

大豆 品種別 Trypsin Inhibitor의 Fractionation과 耐熱성에 관한 研究

朴 正 隆 · 崔 愛 鈴

嶺南大學校 食品營養學科

Fractionation of Soybean Trypsin Inhibitors and Its Heat Stability

Jyung-Rewng Park and Ai-Ryung Choi

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam Univ.

Abstract

This experiment was conducted to fractionate the trypsin inhibitors and its heat stability of five varieties of soybean.

It was observed that water extractable protein of all varieties used was fractionated into three peaks and the second peak seemed to show trypsin inhibitor activity. (TIA).

The trypsin inhibitors were fractionated into four fractions-FI, FII, FIII and FIV.

FIII showed the highest TIA in Suwon No. 81, Suwon No. 82 and Suwon No. 83

In the case of Kyungnam No. 3 and Suwon No. 62, the highest activity was found in FIV.

When trypsin inhibitors fractionated in boiling water-bath for 20 min, the FIV showed the highest heat stability and FI was found to be the weakest.

序 論

옛날부터 우리의 食生活에 使用되어온 大豆는 植物性蛋白質源으로 重要시되고 있으며 特히 近來에는 豆乳의 개발로 因해 大豆蛋白質의 섭취가 增加되고 있다. 그러나 蛋白質의 含量이 約 40% 程度로 높은 反面 大豆에는 proteinase inhibitor, hemagglutinin; saponin等, 이의 營養價를 低下시키는 成分이 存在해 있다는 것은 이미 잘 알려져 있다.^{8,9)}

이中 特히 trypsin inhibitor는 Osborne과 Mendel¹²⁾의 研究에 依해 처음 밝혀진 後 여러 研究者들에 依해 自

然界의 分布^{4,12)}, 一般의 性質^{5,6,8,9)}, 分離 및 精製^{1,7,13,18)}, 生体에 미치는 영향²⁾, 加工中의 變化^{15,17)} 等이 研究되어 왔다.

發表된 報告¹⁴⁾에 依하면 trypsin inhibitor는 生大豆蛋白質의 利用을 低下시키는 主原因이 되며 動物實驗에 依해 30% 程度 成長率 低下와 60% 程度의 蛋白質 効率을 低下시키는 要因이 되며 또한 飼料의 비대에 주 영향을 미친다는 것이 밝혀졌다.

Proteinase inhibitor는 大豆 蛋白質의 約 6%를 차지하며¹⁶⁾ 이中 trypsin inhibitor는 지금까지 5種 또는 이 以上의 서로 다른 inhibitor로 分離되었지만 alcohol

結果 및 考察

1. Gel Filtration에 의한 品種別 Trypsin Inhibitor의 Fractionation

各 品種에 있어서 column에 charge한 sample의 protein含量은 Table 1에서 보는 바와 같이 수월83호가 29.03mg/ml로 가장 많으며, 수월 81호가 24.25mg/ml, 수월 82호가 20.63mg/ml, 경남 3號가 19.44mg/ml의 순서이고, 수월 62號가 18.50mg/ml로 가장 적었다.

Table 1. Protein content of five different soybean varieties applied into gel filtration

Varieties	Suwon No. 62	Suwon No. 81	Suwon No. 82	Suwon No. 83	Kyungnam No. 3
Protein content*	18.50	24.25	20.63	29.03	19.44

* Expressed as mg/ml

수월82호는 4개의 거의 같은 分布를 나타내나 3번째 fraction이 넓게 나타났다(Fig. 3). 수월 83호는 다른 品種보다 대체로 높게 나타났으며 3번째 fraction이 다른 fraction보다 훨씬 높고 넓게 나타났으며(Fig. 4), 경남 3호 및 수월62호는 fraction I, II, III이 서로 비슷하게 나타났고 fraction IV이 아주 높게 나타났다(Fig. 5, 6)

protein含量은 모두 fraction I이 가장 높았다(Table 3).

各 大豆品種의 水溶性蛋白質을 gel filtration하여 얻은 fraction은 5 品種 모두 3種의 peak가 나타났다. 이것은 日本産大豆의 蛋白 peak와 일치하였으며, 報告에 따르면 第1의 peak는 大豆의 主要蛋白質인 15S, 11S, 7S의 混合物이고, 第3의 peak는 核酸類似物質이다.¹¹⁾

TIA는 第2의 peak부근에 걸쳐 있고 各 品種 모두 4개의 trypsin inhibitor fraction으로 나뉘어 졌다.

수월81호는 3번째 fraction이 가장 높았으며(Fig. 2)

2. 品種別 各 Fraction의 TIA

gel filtration에서 분획한 4개의 fraction의 TIA는 다음과 같다(Table 2).

