

복숭아 종자의 단백질에 관한연구

이강자

인천대학교 가정관리학과
(1988년 1월 14일 접수)

Studies on the Protein of Peach seed flour

Kang Ja Lee

Dept of Domestic Management, Incheon University, Incheon 402-749, Korea.

(Received January 14, 1988)

Abstract

The proteins of peach seed flour was examined to utilize protein source. The peach seed flour contained 20.38% of crude proteins. The extractability of salt soluble proteins of seed were 70% and recovery rate of main protein fractions separated by sephadex G-200 were about 51%. The electrophoretic analysis showed 11 bands and molecular weight showed 14,000-110,000 in seed proteins. The Amino acid of peach seed flour and isolated were mainly composed of arginine, aspartic acid, glutamic acid, glycine and leucine. The solubility of isolated peach seed protein was the lowest at pH 5.5.

서 론

현 시점에서 인류의 식량난을 완화시킬 수 있는 쉬운 방법으로 식량 저장 중의 감모를 줄이는 것과 미 이용 또는 폐기 자원의 식량화를 들 수 있다.¹⁾

식량 자원에 대한 문제가 심화됨에 따라 그 중에서도 단백질 자원의 개발과 이용에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.²⁾

미 이용 또는 폐기 자원의 이용에 관한 것으로는 개암, 잣, 유자, 은행, 쪽제비싸리, 호박씨, 포도씨, 해바라기씨, 참깨, 면실 등이 국내외적으로 연구의 대상이 되어 왔다.¹⁾

여러 가지 단백질 자원 중 종자유는 유지나 식품

의 단백질 강화나 박을 동물 사료에 이용하는 단백질 자원으로 중요하다.^{3, 4, 5)}

식품 공업은 종자유로부터 저렴하고 영양가 높은 식품을 개발할 수 있는 가능성을 높여주고 있다.⁴⁾

복숭아는 앵도과에 속하는 낙엽 활엽 소교목으로 수평적으로는 함복을 제외한 전국 각지에 야생하며 지리적으로는 일본 중국에 분포하고 있다.⁶⁾

각종 종자에 대한 추출 방법 및 박의 이용에 관한 많은 연구가 보고 되어 있으나 본 연구에서는 이제 까지 거의 연구가 되어 있지 않은 복숭아 종자 단백질의 이용을 위하여 복숭아씨의 일반 성분을 비롯하여 미노산 분석 및 단백질의 특성을 연구 검토하였다.

재료 및 방법

1. 시료조제

본 실험에 사용된 복숭아씨는 경동시장에서 구입한 것으로(1985년산) ball mill로 분쇄한 다음 겉질을 제거한 후 시료로 사용하였다.

종자를 직접 분쇄기로 분쇄하면 지방이 스며 나오므로 거칠게 분쇄하거나 mixer로 유지의 손실이 없도록 분쇄하였다.⁷⁾

2. 일반성분의 분석

시료중의 수분, 조단백질, 조지방질, 회분의 양은 A.O.A.C 방법에 따라 분석하였다.⁸⁾

수분은 vacuum oven에서 함량이 도달할 때까지 건조시켜 정량하였다.

조지방은 Soxhlet 추출기에서 ethyl ether로 조단백질은 microkjeldahl 법을 사용하여 질소계수 6.25를 곱해서 계산했고⁹⁾ 조회분은 직접 회화법으로 정량하였다. 모든 결과는 3회 반복에서 얻은 평균치로 표시하였다.

3. Peach seed 분리물의 조제

Peach seed flour는 0.001N NaOH를(pH 10.3) 혼합해서 15분 간격으로 mixing을 하면서 1시간 동안 실온에 방치하였다.

(water : flour = 20 : 1 v/w)

불용성 화합물은 30분 동안 3000×g로 원심분리해서 제거하였으며 상등액은 0.5N HCl을 첨가하여 pH가 5.5에 도달하였을 때 침전된 단백질은 3000×g로 30분 동안 원심분리해서 분리시켰다.

