

廢棄種實의 食糧資源化에 關하여

第2報 : 사과씨의 化學的 組成

尹衡植·崔 淸*·吳萬鎭**

慶北大學校 食品加工學科·*嶺南大學校·**忠南大學校

(1982년 12월 8일 수리)

Studies on the Development of Food Resources from Waste Seeds

II. Chemical Composition of Apple Seed

Hyung Sik Yoon, Cheong Choi* and Man Jin Oh**

Department of Food Science and Technology, Kyung-pook National University

**Yeungnam University, **Chungnam National University*

(Received December 8, 1982)

Abstract

The apple seed contained 25.96% of crude fat and 37.62% of crude protein. The lipid fractions obtained by silicic column chromatography were mainly composed of about 93.52% neutral lipid, whereas compound lipid was only 6.48% level. Among the neutral lipid separated by thin layer chromatography, triglyceride was 92.17%, sterol ester, sterol, diglyceride and free fatty acid were 3.53, 2.25, 1.44 and 0.56, respectively. The predominant fatty acids of total and neutral lipids were linoleic acid (59.79—69.37%) and oleic acid (20.04-29.82%), but those of glycolipid and phojspholipid were linoleic acid (29.20-36.04%). The major fatty acids of triglyceride separated from neutral lipid were oleic acid (44.31%), linoleic acid (36.66%) and palmitic acid (12.48%). The salt soluble protein of apple seed was highly dispersible in 0.02M sodium phosphate buffer containing about 1.0M MgSO₄, and the extractability of seed protein was 37%, Glutamic acid was the major amino acid in salt soluble protein, followed by arginine and aspartic acid. The electrophoretic analysis showed three bands in apple seed protein, and the collection rate of the main protein fraction purified by Sephadex G-100 and G-200 was 76.6%. Glutamic acid, aspartic acid and arginine were the major amino acids of the main apple seed protein. The molecular weight for the main protein of the apple seed was estimated to be 45,000.

序 論

食糧資源의 確保를 위한 각종 種實에 대한 研究는 주로 油脂나 蛋白質 資源으로써 食品 및 營養的인 面을 檢討하기 위하여 抽出 및 精製方向과 營養成分의 食飼

料에 대한 效率的인 利用을 檢討하기에 이르렀다. 未利用 廢棄種實의 食糧資源化를 위하여 國內外的으로 많은 研究가 이루어지고 있으나 園藝加工 副産物로 얻어지는 果實 및 葉蔬類 種實의 利用에 대해서는 그다지 많은 報告는 없다.

國內年間 生産量이 46萬噸⁽¹⁾ 以上으로 가장 大衆化

된 果實의 하나인 사과 (*Malus pumila* Miller var. *domestica* Schneider)는 生食 또는 加工食品으로 그 消費量이 每年 增加하고 있으나 加工 副産物로 얻어지는 사과씨의 利用에 대한 研究는 거의 찾아볼 수 없다. 사과씨에 대한 研究는 다양하여 果内 部位別⁽²⁾, 貯藏中⁽³⁾ 脂肪質 成分의 變化와 사과잎⁽⁴⁾의 成分에 대한 報告는 있으나 사과씨에 대한 研究로써는 cholesterol과 progesterone에 대한 確認⁽⁵⁾과 遊離아미노酸等⁽⁶⁾에 대한 단편적인 檢討에 지나지 않아 筆者等은 食糧資源 開發의 一環으로 우선 基礎的인 資料를 얻기 위하여 사과씨의 脂肪質 및 蛋白質 成分을 体系的으로 分析하고 그 特性을 알아 보았다.

材料 및 方法

材 料

本 實驗에 使用한 사과씨는 1980年産 國產사과의 種實로써 대구 파라다이스 工場에서 收集하여 試料로 하였다.

方 法

가. 一般成分의 分析

試料中の 水分, 粗脂肪, 粗蛋白質 및 灰分의 定量은 AOAC 公定法⁽⁷⁾에 따랐다.

나. 脂肪質의 分析

1) 脂肪質의 抽出

試料中の 脂肪質의 抽出은 前報⁽⁸⁾에서와 같이 Folch 法⁽⁹⁾에 따라 하였다.

2) 中性脂肪質, 糖脂肪質 및 磷脂肪質의 分離 定量

試料에서 抽出한 脂肪質을 Rouser 法⁽¹⁰⁾에 따라 計算管 크로마토그래피(SCC)에 의하여 中性 糖 및 磷脂肪質을 分離 定量하였다.

