용해성단백질의 아미노산조성 및 Disc전기 이동상

염용해성 단백질의 추출량은 표 2에서와 같이 0.02M sodium phosphate buffer에 함유된 염화나트륨의 농도에 따라서 다르게 나타난다. 이 표에서 염화나트륨의 농도가 10%일때 단백질의 함량이 75.6%로 비교적 많다.

이 단백질의 아미노산조성은 표 3과 같다. 이 표에서 glutamic acid가 22.1%로 가장 많고 tyrosine이 1.4%로 가장 적다. 필수아미노산의 조성은 leucine이 5.2%로 비교적 많고 lysine이 2.4%로 비교적 적으나 대체로 이들의 함량은 고르게 분포되어 있다.

염용해성 단백질의 disc 전기 이동상은 그림 1과 같다 이 그림에 나타난 band의 수는 모두 7개이다.

3. 염용해성 단백질의 정제

그림 2에서 염용해성단백질을 Sephadex G-150 column으로 정제할때 이의 fraction들은 5개로 나타난다. 이 중에서 F<sub>2</sub>의 것이 주축을 이루고 이의 수득물은 71.2%이다.

그림 3은 그림 2의 F<sub>2</sub> fraction만을 다시 Sephadex A-25 column으로 재정제할때 얻어진 것이다. 그림 3에서 주축을 이루는 F<sub>m</sub> fraction의 수득물은 88.7%이다. 그리고 이 F<sub>m</sub> fraction의 disc 전기이동상은 그림 4와 같이 1개의 band만을 나타내 단일물질임을 확인할 수 있

Table 1. General composition of sunflower seed oil cake

Composition* %	Moisture	Ash	Crude fat	Crude protein	Crude fiber
Sample					
Sunflower seed oil cake	14.31	3.24	0.46	48.23	2.88

\* dry weight

Table 2. Amounts of proteins in the extracts on the effect of sodium chloride conc.s

Conc. of sodium chloride%	1.5	2.5	5	10	15	20
Protein %	68.2	71.6	73.4	75.6	75.3	70.8

었다. 따라서 이를 염용해성단백질의 주단백질로 보고 이의 아미노산 조성과 분자량을 측정하였다.

이 주단백질의 아미노산조성은 표4와 같이 glutamic acid가 22.3%로 가장 많고 tyrosine 0.6%로 가장 적

Table 3. Amino acid composition of the salt-soluble proteins

Amino acid	mg%	Amino acid	mg%
Isoleucine*	4.8	Arginine	8.4
Leucine*	5.2	Aspartic acid	8.2
Lysine*	2.4	Glutamic acid	22.1
Methionine*	2.8	Glycine	7.3
Phenylalanine*	5.9	Histidine	2.1
Threonine*	3.2	Proline	2.8
Valine*	3.9	Serine	3.2
Alanine	4.1	Tyrosine	1.4

\* Essential amino acid

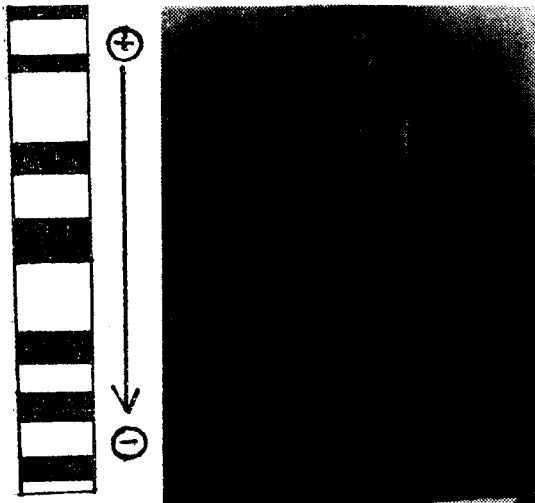


Fig. 1. Electrophoretic pattern of sunflower proteins developed in glycine buffer(pH 8.0)

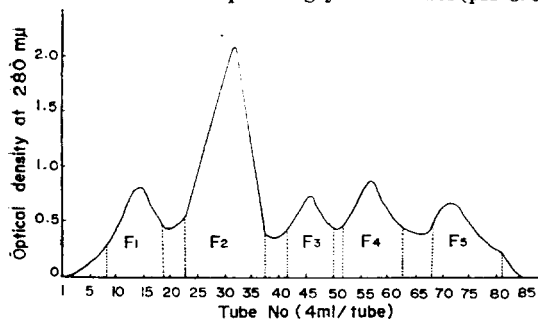


Fig. 2. Fractionation of the salt-extractable sunflower proteins on a sephadex G-150 column(1.5×50) with neutral salt solution

다. 그리고 이는 표 3과 비교하여 볼때 별다른 차이를 나타내지 않는다.

그림 4에서 표준물질과의 비교로 얻어진 염용해성단백질중의 주단백질의 분자량은 약 86,000이다.

