

## 참깨粕 蛋白質의 分離와 組成

金俊平 · 沈愚萬 · 金鍾益\*

中央大學校, \*崇田大學校

(1980년 2월 14일 수리)

### Separation and Composition of Sesame Meal Protein

Jun Pyong Kim, Woo Man Shim and Chong Ik Kim\*

University of Chung Ang, \*University of Soong Jon

#### Abstract

White and black sesame produced in Korea were defatted with ethyl ether or n-hexane. Defatted sesame meal was extracted with water and salt solution, and protein extraction was precipitated at various pH 1 through 12, with trichloro acetic acid (TCA), tannic acid and ammonium sulfate, respectively. Protein was purified by Sephadex A-25, G-75, G-100 and G-200, and identified its protein fraction by polyacrylamide gel electrophoresis. Amino acids composition of protein in white sesame was analyzed by automatic amino acid analyzer. Protein contents of white sesame, black sesame and sesame meal are 20.5%, 19.2%, and 44.7%, respectively. n-Hexane was the most suitable solvent for extraction of oil from sesame. Crude protein precipitation was better in higher pH. The protein extraction was more effective with the solution containing sodium chloride under the pH 8. Globulin in total protein was high and prolamin was less than in other cereal proteins. Glutamic acid contents of white sesame and sesame globulin were 17.1%, and 20%, respectively. Both proteins contained relatively high levels of essential amino acids. 12-13 bands were found in water soluble protein and 2 bands in salt soluble protein were detected by the disc gel electrophoresis, and were identified in both of white and black sesame. The salt soluble protein of white sesame could be purified by Sephadex G-100 and G-200.

#### 머 리 말

1977년도 우리나라 총 생산량<sup>1)</sup>이 32,002%인 참깨(*Sesamum indicum* L.)는 생산지와 숙성도에 따라 다르기는 하나 기름함량이 46~63%로서 매우 높고 17~35%의 단백질은 아미노산 조성이 양호하여 식품으로서 그 量的, 質的인 우수성이 널리 인정되고 있다. 참기름의 우수성은 높은 지방함량과 미량성분인 Sesamol의 강한 항산화작용<sup>2,3)</sup>으로 저장성이 우수하고 winterizing이 필요없는 천연 salad oil로서 안정성도 양호하다는 점이다. Sesamol의 강한 항산화력은 Dilmer<sup>4)</sup>와 Wilding<sup>5)</sup>에 의하면 cis-form에서 항산화효과가 크다고 보고 되었다.

참깨의 특유한 풍미는 스킴化合物에 의한 것이라고 Wilding<sup>5)</sup>은 보고하였다. 참깨의 각종 화학 성분은 그 산지에 따라 많은 차이가 있다<sup>6)</sup>고 하며 탈피과정<sup>7)</sup> 채유방법, 정제방법<sup>8)</sup>에 따라 참기름의 성분도 많은 차이가 있다. 참깨박은 껍질속

용<sup>2,3)</sup>으로 저장성이 우수하고 winterizing이 필요없는 천연 salad oil로서 안정성도 양호하다는 점이다. Sesamol의 강한 항산화력은 Dilmer<sup>4)</sup>와 Wilding<sup>5)</sup>에 의하면 cis-form에서 항산화효과가 크다고 보고 되었다.

에 들어 있는 phytic acid 와 oxalic acid 의 유독성<sup>9-11)</sup> 때문에 양질의 단백질 조성<sup>12)</sup>임에도 불구하고 그 이용도가 적다. 참깨박 단백질은 pH 및 여러 침전제에 의한 분리연구와 분리된 단백질에 관한 아미노산의 구성성분분석 및 전기영동에 의한 조성<sup>13,14)</sup>이 보고되고 있다.

저자들은 한국산 참깨를 시료로 하여 탈지한 후 참깨박이 함유하고 있는 단백질을 조단백질로 분리하여 pH 의 변화와 염농도에 따른 단백질의 용해도를 관찰하여 확인 및 정제와 단백질의 특성을 Davis 및 Ornstein 방법<sup>15)</sup>에 따라 polyacrylamide gel 을 이용한 Disc-gel 전기영동으로 분리하고 분리된 단백질의 아미노산의 조성을 분석하여 몇가지의 결과를 얻었기에 여기에 보고코자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

1978년도 경기도 광주에서 재배된 安東産 흰참깨 (*Sesamum Indicum* L. White)와 검정 참깨

(*Sesamum Indicum* L. Black)를 100mesh 로 분쇄한 다음 ethylether 로 24 시간 Soxhlet 장치에서 추출하여 시료로 하였다.

### 2. 일반성분분석

각 시료중에 水分, 灰分, 粗蛋白質, 粗纖維, 粗脂肪 및 炭水化合物 등의 일반성분은 常法에 따라 정량하였다.