3) 中性脂肪質 成分의 分離 및 定量

얇은 층 크로마토그래피(TLC)에 의하여 前報⁽⁸⁾에서와 같이 中性脂肪質 成分을 分離하고 Amenta 法⁽¹¹⁾으로 定量하였다.

4) 脂肪酸 組成

粗脂肪質, 中性脂肪質, 糖脂肪質, 磷脂肪質 및 中性脂肪質에서 分離한 트리-글리세리드의 脂肪酸 分析은 日本 油脂 및 油脂製品 試驗法⁽¹²⁾에 따라 가스 액체 크로마토그래피(GLC)에 의하여 定量하였으며, GLC의 分析條件은 前報⁽⁸⁾와 同一하게 하였다.

다. 蛋白質의 分析

1) 塩溶解性 蛋白質의 抽出

50mesh 以下로 粉碎한 試料를 n-헥산으로 脱脂시킨 뒤 試料 10g當 0.2~3.0M 各 濃度の NaCl, MgSO₄ 및

Na₂SO₄를 包含시킨 0.02M sodium phosphate 緩衝液 (pH 7.0) 20ml를 加해 4℃에서 90分間 振蕩抽出하고 4,600×g에서 30分間 遠心分離하였다. 上澄液을 다시 10,000×g에서 1時間 遠心分離하여 얻어진 上澄液을 Lowry 法⁽¹³⁾에 의하여 蛋白質을 定量하였다.

2) 塩溶解性 蛋白質의 分劃

塩溶解性 蛋白質 溶液을 脱塩시켜 凍結乾燥한 試料 500 mg에 上記 緩衝液 4 ml를 加하여 溶解시키고 Whatman No. 4 주사기를 使用하여 濾過한 溶液을 Sephadex G-100 및 G-200으로 分劃하였다. 이때 使用된 管의 크기는 2.0×80 cm였으며, 流出液은 自動分劃 分取機 分當 0.4 ml씩 받아 280nm의 波長에서 吸光度를 測定하여 劃分을 設定하였다.

3) 아미노酸 分析

脱塩시킨 蛋白質 試料에 6N 塩酸 용액을 가해 窒素 가스로 치환한 다음 密封하여 105℃에서 24時間 加水 分解시켰으며, 이 分解液을 濾過하여 塩酸을 除去시킨 뒤 pH 2.2의 sodium citrate 緩衝液 10 ml에 녹여 아미노酸 自動 分析用 試料로 하였다.

4) Disc gel 電氣泳動

塩溶解性 蛋白質의 電氣泳動은 Davis⁽¹⁴⁾와 Ornstein⁽¹⁵⁾의 方法에 따랐다.

5) 分子量 測定

塩溶解性 主蛋白質의 分子量 測定은 標準物質 β-galactosidase (MW. 130,000), serum albumin (MW. 68,000), pepsin (MW. 35,000), trypsin (MW. 24,000) 및 hemoglobin (MW. 15,000)을 利用하여 polyacrylamide gel electrophoresis 및 Sephadex G-200에 의하여 測定하였다.

結果 및 考察

一般成分

사과씨의 一般成分을 分析한 結果는 Table 1과 같이 粗脂肪質이 25.06%로 포도씨⁽⁸⁾, 고추씨⁽¹⁶⁾ 등과 거의 비슷한 含量이었으나 粗蛋白質은 37.62%로 포도씨 12.0%⁽¹⁷⁾, 호박씨 25.5%⁽¹⁸⁾, 고추씨 18.5%⁽¹⁸⁾에 비해 높은 含量이어서 그 利用가치가 클 것으로 본다.

Table 1. Chemical composition of apple seed

Seed components	Contents (%)
Moisture	10.92
Crude fat	25.96
Crude protein	37.62
N-free extract	22.08
Ash	3.42

脂肪質의 性狀

가. 中性脂肪質, 糖脂肪質 및 磷脂肪質의 含量
사과씨에서 抽出 精製한 脂肪質을 SCC에 依하여 中性, 糖 및 磷脂肪質을 分離 定量한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2. Contents of neutral lipid, glycolipid and phospholipid in oil from apple seed*

Lipids	Contents (%)
Neutral lipid	93.52
Glycolipid	3.27
Phospholipid	3.21

*Each lipid fraction was separated by slioc acid column chromatography and quantitated by gravimetric measurement.

中性脂肪質 成分이 93.52%로 大部分을 차지하고 있으며 糖脂肪質은 3.27%, 磷脂肪質은 3.21%로 다른 植物性 油脂의 構成 脂肪質⁽¹¹⁾과 類似한 傾向이었다.