수월81호는 fraction IV가 517.4로 가장 많은 TIA를 나타냈고 다음 FII, FIII, FI의 순서로 각각 361.7, 343.0, 185.1이었다.

TIA는 protein mg當 저해된 trypsin μg 으로 表示되었을 때 수월82호는 81호처럼 FIV에서 가장 많은 TIA를 나타내 589.3이었고 다음 FIII, FII, FI의 순서였다.

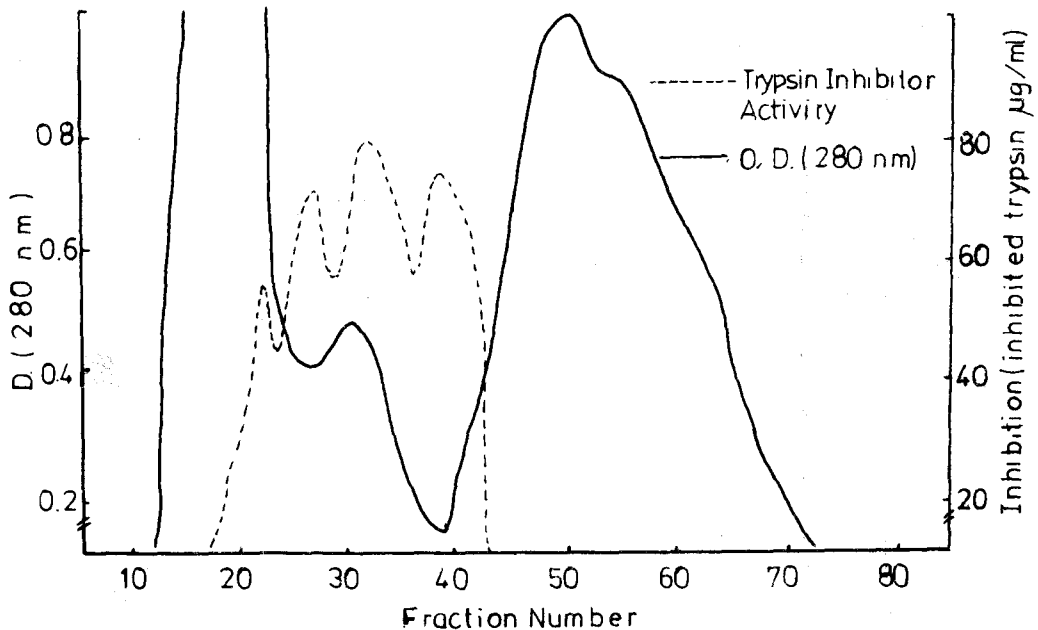


Fig. 2 Gel filtration of Suwon No. 81 on Sephadex G-75

Table 2. Protein content and trypsin inhibitor activity of each fraction in five soybean varieties.

Varieties	Fraction	Protein content (mg/ml)	TIA ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	TIA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ of Protein)
Suwon No. 81	I	387.6	71.7	185.1
	II	217.6	78.7	361.7
	III	225.0	77.2	343.0
	IV	150.0	77.6	517.4
Suwon No. 82	I	380.0	72.6	191.1
	II	216.0	77.4	358.3
	III	182.0	77.0	422.9
	IV	120.0	70.2	589.3
Suwon No. 83	I	402.5	79.9	198.5
	II	307.5	84.3	274.0
	III	172.5	89.2	517.3
	IV	77.5	87.2	1125.3
Kyungnam No. 3	I	381.5	57.6	150.9
	II	172.5	73.5	426.0
	III	182.5	77.7	426.9
	IV	87.5	77.3	883.1
Suwon No. 62	I	287.5	68.2	237.1
	II	122.5	68.7	561.0
	III	105.0	74.5	709.9
	IV	87.5	79.1	903.9

Table 3. Heat inactivation of fractionated trypsin inhibitor in five soybean varieties.

Varieties	Fraction	TIA before heating	TIA after heating	Remaining activity (%)
Suwon No. 81	I	185.1	10.1	5.45
	II	361.7	20.0	5.53
	III	343.0	19.3	5.64
	IV	517.4	86.9	16.80
Suwon No. 82	I	191.1	54.3	28.44
	II	358.3	195.2	54.50
	III	422.9	298.6	62.70
	IV	589.3	87.0	14.87
Suwon No. 83	I	198.5	33.3	16.77
	II	274.0	81.5	29.73
	III	517.3	141.6	27.38
	IV	1125.3	403.5	35.86
Kyungnam No. 3	I	150.9	—	—
	II	426.0	79.0	18.55
	III	425.9	66.4	15.06
	IV	883.1	294.3	33.33
Suwon No. 62	I	237.1	34.8	14.67
	II	561.0	74.2	13.23
	III	709.9	415.5	58.54
	IV	903.9	675.3	74.72