### 3. 참깨油의 抽出方法

壓搾法과 溶媒 抽出法으로 油量을 調査하였다. 壓搾法으로는 在來式의 壓搾法에 의하여 採油한 기름과 粕의 油量을 調査하고 溶媒로 하여 각각 1, 2, 8, 24, 36, 시간 抽出하고 油量收率을 調査하였다.

### 4. 蛋白質 抽出

가) pH 변화에 따른 蛋白質 抽出 : 蛋白質의 抽出은 Gerra<sup>13)</sup>의 방법에 의하여 실온에서 증류수와 참깨박의 比率 15 : 1(v/w)로 섞고 30분간 교반하였다. 抽出 pH 는 0.5N HCl 용액으로 pH 1~6까지 그리고 0.5N NaOH 용액으로 pH 7~12까지 조절하였고 30분후 다시 조절하였다. 추출액을 원심분리한 후에 여과하고 불용성 물질들을

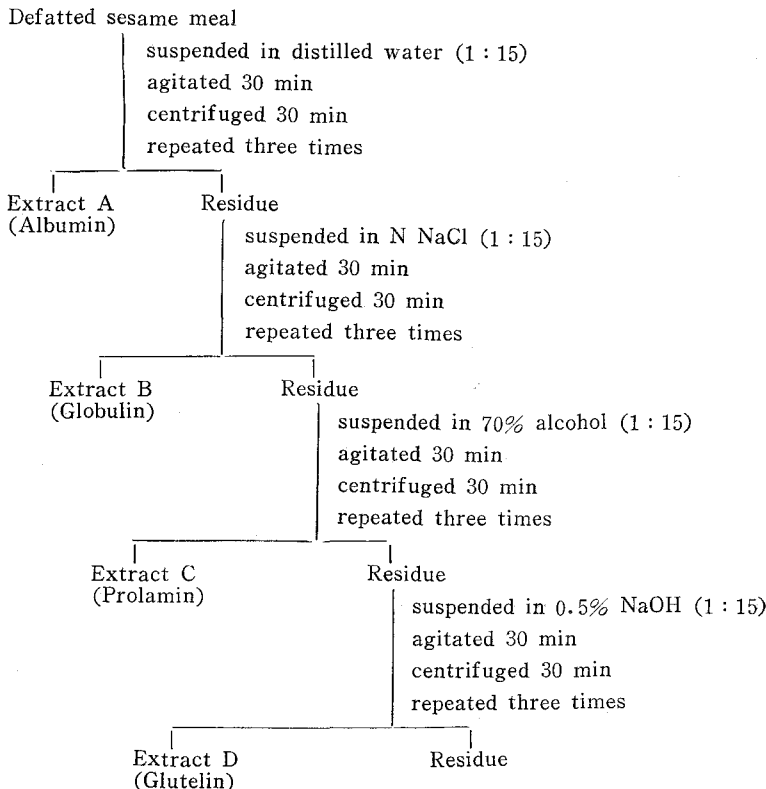


Fig. 1. Fractionation flow sheet of sesame protein

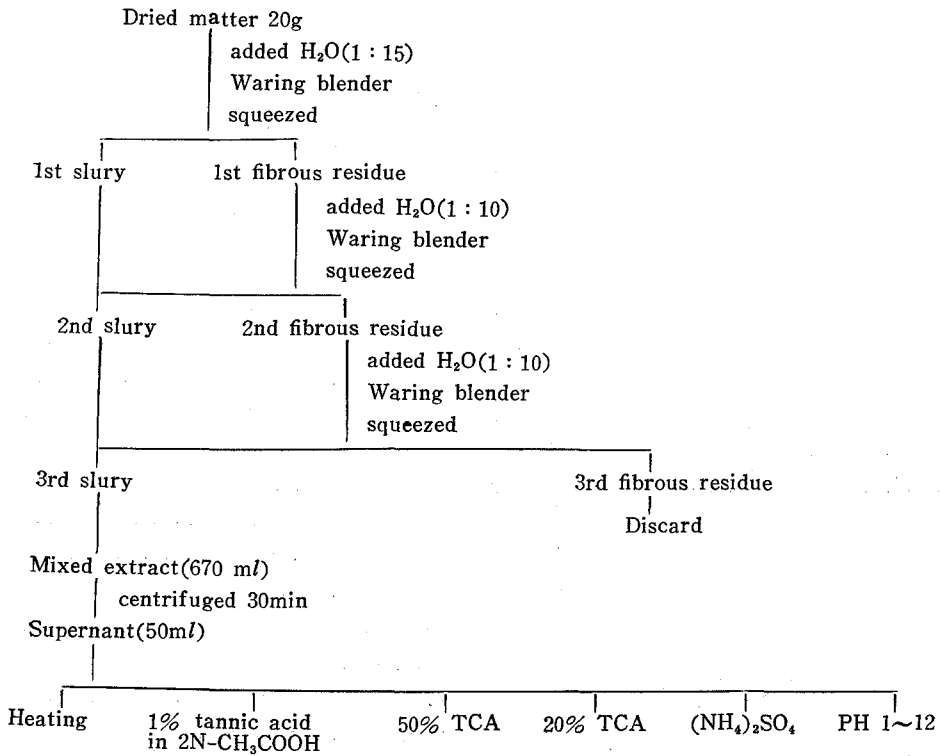


Fig. 2. Extract process of sesame protein

제거하였다. 각 추출액 20ml를 취하여 micro-Kjeldahl 방법으로 질소를 정량하였다.

