

## 한국산 인삼 단백질의 용해성 및 전기영동 패턴

최 청 · 윤상홍 · 배만중 · 안봉전

영남대학교 식품가공학과, 대구한의과대학 한의학과  
(1984년 9월 2일 수리)

### Solubility and Electrophoretic pattern of Korea Ginseng Protein

Cheong Choi, Sang-Hong Yoon, Man-Jong Bae\* and Bong-Jeon An

Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University, \*Dept.  
of Oriental Medicine, Daegu Oriental Medical College, Korea

#### Abstract

For the systematic investigation of biochemical characteristics of Korean ginseng protein, protein fractions were analyzed by the techniques of sodium dodecyl sulfate (SDS) polyacrylamide gel electrophoresis. The effect of pH and various salts on extractability of ginseng protein were determined while the amino acid composition was studied by amino acid autoanalyzer. The protein was consisted of 66.08% of albumin and 20.51% of glutelin. Extractability of ginseng protein was the lowest in pH 3.0 and the highest in pH 6.0~8.0. Among the neutral salts solution, 0.4 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> showed maximum extractability while 1.0M MgSO<sub>4</sub> solution showed the least extractability. Reasonable precipitation was obtained by 40% of acetone and ammonium sulfate. It has been shown by SDS polyacrylamide gel electrophoresis that the soluble protein had 11 bands. The molecular weight for the main protein of the soluble protein was estimated to be 43,000. In amino acid composition of water extracted protein, arginine content was the highest 47.17% while on the contrary, proline and cystine contents were very low.

#### 서 론

인삼에 관한 근대과학적 연구는 dammarane 계에 속하는 ariterpene glycoside<sup>1)</sup>인 ginsenoside 들에 대한 연구로 Brekhman<sup>2)</sup>이 보고한 인삼 사포닌의 adaptogen 활성설에 의한 강장효과가 입

증됨에 따라서, 현재까지 Sanada<sup>3)</sup>와 Kitagawa 등<sup>4)</sup>에 의하여 19종의 ginsenoside 들이 분리되어 그 화학적 구조들이 밝혀졌다. 그러나 인삼의 단백질 및 펩티드에 관한 연구들은 비교적 적으며 Gstiner 등<sup>5,6)</sup>은 한국산 백삼과 미국산 인삼으로부터 여지영동법으로 인삼의 펩티드를 분리하였으며 이 등<sup>7)</sup>은 인삼근에 함유한 유리 펩티드를

methanol 과 물로 추출하여 Dowex-50W 로 분리하였다. 정 등<sup>8)</sup>은 한국산 인삼 4년 근에서 수용성 단백질을 분리하여 전기영동한 결과 2개의 band 를 확인하였다. 그러나 이들 대부분의 연구에서 얻은 date 는 인삼단백질 또는 펩티드에 대한 단편적인 연구 결과로써 저자들은 인삼 중에서 중요한 대사의 기초가 되는 saponin과 다른 활성을 가진 단백질 또는 펩티드를 분리 목적으로 한국산 인삼 6년근의 수용성 단백질을 분리하여 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel 전기영동법으로 단백질의 패턴을 비교하고 수용성 단백질 중 주 단백질의 분자량과 용해성에 관한 그 결과를 보고하는 바이다.

**재료 및 방법**

**1. 실험재료**

본 실험에 사용된 인삼은 6년근으로써 대구 약령시장에서 백삼(충남 금산)을 구입하여 공시재료로 하였다.

**2. 시 약**

Low molecular weight kit(LMWK)는 Pharmacia Co., bovine serum albumin은 Sigma Co., 기타 일반시약은 시판의 특급품을 사용하였다.

**3. 실험방법**

1) 단백질의 추출 및 분별정량 : 공시재료와 cold hexane 을 1 : 20(w/v)으로 3회 반복하여 탈지시킨 다음 Bjetz의 방법<sup>9)</sup>에 따라 단백질을 분별정량하였다.

