

## 염색법에 의한 쌀 단백질의 함량 및 질의 평가에 관한 연구

김 성 곤 · 이 춘 영 · 박 훈\*

서울대학교 농과대학 농화학과 · 농촌진흥청 식물환경연구소\*

(1971년 6월 30일 수리)

## Evaluation of Protein Content and Quality in Brown Rice by a Dye-binding Method

by

Seung Kon Kim, Chun Yung Lee and Hoon Park\*

College of Agriculture, Seoul National University, Suwon; Plant Environment Research

Institute\*, Office of Rural Development, Suwon, Korea

(Received June 30, 1971)

### Abstract

The dye-binding method based on the reaction of acidic orange-G dye with basic groups of protein molecule was investigated to observe its applicability to the determination of protein, basic amino acid and lysine contents in brown rice of several high-protein rice lines.

The protein content of rice samples ranged from 7.91 to 10.53% and from 8.93 to 11.96% in terms of wet and dry bases, respectively. The correlation between dye-binding absorbance and protein content in terms of both dry and wet bases was highly significant; their correlation coefficients being  $-0.955^{**}$  and  $-0.975^{**}$ , respectively. The correlation of dye-binding absorbance lysine and basic amino acids were highly significant and their correlation coefficients were similar. Dye-binding absorbance-lysine showed a lower correlation than dye-binding absorbance-protein but a higher correlation than protein-lysine.

### 서 언

단백질 함량이 높은 쌀 품종을 육성하는 문제가 최근 육종학자 사이에 상당한 관심을 자아내게 하고 있다. 그러나 실제에 있어 많은 시료 중에서 소수의 우수 품종을 선택하는 데에는 질소 및 아미노산 분석 등이 필수적으로 뒤 따라야 하는데 종래의 방법들은 힘이 들거나 시간이 오래 걸리며 비 능률적이다. 따라서 육종에서는 보다 빠르고 쉬운 mass screening 방법의 필요성이 절실히 요구되고 있다.

1944년 Frankel-Conrat 와 Cooper<sup>(1)</sup>는 과잉의 orange-

G를 pH 2.2에서 단백질과 반응시킴으로써 조단백질 함량을 결정할 수 있는 간편하고 빠른 방법을 발표하였다. 그후 이 방법은 밀<sup>(2,3)</sup> 콩제품<sup>(4)</sup> 보리<sup>(5-7)</sup> 쌀<sup>(8)</sup> 및 기타의 곡류<sup>(9,10)</sup> 등의 단백질 정량에 사용되었으며 최근 이 방법의 유용성이 크게 입증되었다.<sup>(9,10)</sup> 그러나 염색법이 쌀에 적용되기는 극히 최근의 일로서 Parial 과 Rooney<sup>(12)</sup>는 orange 12 dye를 현미와 백미의 단백질 정량에 이용하여 좋은 결과를 보고하였으며 국제미작연구소(International Rice Research Institute, IRRI, Philippines)에서는 현미 중의 라이신 함량과의 관

계를 보기위하여 이 방법을 사용하였다. (13) 그러나 이 방법이 고 단백질 쌀 품종의 screening 에도 적합한지의 여부는 아직 연구되지 못하고 있다.

본 연구에서는 염색법을 고 단백질 품종의 단백질 함량 결정에 이용할 수 있는지의 여부를 알기 위하여 최근 고 단백질 품종으로 육종되고 있는 IR-667 계통에 대해 시험하여 보았다. 아울러 염기성 아미노산의 함량(basic amino acids, 이하 BAA 로 약칭함)과 라이신 함량 결정에 대한 이 방법의 적용성을 검토하였기로 그 결과를 보고 한다.

### 시료 및 방법

#### 1. 시 료

1970 년 농대 시험포장에서 수확한 IR-667 18 계통과 IR-1317 1 계통 및 장려 품종인 진흥 등 모두 20 계통 및 품종을 선택하였다. 시료는 현미로 만들어 Wiley mill 로 60 mesh 로 분쇄하여 실온에서 2 일간 풍건하고 수 분변화를 막기 위하여 밀봉된 용기에 보관하였다.

#### 2. 질소 정량

전 질소는 A.O.A.C. 의 micro-Kjeldahl 법 (14) 으로 정량 하였으며 조단백질은 쌀의 질소계수인 5.95 를 곱해 표시하였다.

#### 3. 염색법

색소액의 조성은 1 l 당 orange-G 2 g, citric acid 15.84 g, sodium phosphate(dibasic) 2.89 g, thymol 0.3 g 이고 pH 는 2.2 이었다.