침전물은 증류수로 2회 세척해서 0.5N NaOH로 pH를 7.0으로 맞추어 동결건조를 해서 시료로 사용하였다.¹⁰⁾

과정을 도표로 나타내면 Fig.1과 같다.

4. Nitrogen solubility

Solubility test는 Mattil (1971)의 방법을 사용해서 pH 3, 4, 5, 5.5, 6, 7, 8, 9, 10.5, 11에서 행하였다.¹¹⁾

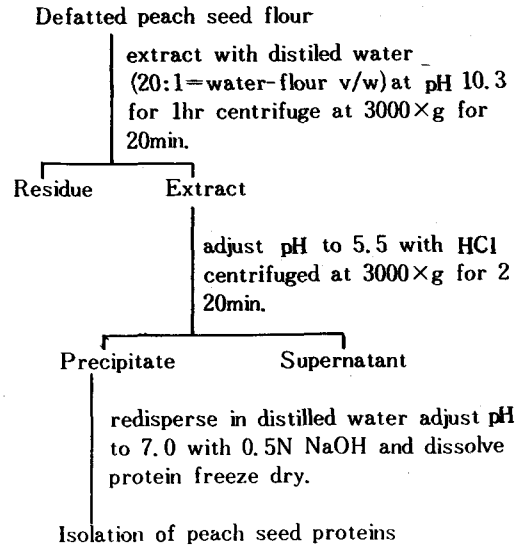


Fig. 1. Flow diagram for the preparation of protein isolated from defatted peach seed flour.

분리물 2g을 증류수에 녹여서 pH를 0.5N NaOH, 0.5N HCl로 맞추면서 측정하였다.^{11 12)}

Supernatant extract는 30분 동안 1300×g로 원심분리하였다.

상등액은 Whatman No.1 filter paper로 여과하여 micro kjeldahl 법에 의해 total nitrogen 함량을 분석하였다.

5. NaCl soluble 분리물의 추출

탈지된 시료에 0.5, 1, 2, 4, 6, 8%의 염화나트륨 용액을 각각 함유시킨 0.02M sodium phosphate buffer (pH 7.0)를 가하고 실온에서 80분간 방치한 다음 각각의 염용해성 단백질을 추출¹³⁾하여 5000×g에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취하였다.^{14 15)}

침전물은 다시 한번 추출한 뒤 상등액을 모아 다시 7000×g에서 30분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 Lowry 법¹⁶⁾에 의해 단백질을 정량하였다.

6. Alkali soluble 분리물의 추출

탈지된 시료에 0.05, 0.1, 0.2, 0.4%의 NaOH 용액을 각각 함유시킨 0.01M citrate phosphate

buffer (pH 7.0)을 가하고 실온에서 80 분간 방치한 다음 각각의 염용해성 단백질을 추출하여 5000 × g에서 15 분간 원심분리하여 상등액을 취하였다.^{14, 15)} 침전물은 다시한번 추출한 뒤 상등액을 모아 다시 7000 × g에서 30 분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 Lowry 법에¹⁶⁾ 의해 단백질을 정량하였다.

7. Peach seed flour와 분리물의 Amino acid 분석

peach seed flour와 분리물의 Amino acid 함량은 Biotronik LC 5001 Amino acid analyzer로 분석하였다.

아미노산 분석 조건은 아래와 같다. 분석 방법은 A, O, A, C 법에 준하였다.^{17, 18)}

Instrument: Biotronik LC5001	
Column	Dimension: 3.2 × 400mm Column Type of resin: BTC-2701 Bed height : 210mm
Pump system	
Flow rate: 0.28ml/min.	
Buffer system	A pH 3.42 B pH 3.73 C pH 4.30 D pH 5.20 E pH 10.60 F regeneration sample dilution pH 2.2
Temperature system	
Coil temp. :	125°C
Column temp.	T1=48°C T2=56°C T3=64°C T4=70°C

8. 단백질의 분리

추출하여 얻은 염용해성 단백질을 0.02M sodium phosphate buffer로 (pH 7.0) 4°C에서 24 시간 투석시킨 다음 7,000 × g에서 30 분간 원심분리하여 침전물을 제거한 뒤 상등액 5ml를 (30mg proteio/ml) Sephadex G-200 column (2.0cm × 50 cm)에 loading하여 Sodium phosphate buffer로 elution 하였다.