나. 염류 용액별 단백질 추출: 여러 염용액내에서의  $(\text{Na}_2\text{SO}_4, \text{Na}_2\text{HPO}_4, \text{NaCl}, \text{CaCl}_2)$  첨가박의 단백질 용해도 측정은 0.5N NaOH를 첨가하여 pH 8로 맞추어서 실험하였다.

### 5. 단백질의分離

참깨 단백질의 용해성을 이용하여 Fig.1과 같은 Wang<sup>16)</sup>들의 방법으로 시료 5g을 증류수 75ml와 혼합 추출하여 4가지 fraction으로 分離 실험하였다.

각 fraction의 比率는 micro-Kjeldahl 법으로 질소정량하였다(이때 단백질係數는 5.71이 었다).

### 6. 粗蛋白質의 分離

시료 20g을 취하여 Fig. 2와 같은 방법<sup>17,18)</sup>으로 물 300ml를 가한 다음 Waring blender에서 마쇄한 후 二重의 가제(cheese cloth)로 착즙하였다. 다시 그 殘査에 물 200ml를 가한 후 다시 2회 抽出 壓搾한 것을 一回抽出液과 混合하여 원심분리하고 상등액을 混合하여 670ml로, 이 상등액을 각각 50ml를 취하여 Fig. 2와 같이 단백질을 沈澱하였다.

### 7. 아미노酸 분석

조참깨의 採油하고 남은 粕과 粕의 수용성 단백질을 제거하고 염 용해성 단백질을 抽出分離하여 일정량의 시료에 6N HCl을 가하여 진공으로 봉하고 105°C에서 20시간 가수분해를 한 다음 자동아미노산 분석기(Hitachi KLA-5)를 사용하여 아미노酸을 分析하였다.

### 8. 粗蛋白質의 精製

원참깨에서 수용성 粗蛋白質을 抽出하였다. 이의 정제는 Sephadex A-25, G-75, G-100, G-200 column (1.8×50cm)을 사용하여 M/30 phosphate buffer (pH. 8.0)로 전개하였다. 이의 유출액은 Automatic Fraction Collector로 4ml씩 받고 분광광도계(Shimadzu MPS 50L)로 280nm에서 흡광도를 測定<sup>19)</sup> 이를 단백질함량으로 하였다.

### 9. 分離 蛋白質의 Disc-gel 電氣泳動

참깨에서 抽出分離한 단백질을 Davis와 Ornstein의 방법<sup>15)</sup>에 따라 처리한 다음 glycine buffer (pH. 8.3)중에서 전개하였다. 이때 전류는 column (6×80mm) 한계당 4~5mA 이 었다.

### 10. Polyacrylamide gel의 scanning

**Table 1.** Chemical composition of Korean sesame

Sample	Chemical composition(%)					
	Moisture	Crude protein	Crude fat	Nitrogen free extract	Crude fiber	Ash
White sesame	6.80	20.50	51.50	12.10	3.70	5.40
Black sesame	6.10	19.20	47.30	11.40	9.10	6.90
Meal defatted	5.20	44.70	4.20	23.50	10.90	11.50

**Table 2.** Relative Yields Per centange of sesame oil

Method	Extraction time(hour)					Total fat
	1	2	9	24	36	
Pressure method	95.1% (49.0)*				100% (51.50)	100% (51.50)
Ethyl ether extraction	60.6% (31.3)	67.0% (34.5)	91.0% (46.9)	95.9% (49.4)	100% (51.50)	100% (51.50)
n-Hexane extraction	68.5% (35.3)	75.3% (38.8)	92.8% (47.8)	97.7% (50.3)	100% (51.50)	100% (51.50)

\*( ) : absolute yield

脫色시킨 gel 을 Densitometer 를 사용하여 570 nm 에서 scanning<sup>20)</sup>하였다.

깨박에는 44.7%로 많은 量의 蛋白質이 含有되어 있다.

