

호박씨의 脂肪酸 및 蛋白質의 組成에 關한 研究

金 俊 平 · 李 英 子* · 南宮 錫*
中央大學校農科大學 · *서울保健專門學校
(1977년 12월 3일 수리)

Studies on the Composition of Fatty Acid and Protein in Pumpkin Seeds

Jun-Pyong Kim, Young-Ja Lee* and Sok Nam-Kung*

Department of Food Technology, University of Chung-Ang *Seoul Health Junior College

(Received December 3, 1977)

Abstract

Dehulled pumpkin seeds produced in Korea were defatted and their composition of fatty acid was analyzed by gas chromatography. Soluble protein and insoluble protein were isolated from the dehulled and defatted pumpkin seeds.

The protein component was identified by disc-electrophoresis and the amino acid composition of the protein was analyzed.

- (1) The pumpkin seed contained 46.5% of fat and 25.5% of protein respectively.
- (2) The fatty acid of the pumpkin seed was composed chiefly of linoleic acid (51.74%), oleic acid (22.2%), palmitic acid (18.1%) and stearic acid (7.84%)
- (3) The amino acid composition of the soluble and insoluble seed protein contained most of all the amino acids except for S-contained amino acids.
- (4) It has been identified by disc-electrophoresis that the soluble protein had 13 bands and the insoluble protein had 4 bands.

緒 論

최근 食糧資源에 대한 문제가 심각해짐에 따라 새로운 食糧資源의 確保를 위한 많은 研究가 이루어지고 있다. 여러 蛋白質資源중 油糧種實(oilseeds)은 油脂나 食品에의 蛋白質強化나 粕을 動物 飼料에 利用⁽¹⁾하는 蛋白質資源으로 중요한 位置에 있으며 영양과 경제적인 면에서도 좋은 食糧資源이다. 各種 種實에 대한 추출 방법 및 粕의 利用에 관한 많은 研究가 보고되고 있으나 호박씨는 옛날부터 우리 가정에서 많이 利用하여 왔으나 현재까지 별로 研究開發되지 아니한 油糧種實이다. 호박씨는 多量의 油脂와 蛋白質을 含有하고 있

으며 임상요법⁽²⁾으로 약간씩 利用하였을 뿐이다. V. V. Markovic⁽³⁾에 의하여 脂肪酸 組成에 관한 研究가 보고되었고 T.B. Osborne⁽⁴⁾은 처음으로 호박씨중에서 不溶性蛋白質을 분리한 바 있으며 또 전기영동 성질과 globulin의 아미노산 組成에 관한 研究⁽⁵⁻⁷⁾와 分子量 測定으로 *Cucurbita*科의 다른 종류에 있는 globulin의 동일성과 상이점을 관찰한 바 있다.

Alekseeva⁽⁸⁾는 기후나 토양조건에 따라 蛋白質의 구조에 영향을 준다고 보고하고 최근 단백질을 분리하여 paper와 cello-gel을 利用한 電氣泳動으로 蛋白質의 pattern을 比較한 研究^(9,10)가 이루어져 왔다.

본실험에서는 韓國에서 생산된 호박種實의 개발을 위하여 호박씨의 一般成分과 脂肪酸 組成을 관찰하고

脫脂粕의 營養價를 檢討하고자 蛋白質을 分離하여 아미노酸 組成 및 polyacrylamide gel을 利用한 蛋白質의 電氣泳動像을 관찰하였다.

용하고 injection temp.와 detector temp.는 각각 240°C와 250°C에서 oven temp.는 50°C at 8°C/min로 230°C였으며 carrier gas는 He gas를 사용하였다.

實驗材料 및 方法

1. 試料

호박씨는 1977년 11월초 충북 충주에서 수확한 조선호박의 것으로 잘 건조시켜 껍질을 제거하고 soxhlet방법으로 ethyl ether을 사용하여 脫脂한 후 분쇄하여 100 mesh로 하여 시료로 사용하였다.

2. 實驗方法

1) 試料一般分析

호박씨의 일반분석은 AOAC(11) 方法에 따라 분석하였다.

2) 脂肪酸 分析

① 지방추출 : 시료 일정량을 105°C에서 1시간 건조시킨 후 Soxhlet장치로 16시간 추출하였고 용매는 ethyl ether을 사용하였다.

