

## 蛋白質 食糧資源의 開發에 關한 研究

(韓國產 綿實에서 蛋白質의 分離 및 食品에의 應用)

金俊平 · 金昌種 · 南廷姬 ·

中央大學校 農科大學 食品加工學科 \*中央大學校 藥學大學

(77년 7월 11일 수리)

## Studies on Development of Protein Food Resources

(Separation of Protein from Korean Cottonseed and its Application to Food)

by

Jun-Pyong Kim, Chang-Johng Kim and Chung-Hee Nam

Department of Food Technology, University of Chung-Ang

\*College of Pharmacy, University of Chung-Ang, Seoul.

(Received July 11, 1977)

### Abstract

Dehulled and defatted Korean cottonseed flour was extracted with alkaline solution for 30 minutes and had precipitated the crude portein by adjusting pH 1~12. The general composition and the amino acid composition of cottonseed protein were analyzed. Crude protein was purified with sephadex G-100 and G-200, and its component had been identified by disc electrophoresis. Toxic gossypol was removed by *n*-hexane, acetone and other solvents.

The results were as follows.

- (1) pH 5, pH 7 and pH 4 were the best condition of precipitation of curde protein at single, two step and water extraction, respectively.
- (2) The cottonseed flour which was dehulled and defatted, contained 61.3% of crude protein.
- (3) The protein which was isolated from cottonseed flour, contained 20% of glutamic acid, and comparatively high levels of essential amino acids.
- (4) Dehulled cottonseed flour contained 0.97% of total gossypol and could be romoved 70% of total gossypol by extraction with *n*-hexane.
- (5) 10-13 bands of water soluble protein were found in disc electrophoresis, and 10-12 bands in protein were isolated by single and two step procedures.
- (6) The cottonseed protein could be purified by sephadex G-100 and G-200.
- (7) 10-20% of gossypol-free cottonseed fluor could be used for animal and human consumption.

### 序 論

糧穀의 絕對量이 不足한 우리나라와 같은 實情에서 食生活 改善策으로 蛋白質 補充을 위한 여러 種類의

食品이 널리 研究 開發되어야 한다. 이런 點에서 綿實의 研究는 重要한 位置에 있다.

Walker<sup>(1)</sup> 등의 研究에 의하면 綿實은 人類에 必要한 蛋白質 補充 食品으로써 量과 質의인 面에서 蛋白質

含量이 相當히 높고 世界 各地에서 널리 木綿 生産을 爲하여 栽培되고 있고 그 種實은 다른 油糧種子에 못지 않게 經濟的이며 콩 다음가는 植物性 蛋白質資源이 될 것으로 보고 있다. 그러나 毒性物質인 gossypol이 綿實에 含有되어 있어 食用이나 動物飼料로 使用하기에는 아직도 問題點이 남아있다.<sup>(2-4)</sup> 現在 育種學的으로 gossypol을 含有치 않는 品種<sup>(5-6)</sup>의 栽培와 de-gossypol 綿實蛋白質을 開發<sup>(7,8)</sup>코져 많은 研究가 계속되고 있다.

Jones 및 Divine (1944)에 의하여 처음으로 밀가루의 質의 向上을 위한 目的으로 綿實粉末이 使用되었으며 Kuppaswamy(1949)등은 아미노酸이 不足한 食品에 10% 綿實 蛋白質을 補充함으로써 質의 相當히 改良할 수 있음을 밝혔다. Allison(1960)등은 綿實粉末의 營養價를 調査하였으며 Frenk(1961)와 Cravito(1962)등은 營養失調된 어린이를 상대로 綿實蛋白質과 牛乳蛋白質을 比較 調査<sup>(9)</sup>한 바 있다. 한편 Harden은 쥐의 사료에 10~20%의 glanded cottonseed protein을 넣어 사육하였던바 生長에 크게 支障이 있음을 알았다. gossypol은 Longmore가 1886년에 發見한후 그후 約15種의 gossypol 誘導體가 發表되었으며 이들의 研究는 많이 進行되어 왔다.<sup>(10-16)</sup> gossypol은 綿實의 品種에 따라 그 含量이 다르지만 FAO의 報告에 따르면 free gossypol로서 0.06%, total gossypol<sup>(17)</sup>로서 1.2%以下 含有될것을 권유하고 있다.

John v. Ziemba<sup>(18)</sup>는 脫脂한 綿實粉중 全室素의 25~30%가 水溶性 蛋白質임을 보고 하였으며, Beradi (1969)등은 綿實蛋白質 抽出條件을 調査한바 pH5와 pH7에서 가장 잘 抽出됨을 調査하였다. 本研究에서는 綿實 脫脂粕의 利用度를 보다 効率的으로 하고자 Beradi 方法<sup>(19)</sup>을 약간 수정하여 脫脂된 蛋白質을 抽出할뿐 아니라 그속에 들어있는 gossypol의 量을 檢討하고 分離된 蛋白質의 化學的 組成 研究와 分離 精製한 蛋白質을 Davis 및 Ornstein<sup>(20-26)</sup> 方法에 따라 polyacrylamide gel을 利用한 Disc電氣泳動像을 比較 觀察하였으며 아울러 食品에의 應用面도 考察하였다.