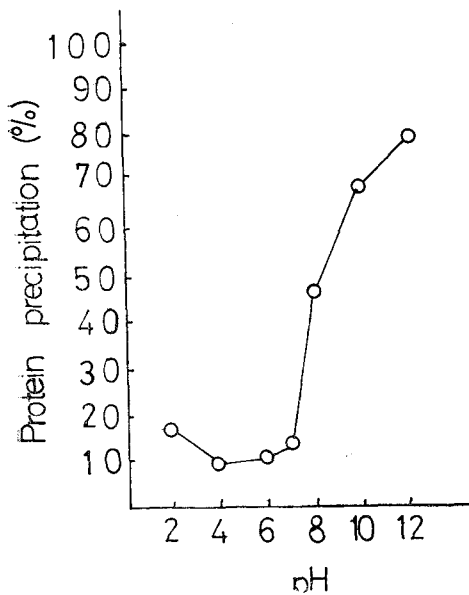
### 결과 및 고찰

#### 1. 一般成分

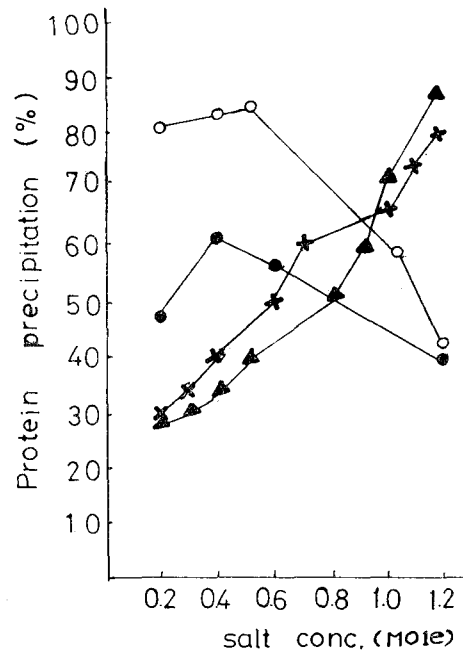
참깨와 참깨박의 일반성분은 Table 1와 같으며 참깨중의 粗蛋白質含量은 20.5%이고 脫脂한 참

#### 2. 抽出方法에 따른 油量抽出收率

참깨油의 抽出收率은 Table 2에서와 같이 n-hexane 을 용매로 하여 脂肪을 抽出한 것이 收率이 높고 壓搾法에 의한 착유방법으로 脂肪을 추출한 것이 收率이 가장 낮았다.



**Fig. 3.** Protein solubility profile of sesame meal in aqueous solution at various pH



**Fig. 4.** Protein solubility of sesame meal in various salt solutions at pH 8

### 3. 蛋白質의 抽出

가. pH의 영향: 수용액내에서의 pH에 따른 참깨박의 단백질의 용해상태는 Fig. 3과 같으며 pH가 높아 질수록 용해도는 증가되었다.

나. 鹽類溶液의 영향: 참깨박 단백질의 용해도는 여러 염용액에서 두드러지게 다르다 pH 8일 때 여러 염용액내에서의 단백질 용해도는 Fig. 4에서 나타난 것과 같다. NaCl 과 CaCl<sub>2</sub> 용액의 농도가 증가하면 단백질의 용해도는 증가하고 이와 대조적으로 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 나 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 용액의 농도가 증가하면 단백질 용해도는 감소하였다.

### 4. 蛋白質의 分離

참깨단백질중에 albumins, 16.8%, globulins, 70.9%, prolamins, 1.6%, glutelins. 10.7%, 로 함유되어 있다. 즉, 다른 穀類蛋白質(쌀, 보리, 옥수수 및 밀)과 비교하여 볼때<sup>21)</sup> albumins와 globulins를 많이 함유하고 있어서 좋은 단백질 자원으로서 기대할 수가 있다.

### 5. 粗蛋白質의 分離

조단백질의 분리수율은 Table 3에 나타난 바와 같다. 물로 추출 분리된 조단백질을 침전제에 의해 얻을수 있는 방법은 유안과 T.C.A.에 의한 침전방법이었다. 100°C의 수용상에서 응고시켜 침전 분리하는 방법은 가장 용이하기는 하나 단백질이 변성 되므로, 변성에 관계가 없는 사료용이나 식용을 목적으로 추출하는 경우에만은 방법의 적용이 비교적 양호하다고 하겠다.

