

---

博士學位論文

油菜蛋白質의 抽出, 精製 및 機能性에 관한 研究

濟州大學校 大學院

食 品 工 學 科



1990年 12月

# 油菜蛋白質의 抽出, 精製 및 機能性에 관한 研究

指導教授 姜 永 周

李 將 舜

이 論文을 工學博士學位 論文으로 提出함.

1990年 12月

李將舜의 工學博士學位 論文을 認准함.

審査委員長  
委  
委  
委  
委

李	大	周
李	崇	浩
姜	永	周
李	舜	君
李	在	林

濟州大學校 大學院

1990年 12月

---

A STUDY ON THE EXTRACTION,  
PURIFICATION AND FUNCTIONALITY OF  
RAPESEED PROTEIN

Jang-Soon Lee

(Supervised by Professor Yeung-Joo Kang)



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIRMENTS FOR THE DEGREE OF  
DOCTOR OF ENGINEERING

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1990. 12

# 目 次

Summary .....	1
記號說明.....	5
第1章 緒論 .....	7
第2章 材料 및 方法 .....	14
1. 材料 .....	14
2. 蛋白質의 抽出方法 .....	14
3. 抽出蛋白質의 精製方法 .....	14
4. 限外慮過器 運用 .....	16
5. 油菜粕의 成分組成 .....	16
6. 精製蛋白質의 glucosinolate 및 phytate 含量測定 .....	17
7. UV spectra 測定 .....	18
8. 固有螢光 spectra 測定 .....	18
9. 色度測定 .....	20
10. 表面疎水性測定 .....	20
11. 遊離 SH基와 S-S結合測定 .....	20
12. SDS-PAGE 分析 .....	21
13. 아미노산 含量分析 .....	21
14. pH별 溶解度 .....	23
15. 粘度測定 .....	24
16. 거품성 .....	24

17. 에밀젼特性 .....	24
18. 칼슘凝固性 .....	25
19. 熱凝固性 .....	25
20. 水分 및 油吸收力 .....	25
<b>第3章 結果 및 考察 .....</b>	<b>27</b>
1. 油菜粕製造 및 一般成分組成 .....	27
2. 油菜蛋白質의 油出 .....	28
3. 油出蛋白質의 精製效果 .....	29
4. UV 및 固有螢光 spectra .....	34
5. 黃色度, 表面疎水性 및 S-S基 含量 .....	36
6. SDS-PAGE 分析 .....	39
7. 아미노산 含量分析 .....	41
8. pH別 溶解度 및 動粘度 .....	42
9. 表面特性 .....	45
10. 칼슘 및 熱凝固性 .....	46
11. 水分 및 油吸收力 .....	49
<b>第4章 要 約 .....</b>	<b>52</b>
<b>參 考 文 獻 .....</b>	<b>54</b>
<b>謝 辭 .....</b>	<b>63</b>

---

## Summary

The conditions of extraction and purification effects of domestically produced rapeseed (*Brassica napus*, var. *Youngsan*) protein were investigated, with the physicochemical properties and functional properties of the purified protein being examined.

As for the conditions of extraction, the solvent of 1% SHMP (sodium hexametaphosphate) and pH 8.0 turned out excellent.

The content and yield of the rapeseed protein were 75.3% and 37.1% respectively in the case of the acid-washing twice, and 72.4% and 42.1% respectively in the case of the mixed process of acid-washing once and UF(100K) concentration. In so far as the effects of purification were concerned, both the process of acid-washing twice and that of the mixed process of acid-washing once and UF(100K) concentration proved good.

With the protein yield and the elimination effects of glucosinolate and phytate put into consideration, the process of the isoelectric precipitation (pH 3.5), acid-washing once, and then UF(100K) concentration of the extracted protein turned out effective in purifying protein.

The UV and intrinsic fluorescence spectra of each rapeseed protein gained at every process revealed the maximum absorbability at 280nm and 345nm respectively, and the protein extracted by the mixed solvent of 1% SHMP and 0.25M EDTA brought about some blue shift with the relative fluorescence value shown considerably high.