## 材料 및 方法

### 1) 試料調製 및 藥品

本實驗에서 使用된 試料는 京畿道 廣州에서 栽培된 陸地綿(*Gossypium indicum* Lam)實의 겉질을 除去하고 分쇄한후 100 mesh의 체로 精選하였다. 그리고 이를 Soxhlet 裝置에서 ethyl ether를 溶媒로 8시간 처리하였다.

#### (a) Isopropyl alcohol-Hexane mixture

一級試藥의 isopropyl alcohol와 hexane을 60:40容

으로 混合하여 使用하였다.

#### (b) Complexing reagent

3-amino-1-propanol 2ml 와 冰錯酸 10ml을 取하여 混合하여 冷却한후 N,N'-dimethylformamide 100ml로 희석하여 조제하였다.

#### (c) Anilline

一級試藥의 Anilline에 Zn粉末을 넣고 증류하여 使用하였으며 吸光度(440 mμ)가 0.022를 초과할때는 재증류하여 使用하였다.

### 2) 綿實의 一般成分 分析

綿實의 一般成分 分析은 AOAC方法<sup>(27,28)</sup>에 의하여 分析하였으며 總窒素量은 Kjeldahl 方法에 의하여었다.

### 2) 粗蛋白質의 分離

脫皮한 綿實粉末을 Soxhlet 抽出器 上에서 8시간 ethyl ether로 抽出하고 그 殘渣를 4°C에서 18시간 放置 乾燥시킨 후 100 mesh체를 통과시킨 粉末을 試料로 하였다. 이 시료를 Fig.1과 같이 Beradi의 抽出方法을 若干수정하고, single step 法에서는 試料를 0.027N-NaOH(pH9.84)의 알칼리 溶液중에 約 30分間 攪拌시켜 遠心分離하고 그 抽出液을 酸(0.01N-HCl)과 알칼리(0.01N-NaOH)로 pH 1~12까지 調節하여 各 pH에서 沈澱된 蛋白質量을 測定하였다. 이 single step중 pH 5에서 蛋白質 沈澱가 가장 많이 얻을수 있으므로 蛋白質의 化學的 組成研究의 試料로는 pH 5에서 沈澱分離하였다. 한편 two step法에서는 먼저 물로 抽出하고 그 殘渣를 다시 0.015N NaOH(pH 9.78)로 抽出하여 pH 1~12 사이의 沈澱物을 얻고 그의 最大 沈澱生成條件인 pH 7에서의 것을 別途로 沈澱分離시켜 試料로 使用하였다.

### 3) 粗蛋白質의 아미노酸 組成

抽出 分離된 蛋白質 一定量을 小試驗管에 넣고 6N-HCl을 減壓眞空中에서 封하여 105°C 水浴에서 18시간 加水分解시킨후 鹽酸을 蒸發시키고 가수분해물 30mg을 取하여 아미노산 自動分析機(Hitach KAL-3B)로 定量하였다. Tryptophan定量은 別途로 定量하였다.

### 4) Total gossypol의 定量<sup>(29-32)</sup>

試料 一定量을 取하여 Complex reagent 10 ml을 넣고 100°C水浴上에서 30分間 加熱한후 室溫으로 冷却하여 isopropylalcohol-hexane mixture를 넣어 50ml가 되게 하여 濾過하였다.

이 濾液 一定量을 取하여 두개의 시험관에 넣고 한 시험관에 2ml aniline을 넣고 100°C 水浴上에서 30分間 加熱후 冷却시킨다. 이들 두 시험관에 isopropyl alcohol-hexane mixture를 넣어 25ml로 희석한후 MPS分光 光度計로 440mμ에서 吸光度를 求하여 定量하였다.

### (5) Gossypol derivatives의 確認 및 抽出實驗

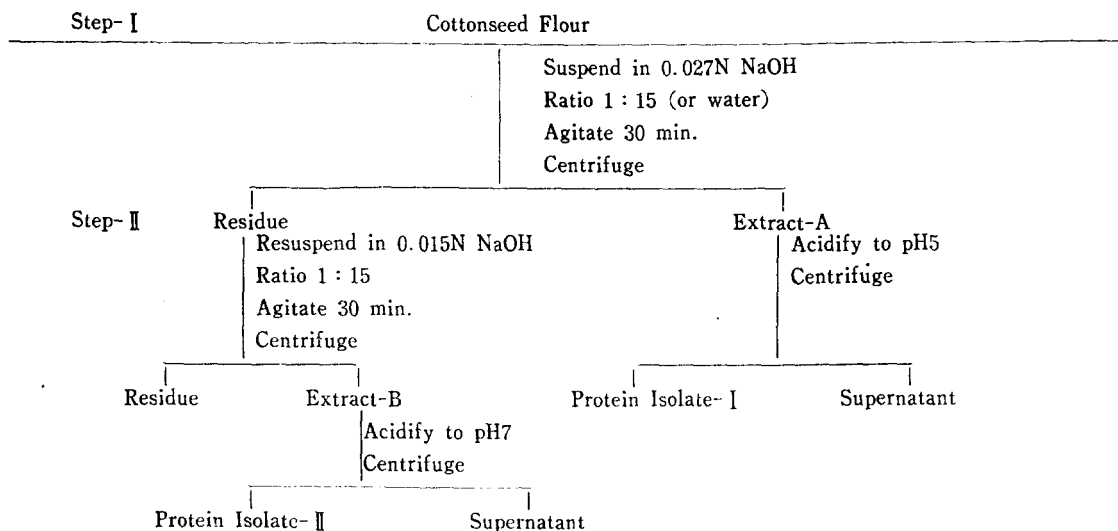


Fig. 1. Single and two step extraction procedure of cottonseed protein from cottonseed flour