**Table 3.** Sesame protein precipitated by various conditions

Extaction method	Yield(g)
1) Supernant solution (50ml) heated in boiling water (pH6.4)	0.2969
2) Tannic acid solution (1% tannic acid in 2NCH <sub>3</sub> COOH) added 20ml into supernant solution 50ml (pH3.5)	0.2966
3) Added TCA(50%) 10ml into supernant solution 50ml (pH1.3)	0.3013
4) Added TCA(20%) 10ml in to supernant solution 50ml (pH1.9)	0.2456
5) Added ammonium sulfate 20g into supernant solution 50ml (pH1.7)	0.3027

### 6. 아미노酸 組成과 營養的 價値

착유하고 남은 粕의 아미노酸 組成은 Table 4와 같이 glutamic acid가 17.1%로 가장 많으며 必須아미노酸도 다량 고루 함유되어 있음을 알수

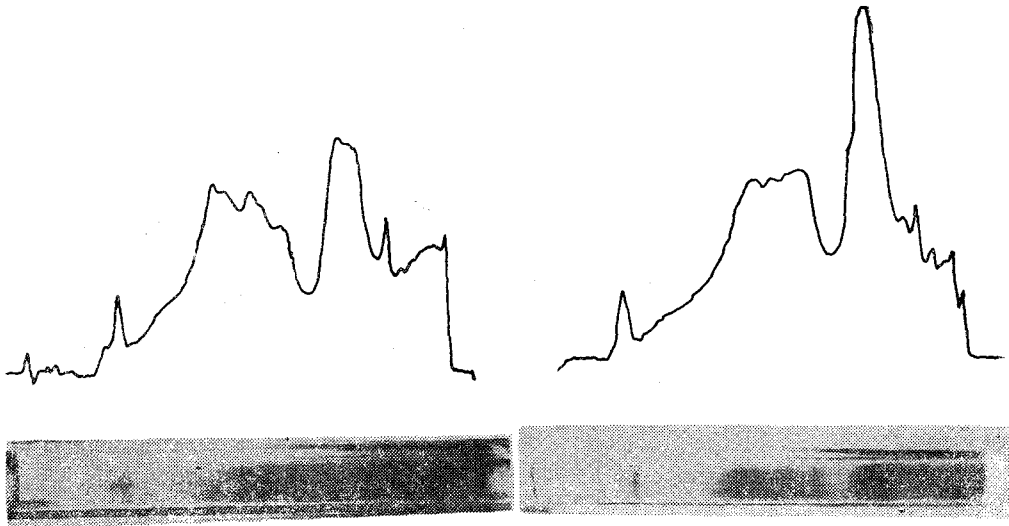
있다. 그리고 참깨粕의 albumin과 globulin류의 amino acid 組成은 glutamic acid, arginine과 aspartic acid가 다같이 가장 많이 함유되어 있는것이 특징이며 기타 必須 아미노酸도 고루 함유되어 있었다. 한편 참깨蛋白質은 豆類蛋白質보다 아미노酸 組成에서 lysine이 적은것이 결점이므로 蛋白質食糧에 단독으로 利用하는 것보다 lysine이 비교적 많이 들어있는 大豆蛋白質과의 7:13의 비율<sup>22)</sup>로 혼용하면 그 영양적 가치가 더 있고 또한 참깨에다 약간의 lysine를 보충하면 더욱 좋은 식량원이 될것이다.

**Table 4.** Amino acid contents of white sesame protein

Amino acid	Amino acid content (g/100g sample)		
	Defatted sesame protein	Water soluble protein	Salt soluble protein
Isoleucine	3.81	4.43	5.06
Leucine	5.77	7.43	7.79
Lysine	2.68	4.77	2.14
Methionine	2.99	2.95	2.46
Phenylalanine	5.05	6.75	5.19
Threonine	4.12	4.22	3.50
Valine	5.57	5.91	5.97
Alanine	4.54	5.91	5.19
Arginine	12.48	8.86	14.80
Aspartic acid	5.46	10.97	9.74
Cystine	1.44	—	—
Glycine	10.73	5.91	5.19
Histidine	2.47	2.24	2.76
Proline	6.19	4.22	3.50
Serine	5.05	3.80	3.50
Tyrosine	3.92	4.22	11.15
Glutamic acid	17.64	17.26	18.96

