

## 한국산 호도의 단백질 및 지질의 조성에 관한 연구

최 청·성 태 수·차 원 섭·손 규 목

영남대학교 농축산대학 식품가공학과

(1986년 5월 20일 수리)

### Studies on the Composition of Protein and Lipid from Korean Walnut (*Juglans regia* L.)

Cheong Choi, Tae-Soo Sung, Woen Suep Cha, and Cyu Mok Son

Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Animal  
Science, Yeungnam University, Gyongsan 632, Korea

#### Abstract

We employed gel filtration, polyacrylamide gel electrophoresis, amino acid autoanalyzer, thin layer chromatography for determining protein and lipid composition in walnut. The walnut contained 22.18% of crude protein and 64.23% of crude lipid. Glutamic acid (38.60%) was the major amino acid in soluble protein, followed by arginine and aspartic acid. The sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis analysis showed 12 band in soluble protein of walnut, and collection rate of main protein fraction purified by Sephadex G-150 was 60.67%. The molecular weight for the main protein was estimated to be 43,000. The lipid fraction obtained by silicic acid column chromatography were mainly composed of about 93.05% neutral lipid, whereas compound lipid was only 7.0% level. Among the neutral lipid by thin layer chromatography, triglyceride was 82.05%, sterol ester and free fatty acid were 3.86% and 4.80%, respectively. The predominant fatty acids of total and neutral lipids were linoleic acid (64.48~69.98%) and oleic acid (13.89~15.36%). The major fatty acids of triglyceride separated from neutral lipid were linolenic acid (69.98%).

#### 서 론

최근 식량자원에 대한 문제가 심각해짐에 따라 새로운 식량자원 개발을 위한 많은 연구가 이루어지고 있다. 여러 단백질 자원 중 유량종실은 유지나 단백질 자원으로써 중요한 위치를 차지하고 있으며 영양과 경제적인 면에서도 좋은 식량자원이라 생각된다. 호도는 과자의 원료나 식용으로 우

리 가정에서 이용하여 왔으나 현재까지 별로 연구 개발되지 않은 다량의 유지와 단백질을 함유한 영양학적 우수한 유량종실이다. 野口 등<sup>1)</sup>은 호도의 총지방의 지방산 조성에 관한 연구가 보고되었고 Barclay 등<sup>2)</sup>과 Senter 등<sup>3)</sup>은 미국산 흑호도의 총지방의 지방산 조성에 있어서 linoleic acid를 포함해서 22종류의 지방산으로 구성되어있음을 보고하였다. 국내에서는 오<sup>4)</sup>의 한국산 각종 종실유 지방산에 관하여 호도의 총지방의 지방산 조성을 보고

하였고 천등<sup>10)</sup>은 호도기름의 triglyceride의 조성에 관한 연구가 이루어져 왔다. 호도의 단백질에 관한 연구보고는 국내의 단편적이거나 古內등<sup>11)</sup>이 일반성분 및 염용해성 단백질을 추출하여 아미노산 조성을 보고하였다.

본 연구에서는 한국에서 생산된 호도의 일반성분 및 수용성 단백질을 분리하여 gel filtration에 의하여 분획하고 이들의 아미노산 조성과 결합지질층의 극성 및 비극성 지질을 구성하고 있는 지방산의 조성을 분별정량하여 몇 가지 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

**재료 및 방법**

**1. 재료**

본 실험에 사용된 박피호도(*Juglans regia L.*)는 1985년도 산으로 대구시중에서 구입하여 탈각한 후 막자사발에 넣어 분쇄한 것을 공시재료로 하였다.

**2. 방법**

1) 일반성분 : 공시재료의 수분, 회분, 조지질, 조단백질의 일반성분을 AOAC법<sup>12)</sup>에 따라 정량하였다.