염색법은 Osone 과 Takagi 의 방법 (8) 에 준하였다. 즉 시료 400 mg 을 50 ml 삼각후라스크에 넣은 다음 색소 용액 4.0 ml 를 가하여 Wrist-action 진탕기로 정확히 3 시간동안 진탕한 다음 상등액을 여과하고 그 중 0.5 ml 를 덜어 pH 2.2 의 citrate-phosphate buffer 용액으로 10 0 ml 가 되게 희석시켰다. 이 희석액을 Coleman Universal Model 14 비색계로 470 mμ 에서 흡광도(optical density)를 측정하였다. 본 연구에서는 dye-binding capacity (DBC) 대신에 과잉의 색소에 대한 흡광도(dye-binding absorbance, DBA)로 결과를 나타내었다

#### 4. 염기성 아미노산의 분석

시료 100 mg 을 시험관에 취하고 6 N HCl 2 ml 를 가한 다음 110°C 의 oven 에서 24 시간 가수분해 하였다. 가수분해 후 아미노산 자동분석기(Hitachi, KLA-3 B)로 BAA 의 각 함량을 정량하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. DBA 와 단백질 함량과의 관계

실험에 사용한 시료의 단백질 함량은 Table 1 에, DBA 와 단백질 함량과의 관계는 Fig. 1 에 표시하였다 DBA 와 단백질 함량과의 관계는 고도의 상관관계를 보여주고 있으며 단백질을 건물중으로 표시한 경우

Table 1. The protein content in rice varieties (Brown rice)

Sample No	Variety	Moisture (%)	Crude Protein(%)(N×5.95)	
			Wet basis	Dry basis
1	IR-667 (IR8×TN1×YUKARA)	12.43	9.94	11.36
2		12.30	10.06	11.48
3		12.17	10.23	11.66
4		12.06	9.40	10.77
5		11.59	9.76	11.01
6		11.88	10.06	11.42
7		12.64	9.04	10.35
8		12.31	9.58	10.95
9		12.82	9.82	11.25
10		11.81	10.06	11.36
11		11.47	9.52	10.77
12		11.42	9.46	10.65
13		12.24	8.57	9.76
14		12.15	8.87	10.12
15		11.87	8.87	10.06
16		11.77	9.64	10.95
17		12.23	9.34	10.65
18		11.60	10.23	11.60
19	IR 1317 (Jinheung×IR 262/2)	12.07	10.53	11.96
20	Jinheung	11.58	7.91	8.93

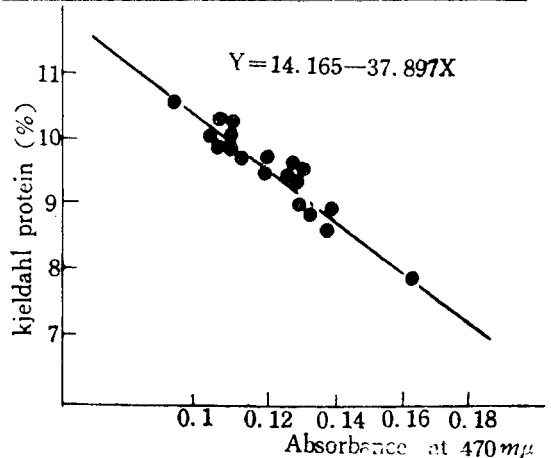


Fig. 1. Relationship between absorbance of unbound orange-G dye and the amount of Kjeldahl protein (wet basis) for brown rice

에도 Fig. 1 과 비슷한 결과를 나타내었다 (Table 3). 따라서 염색법을 mass screening 에 이용하는 경우 수분 정량은 생략할 수 있으며 또한 회귀직선 (Fig. 1 및 Table 3)으로 부터 단백질 함량 (생체중 및 건물중)을 쉽게 구할 수 있을 것이다.

2. DBA 와 BAA 함량과의 관계

Table 2 에는 BAA 함량을, Fig. 2 에는 DBA 와 BAA 함량과의 관계를 나타내었다.