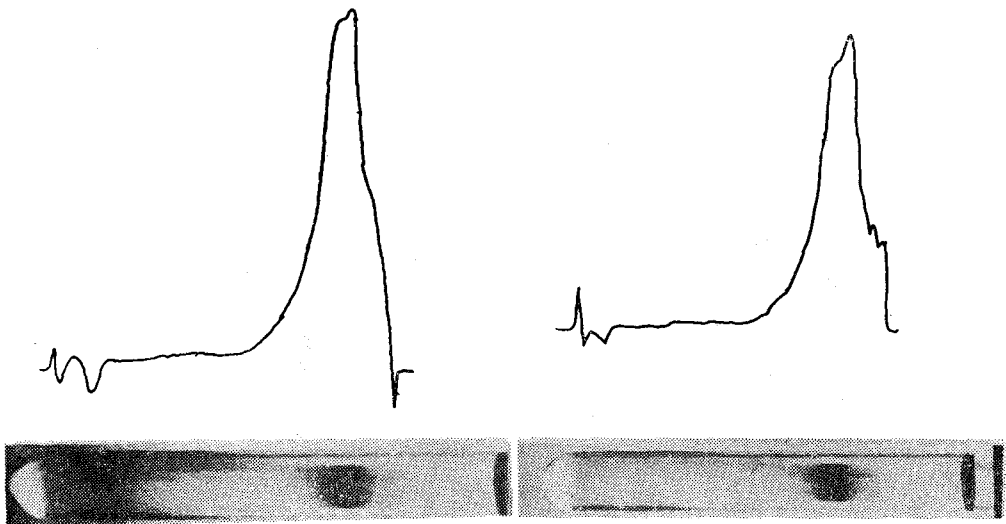
### 7. 참깨粕 蛋白質의 Disc gel 電氣泳動像

분리된 수용성과 염용성 蛋白質을 Disc gel 電氣泳動한 結果 흰참깨에서 분리된 수용성 단백질은 Fig. 5-A와 같고 검정 참깨는 Fig. 5-B와 같다. 흰참깨의 염용성 蛋白質의 Disc gel 電氣泳動像은 Fig. 5-C와 같고 검정 참깨는 Fig. 5-D와 같다. 즉, 흰참깨와 검정 참깨의 수용성 단백질은 각각 12~13개의 band로 나타났고 염용성 蛋白質은 각각 2개의 가까운 band로 나타났다. 흰참



A. Water soluble (White sesame)

B. Water soluble (Black sesame)



C. Salt soluble (White sesame)

D. Salt Soluble (Black sesame)

Fig. 5. Electrophoretic pattern of sesame protein

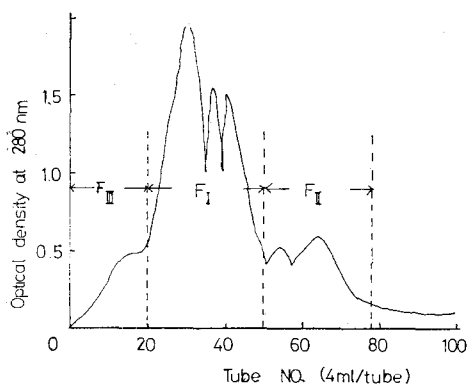
깨와 검정참깨의 蛋白質은 電氣泳動像으로 거의 같은 위치의 band로 나타났다.

### 8. 粗蛋白質의 精製

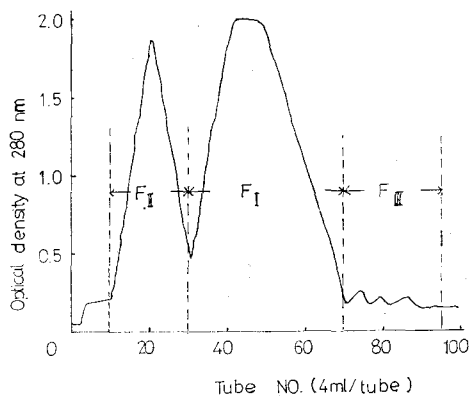
Fig. 1에서 추출한 수용성 蛋白質을 Sephadex A-25, G-75, G-100, G-200으로 精製한 結果 Fig. 6, 7, 8, 9에서와 같이 3개의 fraction으

로 나타났다. Fig. 10-A, B, C는 이들의 Disc-gel 電氣泳動像을 나타낸 것이다. 이때에 F. I 은 12개 F. II는 8개 F. III는 6개의 band를 보였다.

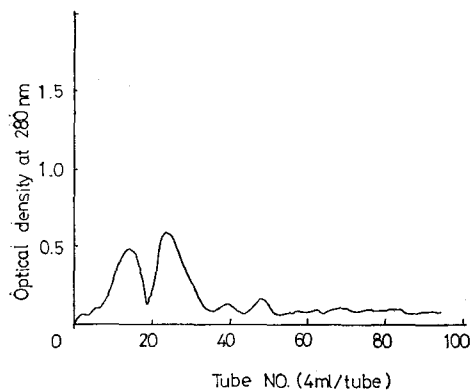
Fig. 1에서 抽出한 염용해성 蛋白質을 Sephadex G-100 column으로 精製한 結果는 Fig. 11과



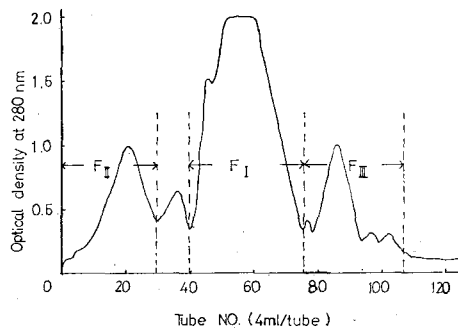
**Fig. 6.** Elution curve of water soluble white sesame proteins with Sephadex A-25 column