2) 수용성 단백질의 분획 및 정량 : 공시재료와 cold hexane을 1 : 20(w/v)으로 3회 반복하여 탈지한 후 Bietz등<sup>13)</sup>의 분류법에 의하여 수용성 단백질을 분획하였고 Lowery법<sup>14)</sup>에 따라 단백질을 정량하였으며 분획된 단백질은 동결건조하였다. 동결건조한 수용성 단백질 500mg에 증류수 2ml를 가하여 용해시켜 균질화한 다음 filter paper syringe로 여과한 용액을 Sephadex G-150으로 gel filtration하였다. 이때 사용한 column의 크기는 3.2×45.0cm, V<sub>0</sub>는 100ml, flow rate는 5ml/30 min.으로 automatic fraction collector로 5ml씩 받아 280nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) 및 분자량 결정 :

Weber등<sup>15)</sup>의 방법에 의해 수용성 단백질 및 표준 단백질을 1% SDS와 1% mercaptoethanol을 함유한 0.01M phosphate buffer(pH 7.0) 1ml에 용해시켜 37°C에서 4시간 incubation하였다. SDS-PAGE에 의한 단백질의 분자량 측정은 표준 단백질의 이동상태를 standard curve에 의해 측정하였다.

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

5) 총지질의 추출 : 호도의 조지방 추출은 Folch법<sup>16)</sup>에 따라 Fig. 1과 같이 시료에 20배의 chloroform : methanol(2 : 1v/v) 용매를 가하여 균질화한 것을 흡입여과한 후 용매와 잔사를 분리하여 chloroform층을 취하여 40°C 이하에서 rotary evaporator로 농축한 것을 조지질로 하였다.

6) 중성지질, 당지질, 인지질의 분리 및 정량 : 시료에서 추출한 지질은 Rouser등<sup>17)</sup>의 방법에 따라 Fig. 1과 같이 silicic acid column chromatography(SACC)에 의하여 중성지질, 당지질 및 인지질을 분리, 정량하였다.

7) 중성지질의 분리 및 정량 : Thin layer chromatography(TLC)를 이용한 Ament법<sup>18)</sup>에 따라 중성지질을 분리, 정량하였다.

8) 지방산 조성 : 조지질, 중성지질, 당지질, 인지질 및 중성지질에서 분리한 triglyceride의 지방산조성은 이등<sup>19)</sup>의 방법에 따라 gas liquid chromatography(GLC, Hitachi model 063, 일본)로 분석하였다. 이때 사용한 column은 chromosorb W (60~70mesh)에 이의 10% DEGS와 1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>를 입힌 것을 충전시킨 glass column(3.0cm×2.0mm)를 사용하였고 oven, injector 및 detector의 온도는 각각 175°C, 250°C 및 250°C이었다.

**결과 및 고찰**

**1. 일반성분**

호도의 일반성분은 Table 1에서 보는 바와 같이 조지질의 함량은 64.2%로써 오<sup>4)</sup>가 보고한 후피호도(*Juglans sinensis DODE*)의 조지질 함량 67.2%보다 낮았으나 유지함량면에서 유지자원개발에 이용가치가 있다 하겠다.

**2. 수용성 단백질의 분획 및 정량**

호도의 수용성 단백질을 Sephadex G-150으로 분획한 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 3개의 fraction으로 분획되었고 이때 주된 단백질의 함량은 60.67%를 차지하였다.