In the order of the acid-washing, the UF concentration, and then the mixed process of acid-washing and UF(100K) concentration, the degree of yellow color in the processed protein was gradually improved and its surface hydrophobicities increased.

The analysis of purified protein by SDS-PAGE had nine bands revealed, the considerable portion of which were of  $1.96\sim 1.59\times 10^4$  dalton molecular weight and the rest of which were of  $3.25\sim 2.48\times 10^4$  dalton molecular weight. The protein extracted by the mixed solvent of 1% SHMP and 0.25M EDTA had few bands of low molecular weight appear.

The content of amino acid increased a little more in the other processed proteins than in the control where only the isoelectric precipitation was made use of, which decreased considerably in the proteins extracted by the mixed solvent of 1% SHMP and 0.25M EDTA in general.

The protein extracted by the mixed solvent of 1% SHMP and 0.25M EDTA showed the highest solubility, which was quite different from that of the protein extracted by the solvent of 1% SHMP. The better proteins were purified, the lower the kinematic viscosities were in their values.

The foaming properties were scarcely different according to the processes, and the emulsion activity indices normally increased according to the degrees of purification with those of the protein extracted by the mixed solvent of 1% SHMP and 0.25M EDTA being considerably low.

As for the calcium precipitation, it was a little higher in the other processed proteins than in the control, and increased by about 30% in the protein processed by the mixed method of acid-washing and UF(100K) concentration with the reaction to calcium being sensitive.

So far as the properties of heat coagulation were concerned, they revealed high values only in the proteins processed by EDTA while they showed considerably low values in the other proteins, with the properties of heat stability revealed high.

---

When it came to the absorbabilities of water, they measured on the average 0.33g/g protein in the other processed proteins but the control. As for the absorbabilities of oil, those in the other processed proteins were 5.5~7ml/g protein, a little higher than in the control.







제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

## 記 號 說 明

A	吸光度(Absorbance)
ANS	1-anilino-8-naphthalene sulfonate
BSA	牛血清 알부민(Bovine serum albumin)
EDTA	Ethylene diamine teraacetic acid
Mw	分子量(Molecular weight)
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis
pI	等電點(Isoelectric point)
Rm	相對移動度(Relative mobility)
S	沈降係數(Sedimentation constant)
$\bar{S}$	標準偏差(Standard deviation)
SDS	Sodium dodecyl sulfate
SHMP	Sodium hexametaphosphate
So	表面疎水性(Surface hydrophobicity)
TCA	Trichloroacetic acid
Tris	Tris hydroxymethyl amino methane
UF	限外濾過(Ultrafiltration)
UV	紫外部(Ultraviolet)
Y <sub>CIE</sub>	黃色度



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

## 第1章 緒論

世界人口의 急増과 더불어 食糧 및 營養問題 특히 蛋白質資源의 개발과 효과적인 이용이 매우 중대한 문제로 提起되고 있다. 더우기 主 蛋白質 供給源인 動物性蛋白質은 營養的인 면과 機能性 및 嗜好性 등이 우수하다고 알려지고는 있지만, 動物性食品은 過多攝取로 수반되는 飽和脂肪, 콜레스테롤 문제 등과 높은 가격 및 공급의 制限 등으로 인하여 새로운 食品蛋白質 需給 및 營養價 증진을 위한 시도가 요구되고 있다. 따라서 최근 大豆, 땅콩, 油菜, 해바라기씨 등 油種實의 개발과 이용에 대한 研究가 활발히 進行되고 있다. 그 중에서도 大豆蛋白質은 아미노산 組成 면에서도 우수한 高級蛋白質源으로서 動物性蛋白質에 비하여 가격이 저렴하고, 油吸收性, 거품성, 溶解性 등 機能性이 우수하여 動物性蛋白質의 增量劑, 代替劑로서 가장 많이 이용되고 있다(Kinsella 등, 1985). 또한 油菜蛋白質도 營養的인 면과 食品學的 機能性 면에서 우수함이 알려져 있어(Sosulski, 1983) 이에 대한 관심과 이용화에 대한 研究가 캐나다를 중심으로 先進 外國에서 매우 활발히 進行되고 있으나, 國內에서는 아직 이에 대한 研究가 미흡한 실정이다.