② 지방산분석 : 시료 유지는 상법(12,13)에 의하여 검화시키고 불검화물을 제거한후 混合脂肪酸을 분리하였다. 지방산의 methyl ester는 BF₃ methanol을 사용한 Metcalfe(14) 등의 방법으로 조제하고 chloroform에 용해시켜 3μl을 GLC의 column에 注入하였으며 이때 분석장치 및 실험조건을 Varian aerograph 204IC기기로써 flame ionization detector를 사용하였다. column은 5% FFAP로 coating된 20×1/8인치인 stainless steel을 사

③ 기름의 성상

호박씨 기름의 비중, 굴절률, 옥도가, 점화가, 산가의 測定은 日本油化學協會 基準油脂試驗法(12)에 따라 分析하였다.

3) 粗蛋白質 分離

호박씨에서 수용성과 불용성 단백질의 분리법은 S. Campenio(9,10) 方法의 변법으로 실시하였다. 탈지한 호박씨분말 30g을 증류수 150ml에 용해시켜 4°C에서 24~36시간 放置시킨 다음 遠心分離하여 可溶性蛋白質용액을 얻는다. 이 용액을 透析膜으로 流水에서 36시간 투석시켜 水溶性蛋白質을 얻는다.

沈澱은 증류수로 3회 洗滌한다음 10%NaCl 150ml를 가하여 4°C에서 24~36시간 방치하고 遠心分離하여 上澄液을 透析膜에 넣어 4°C에서 24시간 투석한다. 이것을 원심분리하여 沈澱을 分離시켜 不溶性蛋白質을 얻는다.

4) 粗蛋白質의 아미노酸 組成

분리한 단백질 일정량(수용성 250mg, 불용성 50mg)을 6N HCl 少量을 試驗管에 넣어 眞空密栓하여 105°C oven에서 24시간 加水分解시킨후 鹽酸을 蒸發시킨후 pH2.2의 sodium citrate buffer 4ml로 용해시켜 아미노산 自動分析機(Varian aerograph 204-IC)에 注入시켜 分析하였다.

5) 粗蛋白質의 Disc-gel電氣泳動

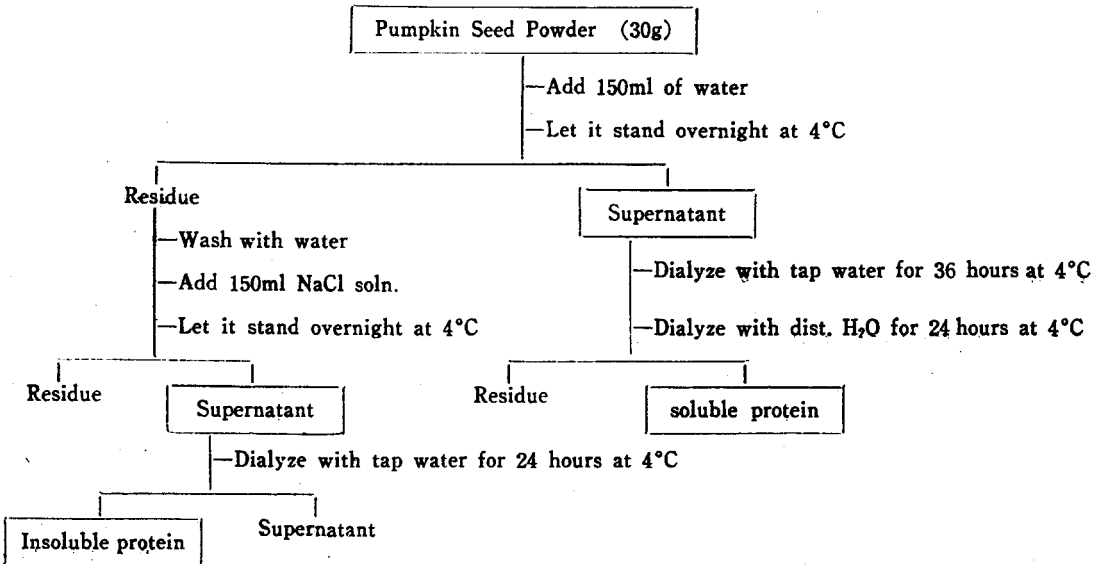


Fig. 1. Procedure of isolation of soluble and insoluble protein from Pumpkin seed