Table 2. Basic amino acid content in rice varieties (mg/g sample)

Sample No.	Lysine	Histidine	Arginine	Total
1	4.41	3.43	6.18	14.02
2	3.58	2.16	5.12	10.86
3	2.79	2.08	7.69	12.56
4	3.80	2.59	8.86	15.12
5	3.37	2.26	4.87	10.50
6	3.59	2.33	6.24	12.16
7	3.49	1.99	4.64	10.12
8	3.51	1.89	4.50	9.90
9	3.65	2.31	5.36	11.32
10	3.86	2.56	7.10	13.52
11	3.33	1.79	3.88	9.00
12	2.91	1.37	4.94	9.22
13	2.58	1.22	2.72	6.52
14	3.00	1.70	3.92	8.62
15	2.84	1.97	5.46	10.27
16	3.44	2.28	6.08	11.8
17	3.59	2.18	5.88	11.65
18	3.57	2.44	5.93	11.94
19	4.92	3.28	9.75	17.95
20	3.13	2.03	5.75	10.91

Fig. 2 에서 보는 바와같이 DBA-BAA 의 관계는 높은 상관관계를 보이고 있으나 DBA-Protein 보다는 다소 낮은 경향을 보이고 있다 (Table 3). 여기에서 다른 곡류의 결과와는 상이한 결과가 나타나고 있다.<sup>(10)</sup>

DBA-BAA 사이에는 고도의 상관관계를 보이고 있으므로 이 방법을 BAA 함량이 높은 품종의 선택에 사용할 수 있을 것이다. 이 경우 염색법에 의해 선택된 BAA 함량이 높은 품종에 대해서는 그 이유가 아미노산 조성의 변화에 의한 것인지 또는 전체 아미노산 함량의 증가에 의한 것인지는 질소 정량 및 아미노산 분석 등에 의해 확인해야 한다. 그러나 이들 재래적인 방법의 적용은 소수의 품종에만 제한되므로 상당히 능률적이라 할 수 있다. 실제로 Hagberg 와 Karlsson<sup>(7)</sup>은 보리에 이 두 방법을 병행하여 좋은 결과를 보고 하였다.

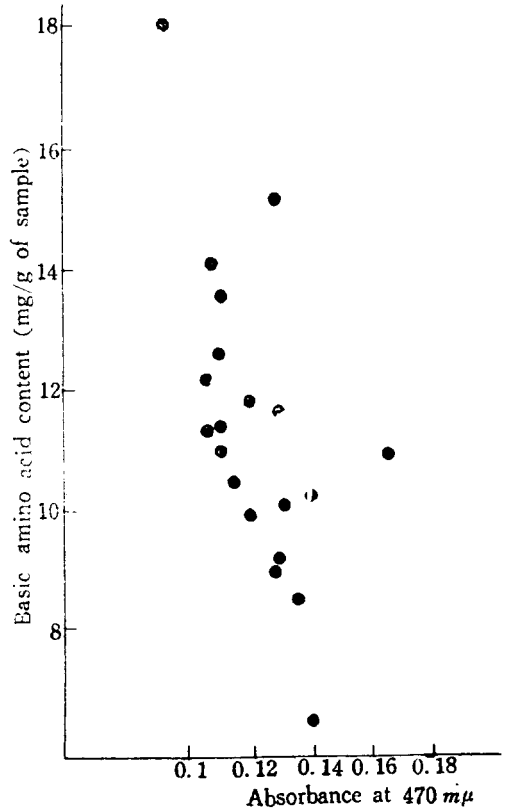


Fig. 2. Relationship between absorbance of unbound orange-G dye and the amount of basic amino acids

3. DBA 와 라이신 함량과의 관계

라이신 함량은 Table 2 에 실려 있으며, DBA 와 라이신 함량과의 관계는 Fig. 3 에 표시하였다.

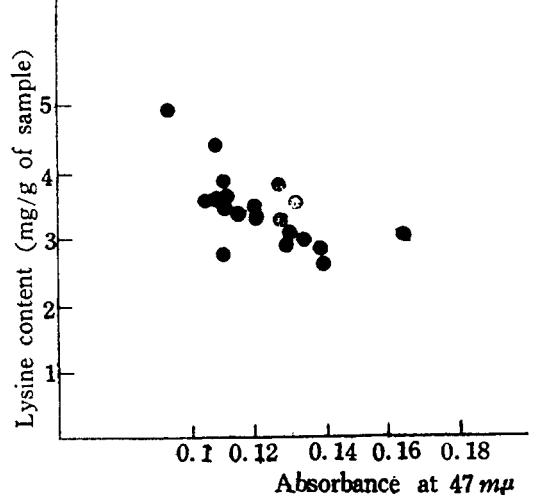


Fig. 3. Relationship between absorbance of unbound orange-G dye and lysine content

DBA-lysine 의 관계에서는 DBA-protein 관계보다는 다소 낮은 상관 관계를 보이고 있으나 DBA-BAA 의 관계와는 비슷한 결과를 보이고 있는데 이는 IRRI 의 보고<sup>(18)</sup>와는 상이한 결과이다.