試料 一定量에 chloroform을 넣어 하루동안 抽出한후 MPS分光 光度計로 U V와 可視光을 조사함으로써 gossypol derivative가 가지고 있는 各波長에서의 特性을 調査 確認하였다. gossypol derivatives의 溶出實驗으로는 試料 一定量을 물, methanol isopropanol, n-hexane, chloroform 및 ether등의 溶媒로 抽出하여 試料중에 남아 있는 gossypol derivative의 量을 測定함으로써 溶媒로 溶出되는 gossypol derivative의 量을 確認하였다.

6) 粗蛋白質의 精製

粗蛋白質의 精製에 쓰인 Sephadex는 G-100과 G-200을 使用하였으며 Buffer로는 2% NaOH을 함유시킨 0.2M potassium dihydrogen phosphate buffer(pH 8.0)로 Sephadex column (2.0×50cm)을 통과하여 나온 流出物을 automatic fraction collector로 받아 280mμ에서 그들의 吸光度를 測定하였다.

7) 分離蛋白質의 Disc電氣泳動像

綿實에서 抽出 分離한 蛋白質을 Davis와 Ornstein의 方法에 따라 pH8.3에서 泳動하였다. 즉 6M Urea를 함유하는 small pore, 여기에 同量의 E용액을 加하여 1.3 ml씩 주입시켜 0.1ml의 중류수로 acrylamide용액의 표면이 수평이 되게한 후 20watt 형광등하에서 30~60분간 重合시켰다. 重合이 끝나면 여과지로 中류수를 완전히 除去한 후 B : D : F : H<sub>2</sub>O=1 : 2 : 1 : 4의 비율로 使用直前に 混合조제한 large pore용액으로 같은 조작을 반복하였다. 이와같이 하여 8개의 gel를 만들고 100~150μg의 試料를 각 gel에 주입시킨후 colnmn 한개당 3~5mA의 電流를 통하여 glycine buffer (pH 8.3)에서 90분간 泳動하였다. gel를 유리판에서 꺼내어 1% amidoblack 10B溶液으로 蛋白質을 염색하고 gel 한개당

Table 1. Stock Solution

A) 1N HCl	24ml
Tris	36.6g
Temed	0.23ml
Water	100ml(pH8.9)
B) 1N HCl	48ml
Tris	5.98g
Temed	0.46ml
Water	100ml(pH6.7)
C) Acrylamide	30.0g
Bis	0.8g
Urea	7.2g
Water	100ml
D) Acrylamide	10.0g
Bis	2.5g
Urea	7.2g
Water	100ml
E) Ammonium persulfate	140mg
Water	100ml
F) Riboflavin	4.0mg
Water	100ml
G) Buffer	10×(pH8.3)
Tris	6.0g
Glycine	28.8g
Water	1000ml
H) Amido black 10B	1.0mg
7% Acetic acid	100ml
I) Bromophenol blue	5.0mg
Water	100ml

6mA를 이용하여 7%초산 용액속에서 전기영동으로脫色하였다.

모든 시약 용액은 갈색병에 넣어 냉장고에 보관 (6개월간 사용)하여 사용하였으나 E용액만은 만든후 7일이내에 사용하였다.

9) Polyacrylamide gel의 Scanning<sup>(38-39)</sup>

脫色시킨 gel을 densitometer(DUAL-WAVELENGTH TLC SCANNER CS-900)로 2.5×10mm의 slit를 사용하여 570mμ 波長에서 scanning 하였다.

結果 및 考察

1) 綿實의 一般成分

綿實의 一般成分 分析値는 table 2와 같으며 脫脂한 粉末에 61.3%의 粗蛋白質이 含有되어 있다.

2) 分離된 粗蛋白質

Single 및 two step에 있어서 pH1~12 범위에서의 抽出物의 收率은 Table 3 에서와 같고 沈澱物의 最適

Table 2. Proximate composition of cottonseed flours

Composition (%)	Dehulled	Dehulled & Defatted
Nitrogen	6.9	9.8
Crude protein	43.1	61.3
Crude fat	28.8	—
Total sugar	4.8	5.9
Ash	7.0	8.9
Moisture	7.2	—

pH인 pH4, pH5, 그리고 pH7에서 얻은 粗蛋白質을 kjeldahl方法으로 測定한 結果는 Table 4에 表示한바와 같다

Fig. 2에서와 같이 綿實蛋白質은 물에서 보다는 알칼리性에서 分離가 容易하며 single step에서는 pH5에서 가장 많이 蛋白質이 分離沈澱되고 two step에서는 pH7에서 가장 많은 沈澱物을 分離할 수 있음을 알수 있다

3) 粗蛋白質의 아미노酸 組成

分離된 粗蛋白質의 아미노酸 組成은 Table 5와 같다.

4) Gossypol derivatives의 確認

綿實을 脫皮한것과 脫脂綿實 分離蛋白質 및 綿實油

Table 3. Comparison of cottonseed protein precipitated by various pH in single and two step extraction procedures.