나. 中性脂肪質의 構成 脂肪質

SCC를 利用하여 分別한 中性脂肪質을 TLC에 依하여 分離 定量한 結果는 Table 3과 같다. 트리-글리세리드의 含量이 92.17%로 다른 植物性 油脂中 트리-글리세리드의 含量(85~90% 内外)⁽¹²⁾ 보다 다소 높은 값이었고, 其他 脂肪質은 포도씨등 他 植物性 油脂와 類似한 값을 보여주었다.

Table 3. Composition of neutral lipid in oil from apple seed

Fraction of lipid	Contents (%)
Triglyceride	92.17
Diglyceride	1.44
Monoglyceride	-
Free fatty acids	0.56
Sterol	2.28
Sterol ester	3.53

다. 脂肪酸 組成

사과씨에서 抽出 精製한 總脂肪質과 SCC에 依하여 分割한 中性, 糖 및 磷脂肪質, 그리고 中性脂肪質에서 分別한 트리-글리세리드의 脂肪酸 組成을 GLC에 依하여 分析한 結果는 Table 4와 같다.

Table 4. Fatty acid composition of total lipid and major lipid classes in oil from apple seed*

Fatty acid	Total lipid	Neutral-lipid	Glyco-lipid	Phospho-lipid	Triglycerides of N.L.
12:0	-	-	Tr.	0.19	-
14:0	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.
16:0	7.10	7.06	29.20	36.04	12.48
Unknown	-	-	-	-	Tr.
18:0	2.52	2.60	4.61	4.17	3.17
18:1	29.83	20.04	30.83	17.96	44.31
18:2	59.79	69.37	31.91	36.48	36.66
18:3	0.75	0.92	2.45	5.14	2.75
20:0	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.	0.62
Unknown	-	-	Tr.	Tr.	-
22:0	-	-	Tr.	Tr.	Tr.
22:1	-	-	-	Tr.	-

*Expressed as percent and calculated from peak area of the gas chromatograms. Fatty acids are expressed as number of carbons: number of double bounds. Tr.: Trace.

總脂肪質의 脂肪酸 組成은 리놀레산(57.79%), 올레산(29.83%), 팔미트산(7.10%)의 順으로 이들이 사과씨 기름의 主된 脂肪酸이었으며, 그밖의 脂肪酸으로는 스테아르산(2.52%), 리놀렌산(0.75%) 등이었다. 한편 中性脂肪質의 脂肪酸은 總脂肪質의 脂肪酸 pattern과 類似하였으나 糖脂肪質과 磷脂肪質의 脂肪酸 組成에서는 總脂肪質과 中性脂肪質보다 리놀레산의 含量이 상당히 적은 反面 팔미트산의 含量은 4~5배의 높은 含量으로 포도씨의 脂肪酸 組成⁽¹³⁾에서와 같이 特異하다 하겠다.

다. 蛋白質의 性狀

1) 塩溶解性 蛋白質의 溶解度

脫脂시킨 試料에 對하여 濃度를 달리한 各種 塩類(NaCl, MgSO₄, Na₂SO₄)를 包含시킨 磷酸 緩衝溶液으로 塩溶解性 蛋白質을 抽出한 結果는 Fig. 1과 같다. 사용된 塩類 가운데 NaCl과 Na₂SO₄ 塩溶液은 各 濃度에서 20% 未滿의 抽出率을 나타낸 反面 MgSO₄ 塩溶液에서는 1.0M 濃度에서 37% 以上の 좋은 蛋白質 溶解度를 나타내고 있다. 이는 Tinay 等⁽¹⁴⁾의 목화씨 蛋白質의 抽出에 대한 報告와 一致하였다.