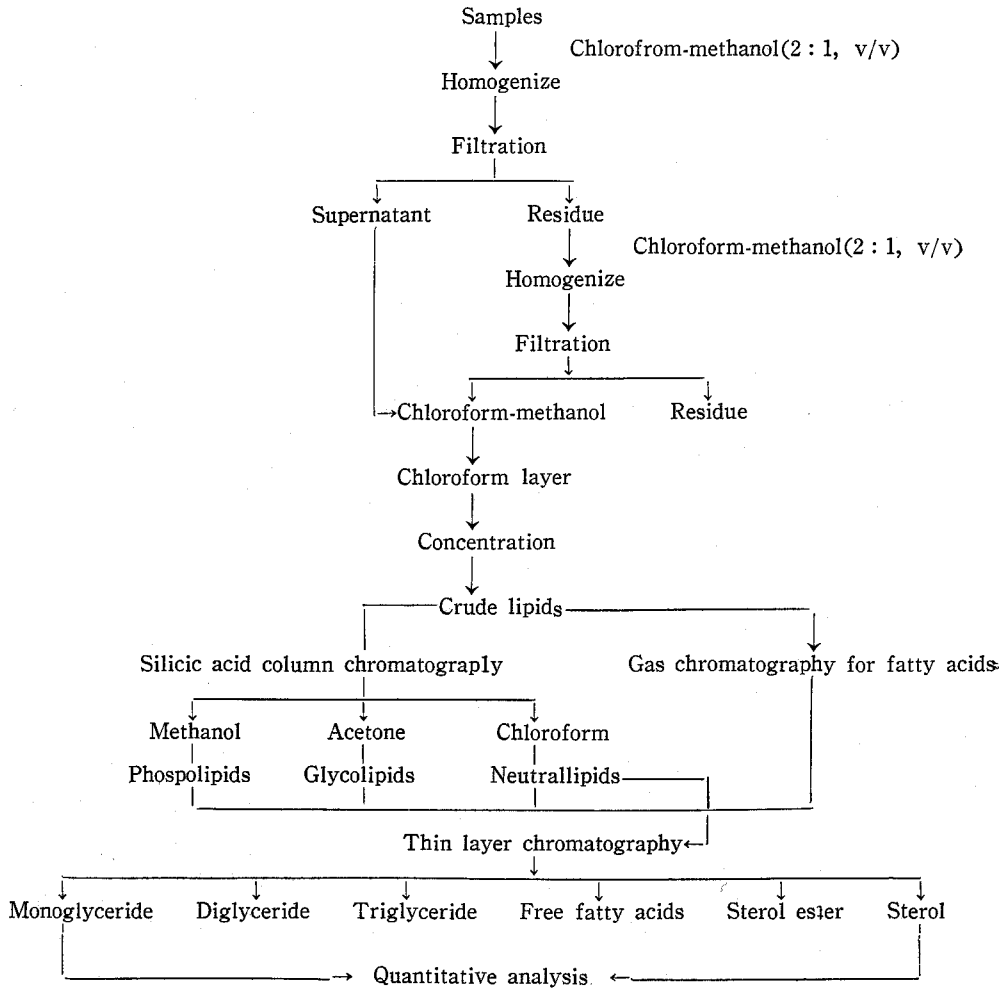


Fig. 1. Extraction, separation, and fractional of lipids in walnut.

Table 1. Proximate composition of walnut(%)

Moisture	Crude Protein	Crude Fat	N-Free Extract	Ash
2.55	22.18	64.23	9.16	1.87

3. 주단백질의 분자량 측정

호도의 수용성 단백질의 주된 단백질의 분자량은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 43,000으로 추정되었으며 SDS-PAGE 의한 결과는 Fig. 4에서와 같이 12개의 band를 나타내었고 이때 주 band의 함량은 15.3%였다. 이것은 古内등<sup>9)</sup>이 보고한 일본산 호도의 수용성 단백질에서 나타난 band수와 일치하였다.

4. 아미노산의 조성

호도에서 추출, 분리한 수용성 단백질의 아미노산 조성은 Table 2에서 보는 바와 같이 총 17종류로 glutamic acid가 38.6%로 가장 많았고 arginine 9.45%, aspartic acid 6.55% 순으로 나타났으며 cystine의 함량이 가장 낮았다. 古内등<sup>9)</sup>이 보고한 일본산 호도의 수용성 단백질 중의 glutamic acid 함량보다 한국산호도가 약 2배가량 그 함량이 많

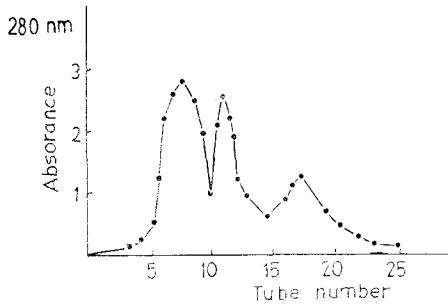


Fig. 2. Fraction of the water extractable walnut protein on the Sephadex G-150 column (3.2×45.0cm).

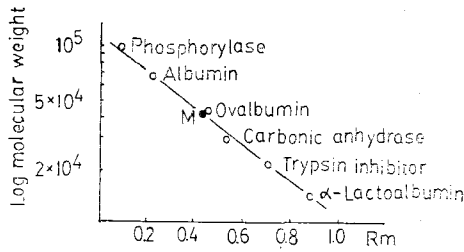


Fig. 3. Determination of molecular weight of the main protein by compared with other known molecular weight of proteins. Phosphorylase b(94,000), Albumin(67,000), Ovalbumin(43,000), Carbonic anhydrase (30,000), Trypsin inhibitor(20,100),  $\alpha$ -Lactalbumin(14,400), M: Main fraction Protein.