Procedure	Two step		Single step
	Water	0.015N NaOH	0.027N NaOH
Condition of isolation	(precipitate % of total wt)		
pH of precipitation			
1	2.1	2.0	3.8
2	5.5	5.0	11.0
3	6.9	7.8	19.5
4	9.8	10.5	31.1
5	5.4	13.9	36.8
6	1.5	19.5	19.0
7	1.2	22.4	8.8
8	0.5	6.8	5.0
9	0.5	4.0	3.7
10	0.5	1.2	2.5
11	0.4	0.8	0.9
12	0.3	0.7	0.7

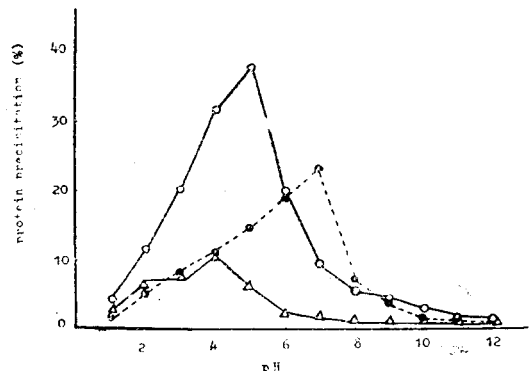


Fig. 2. A plot of pH vs. protein precipitates which were isolated from a single and two-step extraction procedures

●—●—●—● ; 0.015N NaOH ○—○—○ ; 0.027N NaOH ▲—▲—▲ ; Water

속에 殘留한 gossypol誘導體의 spectrum은 Fig. 3, 4과 같이 250mμ에서의 吸收帶는 gossypol fulvin, gossypol

Table 4. Comparison of single and two-step extraction procedures

Procedure	Extract			Isolate	
	pH	% of total wt	pH of precipitation	N%	Crude protein
Single step 0.027N NaOH	9.85	61.5	5.0	13.9	87.88
Two step Water	6.70	16.1	4.0	14.9	93.13
0.015N NaOH	9.78	47.9	7.0	14.8	90.50

Table 5. Amino acid composition of proteins isolated from cottonseed.

Amino acid	Water (mg%)	0.027N NaOH(mg%)	0.015N NaOH(mg%)
Lysine	5.5	3.9	2.5
Histidine	2.3	1.7	2.5
Arginine	10.0	7.9	11.0
Glutamic acid	21.0	17.5	19.2
Aspartic acid	6.7	9.0	8.2
Valine	4.0	4.0	3.5
Serine	3.4	4.0	4.2
Threonine	3.0	2.5	2.5
Proline	3.5	1.0	3.1
Gycine	3.1	1.3	3.5
Alanine	3.0	2.9	3.1
Methionine	1.7	0.5	1.2
Isoleucine	2.3	1.0	3.0
Leucine	5.0	4.5	5.3
Tyrosine	3.0	2.5	2.5
Phenylalanine	3.7	4.4	6.0
Tryptophan	1.0	0.8	0.9

verdulin, diamino gossypol誘導體의 peak이며 370m $\mu$ 은 gossypol purpurin과 gossypol verdrin이다. 또한 665m $\mu$ 은 gossypol caedrin의 Peak이다.

一般的으로 ether로 抽出한 綿實油에 gossypol誘導體가 多量含有하고 있다.

5) Gossypol의 溶出

여러종류의 溶媒로 gossypol誘導體를 溶出시켜 殘留한 total gossypol의 含量을 보면 Table 6 과 같다.

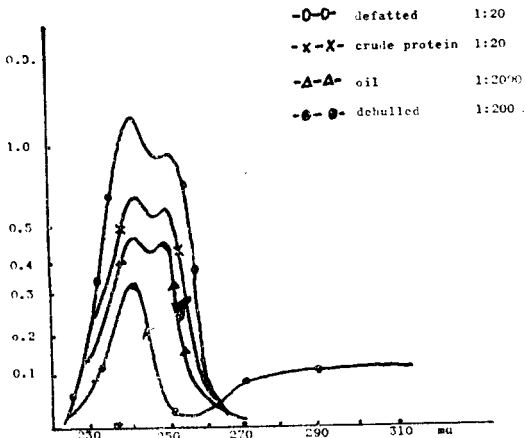


Fig. 3. UV spectral characteristics of gossypol derivatives of cottonseed flour in chloroform.

Table 6. Residual gossypol in samples after extracting with various solvents(Time 24hrs, Ratio=1 : 15)

Solvent	Cottonseed flour		Protein Isolate (0.015N-NaOH) (%)
	Dehulled (%)	Dehulled & Defatted (%)	
Gossypol content	0.97%	0.56%	0.42%
Water	89%	80%	80%
Methanol	99%	88%	70%
Isopropyl Alcohol	98%	68%	86%
Isopropyl alc.: N-Hexane 60 : 40	90%	97%	80%
N-Hexane	30%	87%	70%
Acetone	48%	85%	76%
Acetone: H <sub>2</sub> O (70 : 30)	95%	79%	97%
Chloroform	55%	77%	95%
Ether	52%	—	—
0.1M-oxalic acid, 0.4M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> in Acetone	66%	89%	68%

Table 6에서 보는바와 같이 脫皮한 綿實에서는 n-hexane으로 70%까지 溶出할 수 있어 좋은 溶媒로 생각된다. 또한 0.015N NaOH로 抽出沈澱시킨 分離蛋白質에서도 n-hexane과 acetone이 좋은 溶媒이다. 따라서 除 gossypol 綿實蛋白質 開發을 위하여서는 綿實을 n-hexane으로 脫脂시킨 후 그 殘留綿實을 蛋白質源으로 使用함이 좋을 것으로 생각된다.