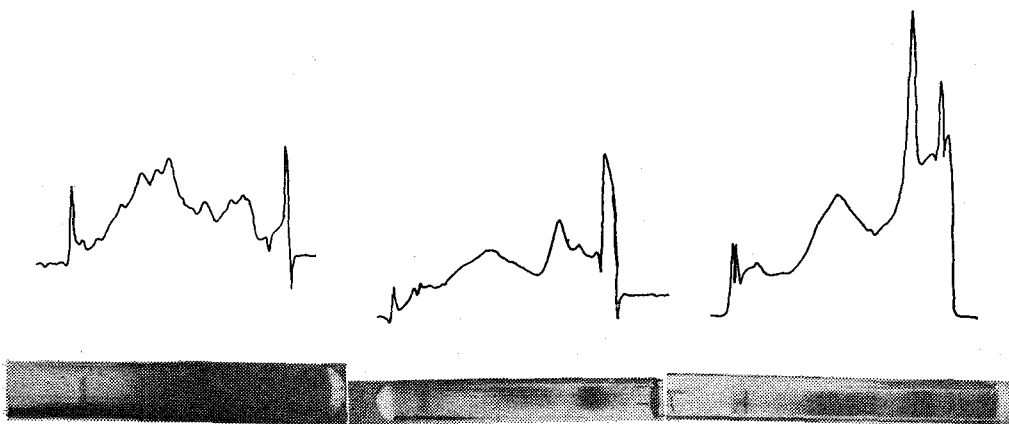
**Fig. 8.** Elution curve of water soluble white sesame proteins with Sephadex G-100 column



**Fig. 7.** Elution curve of water soluble white sesame proteins with Sephadex G-75 column



**Fig. 9.** Elution curve of water soluble white sesame proteins with Sephadex G-200 column

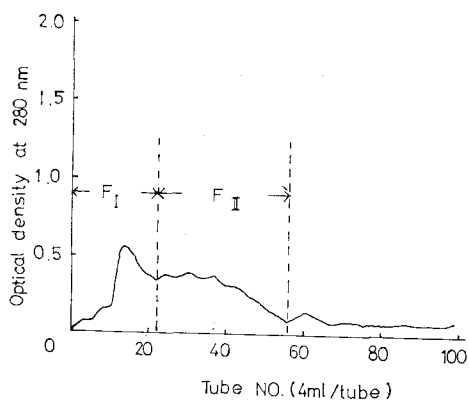


**A. Fraction I**

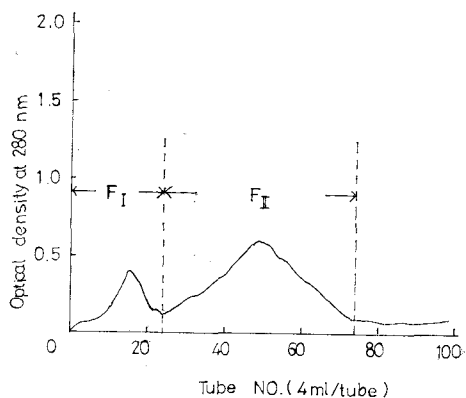
**B. Fraction II**

**C. Fraction III**

**Fig. 10.** Electrophoretic pattern of Fraction I, Fraction II and Fraction III proteins



**Fig. 11.** Elution curve of salt soluble white sesame proteins with Sephadex G-100 column

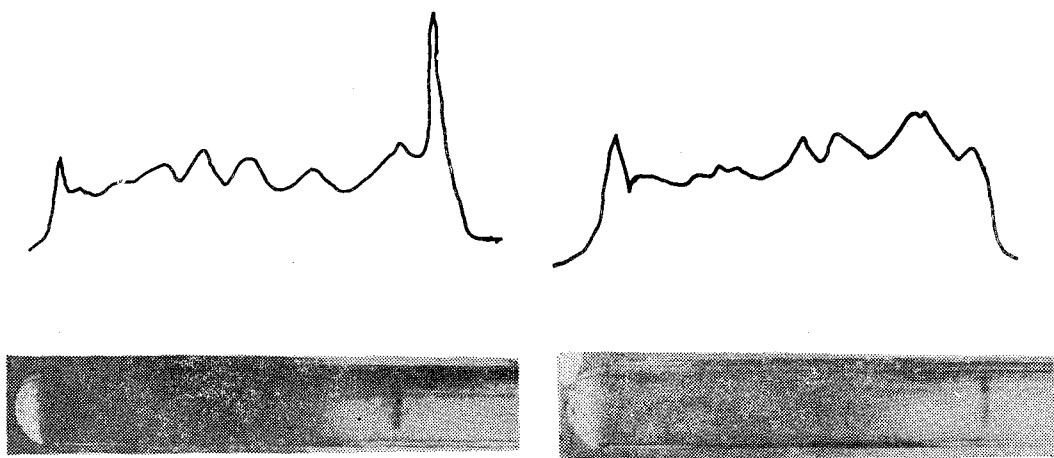


**Fig. 13.** Elution curve of Fraction I proteins with Sephadex G-200 column.

같이 2개의 fraction으로 나타났다. 이 중 F. I의 收率은 41.4%였다. Fig. 12는 이들의 Disc gel 電氣泳動像을 나타낸 것이다. Fig. 13은 Fig. 11의 Fraction I만을 다시 Sephadex G-200 column으로 재정제하였을 때 얻어진 결과이다. Fig. 13.에서 F. II의 收率은 88.3%였으며 이 F. II를 Disc gel 전기영동상으로 본 결과 Fig. 14.에서와 같이 단일에 가까운 band를 얻을 수 있었다.