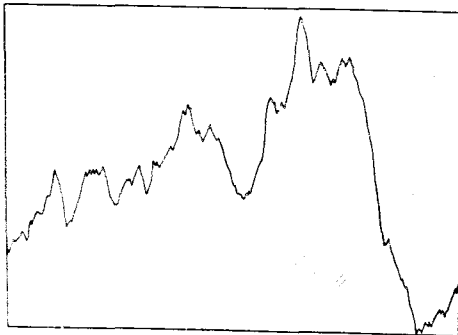


Fig. 4. SDS-PAGE of the pattern of walnut protein in sodium phosphate buffer (pH 7.0).

Table 2. Amino acid composition of the water soluble protein and main fraction protein in walnut. (%)

Amino acid	A	B
Aspartic acid	6.55	5.89
Threonine	2.02	2.46
Serine	2.54	2.93
Glutamic acid	38.60	36.68
Proline	3.13	3.65
Glycine	4.76	4.46
Alanine	4.57	4.10
Cystine	0.68	0.56
Valine	3.28	4.43
Methionine	1.30	1.19
Isoleucine	3.63	4.73
Leucine	5.83	5.45
Tyrosine	2.23	2.41
Phenylalanine	3.57	3.67
Histidine	4.59	4.41
Lysine	1.67	1.24
Arginine	9.45	8.45
Ammonia	1.60	3.29

A: Water soluble protein

B: Main fraction of the water soluble protein

은 것이 특이하였다. 또한 수용성 단백질을 gel filtration에 의한 주단백질의 아미노산 조성에 있어서도 총 17종류로써 그 함량은 glutamic acid가 35.68%로 가장 많았으며 proline과 leucine의 함량은 수용성 단백질의 아미노산의 proline과 leucine의 함량보다 많았다. 호도에는 필수아미노산이 골고루 분포되어 있으며 특히 threonine과 valine의 함량이 많았고 발육기의 어린이나 환자에 필요한 histidine과 arginine의 함량이 상당히 많은 것을 보아 우수한 단백질원이라 하겠다.

5. 중성지질, 당지질 및 인지질의 정량

호도에서 추출한 지방질을 SACC에 의한 중성 당

Table 3. Contents of neutral lipid glycolipid and phospholipid in oil from walnut(%)

Neutral lipid	Glycolipid	Phospholipid
93.05	4.05	2.90

**Table 4.** Contents of neutral lipids in walnut(%)

Triglyceride	1,2-Diglyceride	Monoglyceride	Free fatty acid	Sterol	Sterol ester	1,3 Diglyceride
82.05	2.90	2.60	4.80	1.70	3.85	2.10

**Table 5.** Fatty acid composition of total lipid and major lipid class in walnut(%)

Fatty acid	Total lipid	Neutral lipid	Glycolipid	Phospholipid	Triglyceride of NL
12:0	t	t	t	t	t
14:0	t	t	t	t	t
16:0	5.54	6.15	7.93	13.42	5.39
16:1	t	t	t	t	t
17:0	t	t	t	t	t
18:0	5.33	5.24	5.25	4.70	6.04
18:1	14.36	15.36	14.85	15.06	13.89
18:2	69.98	67.93	68.48	64.16	69.98
18:3	4.79	5.32	3.49	2.66	4.70
Unknown	t	t	t	t	t

t: trace (<0.05% of normalized area), NL: neutral lipid

및 인지질을 분리, 정량한 결과는 Table 3에 나타난 것과 같이 중성지질이 93.05%로 대부분을 차지하였으며 당지질은 2.90%에 불과하였다. 이는 野口등<sup>2)</sup>이 보고한 일본산 호도의 중성지질 함량 91.30%와 비슷한 값을 나타내었다.