염기성 아미노산 중에서 라이신만이 쌀 단백질의 제한 아미노산임을 생각할 때 DBA-lysine 관계가 흥미의

초점이 될수 있다. 쌀단백질 함량 중에서 히스티딘과 아지닌의 함량은 쌀단백질 함량의 변화에 영향을 받지 않는다는 사실을 감안할 때 염색법은 또한 라이신 함량 결정법으로 간주할 수 있을 것이다<sup>(13)</sup>. Fig. 3 에서 보는 바와 같이 DBA-lysine 의 높은 상관관계는 위의 사실에 비추어 볼 때 흥미로운 결과라 하겠다.

**Table 3. Correlations between dye-binding absorbance, lysine content, protein content and the amount of basic amino acids in brown rice**

Correlation between	Number of sample tested	Correlation coefficient <sup>c)</sup>	Regression equation <sup>d)</sup>
Protein <sup>b)</sup> -DBA	20	-0.955**	Y=16.147-43.497X
Protein <sup>b)</sup> -DBA	20	-0.975**	Y=14.156-37.897X
Protein <sup>b)</sup> -Lysine	20	0.217	
DBA-Lysine	20	-0.632**	
DBA-BAA	20	-0.580**	

a) dry basis b) wet basis c) \*\*...significant at 1% level  
d) Y...Predicted protein content, X...DBA at 470 mμ

요 약

Frankel-Conrat 와 Cooper 에 의해 개발된 쉽고 빠르며 능률적으로 단백질 함량 및 질을 결정할 수 있는 염색법을 고단백 품종의 선발에 이용할 수 있는지의 여부를 알기 위하여 최근 고단백 수도품종으로 육종되고 있는 IR-667 계통에 적용하여 단백질, BAA, 및 라이신 함량과의 관계를 비교 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

DBA-protein 의 관계는 고도의 상관관계를 보였으며 단백질 함량을 생체중으로 나타냈을 때 -0.975\*\*, 건물중으로 나타냈을 때 -0.955\*\*의 상관계수를 보였다. DBA-lysine 및 DBA-BAA 의 관계는 모두 고도의 상관관계를 보였으며 비슷한 상관계수를 보였다. DBA-lysine 의 관계는 DBA-protein 의 관계보다는 다소 낮으나 protein-lysine 과의 관계보다는 높은 상관 관계를 나타내었다.

본 연구를 수행하는 데 깊은 관심을 가져 주시고 또 시료를 제공해 주신 농학과 허문회 교수님께 사의를 표합니다.

문 헌

1. Frankel-Conrat, H. and Cooper, M.: *J. Biol. Chem.*, 154, 239 (1944).

2. Udy, D. C.: *Cereal Chem.*, 31, 389 (1954).  
3. Udy, D. C.: *Cereal Chem.*, 33, 190 (1956).  
4. Pomeranz, Y.: *J. Food Sci.*, 30, 307 (1965).  
5. Olson, W. J. and Heiges, M. W.: *Am. Soc. Brewing Chemists, Proc.* p.58 (1962).  
6. Mossberg, R.: *Agr. Hort. Gen.*, 24, 193 (1966).  
7. Hagberg, A. and Karlsson, K. E.: *Proc. IAEA Panel on New Approaches to Breeding for Plant Protein Improvement*, pp. 17~28 (1969).  
8. Osone, K. and Takagi, T.: *J. Breeding (Japan)*, 20, 301 (1970).  
9. Mossberg, R.: *Agr. Hort. Gen.*, 23, 206 (1965).  
10. Mossberg, R.: *Proc. IAEA Panel on New Approaches to Breeding for Plant Protein Improvement*, pp 151~160 (1969).  
11. Moran, E.T. Jr., Jensen, L. S. and Maginnis, J.: *J. Nutr.*, 79, 239 (1963).  
12. Parial, L. C. and Rooney, L. W.: *Cereal Chem.*, 47, 38 (1970).  
13. International Rice Research Institute: *Annual Report*, pp 36~37 (1969).  
14. Horwitz, W. (Ed.): *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, 9 th Edition (A. O. A. C., Washington, D. C.) p.643 (1960).