이때 유출액은 fraction collector로 시간당 10ml씩 받아 (tube 당 5ml) 280mm에서 흡광도를 측정

하였다.

9. 단백질의 Disc-acid urea electrophoresis

Sephadex G-200 column에 apply하기 전의 염용해성 단백질의 전기영동은 Davis의¹⁹⁾ 방법을 사용하여 7% polyacrylamide gel을 사용하여 disc-gel electrophoresis를 하였다. polyacrylamide gel은 총 acrylamide의 농도가 7%, cross-linker의 농도가 2.6%인 gel을 사용하였으며 분리한 염용해성 단백질 (20 μg/50 μl)에 0.25% Bromophenol Blue 1 μl, sucrose 약 20mg을 혼합하여 loading하여 Tris-glycine buffer (pH 8.3)로 gel tube 당 8mA로 6시간 전기 영동하였다.

염용해성 단백질의 분자량을 알아보기 위하여 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis를 하였다.

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis의 분자량 결정을 위한 표준 물질로는 bovine albumin (M.W 66,000), carbonic anhydrase (M.W 29,000), glyceraldehyde-3-phosphodehydrogenase (M.W 36,000), albumin egg (M.W 45,000), β-galactosidase (M.W 116,000) 등을 사용하였다. 전기 영동된 gel은 1% coomassie brilliant blue로 4시간 동안 염색하여 7.5% acetic acid 용액에 담구어 탈색시켜 polaroid로 사진을 찍었다.

결과 및 고찰

1. 일반성분

Peach seed flour의 일반 성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다.

이들 중 조지방질의 함량은 53.53%로서 참깨 (56.4%) 보다는 낮은 수치였으나 수박씨 (40.4%)²¹⁾ 호박씨 (40.2%)⁴⁾ 및 참외씨 (41.8%)²²⁾ 보다는 훨씬 높은 함량을 보여 주었다.

조단백질의 함량은 20.38%로서 고추씨 (18.3%)²³⁾ 보다는 다소 높은 함량을 보여 주었다. Safflower는 조지방 함량이 30~50%이고 조단백질 함량은 13~17%로 알려져 있다.⁵⁾

Table 1. Proximate composition of peach seed flour

Components	contents (%)
Moisture	1.85
Crude protein	20.38
Crude fat	53.53
Crude ash	3.1
Carbohydrates	21.1

2. Nitrogen Solubility

Protein 분리물의 최대의 용해도는 등전점에서 떨어진 pH치에서 나타났으며, pH 10.5에서 98%로서 용해도가 가장 높게 나타났다. 그 결과는 Fig.2와 같다. 일반적으로 용해도가 가장 낮은 pH는 4~5 사이이다.

3. 사이이다

Peach seed 분리물의 침전은 pH 5.5에서 일어났으며 등전점으로 사료되었다. Peach seed flour의 Nitrogen solubility가 가장 낮은 pH는 5.5인데 비해 mung bean flour¹⁰⁾는 4.5로 나타났으며, legume protein 분리물 solubility에 대해서는 많은 연구가 이루어졌다.^{24 25 26)}

Cotton seed flour의 solubility는 pH가 4.5~7.0 사이에 증가하는 것으로 나타났다.^{27 28 29)} cotton seed flour는 pH가 10일째 가장 높은 용해도를 보이는 것으로 알려졌다.¹⁴⁾

Soybean meal은 pH 4.5에서 추출하면 2s와 7s만이 추출되는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾

4. NaCl Soluble 분리물의 추출

탈지한 시료를 사용하여 NaCl soluble 분리물을 추출한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 NaCl 농도가 4% 일때 회수율이 가장 높았다.