호박씨에서 추출한 蛋白質을 Orstein⁽¹⁵⁾과 Davis⁽¹⁶⁾에 따라서 pH 8.3에서 영동시켰다. 6M Urea를 함유하는 7.5% acrylamide gel에 50~100 μ g의 시료를 각각 注入시킨 다음 column 한개당 3~5mA의 전류를 통하여 1시간 10분 동안 영동하였다. 영동이 끝난 gel을 유리판에서 꺼내 7% acetic acid로 만든 1% amido black 10B용액에서 40분간 담가 단백질을 染色하였다. 着色된 gel은 7% 초산용액으로 gel당 6mA의 전류를 가하여 1시간 30분~2시간 영동하여 탈색시켰다.

6) Poly acrylamide gel의 scanning

脫色시킨 gel은 Densitometer(DUAL-WAVELENGTH TLC SCANNER CS-900)에서 2.5 \times 10mm의 slit를 사용하였다. wavelength sample 550m μ , reference 710m μ 에서, sensitivity XI과 scanning speed 10mm/min, chart speed 24mm/min로 gel을 scanning하였다.

結果 및 考察

1) 一般成分

호박씨 一般成分은 Table 1.에서 보는바와 같이 乾物量을 볼 때 油脂含有量은 46.5%로 고추씨 28.5% 해바라기 25.8%로 보고⁽¹⁷⁾한 것과 비교할 때 상당히 많은 量을 함유하고 있다. 粗蛋白質도 고추의 18.3%, 해바라기 7.8%이나 호박씨는 25.5%를 함유하고 있어 油脂나 蛋白質源으로 利用 가치가 크다.

2) 기름의 성상

호박씨의 비중·굴절률·산가·옥도가·점화가·불점화물 측정결과는 Table 2.에서 보는 바와 같이 산가는 4.12% 보통 식물유지 점화가는 195이하나 본 실험 결과는 185.1이고 옥도가는 121.1이었다.

3) 脂肪酸 組成

GLC로써 脂肪酸 ester를 分析한 結果는 Table 3.과 같다. 李⁽¹⁸⁾는 호박씨중의 主要 脂肪酸으로서 oleic acid 74.9%, palmitic acid 20.2%, linoleic acid 4.2%, stearic acid 0.5%순으로 보고된 바 있으나 본 실험 결

Table 1. Proximate composition of Pumpkin seed

Moisture	Protein	Lipid	Carbohydrate	Ash
6.1%	25.5	46.5%	17.1	4.8

Table 2. Characteristics of Pumpkin seed oil

Specific gravity (20°C)	Refractive index (20°C)	Acid Value	Iodine Value	Saponification Value	Unsaponifiable matters (%)
0.914	1.472	4.12	121.2	185.1	0.6

Table 3. Fatty acid composition of Pumpkin seed oil

Sample	Fatty acid(%)	Palmitic acid	Stearic acid	Oleic acid	Linoleic acid
Author		18.1	7.84	22.23	51.74
Markovic ⁽¹⁾	a	11.2	5.0	27.1	56.7
	b	11.2	5.3	28.1	53.4
Ecky ⁽¹⁹⁾	a	12.85	6.21	37.05	53.86
	b	7.12	6.7	24.41	48.57
Schormuller ⁽²⁰⁾		7.13	6.7	24.41	46.57
Popov ⁽²¹⁾		13.1	3.9	26.6	56.4

과는 palmitic acid 18.1% stearic acid 7.8%, oleic acid 22.23% linoleic acid 51.74%를 함유하고 있는 것으로 나타났으며 이것은 他研究者⁽¹⁹⁻²²⁾의 결과와 比較할 때 지방산 함량에는 큰 差異는 없었으나 palmitic acid, stearic acid와 같은 포화지방산이 좀 많이 들어 있는 것이 특색이다.