油菜는 濟州道 全域과 南海岸 一帶에서 많이 栽培되고 있으며, 중요한 食用油脂資源 중의 하나이다. 그리고 油菜實에서 기름을 짜내고 난 후의 油菜粕은 약 43%의 蛋白質을 含有하고 있으나 현재 動物의 飼料나 有機質 비료로 이용되고 있는 정도에 불과하며, 아직 食品蛋白質源으로는 이용되지 못하고 있는 실정이다. 그러나 油菜粕蛋白質은 대부분의 油種實蛋白質들의 制限 아미노산인 methionine이 풍부하게 含有되어 있으며 특히 lysine이 풍부하게 들어있고(El Nockrashy 등, 1975), 아미노산 組成이 油種實 중 가장 우수한 蛋白質이라고(Sosulski, 1973) 알려져 있다. 또한 Sarwar 등(1985)이 油菜粕蛋白質과 다른 여러 蛋白質들의 營養的 價値에 대하여 비교 實驗한 결과에 의하면 油菜粕蛋白質은 豆類나 小麥과 같은 植物原料에서 얻어낸 蛋白質 보다도 우수하며 牛乳蛋白質인 casein과는 그 品質이 거의 같다고 하였다. 또한 Sosulski(1983)도 食品學的 機能 면에서도 水分 및 油吸收性, 에멀전특성, 粘度 등에서 大豆蛋白質 보다 우수하다고 하였다. 그러나 이러한 우수성을 가지고 있음에도 불구하고 油菜蛋白質이 産業的 이용에 制限을 받고 있는 이유는 인체에 有害한 glucosin-

olate가 함유되어 있고, 또한 無機質의 吸收을 저해하는 phytate가 많이 함유되어 있기 때문이다(Erdman 등, 1979; Clandinin 등, 1981).

油菜實의 一般成分들을 보면 기름함량은 겨울種이 약 40-48%, 여름種이 27-36% 정도이며 (Ohlson과 Sepp, 1975), 蛋白質함량은 대개 22-30%이고, 脫脂粕에는 35-40%가 들어 있어 品種에 따라 蛋白質함량이 약 10% 정도 차이를 보이고 있다(EI Ndckrashy, 1977; Yang 등, 1978; Sosulski, 1983; 강 등, 1990). 또한 黃을 다량 함유하고 있는 glucosinolate나 thidglucosides와 같은 含黃 化合物들을 내포하고 있는데, 品種에 따라 차이는 있으나 대체로 7~12mg/g 정도 함유하고 있다(EI Nockrashy, 1977; Sosulski, 1983; 강 등, 1990). 이 glucosinolate는 內因性인 myrosinase에 의해 5-vinyl-2-oxazolidinethione을 포함하는 堿性의 毒性物質들로 加水分解되어(Van Etten 등, 1969), 肝과 甲狀腺 機能에 장애를 일으키고 成長을 저해시킨다(Appleqvist 등, 1967; Srivastave 등, 1974; Elfving, 1980; Vermoral, 1988). 이 glucosinolate를 제거하는 방법으로는 glucosinolate나 그 加水分解物들을 제거하거나 破壞시키는 방법, 酵素 myrosinase를 不活性化시키는 방법, glucosinolate가 함유되어 있지 않은 品種을 改良栽培하는 育種學的인 방법 등이 알려져 있다. Rutkowski(1970)는 120℃의 熱處理로써 isothiocyanate와 5-vinyl-2-oxazolidinethione의 50% 이상을 破壞할 수 있었으나, 水溶性蛋白質量의 1/3이 감소하였다고 하였다. Sosulski 등(1972)은 油菜實을 3분 동안 끓은 물에서 삶아내어 myrosinase를 不活性化시킨 다음 0.01N 수산화나트륨 溶液으로 60℃에서 蛋白質을 抽出시킨 결과 glucosinolate의 대부분을 제거할 수 있었고, Bhatt와 Sosulski(1972)는 에탄올성 수산화나트륨 溶液을 사용하여 myrosinase의 活性을 抑制시킬 수 있음은 물론 油菜의 glucosinolate를 効率的으로 제거해 낼 수 있다고 보고하였다. 또한 Ballester 등(1970)은 실온에서 14시간 동안 물론 抽出한 후 다시 1시간 동안 2차 抽出하여 약 77%의 glucosinolate를 제거할 수 있다고 보고하였으며, Owen 등(1971)은 물로 抽出한 후, 염화나트륨 溶液으로 沈澱시켜서 얻어낸 蛋白質濃縮物에서는 약 90%의 glucosinolate가 제거되었다고 하였다. Diosady 등(1985)도 암모니아성 에탄올과 hexane의 抽出로 glucosinolate의 50%가 제거되었고 암모니아의 농도에 따라 더 감소된다고 하였다. 한편 Sosulski 등(1984)은 물로 抽出한 결과 glucosinolate의 殘留량을 2%까지 감소시켰으나 蛋白質의 변성과 손실이 크고 색이 검게 변화하는 결점이 있다고 하였으며, Eklund 등(1971)은 물과