2) pH에 따른 인삼단백질의 용출성 : 탈지한 시료 2g에 각 pH의 완충액을 40ml씩 가하여 2시간 각박하고 단백질을 추출한 후 7,700×g에서 30분간 원심분리하여 그 상층액을 Lowry법<sup>10)</sup>에 의하여 단백질을 정량하였다. pH 1~3 및 pH 8~10은 Clark Lub buffer, pH 4~7은 0.01M의 citrate phosphate buffer를 사용하였다.

3) 염용해성 단백질의 용출성 : 탈지한 시료 2g을 250ml 삼각플라스크에 넣어 0.1~2.0M의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub>, NaCl, MgSO<sub>4</sub> 및 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 염이 포함된 0.01M phosphate buffer (pH 7.0) 40ml를 가하여 4°C에서 2시간 교반하여 염용해성 단백질을 추출하였다. 이것을 7,700×g에서 30분간 원심분리한 상층액을 25 μl 취하여 상기와 동일한

방법으로 단백질을 측정하였다.

4) 수용성 단백질의 침전성 시험 : Trichloroacetic acid(TCA), ammonium sulfate, acetone에 의한 침전도는 탈지한 시료 5g을 증류수 150ml를 가하여 5°C에서 3시간 교반하여 7,700×g에서 30분간 원심분리하여 수용성 단백질을 추출한 다음 Bhattyy 등의 방법<sup>11)</sup>에 따라 그 단백질의 침전도를 시험하였다. TCA, ammonium sulfate 및 acetone이 농도별에 따른 인삼 단백질의 침전도는 Lowry법<sup>10)</sup>에 따라 수용성 전단백질을 100%로 환산하여 각 농도별에 의한 단백질 침전도를 백분율로 표시하였다.

5) Sodium dodecyl sulfate(SDS) polyacrylamide gel 전기영동 및 분자량 결정 : Weber 등<sup>12)</sup>의 일반적 방법에 의해 수용성 단백질 또는 표준 단백질을 1% SDS 및 1% mercaptoethanol을 함유하는 0.01M phosphate buffer (pH 7.0) 1ml에 용해시켜 37°C에서 4시간 incubation 하였으며 SDS-polyacrylamide gel 전기영동법에 의한 분자량측정은 표준단백질의 이동상대치를 standard curve에 의해 측정하였다.

6) 아미노산 조성 : 동결건조한 수용성 단백질 5mg에 6N HCl를 가하여 질소가스로 치환한 다음 밀봉하여 110°C에서 24시간 가수분해하여 염산이 완전히 제거될 때까지 rotary evaporator로 농축하였다. 이것을 증류수 1ml로 용해시켜 Whatman No. 4 여지로 여과한 다음 아미노산 자동분석기로 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 단백질의 분별 정량**

한국산 인삼의 6년근의 단백질의 분별 정량은 Table 1에서 보는 바와 같이 albumin이 66.08%로 그 함량이 제일 많았으며 glutelin, globulin, prolamin 순이었다. Albumin의 높은 함량은 강 등<sup>13)</sup>의 각 식물성 단백질의 분별 정량의 결과와 눈상이하였으며 glutelin의 함량이 20.51%로 비교적 그 함량이 많은 것이 특이하였다.

**Table 1.** Fraction of the soluble protein in ginseng root. (%)

Albumin	Globulin	Prolamin	Glutelin
66.08	11.60	1.81	20.51

2. 인삼 단백질의 추출성에 미치는 pH의 영향  
 인삼 단백질의 pH 변화에 따른 단백질의 추출성은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 pH 3에서 최소, pH 6~8에서 최대의 추출성을 나타내었으므로 인삼 단백질의 등전점은 약 3으로 추정되었다.