4) 아미노酸 組成

호박種實에서 分離한 可溶性, 不溶性 蛋白質을 아미노산 자동분석기로 分析한 結果를 보면 Table 4.와 같다. 可溶性蛋白質은 11種의 아미노酸이 검출되었으며 이들은 tyrosine, glutamic acid, glycine, leucine등을 多量 함유하고 이중 必須아미노酸은 5種이 檢出되었다. 不溶性蛋白質은 12種의 아미노산이 檢出되었으며 必須 아미노산은 6種이 檢出되었다. 이중 glutamic acid와 tyrosine이 多量 含有되었고 필수아미노산은 leucine, valine 및 phenylalanine이 많이 檢出되었다. 分

Table 4. Amino acid composition of Proteins isolated from Pumpkin seed (mg %)

Amino acids	Protein	Soluble protein	Insoluble protein
Alanine		2.20	6.60
Valine		2.40	7.80
Glycine		4.50	7.20
Iso-leucine		1.14	3.92
Leucine		3.00	9.80
Proline		0.60	3.20
Threonine		trace	1.41
Phenylalanine		1.42	6.60
Aspartic acid		1.40	8.30
Glutamic acid		6.00	13.50
Tyrosine		14.00	13.1
Lysine		—	2.20
Total Amino acid(%)		36.61	83.63
Total Nitrogen (%)		6.3	15.3
Crude Protein (%)		39.4	95.6

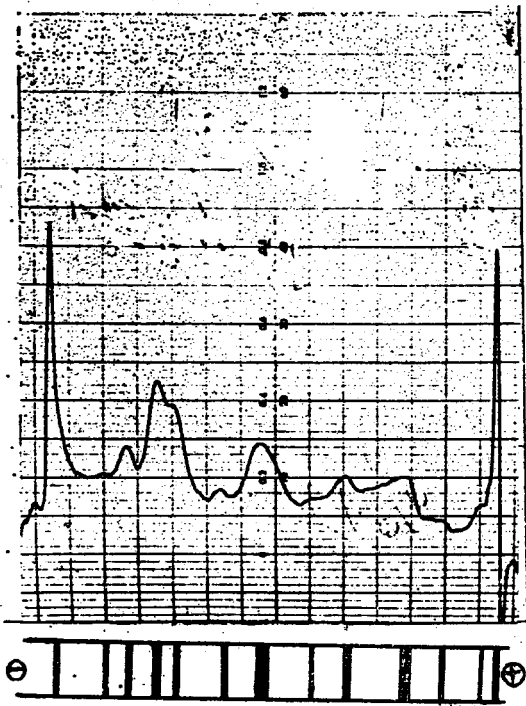


Fig. 2. Electrophoresis pattern and densitometer trace of soluble Pumpkin seed protein. Electrophoresis was performed in 7.5% polyacrylamide gels in glycine buffer (pH 8.3)

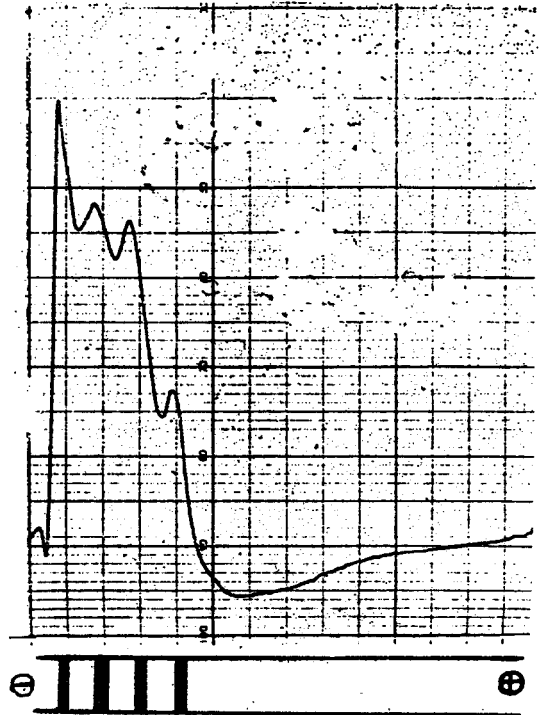


Fig. 3. Electrophoresis pattern and densitometer trace of insoluble Pumpkin seed protein. Electrophoresis was performed in 7.5% polyacrylamide gels in glycine buffer (pH 8.3)

離된 蛋白質중에 含黃아미노산이 없는 것이 특징이다.