에탄올을 사용하여 抽出하였을 때 약 96%. Anderson 등(1974)은 물로 抽出하고 다시 과산화수소로 처리한 결과 96%의 除去效果가 있었음을 발표하였다. 현재까지 발표된 것 중 우수한 glucosinolate 제거방법은 Thompson 등(1976, 1982)이 提案한 SHMP(sodium hexametaphosphate)에 의한 抽出인데 이 방법에 의하면, 2% SHMP 溶媒에 의한 抽出에서는 약 98%의 glucosinolate가 제거되고, 1%의 SHMP 溶媒에 의한 抽出에서는 거의 제거되었으나 燐含量은 증가를 한다고 보고하고 있다.

Myrosinase를 不活性化 시킴으로써 油菜蛋白質의 毒性을 제거하는 방법들도 提案되었는데, Reynolds와 Youngs(1964)은 물을 添加하지 않고 80°C 보다 약간 높은 온도에서, Belzile 등(1966)도 加熱處理에 의한 myrosinase의 活性을 破壞 함으로써 油菜粕의 毒性 제거를 보고하였고, Appelquist와 Josefasson(1967)은 8%의 水分을 함유하는 油菜實의 myrosinase는 90°C에서 15분 동안 加熱함으로써 완전히 不活性化 된다고 하였다. Eapen 등(1969)은 5.2%와 6.0%의 水分을 함유하고 있는 油菜實을 3분 동안 전자렌지에서 加熱한 결과 酵素는 不活性化 되었으나 油菜粕에서는 탄 냄새가 났다고 하였다. 그러나 酵素의 不活性化에 대한 研究의 대부분은 油菜實을 處理하는 과정에서 최종 油菜粕蛋白質의 品質이나 營養的, 機能的 특성에 미치는 有害한 影響들에 관해서는 거의 무시한 채 이루어졌다.

油菜의 品種改良을 통하여 glucosinolate를 제거하는 방법으로 캐나다에서는 Tower와 Candle種, 폴란드에서는 Bronowski種, 독일에서는 Erglu種 등 glucosinolate 含量이 낮은 品種들을 생산해 내었으나 여전히 食品源으로 이용하기에는 그 量을 감소시켜야 할 필요성이 있다(Sosulski, 1983). 최근 캐나다를 비롯한 北美地域에서는 Canola種이 개발되어 비교적 성공적으로 栽培되고 있다. Lee 등(1984)도 glucosinolate 含量을 제거 내지는 極小化시키는 방법으로 育種學的인 新品種 개발(Lee 등, 1984)을 연구하고 있으나, 이 育種學的인 品種改良 방법은 研究 기간이 길고 品種 변화가 커서 아직 충분한 效果를 거두지 못하고 있다. 강 등(1990)의 國內產 油菜品種別 glucosinolate 含量 보고에 따르면 北美地域의 Conola種에 對應하는 種으로 개발된 Halla品種 역시 glucosinolate 含量이 7.3mg/g으로 아직 완전한 品種改良에 성공하지 못하고 있다. 따라서 glucosinolate의 除去效率를 높이기 위해서는 장기적으로 育種學的인 研究와 단기적으로는 蛋白質抽出工程上의 제거방법에 대한 研究개발의 병행이 필요하다.