Sunflower seed protein은 sodium chloride가 1.0M일때 가장 회수율이 높은 것으로 보고되어 있다.³⁰⁾

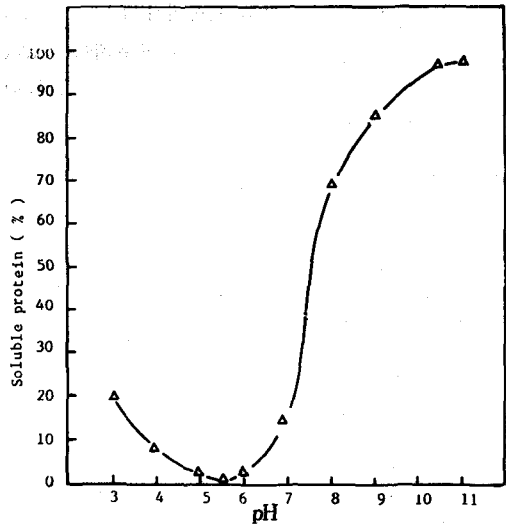


Fig. 2. Effect of pH on solubility of peach seed flour protein isolate at room temperature.

Table 2. The effect of sodium chloride concentration on amounts of proteins in the extracts

Conc. of sodium chloride%	0.5	1	2	4	6	8
Protein%	60.81	62.27	85.43	89.80	86.29	80.94

5. Alkali soluble 분리물의 추출

탈지한 시료를 사용하여 alkali soluble 추출물을 추출한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 NaOH 농도가 0.1%일때 회수율이 가장 높게 나타났다.

Cotton seed flour는 NaOH 농도가 0.2% 일때 분리물의 회수율이 가장 높게 나타났으며 peach seed flour도 이와 별 차이가 없었다.³¹⁾

Table 3. The effect of sodium hydroxide concentration on amounts of proteins in the extracts

conc. of sodium hydroxide%	0.05	0.1	0.2	0.4
protein%	60	88	76.48	75.67

6. Peach Seed Flour 와 분리물의 Amino

Acid 조성

Peach seed flour 와 분리물의 아미노산 조성을 분석해 본 결과 arginine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, leucine 의 함량이 조금 높은 것으로 나타났으며, 그 결과는 Table 4 와 같다.

이 결과는 사과씨³²⁾의 아미노산 조성 과 유사했으며 식품 차원으로 이용 가치가 높은 것으로 사료되었다.

Mung bean, soybean, peas, red bean 등도 전체 아미노산 함량중 glutamic acid 와 aspartic acid 의 함량이 높은 것으로 나타났으며 peach seed flour 도 이와 유사한 경향을 보였다.³³⁾

7. 단백질 정제

Peach seed flour 의 염용해성 단백질을 Sephadex G-200 으로 정제해 본 결과 Fig.4와 같이 3개의 분획을 나타내었으며 이중 주된 분획의 수득율은 약 51%였다. 주된 분획을 다른 resin 을 사용하여 다시 한번 분리해 보면 몇개의 분획으로 분리가 가능할 것으로 사료되었다.

Table 4. Amino acid composition of peach seed flour and its isolated proteins.

Amino acid	Peach seed flour	Peach seed isolate
Lysine	9.84	10.11
Histidine	13.40	14.19
Arginine	72.13	75.21
Aspartic acid	36.61	37.02
Threonine	10.15	11.01
Serine	16.01	16.09
Glutamic acid	68.74	69.04
Proline	0.68	-
Glycine	24.19	25.11
Alanine	16.99	18.08
Valine	10.93	12.08
Methionine	3.38	4.16
Isoleucine	13.38	14.32
Leucine	26.84	27.66
Tyrosine	10.08	12.07
Phenylalanine	18.31	19.08
Total	351.66	365.23

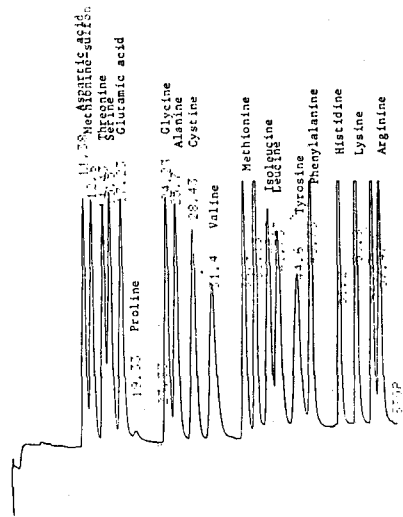


Fig 3. Chromatographic analysis of mixtures of standard amino acids.