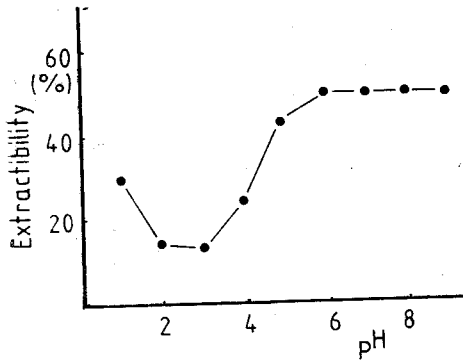


Fig. 1. Effect of pH on extractability of Ginseng protein

3. 염용해성 단백질의 용해도

공시료에 대해 농도가 다른 각종 염류를 함유한 0.01M sodium phosphate buffer (pH 7.0)로 추출한 단백질의 염용해성은 Fig. 2와 같다. 각종 염류에서 단백질의 용해성이 가장 높은 염농도는 0.4M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>이었으나 NaNO<sub>2</sub>, NaCl 및 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 몰 농도와 차이가 거의 없었으며 1.0M MgSO<sub>4</sub>에서 인삼 단백질의 추출성이 가장 낮았다. 식물성 종실에 대한 염에 의한 단백질의 용해성은 MgSO<sub>4</sub>가 가장 높은 결과<sup>14, 15, 16</sup>)와는 다른 결과를 보여 주었다.

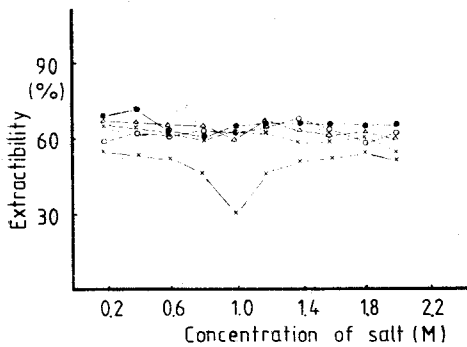


Fig. 2. Effect of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub>, NaCl, MgSO<sub>4</sub> and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Salts of extractability of Ginseng protein.

●-● Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ○-○ NaNO<sub>2</sub>, △-△ NaCl, ×-× Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ×-× MgSO<sub>4</sub>

4. 수용성 단백질의 침전성 시험

인삼의 수용성 단백질의 TCA, ammonium sulfate 및 actone에 의한 침전도는 각각 97.9%와 95.8%이었다. (Table 2)

Table 2. Effect of various concentrations of TCA, ammonium sulfate and actone on precipitation of water extractable proteins.

TCA	Conc. (%)	2.5	5	10	15	20
%N precipitated		56.5	58.7	60.9	63.1	63.3
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Conc. (%)	10	25	40	55	70
%N precipitated		71.4	87.9	97.8	93.1	98.2
Acetone	Conc. (%)	20	20	40	50	60
%N precipitated		74.6	88.2	95.8	96.8	97.1

5. SDS-polyacrylamide gel 전기영동 및 분자량 결정

인삼의 수용성 단백질을 SDS-polyacrylamide gel 전기영동 결과는 Fig. 3과 같다. 정 등<sup>8)</sup>이

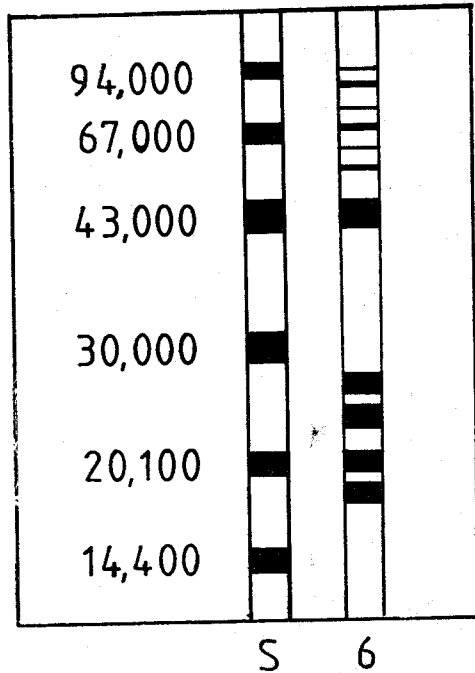


Fig. 3. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis patterns of water extractable proteins, extracted from Ginseng root at 6 age.