**6. 중성지질의 구성지방질**

SACC를 이용하여 분리한 중성지질을 TLC에 의하여 분리정량한 결과는 Table 4와 같다. 시료 지방질 성분중에는 triglyceride의 함량이 82.02%로 다른 식물성 유지 triglyceride의 함량 85~90%보다 아주 낮은 반면<sup>1)</sup> sterol ester의 함량이 29.8%로 높았다.

**7. 지방산 조성**

호도에서 추출정제한 총지질 성분과 SACC에 의하여 분획한 중성지질, 당지질, 인지질 및 중성지질에서 분리한 triglyceride의 지방산 조성을 GLC에 의하여 분석한 결과는 Table 4와 같다. 총지질 성분의 지방산 조성은 linoleic acid(69.98%)가 가장 높은 함량을 나타내고 oleic acid(14.36%), stearic acid(5.33%)순으로 미확인의 지방산을 포함하여 10종류였다. 천등<sup>3)</sup>이 보고한 후피호도의 총지질 성분의 지방산 조성과의 결과를

일었으며 Senter 등<sup>4)</sup>이 확인한 미국산 흑호도 총지질 성분의 지방산 조성은 22종류로서 한국산 호도보다 oleic acid함량이 약 5.6배 많았다. 호도의 총지질 성분의 지방산 조성에서 필수지방산인 linoleic acid가 69.98%, linolenic acid가 4.79%를 차지하고 있어 필수지방산의 공급원으로써 가치가 있다고 할 수 있겠다. 한편 중성지질의 지방산은 총지질의 지방산 조성과의 패턴이 유사하였으며 인지질의 지방산 조성은 palmitic acid의 함량이 2배정도 많았다.

**조 록**

한국산 호도의 단백질 및 지방성분을 gel filtration, polyacrylamide gel electrophoresis, 아미노산분석기, thin layer chromatography 및 gas liquid chromatography에 의하여 분석하였고 그 일반성분은 조단백질의 22.18%, 조지질이 64.23%였다. 호도 단백질의 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis에 의한 결과 12개의 band를 나타내었고 분획된 주단백질의 수득율은 60.67%였으며 이것의 분자량은 43,000이었다. 아미노산 조성은 17종류로써 glutamic acid가 38.60%로써 가장 많았고 다음은 arginine이

9.45%, aspartic acid가 6.55% 순으로 나타났으며 필수아미노산이 고르게 함유되어 있었다.

호도기름에는 중성지질이 93.05%이나 복합지질은 약 7.0%에 불과하였으며 중성지질의 성분으로서는 82.05%가 triglyceride였고 sterol ester 및 유리지방산이 각각 3.85% 및 4.80%였다. 호도의 총지질과 중성, 당 및 인지질의 지방산 조성은 oleic acid 및 linoleic acid가 각각 13.89~15.36%, 64.48~69.98%였고 중성지질에서 분별된 triglyceride의 지방산 조성은 linoleic acid가 69.98%로 가장 높은 함량이었다.

### 참 고 문 헌

1. 野口駿, 伊豫田潤子: 家政學雜誌, 24: 169 (1973).
2. Barclay, A.S. and Earle, F.R.: Economic botany, 28: 178(1974).
3. Senter, S.D. and Harvat, R.J.: J. Food Science, 4: 266(1979).
4. 오수미: 영양학회지, 8: 19(1975).
5. 천석조, 박영호: 한국영양식량학회지, 13: 263 (1984).
6. 古內幸雄, 柴崎一雄: 日本食品工業學會誌. 28: 548(1981).
7. AOAC Method of Analysis, 13th edition(1980).
8. Bjetz, J.A.: Cerebral Foods World, 24: 199 (1979).
9. Lowery, O.H. and Rosebrough, N.J.: J. Biol. Chem., 193: 265(1951).
10. Weber, K. and Osborn, M.: J. of Biol. Chem., 244: 4006(1969).
11. Folch, J. and Lees, M.: J. Biol. Chem., 226: 467(1957).
12. Rouser, G. and Kritchrsky, G.: Lipids, 2: 37(1967).
13. Amenta, J.S.: J. Lipid Res., 5: 270(1964).
14. 이상영, 신효선: 한국식품과학회지, 11: 208 (1979).
15. Mark, L.D. and Charles, W. W.: J. Agr. Food. Chem., 28: 364(1980).