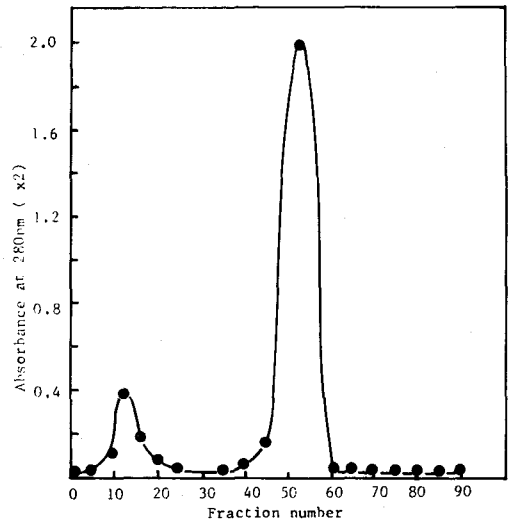


Fig 4. Fractionation of peach seed salt soluble protein on Sephadex G-200. Column size : 2.0 x 50cm. Sample : 150mg of peach seed salt soluble protein in 5ml. Flow rate : 10ml/hr. Eluant : 0.02M sodium phosphate buffer (PH 7.0). Fraction volume : 5ml.

수용성 soybean protein 을 Sephadex G-200 resin 을 사용하여 gel 여과하면 5개의 분획을 나타내는

것으로 알려져 있는데 peach seed flour도 이와 유사한 경향을 보였다.³⁴⁾

8. 단백질의 Disc-gel electrophoresis

Davis의 방법에 따라 7% acrylamide gel로 전기 영동한 결과 Fig.5와 같이 11개의 band를 나타내었으며, 11개 band의 peach seed protein의 분자량은 SDS-molecular weight markers와 비교한 결과 14,000~110,000 사이인 것으로 나타났다.

각각의 Band의 분자량은 더 연구를 해야 할 것으로 생각된다.

$$Rf = \frac{\text{distance of protein migration}}{\text{distance of tracking dye migration}}$$

같은 방법으로 전기 영동한 결과 팔은 9개의 band를 녹두는 12개의 band를 강낭콩은 11개의 band를 가지는 것으로 보고되어 있으며 복숭아 종실도 11개의 band를 나타내었다.³⁵⁾

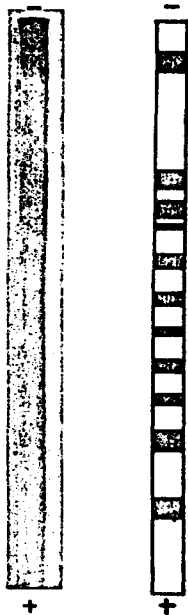


Fig 5. Disc electrophoresis of peach seed water soluble protein. (electrophoresis was performed in 7% polyacrylamide gel in tris-glycine buffer at pH 8.3)

요 약

Peach seed flour의 단백질에 관한 연구를 한 결과는 다음과 같다.

일반성분중 조단백질의 함량은 20.38%였다.

염용해성 단백질의 추출율은 약 70%였으며 단백질 정제 결과 주된 분획의 수득율은 51%였다.

전기 영동 결과 11개의 band가 확인되었다.

분자량은 14,000~110,000 사이인 것으로 나타났다.

Peach seed flour와 peach seed 분리물의 amino acid 분석결과 arginine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, leucine의 함량이 높은 것으로 나타났다.

Nitrogen solubility는 pH가 5.5일때 가장 낮게 나타났다.