油菜粕에는 약 1% 정도의 磷이 含有되어 있는데, 이 磷들 중의 70%는 phytate 및 phytin에 결합한 상태로, 나머지는 Ca 및 Mg 등과 복합된 형태로 존재한다(Finallyson, 1977). Phytate는 油菜蛋白質의 溶解度를 감소시키며 그것의 精電氣의 특성에도 影響을 미치고(Sosulski, 1983), phytin성 磷은 非反芻動物의 소화장애를 일으키며, Mg, Cu, Zn, Fe 등의 주요 無機質, 특히 食餌性 칼슘의 吸收를 저해시키며, 生體內的 維生素D 작용에 拮抗的이어서 구루병의 원인이 되기도 한다(Erdman, 1979; Brooks와 Moor, 1985; Erdman, 1979; Khan과 Elahl, 1986). Hartman(1979)은 물로 水溶性 성분을 抽出해 낸 후 pH 11.6, 28°C에서 그 抽出物을 沈澱시키고 遠心分離나 眞空濾過에 의해 phytate를 제거한 후 限外濾過(ultrafiltration: UF)로 精製하면 phytate 含量을 약 96%까지 제거할 수 있었다고 보고하고 있다. Omosaiye와 Cheryan(1979)은 全大豆의 抽出液을 2회 UF 處理하면 95%의 phytate를 제거할 수 있다고 하였으며, Brooks와 Moor(1982)는 이온교환수지 處理를 함으로서 약 96-97%의 phytate가 제거되었다고 보고하였다. 油菜粕蛋白質에서 알칼리溶媒로 分離蛋白質을 얻을 경우에는 polyphenol화합물 특히 o-dihydroxyphenolic acid는 o-quinone으로 쉽게 산화되어져 갈색을 띠므로 蛋白質의 색택이 어두워지는데(Sosulski, 1983), 活性炭 處理와 이온교환수지 處理를 동시에 실시함으로써 o-dihydroxyphenolic acid가 効率的으로 제거되어 分離蛋白質의 색과 香이 改善되었다(How와 Moor, 1982). 油菜粕蛋白質을 食用蛋白質源으로 이용하기 위해서는 蛋白質 抽出과정에서 이들 有害성분 및 抗營養的인 因子들을 제거하는 방법이 병행 되어져야 한다.

Eklund 등(1971)은 10%의 에탄올을 사용하여 48%의 비교적 적은 蛋白質 含量을 지닌 濃縮物을 얻었으며, Giraut(1973)에 의하면 10% 염화나트륨 溶液과 0.1N 수산화나트륨 溶液으로 각각 蛋白質을 抽出한 후 이것들을 0.1N 염산溶液(pH 3.0)과 10% 삼염화초산溶液(pH 6.5)으로 2단계 沈澱 시켰을 때 얻어지는 蛋白質은 前後者 각각 89.6과 85.8%이었고, 또한 아미노산 組成과 含量이 달라졌다고 보고하였다. 그리고 Sarwar 등(1975)에 의하면 油菜粕蛋白質의 아미노산 이용에 대한 加工條件에 관하여 油菜粕을 0.2% 수산화나트륨 溶液으로 蛋白質을 抽出하여 그것을 0.1N 염산溶液으로 沈澱시켜 얻은 蛋白質濃縮物 중에는 본래의 油菜粕에서 보다 lysine, valine, threonine, cystine 등이 적었다고 보고하고 있다. Anderson 등(1974)은 과산화수소로 蛋白質을 抽出하였을 때 glucosinolate 含量이 0.3mg/g