**A. Fraction I**

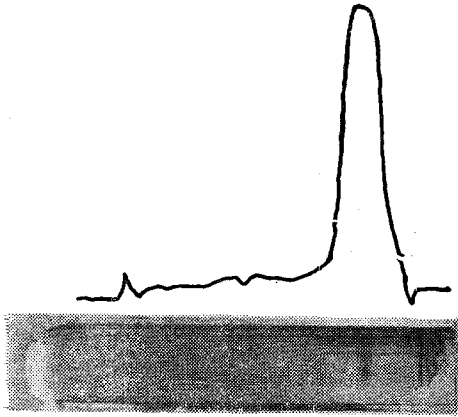


**B. Fraction II**

**Fig. 12.** Electrophoretic pattern of Fraction I and Fraction II proteins.

**A. Fraction I**  
(of Fig. 14, see next page)





B. Fraction II

Fig. 14. Electrophoretic pattern of Fraction I and Fraction II proteins

### 요 약

흰참깨에 20.5%, 검정참깨에 19.20%, 참깨에 44.7%의 조단백질이 함유되어 있다. n-hexane을 용매로하여 지방을 추출한 것이 수율이 가장 높았다. 조단백질의 분리에 있어서 pH가 알칼리성으로 갈수록 수율이 좋았다, 참깨의 globulin은 70.9%이었고 prolamin는 1.6%였다. 순참깨의 아미노산으로는 glutamic acid가 17.1%로 가장 많았고 globulin의 아미노산으로는 glutamic acid 14.6%이었고 필수 아미노산도 다량 고루 함유되어 있었다. 흰참깨와 검정참깨의 albumin 및 globulin의 단백질은 Disc gel 전기영동상에서 각각 12~13개 그리고 2개의 band로 나타났다. 참깨粕 단백질의 주단백질인 globulin의 Sephadex G-100 및 G-200 column 분리하고 이를 disc gel 전기영동으로 검색하였다.

### 참고문헌

1. 농수산부: 농림통계연보(1979)
2. 유정열: 한국영양학회지 2, 65(1969)
3. F.A.O한국협회: 1970년도 식품수급표(1972)

4. Dilmer, R.J.: J. of the A.O.C.S., 48: 8 (1971)
5. Wilding, M.D.: J. of the A.O.C.S., 48: 9 (1971)
6. Yermanos, M.D., Hemstreet, S., Saleet, W. and Huszar, C.K.: J. of the A.O.C.S., 46: 592 (1967)
7. Carter, F.L., Carino, VO. and Allen, L.E.: J. of the A.O.C.S., 38: 148(1961)
8. Bahadur Mathur and Tilare, K.S.: J. of the A.O.C.S., 30, 447(1953)
9. 허 금, 유정열, 이기열, 성낙응, 채법석, 차철환: 한국영양학회지, 3: 1(1970)
10. 보건사회부: 국민영양조사 중간보고서(1970~1971)
11. 박원우, 성낙응: 한국식품과학회지, 6: 139 (1974)
12. Cormey H.V.: Clin. Chem., 7: 37(1961)
13. Gerra M.J. and Park Y.K.: J. of the A.O.C.S., 52: 73(1975)
14. Prakash V. and Nandi P.K.: J. Agr. Food Chem., 26: 320(1978)
15. Ornstein, L.: Ann. N.Y. Acad. Sci., 121: 321(1964)
16. Wang, H.L., Swain, E.W. Hesseltn C.W. and Gumbmann M.R.: J.Agr. Food Chem., 26: 309(1978)
17. 최상, 김건치, 김명환, 김길환: 한국식품학회지, 2: 8(1970),
18. 최상, 김건치, 김명환, 김길환: 한국식품학회지, 2: 17(1970)
19. Porath, J: Biochem. Biophys. Acta., 39: 193(1961)
20. 水島昭二, 中村研三: 蛋白質, 核酸, 酵素, 22: 1(1977)
21. Pomeranz, Y.: Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds Part I, Marcel Dekker, 13-78(1974)
22. Almquist, H.J. and Graw C.R.: Poultry Sci., 23: 341(1944)