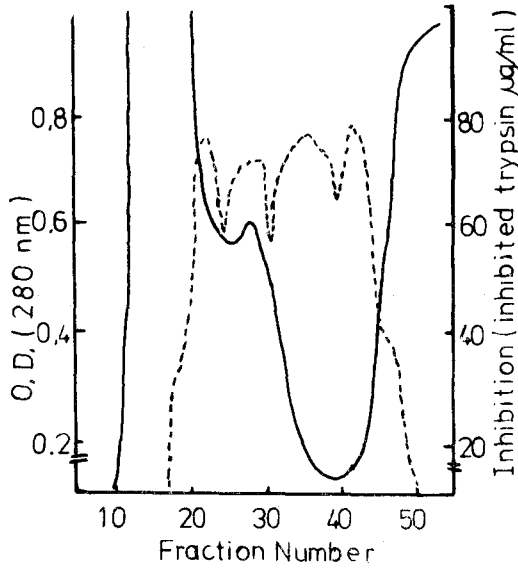


Fig. 3 Gel filtration of Suwon No. 82 on Sephadex G-75

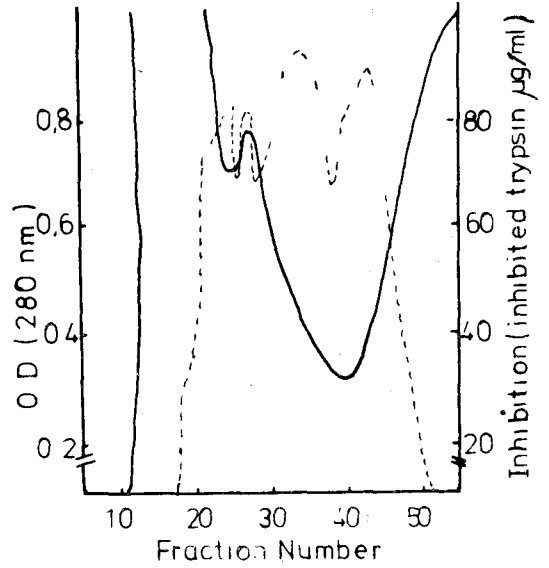


Fig. 4 Gel filtration of Suwon No. 83 on Sephadex G-75

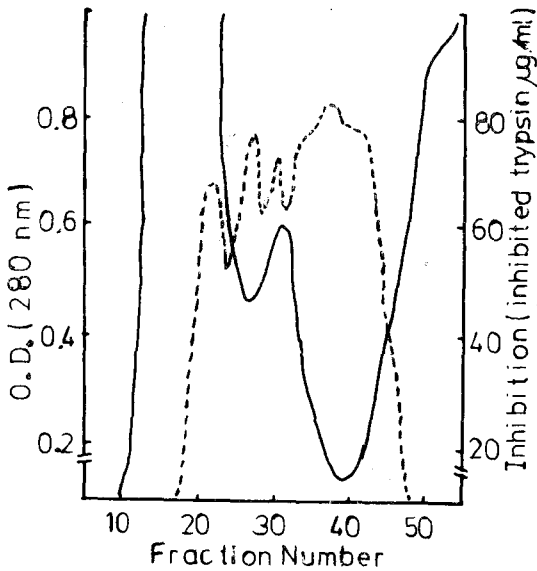


Fig. 5 Gel filtration of Kyungnam No. 3 on Sephadex G-75

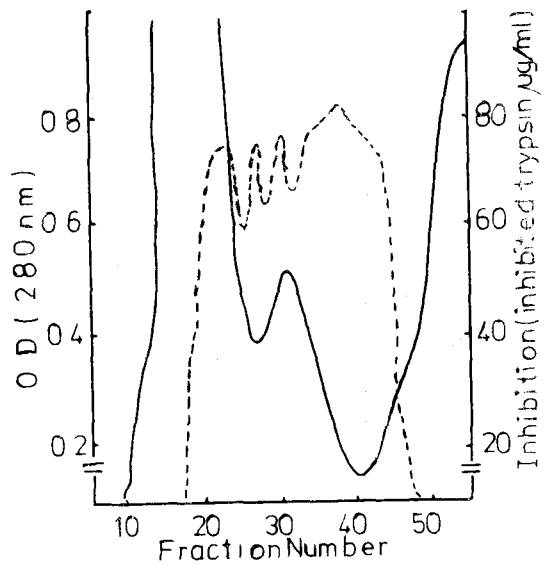


Fig. 6 Gel filtration of Suwon No. 62 on Sephadex G-75

수원83호와 경남 3호는 모두 FⅣ이 가장 높은 TIA를 나타내 각 1125.3과 883.1이었다.