까지 낮아졌으나 산화된 습黃 아미노산인 methionine sulfone이 생성되어 蛋白質의 營養的 價値가 상당히 손상되었다고 보고하고 있다. El Nockrashy 등(1977)과 Yang 등(1978)은 逆流 알카리抽出 및 2단계 沈澱에 의해서 선택이 좋고, glucosinolate 함량이 적은 分離蛋白質을 얻어내었다. 또한 Thompson 등(1976)은 종래의 蛋白質 抽出溶媒인 sodium pyrophosphate 대신 2%의 SHMP를 사용하여 pH 7.0에서 2회 抽出함으로써 97%까지 蛋白質 抽出效率을 증가시켰으며, glucosinolate도 98% 이상 제거함으로써 이전의 보고된 결과들 보다 좋은 收率과 品質을 가진 蛋白質을 얻을 수 있었다. 그러나 이 2%의 SHMP 溶媒로 抽出한 分離蛋白質은 灰分과 磷含量이 각각 12.2%와 3.2%로 높아서, 이것을 20% 정도 飼料에 섞어 쥐에게 투여한 결과 腎臟肥大 현상을 초래하였으며 선택과 냄새도 좋지 않았다. 이러한 단점을 개선하기 위해 Thomson 등(1982)은 SHMP의 濃度を 낮추어서 實驗하였는데, SHMP 濃度を 0.25%로 추출하였을 때 蛋白質 함량이 보다 많았으며 선택도 좋았으나, 窒素收率과 蛋白質固形物 收率에 있어서는 SHMP 濃度を 1%로 하여 抽出하였을 때가 더 좋았으며, glucosinolate도 거의 함유하고 있지 않았다고 보고하고 있다. 이와 같은 방법을 강 등(1990)이 國內產油菜에 관하여 적용한 결과도 거의 비슷한 결과를 나타내고 있다.

蛋白質의 抽出 및 精製에 UF system의 방법을 적용하는 것이 좋은 效果를 기대할 수 있다는 研究들이 최근 활발히 進行되고 있는데(Omosaiye와 Cheryan, 1979; Lawhon 등, 1980; Von Bockelmann 등, 1977), Diosady 등(1984)은 물로 蛋白質을 抽出한 후 2회의 UF을 시킨 결과 95%의 蛋白質을 抽出해 낼 수 있었으며, 91%의 glucosinolate를 제거하였다. Tzeng 등(1988)은 1%의 SHMP로 蛋白質을 抽出한 후 이것을 活性炭으로 處理하여 glucosinolate 分解物과 色素物質들을 제거하고 나서 UF와 diafiltration을 통해 可溶性 低分子物質을 제거한 후 다시 양이온교환수지를 통과 시킴으로써 phytate와 남아 있던 SHMP를 제거시켰다. 이 일련의 處理 결과 약 90%의 蛋白質을 함유하며, glucosinolate와 phytate가 거의 제거된 밝은 색과 부드러운 맛을 지닌 分離蛋白質을 얻어낼 수 있었다. 그러나 이들 방법은 蛋白質의 抽出率 및 glucosinolate 除去率 등에서 좋은 效果가 예상되지만 工程이 복잡하거나 處理液量의 증가로 실용성 면에서 부족한 점이 적지 않다.

油菜蛋白質에 관한 研究에서 沈降分析 결과 高分子量 劃分인 12S와 13,000의 低分子量을 가진 1.7S 劃분이 同定되었다(Sosulski, 1983). 그 후 Gururaj Rao 등(1978)은 高分子量