사 의

본 연구는 문교부 학술연구조성비에 의하여 이루어진 것으로 문교부 당국에 감사드린다.

문 헌

1. 허재욱 1 한양대학교 대학원, 박사학위논문, 1985.
2. 윤형식, 박진상 : 한국식품과학회지, 17, 248 (1985).
3. Kaufman, H.P.: "Analyse der fette and Fettprodukte" springer Nerlag, Berlin, Germany (1958).
4. 김준평, 이영자, 남궁석 : 한국식품과학회지, 10, 83 (1978).
5. ALLAN K, Smith : J. Am. oil. chem. Soci., 48, 38 (1971).
6. 문교부. 한국동식물도감, 식물(목·초본)편, 제 5권, 삼화출판사, 572 (1965).
7. 김영배 : 식품과 영양, 제 6권, 제 3호(1985).
8. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis 13th ed washing ton D.C. Association of affi-

- cial Analytical Chemists, (1980).
9. chapman, H.D. and praft, P.E.: *Methods of analysis for soils, plants and waters* (1961).
 10. Coffmann, C.W. and Garcia, V.V.: *J. Food Technol.*, **12**, 473 (1977).
 11. Mattil, F.F.: *J. Am. oil. chem. Soci.*, **48**, 477 (1971).
 12. Chemical Abstracts 82, 121978 (1975).
 13. 조성희, 김준평 : 한국식품과학회지, **9**, 153 (1977).
 14. Tinay, A.E., chandrasekhar, H. and Ramatham, G.: *J. Sci. Food. Agr.*, **31**, 38 (1980).
 15. Robert, L.A., Walter, J.W. and Donald G.: *J. Agr. Food. chem.*, **21**, 251 (1973).
 16. Lowry, O.H. and Rosebrough, N.S.: *J. Biol. chem.*, **193**, 265 (1951).
 17. 김영배 : 식품과 영양, 제 6권, 제 2호(1985).
 18. Darrel, H.S., William, H.S. and standford, M.: *Anal. Chem.*, **30**, 1191 (1958).
 19. Davis, B.: Disc-electrophoresis - II, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404 (1964).
 20. Weber, K. and Osborn M.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 4406 (1969).
 21. 윤형식, 권중호, 황주호, 배만종 : 한국식품과학회지, **12**, 207 (1983).
 22. 윤형식, 오만진, 최청 : 한국농화학회지, **26**, 163 (1983).
 23. 이강자, 한재숙, 이성우, 박춘란 : 한국식품과학회지, **7**, 91 (1975).
 24. Morr, C.V., Swenson, P.E. and Richter, R.L.: *J. Food. Sci.*, **15**, 102 (1973).
 25. Nash, A.M., Eldridge, A.C. and wolf, W. J.: *J. Agr. Food. Chem.*, **15**, 102 (1967).
 26. Rhee, K.C., Cater, C.M. and Mattil, K. F.: *Cereal Chem.*, **50**, 395 (1973).
 27. Barman, B.C., J.R.Hansen and A.R.Mossey : *J. Agr. Food. Chem.*, **25**, 638 (1977).
 28. Franzen, K.H., and J.E.Kinsella : *J. Agr. Food Chem.*, **24**, 788 (1976).
 29. Harper, G.H., and K. J. Smith : *Econ. Bot* **22**, 63 (1968).
 30. Gheyasuddin, S., Cater, C.M. and Mattil, K.F.: *J. Food Sci.*, **35**, 453 (1970).
 31. Choi, Y.R., Wsas, E.W. and Rhee, K.C.: *J. Am. Oil. Chem. Soci.*, **58**, 1044 (1981).
 32. 윤형식, 최청, 오만진 : 한국식품과학회지, **15**, 128 (1983).
 33. 농촌진흥청 : 식품분석표, 한국응용영양사업용, 제 1개정판(1977).
 34. Tetsujiro obara and Miyo Kimura : *J. Food Sci.*, **32**, 531 (1967).
 35. 강명희, 이서래 : 한국식품과학회지, **10**, 415 (1978).