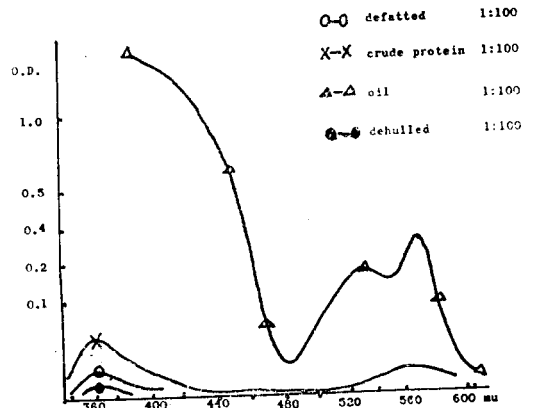


Fig. 4. Visible spectral characteristics of gossypol derivatives of cottonseed flour in chloroform.

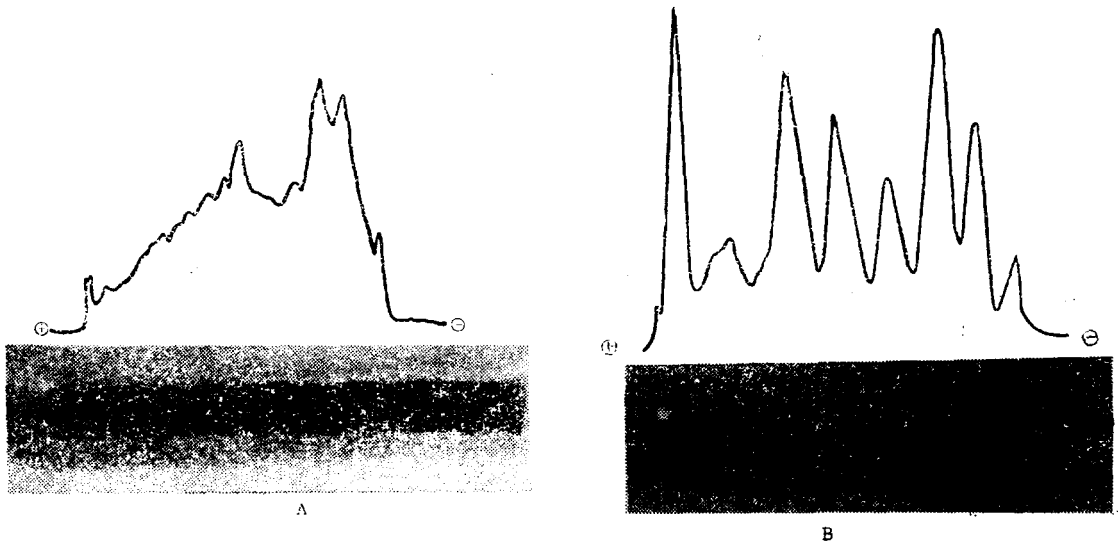


Fig. 5. Polyacrylamide gel electrophoretic pattern of water soluble cottonseed protein. Electrophoresis was performed in 7.5% polyacrylamide gels in glycine buffer (pH8.3). Migration occurred from negative to positive for 90min. at 3 mA per gel.

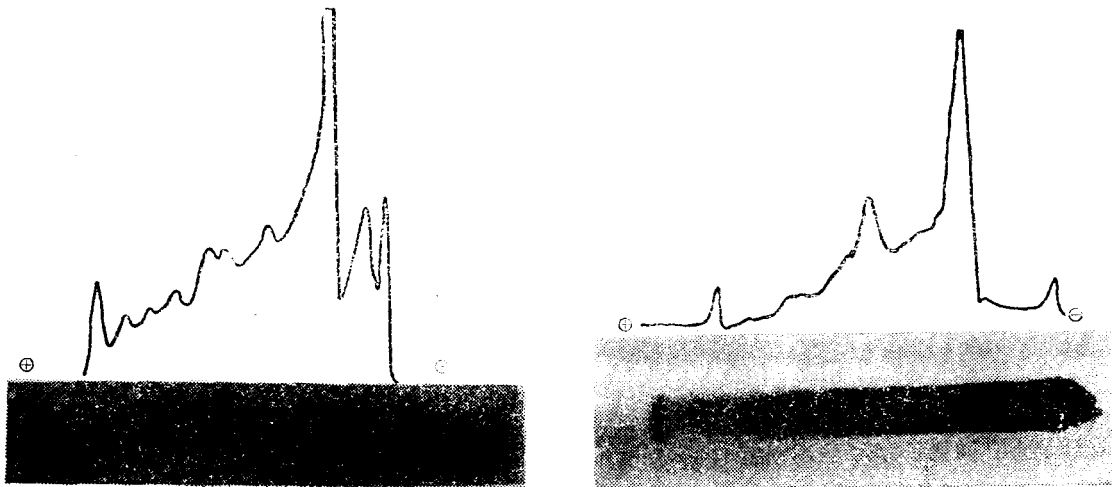


Fig. 6. Polyacrylamide gel electrophoretic pattern of Isolate I and Isolate II protein, Electrophoresis was performed in 7.5% polyacrylamide gels in glycine buffer(pH8.3). Migration occurred from negative to positive for 90 min. at 3 mA per gel.