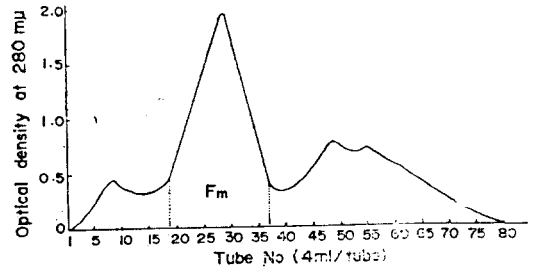


Fig. 3. Fractionation of the F<sub>2</sub> Fraction proteins on a sephadex A-25 column(1.5×50) with neutral salt solution

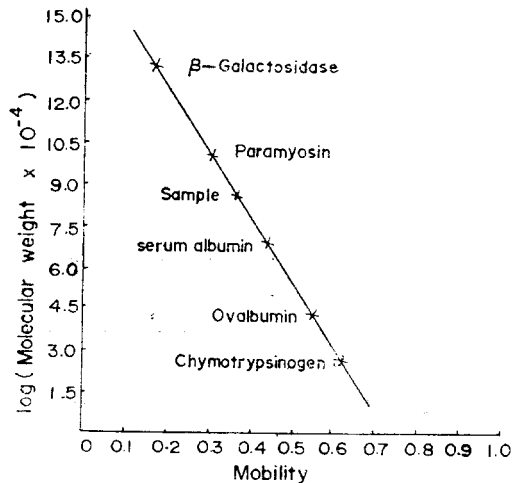


Fig. 4. Determination of molecular weight of main protein by compared with other known molecular weight of proteins

Table 4. Amino acid composition on the main protein of the salt-soluble proteins

Amino acid	mg%	Amino acid	mg%
Isoleucine*	4.2	Arginine	6.8
Leucine*	4.6	Aspartic acid	10.5
Lysine*	2.9	Glutamic acid	22.3
Methionine*	3.4	Glycine	6.8
Phenylalanine*	6.7	Histidine	1.9
Threonine*	4.0	Proline	2.6
Valine*	4.6	Serine	2.9
Alanine	4.8	Tyrosine	0.6

\* Essential amino acid

요 약

한국에서 재배된 해바라기(*Helianthus annuus*)씨 단백질의 화학적 성질을 규명하고자 이의 염용해성 단백질을 추출한 다음 정제하여 주단백질을 분리하여 본 결과

- 1. 염용해성 단백질의 추출용매는 10% 염화나트륨을 함유한 0.02M sodium phosphate buffer가 가장 좋았다.
- 2. 해바라기씨 단백질의 필수아미노산 조성은 비교적 양질인 것으로 나타났다.
- 3. 염용해성단백질의 disc전기이동에서 7개의 band를 나타내었다.
- 4. 염용해성단백질의 주단백질은 Sephadex G-150과 A-25 column으로 정제하여 얻을 수 있었다.
- 4. 주단백질의 분자량은 약 86,000이었다.

本研究는 1976年度 文敎部의 研究助成費에 依해 이루어진 것이다.

참 고 문 헌

- 1. Klain G.J., Hill D.C. and Branian H.D.: *Poultry Sci.*, 35, 1315(1945).
- 2. Sosulski F.W. and Bakal A.: *Can. Inst. Food Technol. J.*, 2, 28(1969).
- 3. Pettit H.H., Slinger S.J. and Evans E.V.: *Sci*

- Agr.*, 24, 201(1948).
- 4. O'neil J.B.: *Sci. Agr.*, 28, 127(1948).
- 5. McGinnis, J.: *Poultry Sci.*, 27, 389(1948).
- 6. Alexander J.G. and Hill D.C.: *J. Nutr.*, 48, 149(1952).
- 7. Morrison, A.B. and Campbell, J.B.: *J. Nutr.*, 70, 112(1962)
- 8. Schwenke D.K.: *Chem. Abstr.*, 81, 62421 u(1974).
- 9. Mohammad A.S. and Sosulski, F. W.: *J. Agr. Food Chem.*, 21, 988(1973).
- 10. Rucci A.O. and Bertoni, M.H. *Chem. Abstr.*, 80, 69365 s(1974).
- 11. Masao S. and *Chem. Abstr.*, 82, 121992b(1975).
- 12. Gheyasuddin S. and Cater C.M.: *J. Food Sci.* 35, 453(1970).
- 13. Association of Official Analytical Chem., 11th ed. Washington D.C. p. 211-216(1970).
- 14. Reisfeld R.A. and Lewis U.J.: *Nature*, 195, 281(1962).
- 15. Stokolsa I.J. and Latz H.W., JR.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 58, 74(1974).
- 16. Ingram V.M.: *Biochim. Biophys. Acta*, 28, 539(1958).
- 17. Porath J.: *Biochim., Biophys. Acta*, 39, 193(1961).
- 18. Gelotte B.: *J. Chromatog.*, 3, 1(1960).
- 19. Bernier G.M. and Putman F.W.: *Science*, 155, 465(1967).