5) 호박씨 蛋白質의 Disc 電氣泳動像

S. compenio⁽¹⁰⁾ 등은 호박씨의 水溶性蛋白質을 분리하여 paper와 cello-gel의 전기영동 결과 10개 또는 예외적인 경우 12개의 band를 분리하여 報告한 바 있으며 본 실험에서는 가용성 및 불용성 단백질을 Davis方法에 의한 acrylamide gel에 의한 전기영동 결과 Fig. 2, 3. 에서 보는 바와 같이 可溶性 蛋白質은 13개의 band가 분리되었고 불용성 단백질은 2% NaCl용액에 용해시켜 전기영동한 결과 4개의 band가 나타났다.

要 約

한국산 호박씨중에서 脂肪을 추출하여 脂肪酸의 종류를 조사하였고 또한 물에 可溶인 蛋白質 및 不溶性蛋白質을 分離하여 Disc 전기영동으로 단백질의 Pattern을 확인하고 아미노산 組成을 관찰하였다.

1. 호박씨의 일반성분중 지방은 46.5% 단백질 25.5%를 함유하고 있다.

2. 호박씨기름의 脂肪酸 組成은 linoleic acid 51.74%, oleic acid 22.2%, palmitic acid 18.1%, stearic acid

7.84%로 이들 4가지를 주 지방산으로 하고 있다.

3. 호박씨 蛋白質의 아미노酸 組成은 tyrosine, glutamic acid, aspartic acid, leucine, glycine등을 多量 함유하고 있으나 含黃아미노酸은 含有하고 있지 않다.

4. 단백질의 Disc전기영동 결과 可溶性 蛋白質에서 13개의 band와 不溶性 단백질에서 4개의 band가 분리되었다.

參 考 文 獻

- 1) Hoppe, H. A.: "Drogenkunde," Cram de Grayterslo, Hamburg, Germany, pp. 295 (1958)
- 2) V. V. Markovic and L. V. Bastic: *J. Amer. Oil Chem Soc.*, 53, 43 (1976)
- 3) Osborne T. B.: *Amer. J. Physiol* 5, 842 (1903)
- 4) Kaufman, H. P.: "Analyse der Fette und Fettprodukte" Springer Verlag, Berlin, Germany (1958)
- 5) Byerrum, R. V., Brown S. A. and Ball C. D.: *Archiv Biochem.* 26, 442 (1950)
- 6) Osborne T. B and Clapp. S. H.: *Amer. J. Physiol* 19, 468 (1907)

- 7) Anderson D. G. and McCallaca A. G: *Canad. J. Biochem Physiol.*, 38, 275 (1960)
- 8) Alekseeva: *Tr. Po Prirodn, Soedin Kiskinevsk, Gos Univ.*, 4, 37 (1961)
- 9) S. Campenio, J. Barbe and J. Lanet: *Ann. Pharm* 23 (3), 165 (1970)
- 10) S. Campenio, J. Barbe and J. Lanet: *Ann Pharm* 28(2), 99 (1970)
- 11) AOAC: Official Methods of Analysis, 10th Ed (1965).
- 12) 日本油化學協會：基準油脂分析試驗法，朝倉書店(東京) pp.93 (1966)
- 13) 日本油化學協會：油脂化學便覽，丸書(東京)pp.314 (1958)
- 14) Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A: *Anal. Chem* 33, 363 (1961)
- 15) Ornstein, L.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 121, 321 (1964)
- 16) Davis, B. J: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121, 404(1964)
- 17) 李江子·韓在淑·李盛雨·朴春蘭：한국식품과학회지, 7 (2), 92 (1975)
- 18) 牟壽美：한국영양학회지, 8 (2), 85 (1975)
- 19) Ecky, E. W., "Vegetable Fats and Oils," Reinhold Publishing Co. New York, N. Y. (1954)
- 20) Schormuller, Y., "*Handbuch* der Lebensmittel chemie Band IV Fette and Lipoide." Springer Verlag Berlin, Germany, pp.53 (1969)
- 21) Popov, A., and A. Dusev, "Isledovanija vrhu blgarskite maznini drugi lipidi," Otdel za nau-cnotechniceska, ikonomiceska, ipatentna informa-cija, Sofija, Bulgaric pp.54 (1972)