2) 塩溶解性 蛋白質의 分離 및 精製

사과씨의 塩溶解性 蛋白質을 Sephadex G-20 column

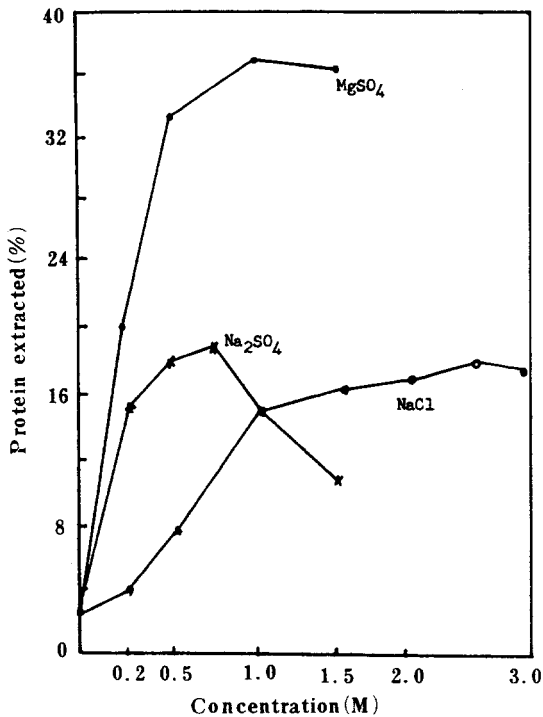


Fig. 1 Effect of MgSO₄, NaCl and Na₂SO₄ salts on the solubility of protein in defatted apple seed meal

을 使用하여 精製하였던 바 Fig. 2와 같이 3개의 劃分을 나타내었으며, 이中 主된 取得率은 76.6%였다.

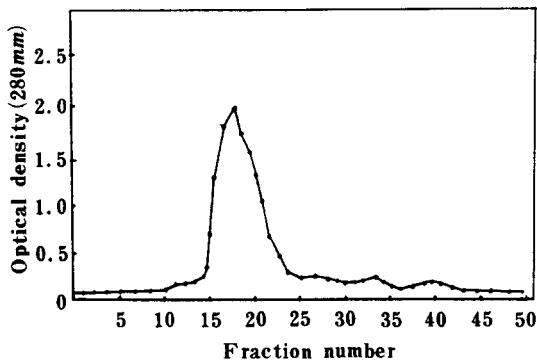


Fig. 2. Fraction of the salt extractable (1.0M MgSO₄) apple seed protein on the Sephadex G-200 column (20×80cm)

3) 아미노酸 組成

1.0 M MgSO₄ 塩溶液으로 抽出한 蛋白質과 Sephadex G-200으로 精製한 主蛋白質 劃分の 아미노酸 組成을 分析한 結果는 Table 5와 같다. 사과씨 蛋白質의 아미

노酸은 16種이었고 그 含量을 보면 글루탐산이 26.95%로 가장 높고 아르기닌 9.34%, 아스파르트산 8.25%의 順으로 나타났으며, 이는 사과씨의 遊離아미노산에 대한 報告⁽⁶⁾와 비슷한 結果였다. 主蛋白質의 아미노酸 組成도 전체 蛋白質의 아미노酸 組成과 類似하였으나 아스파르트산과 아르기닌의 含量이 多少 높은 값을 나타낸 反面 프로린과 메치오닌은 trace로 나타났다.

4) Disc gel 電氣泳動과 分子量 測定

塩溶解性 蛋白質을 電氣泳動한 結果는 Fig. 3에서와 같이 3개의 밴드를 나타내었다. 한편 主蛋白質의 分子

Table 5. Amino acid composition of the salt soluble protein and main fraction protein in apple seed

Amino acid	Contents (% amino acid/total protein) as dry wt basis	
	I*	II**
Lysine	2.98	2.33
Histidine	1.66 56	Tr
Arginine	9.34	11.20
Aspartic acid	8.25	19.39
Threonine	2.69	2.56
Serine	3.98	3.09
Glutamic acid	26.95	23.75
Proline	1.73	-
Glycine	8.12	5.39
Alanine	5.05	3.56
Valine	5.29	4.22
Methionine	2.42	-
Isoleucine	3.15	3.38
Leucine	6.92	5.75
Tyrosine	4.01	1.84
Phenylalanine	4.21	4.50
NH ₃	3.29	7.42

*the salt soluble protein

**the main fraction of salt soluble protein

Tr : Trace



Fig. 3. Disc gel electrophoretic pattern of apple seed protein developed in glycine buffer (pH 8.3)

량을 SDS disc gel 전기泳動에 의하여 標準物質과 比較 測定해 본 結果 Fig. 4에 나타난 바와 같이 約 45,000이었으며, 이는 Sephadex G-200으로 分子量을 確認해 본 結果 類似한 數値를 나타내었다.

의 전기泳動 結果 3개의 밴드를 나타내었고 分割된 主蛋白質의 取得率은 約 76.6%였으며, 아미노酸 組成은 글루탐산, 아스파르트산 및 아르기닌의 順으로 높은 含量이었다. 塩溶解性 蛋白質에서 分割된 主蛋白質의 分子量은 約 45,000이었다.