6) 綿實蛋白質의 Disc電氣泳動像

(a) 水溶性蛋白質의 Disc電氣泳動像

脫脂한 綿實蛋白質에서 水溶性 蛋白質을 分離한 結果 Table 3에서 알 수있듯이 pH4에서 가장 많이 抽出 되었다.

水溶性 蛋白質을 Beradi등은 Disc電氣泳動으로 觀察한 結果 12-15개의 band로 나타난다고 보고하고 있으나 Fig.5에서의 같이 A는 分離한 粗蛋白質을 그대로 B는 50°C의 rotary evaporator로 濃縮한 후 Disc電氣泳

動한 것으로 본 結果이며 각각 13 및 10개의 band가 나타났다.

(b) Single 및 two step에서 抽出한 蛋白質의 比較 Table 3에서와 같이 綿實蛋白質은 물에서 보다 알칼리性에서 抽出이 많으며 0.27N NaOH 용액에서는 pH 5, 0.015N NaOH용액에서는 pH 7에서 가장 많은 침전물을 분리할 수 있었다. single 및 two step에서 얻은 沈澱物을 比較한 電氣泳動像은 Fig. 6에서의 같이 각각 10, 12개의 band가 나타났다.

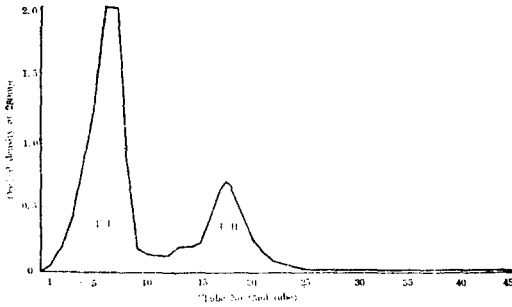


Fig. 7. Fractionation of Isolate I protein on Sephadex G-100 column (2.0×50cm)

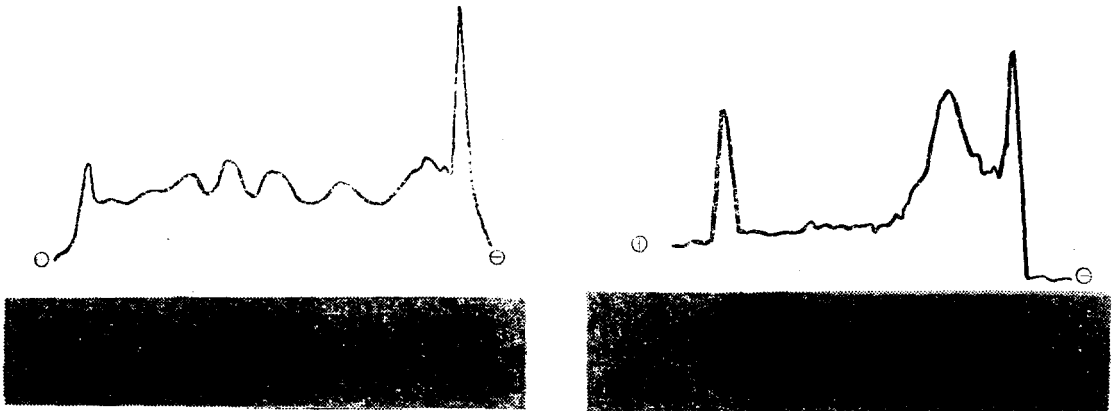


Fig. 8. Polycrylamide gel electrophoresis pattern of F-I and F-II Fraction protein.

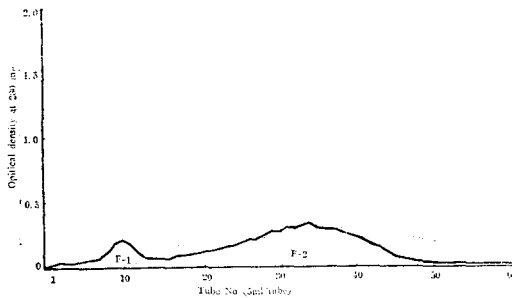


Fig. 9. Rechromatography of F-II Fraction protein on Sephadex G-200 column (2.0×50cm)

8) 綿實蛋白質의 應用 考察

綿實油는 化學工業과 食品工業에서 없어서는 안되는 좋은 油源이다. 그뿐만아니라 綿實에는 20%以上の 蛋白質이 있고 脫皮한 綿實에는 43% 그리고 脫皮 脫脂한 粉末에는 61%의 粗蛋白質이 들어 있어 蛋白質 食糧資源으로 優秀하다.

단지 毒性인 gossypol가 問題이지만 適切한 處理를하면 食糧源으로 應用價値가 풍부하다. gossypol除去 實驗에서 指摘한 바와 같이 가장 좋은 溶媒로서 n-hexane

7) Single step에서 抽出한 蛋白質의 精製

pH 5에서 抽出한 蛋白質을 Sephadex G-100 column으로 精製한 結果 Fig. 7에서와 같이 2개의 Fraction으로 나타났다. 이중 F-II의 收率은 37.3%였다. Fig. 8은 이들의 Disc電氣泳動像을 나타낸 것이다.