수원62호는 FⅣ에서 가장 많은 TIA를 나타내 903.88이었고, 다음 FⅢ, FⅡ, FⅠ의 순서로 각 710.0, 561.0, 237.1이었다.

3. 各 Fraction에 있어서 TⅠ의 Heat Stability

Table 3에 나타난 바와 같이 加熱後 各 fraction에 있어서 수원81호는 FⅣ가 86.9로 16.80%의 殘存活性을 나타냈고, FⅠ, FⅡ, FⅢ은 거의 비슷하게 殘存活性을 나타내 각 5.45, 5.53, 5.64%로서 다른 品種에

비해 대체로 낮은 殘存率을 나타냈다.

수원82호는 FⅢ가 298.6으로서 62.70% 殘存活性을 나타내어 가장 높게 나타났으며, FⅣ가 14.87%로서 가장 낮았다.

수원83호와 경남 3호는 FⅤ가 35.86%와 33.3%로서 가장 강한 耐熱性을 나타냈고 경남 3호의 FⅠ의 殘存活性은 완전히 소실되었다.

수원62호도 역시 FⅣ가 675.3으로서 74.72%의 殘存率을 나타내 가장 耐熱性이 강했다.

要 約

本實驗은 韓國產 大豆 5品種(수원62호, 수원81호, 수원82호, 수원83호, 경남3호)의 水溶, 蛋白質을 gel filtration하여 trypsin inhibitor를 fractionation하여 大豆品種別 trypsin inhibitor의 pattern을 調査하고 또 이의 耐熱性을 살펴보기 위한 目的으로 시도하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

大豆의 水溶性 蛋白質을 抽出하여 sephadex G-75로 column chromatography하여 分劃한 結果 3개의 peak를 얻었으며, TIA는 두번째 peak 부근에 걸쳐 있었고 trypsin inhibitor는 모두 4개의 fraction(FⅠ, FⅡ, FⅢ, FⅣ)으로 나뉘어졌으며, trypsin inhibitor pattern은 수원81호, 수원82호, 수원83호는 FⅢ의 TIA가 높았으며, 경남3호 및 수원62호는 FⅣ에서 높게 나타났으며, gel filtration에서 分劃한 4개의 fraction에 있어서 蛋白質 mg當 TIA는 모두 FⅣ가 가장 높게 나타났으며 이 fraction의 耐熱性은 100°C에서 20分間 加熱處理를 기준으로 했을 때 대체로 수원81호가 가장 耐熱性이 약했으며 경남3호, 수원38호, 수원82호, 수원62호의 순서로 耐熱性이 강하게 나타났고 fraction別로는 수원82호를 제외하고는 모두 FⅣ가 가장 耐熱性이 강하게 나타났으며 대체로 FⅠ의 耐熱性이 약하였으며 경남3호의 FⅠ은 100°C 20分間 處理에서 완전히 소실되었다.

文 獻

- 1) Birk, Y. (1961): *Biophys. Acta* 54, 378
- 2) Bowthilet, R. I., W. L. Hunter, C. A. Luhman, D. Ambros and S. Lipkansky (1950): *J. Poultry Sci.* 29, 837
- 3) Colowick and Kaplan: *Methods in Enzymology* II, p. 32.
- 4) Ewart, J. A. D. (1973): *J. Sci Food Agr.*, 24, 685
- 5) Frattali, V. and R. F. Steiner (1969): *Anal. Biochem.* 27, 285
- 6) Holm, H., K. Fossum and B. Eide (1973): *J. Sci. Food Agr.*, 24, 333
- 7) Kunitz, M. (1945): *Science*, 101, 668
- 8) Kunitz, M. (1947): *J. Gen. Physiol.*, 30, 311
- 9) Kwong, E., R. H. Barnes and E. Fiala (1962): *J. Nutr.*, 77, 312
- 10) Nakamura, H., I. Kamoi, W. Tanimura and T. Obara (1975): *日本食品工業會誌*, 22, 415
- 11) Obara, T., K. Kobayashi and Y. Watanabe (1970): *Cereal Chem.*, 47, 597
- 12) Osborne, T. B. and L. B. Mendel (1917): *J. Biol. Chem.*, 32, 369
- 13) Rackis, J. J. and R. L. Anderson (1964): *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 15, 23
- 14) Rackis, J. J. (1965): *Federation Proc.*, 24, 1488
- 15) Rackis, J. J. (1966): *Food Technol.*, 20, 1842
- 16) Ryan, C. A. (1973): *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24, 1073
- 17) Son, H. S., J. R. Park and S. W. Lee (1977): *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, 20, 182
- 18) Steiner, R. F. and V. Frattali (1969): *J. Agr. Food Chem.*, 17, 513