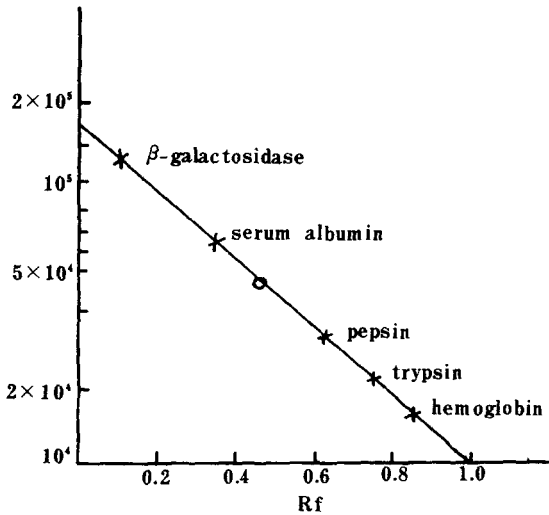


Fig. 4. Determination of molecular weight of the apple seed main protein compared with other known molecular weight of protein

要約

未利用된 廢棄種實을 食糧資源에 利用하기 爲한 研究의 一環으로써 사과씨의 脂肪質 및 蛋白質 成分을 分析한 結果는 다음과 같다. 사과씨의 一般成分中 粗脂肪은 25.96%, 粗蛋白質은 37.62%였다. 사과씨 기름에는 中性脂肪質이 93.52%이나 複合脂肪質은 約 6.48%에 불과하였으며, 中性脂肪質의 成分으로써는 트리-글리세리드가 92.17%, 스테롤 에스터, 스테롤, 디글리세리드 및 遊離 脂肪酸은 各各 3.53%, 2.28%, 1.44% 및 0.56%였다. 脂肪酸 組成은 總脂肪質과 中性脂肪質에서 리놀레산(59.79~69.37%)과 올레산(20.04~29.83%)이 主脂肪酸이었고, 糖脂肪質과 磷脂肪質은 올레산(17.96~30.83%)과 팔미트산(29.20~36.04%)의 含量이 比較的 높았으며, 中性脂肪質에서 分別한 트리-글리세리드의 脂肪酸 組成은 올레산(44.31%), 리놀렌산(36.66%) 및 팔미트산(12.48%)이 主脂肪酸이었다. 塩(1.0M MgSO₄) 溶解性 蛋白質의 抽出率은 37%, 아미노酸 組成은 글루탐산이 가장 높은 含量이었고 다음이 아르기닌, 아스파르트산의 順이었다. 사과씨 蛋白質

文 獻

1. 農水産部: 農林統計年報, p. 84 (1981)
2. Ivanov, C. and Velcheva, M.: *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 55, 29 (1978) [*Chemical Abstract*, 88, 148978n (1978)]
3. Shigeaki, K. and Tatuuo, O.: *J. Japan. Soc. Food Sci. and Technol.*, 26, 162 (1979)
4. Ketchie, D. O. and Kuiper, P. J.: *Physiol. Plant*, 46, 93 (1979)
5. Gawienowski, A. M.: *Steroids*, 12, 545 (1968)
6. Rudnicki, R. M. and Malewski, W.: *Fruit Sci*, 2, 13 (1975)
7. AOAC: *AOAC Method of Analysis*, 13th ed. (1980)
8. 尹衡植, 權重浩, 黃周浩, 崔載春, 申大休: 韓國食品科學會誌, 14, 250 (1982)
9. Folch, J. and Lees, M.: *J. Biol. Chem.*, 226, 497 (1957)
10. Rouser, G. and Kritchersky, G.: *Lipids*, 2, 37 (1967)
11. Amenta, J. S.: *J. Lipid Res.*, 5, 270 (1964)
12. 油脂および油脂製品試驗法部會: 油化學, 19, 337 (1970)
13. Lowry, O. H. and Rosebrough, N. J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
14. Davis, B. T.: *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, 404 (1964)
15. Ornstein, L.: *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, 321 (1964)
16. 김재철, 이준식: 한국식품과학회지, 12, 126 (1980)
17. Kinsella, J. E.: *Food Technol.*, 28, 58 (1974)
18. 金俊平, 李英子, 南宮錫: 韓國食品科學會誌, 10, 83 (1977)
19. 鄭安錫, 辛孝善: 韓國食品科學會誌, 10, 119 (1978)
20. DeMan, J. M.: *Principles of Food Chemistry*, AVI Pub. Co., p. 52 (1976)
21. Tinay, A. and Chandrasehar, H.: *J. Sci. Fd. Agric.*, 31, 38 (1980)