Fig 9는 Fig. 7의 Fraction-II만을 다시 Sephadex G-200 column으로 再精製하였을때 얻어진 結果이다. Fig. 9에서 F-2의 收率은 85.9%였으며 이 F-2를 Disc電氣泳動像으로 본 結果 Fig. 10에서와 같이 단일에 가까운 band를 얻을 수 있었다.

과 acetone을 들수 있으며 n-hexane으로 일단 gossypol를 除去하면 동물이나 인간도 食糧에 一部 代替할 수 있다. 앞으로 우리나라에서도 glandless 品種이 栽培되면 gossypol 걱정이 없겠지만 현행 品種으로서도 適當한 溶媒로 抽出하여 使用하면 危險性은 거의 없어질 것으로 본다. 綿實의 蛋白質 補充食糧으로 提議할수 있는 範圍는 (1) 여러 제빵 제과용인 밀가루에 綿實粉 10~15% 添加한 添加劑 (2) 쏘세지 햄버거등의 충전제 (3) 식량부족국의 단백질 강화식량이나 動物의 사료로 서 적절하다고 본다. 印度와 같은 나라에서는 脫皮 綿實粉을 알코올로 抽出한후 小麥粉이나 ragi식품에 약 10% 混合하여 使用하고 있다. New orleans에서 1960년에 綿實蛋白質 會議에서 定한 人間이 使用할수 있는 標準值를 다음 Table 7에 表示하였으며 이것에 의하면 total gossypol 含有量이 1%以下이면 食糧으로 使用할 수 있음을 나타내고 있으며 本研究에서 脫皮 綿實중에 0.97%의 total gossypol이 들어 있으므로 일단 溶媒로 gossypol를 抽出한후 使用하면 gossypol에 의한 毒性問題는 없을것으로 본다.

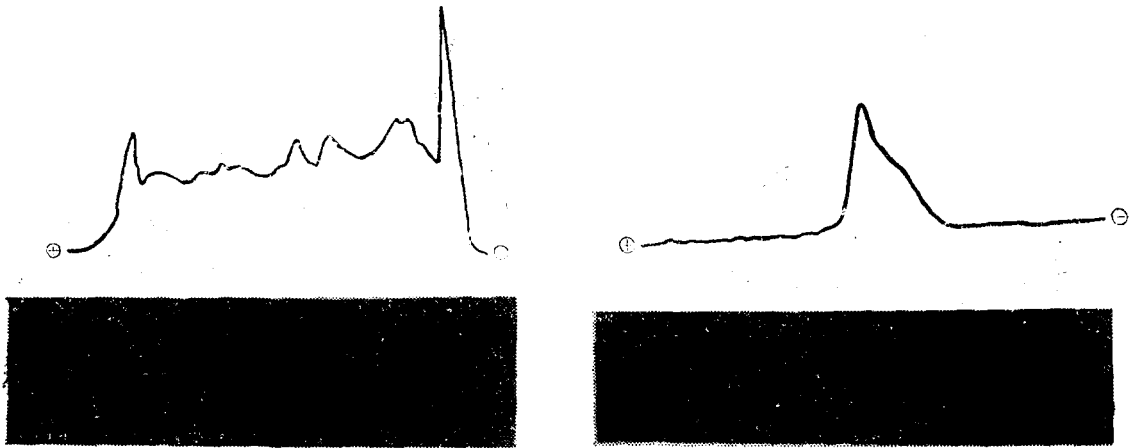


Fig. 10. Polyacrylamide gel electrophoresis pattern of F-1 and F-2 Fraction protein.

Table 7. Tentative quality standard of cottonseed protein concentrate for human consumption

Moisture	% (Max)	10.0
Crude fiber		5.0
Protein(N×6.25)	% (Min)	50.0
Crude fat	% (Max)	6.0
Total gossypol	% (Max)	1.0
Free gossypol	% (Max)	0.055
Free fatty acid(% of oil)	% (Max)	1.8
Available lysine g/10g N	% (Max)	3.6

要 約

韓國產 陸地綿의 綿實에서 粗蛋白質의 抽出 分離 및 分離된 粗蛋白質의 아미노酸 그리고 gel filtration에 의한 蛋白質의 Disc電氣泳動像 및 여러 溶媒에 의한 gossypol 除去實驗 結果를 보면 다음과 같다.

(1) 脫皮 脫脂한 綿實粉을 pH 9.84(single step)의 알칼리용액에 30分間 抽出한 것은 pH 5에서 가장 粗蛋白質이 많이 沈澱되었으며, 上記 綿實粉을 먼저 물로 抽出한 후 그 殘渣物을 다시 pH9.76(two step)의 알칼리용액으로 抽出한 것은 pH7에서 가장 粗蛋白質이 많이 沈澱되었으며, 물에 可溶性 蛋白質은 pH4에서 沈澱物이 가장 많았다.

(2) 脫皮 脫脂한 綿實粉에는 粗蛋白質이 61.3%含有되어 있다.

(3) 分離된 粗蛋白質의 아미노酸組成에 glutamic acid가 가장 많이 들어 있으며 必須아미노酸도 모두 들어 있다.