**Table 3.** Amino acid composition of water extracted protein in Ginseng root. ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )

Aspartic acid 0.0663	Threonine 0.0215	Serine 0.0156	Glutamic acid 0.1018	Proline trace	Glycine 0.0146
Alanine 0.0242	Cysteine trace	Valine 0.0165	Methionine 0.0048	Isoleucine 0.0134	Leucine 0.0299
Tyrosine 0.0168	Phenylalanine 0.0241	Histidine 0.0206	Lysine 0.0348	Arginine 0.3338	

4 년근의 수용성 단백질의 band 수가 2 개보다 6 개 가 더 확인되었으며 주 단백질의 분자량은 43,000 으로 추정된다.

#### 6. 아미노산의 조성

인삼근의 수용성 단백질의 아미노산 조성은 Table 3 과 같다. Trace 를 포함하여 18 종류의 아미노산이 확인되었고 홍 등<sup>17)</sup>이 보고한 인삼의 유리 아미노산 조성에 있어서 arginine 의 함량이 제일 많이 함유한 것과 같이 45.71%로 가장 많았으며 glutamic acid 13.78%, aspartic acid 가 8.98 % 순이었고 proline 과 cystine 함량은 매우 낮은 것으로 나타났다.

#### 초 록

한국산 인삼 단백질의 생화학적 특성을 체계적으로 규명하기 위하여 단백질의 분별정량, SDS-polyacrylamide gel 전기영동, pH에 의한 단백질의 용출성 및 아미노산 조성을 분석한 결과는 다음과 같다. 인삼 단백질의 분별정량은 albumin 이 66.0%로 가장 많았으며 glutelin 이 20.5%이었고 인삼 단백질의 pH에 의한 용출성은 pH 3에서 최저를 나타내었으며 pH 6~8에서 최고치를 나타내었고 열의 종류 및 그 농도별에 의한 추출성은 sodium염의 경우 차이가 없었다. 수용성 단백질의 침전도는 40%의 ammonium sulfate와 acetone에 의하여 96% 침전하였으며 SDS-polyacrylamide gel 전기영동의 결과 11개의 band가 확인되었으며 수용성 단백질의 주 단백질의 분자량은 43,000이었다. 수용성 단백질의 아미노산 조성은 18 종류로써 arginine의 함량이 45.17%로 가장 많았으며 proline 및 cystine의 함량은 매우 낮았다.

#### 참 고 문 헌

- Oura, H. and Hial, S.: Proc. Internat. Ginseng Symposium, The Central Res. Inst. Office of Monopoly, ROK p.23(1974).
- Brekman, I.I., and Dardymov, I.V.: Rev. Pharmacol., 9 : 419(1969).
- Sanada, S., Kondo, N., Shoji, J. Tanaka, O. and Shibata, S.: Chem. Pharm. Bull., 22 : 421(1974).
- Kitagawa, I., Taniyama, T., Hayashi, T. and Yoshikawa, M.: Chem. Pharm. Bull. 31 : 3351(1983).
- Gstirner, F. and Vogt, H.J.: Arch. Pharm. 296 : 384(1963).
- Gstirner, F. and Braun, W.: Arch. Pharm. 300 : 371(1967).
- 이정근, 김영기, 유영진 : 전국대학교학술지, 22 : 23(1978).
- 정시린, 전경희 : 영남대학교논문집, 14 : 225 (1980).
- Bjetz, J.A.: Cereal Foods World, 24 : 199 (1979).
- Lowry, O.H.: J. Biol. Chem., 193 : 265(1951)
- Bhatty, R.S.: Cereal Chem., 49 : 729(1972)
- Weber, K. and Osborn, M.: J. of Biol. Chem 244 : 4406(1969).
- 강명희, 이서래 : 한국식품과학회지, 10 : 415 (1978).
- Tinay, A., Chandrasekher, H. and Romnatham, G.: J. Sci. Food Agric., 31 : 38(1980)
- Gheyasuddin, S.: J. of Food Sci., 35 : 493 (1970).
- 윤형식 : 충남대학교 박사학위 청구논문(1981).
- 홍순희, 최강주, 조영호 : 고려인삼연구보고서, 335(1980).