(3) gossypol 除去用 溶媒로서 n-hexane과 acetone이

가장 좋은 溶媒이며 n-hexane의 경우 70%의 gossypol을 acetone의 경우는 52%까지 抽出 除去시킬 수 있었다

(4) 水溶性 粗蛋白質은 Disc電氣泳動像에서 10~13개의 band가 나타났다.

(5) single 및 two step에서 抽出한 蛋白質은 Disc電氣泳動像에서 각각 10개와 12개의 band로 나타났다.

(6) 綿實蛋白質에서 얻은 蛋白質을 Sephadex G-100 및 G-200 column으로 좀더 精製할 수 있었다.

(7) 綿實粉의 利用으로서는 먼저 n-hexane이나 acetone과 같은 溶媒로 脫脂 및 gossypol을 除去한 후 10~20%를 添加하여 使用하면 蛋白質 補強 食糧이 될 것이다.

本 研究는 1977年度 產學協同 財團研究費에 의해 遂行한 研究이며 本研究 遂行에 있어서 Disc電氣泳動 gel의 Scanning에 積極的인 協助를 해주신 漢江 聖心病院 臨床營養研究센터의 安富浩 博士님 金乙祥先生님에게 深心한 謝意를 表합니다.

參 考 文 獻

1. Walker, D.B., Horan, F.E. and Burket, R.E.: Food Technol., 25, 813(1971)
2. Longmore, J.: J. Soc. Chem. Ind., 5, 200 (1886)
3. Shich, T.R., Wodzinski, R.J. and Ware, J.H.: J. Agr. Food Chem. 16, 2(1968).
4. Beradi, L.C. Martinez, W.H.: J. Agr. Food Chem., 15, 3(1967).
5. Harper, G.A. and Smith, K.J.: Status of Cottonseed Protein. Eco. Bot. 22, 63 (1968).
6. Decossas, K.M., Molaison, I.J., Kleppinger, A. de B., Laporte, V.L.: Food Eng. 40(10), 88(1968).



7. Pons, W.A. Jr. and Evacs, P.H.: J. Am. Oil Chem. Soc. **44**, 460(1967).
8. Gastrock, E.A. Oil Mill Gas, **73**(3), 18(1968).
9. Bressani, R.: Food Technol. **19**(11), 51(1965).
10. Clark, S.R. et al: J. Am. Oil Chem. Soc., **51**(4), 142(1974)
11. Wilda H. Martinez, et al: J. Agr. Food Chem., **18** (6), 961(1970)
12. James. K. Sikes, et al: Am. Oil Chem., Soc., **35**, 445(1958)
14. Walter A. Pons Jr. et al.; J. Am. Oil Chem. Soc. **36**, 328(1959)
15. Gaotrock, E.A, et al.; Cerea Sci Today **14**, 8 (1969)
16. Clark, S.P., et al.; Oil Mill Gaz. **69**, 15(1965).
17. Anonymous: Proc. Conf. on Cottonseed Protein for Animal and Man, ARC 72-24US Dept. Agr. New orleans, Louisiana (1962)
18. Ziemba, J.V.: Food Eng., **44**(6), 70(1972).
19. Beradi, L.C., Martinez, W.H. and Fernandez, C.J.: Food Technol., **23**, 1305 (1969).
20. Ornstein, L.: Disc Electrophoresis, Background and Theory, Ann. N.Y. Acad. Sci., **121**, 321 (1964).
21. Reisfeld, R.A. and Lewis, U.J.: Nature, **195**, 281 (1962).
22. Shuster, L.: Preparative Acrylamide Gel Electrophoresis, Continuous and Disc Techniques, N.Y. Acad., **22**, pp.412-437 (1971).
23. 水島三一郎: 生物化學實驗법(蛋白質, 核酸, 酵素) **9**, 2(1967).
24. 김원준, 김경환, 홍사석; 대한의 학협회지 **15**, 9 (1972).
25. 조성희, 김준평; 중대 논문집, **19**, 275(1974).
26. 라석찬, 이희성, 이근배: 한국 생화학회지, **8**, 1 (1975).
27. Association of Official Analytical Chem., 11th ed. Washington, D.C. pp.211-216 (1970).
28. Harden, M.L. and Yang, S.P.: J. Food Sci., **40**, 75(1975).
29. Walter, A., Pons Jr. et al: J. Oil Chemist' Soc. **35**, 93(1958)
30. F.J. Welcher: Standard Method of Chem. Analys. 6th ed., Vol, 3 part B.P.1062(1966).
31. Pons. W.A. et al.: J. Assoc. Offic. Agr. Chem., **40**, 1068(1975)
32. Anonymous: AOCS Official Method Ba5-78(1964).
33. 조성희, 김준평: 한국식품과학회지, **9**, 2(1977)
34. Ingram, V.H.: Biochim. Biophys. Acta, **28**, 539 (1958).
35. Porath, J.: Biochim. Biophys. Acta, **39**, 193(1961).
36. Gelotte, B.: J. Chromatog., **3**, 1(1960).
37. Bernier, G.M. and Putman, F.W.: Science, **155**, 465 (1967).
38. 이춘영, 김인수, 김수연, 한국농화학회지, **20**, 1 (1977).
39. 水島昭二, 中村研三: 蛋白質核酸酵素 **22**, 1(1977).