劃分(12S)과 低分子量 劃分(1.7S)은 總 蛋白質의 각각 25%와 70%에 해당된다고 보고하였으며, 2S 糖蛋白質은 13% 정도의 炭水化合物을 含有하고 있는데, 그 대부분이 小糖類로 되어 있다고 하였다(Aman와 Gillberg, 1977; Finlayson, 1977). *B. juncea*에서 抽出된 蛋白質 중에서 低分子量 蛋白質인 경우(2S), UV 吸光度는 278nm에서 peak이며, 288nm에서 shoulder가 있었고, 固有螢光 스펙트럼의 相對螢光값은 335nm에서 最大이었고, far-UV인 경우 201-222nm에서, near-UV인 경우는 296, 286, 267, 290nm에서 peak를 보였다(Venkatesh와 Rao, 1988). 또한 高分子量 蛋白質인 경우(12S), UV 吸光度는 245nm에서 peak를 나타내었고, 固有螢光 스펙트럼의 相對螢光값은 325nm에서 peak였다(Murthy와 Narasinga Rao, 1986). 低分子量 蛋白質과 高分子量 蛋白質의 UV와 固有螢光 스펙트럼이 다른 것은 그들의 4차 構造가 다르기 때문이다(Venkatesh와 Rao, 1988; Gururaj Rao와 Narasinga Rao, 1981; Murthy와 Narasinga Rao, 1986; Schwenke 등, 1973).

蛋白質의 機能성은 食品을 加工하거나 저장하는 동안에 食品蛋白質의 역할을 지배하는 특성으로서 食品의 品質에 影響을 미친다(Matil, 1971). 機能성은 水和性, 分散性, 溶解性, 膨潤, 에멀전, 거품성, 油吸着, 젤화, 附着性, 凝集性, 膜形成, 등(Nakai와 Powrie, 1981)을 말하는 데 蛋白質의 이용에 影響을 미친다. 蛋白質의 機能성에 關여하는 因子로는 물, 이온, pH, 溫度, 酸化還元, 脂肪, 風味, 糖 등이 있다.

Sosulski(1976)가 油菜와 大豆粉에서 수산화나트륨으로 抽出한 濃縮蛋白質 및 分離蛋白質의 機能성에 關해서 研究한 바에 의하면 대부분의 機能성이 大豆蛋白質 보다 우수하였으나, 油菜蛋白質의 색이 갈색 내지 녹색을 나타내어서 그 이용에 制限을 받을 것 같다고 보고하였다. Thompson 등(1982)은 2%의 SHMP로 油菜蛋白質을 抽出한 후 그 機能성을 조사하였는데, 試料마다 可溶性蛋白質과 不溶性蛋白質을 다른 比率로 含有하고 있어, 水分吸收성은 정확히 비교할 수 없다고 하였으며, 油菜濃縮蛋白質의 水分吸收성은 油菜粉에 비하여 1/2, 大豆分離蛋白質에 비해서는 1/4 정도 적었다. 油吸收성은 油菜濃縮蛋白質이 油菜分離蛋白質이나 油菜粉에 비하여 좋았으며, 油吸收성과 水分吸收성을 제외하고 油菜濃縮蛋白質과 油菜粉의 다른 機能성들은 Sosulski(1976)에 의해 보고된 機能성에 비해 우수하였으며, 油菜濃縮蛋白質은 거품安定性에서 卵白蛋白質과 거의 對等함으로써 卵白 代置品으로 사용이 가능한 것으로 나타났다.

Thompson 등(1982)이 물로 油菜蛋白質을 抽出하였을 때와 EDTA를 添加하여 抽出하였을 때의 機能性を 비교한 결과에서, 물로만 抽出하였을 경우에는 蛋白質含量과 phytate 含量이 각각 68.9%와 6.3%로 EDTA를 添加하여 抽出한 경우의 85.2% 및 2.2%에 비하여 品質은 다소 낮았으나, 에멀전能 거품能, 油吸收性, 色度 등 機能性면에서 우수한 것으로 나타났고, 아미노산 含量은 EDTA를 添加하여 抽出하였을 때 전체적으로 감소하였다. Naczk 등(1985)은 hexane과 암모니아수로 抽出한 Canola粕의 機能性を 조사하였는데, 이 결과에 의하면 hexane이나 암모니아수로 抽出한 粕의 水分吸收性에 관해서는 市販 Canola粕 보다 약 15-30% 정도 좋았고, 大豆粕 보다 훨씬 좋았다. 또한 油吸收性에 대해서는 암모니아수로 抽出한 Canola粕은 市販大豆나 市販 Canola粕에 비하여 약 3배가 높게 나타났으며, hexane이나 암모니아수로 抽出된 油菜粕에 대한 에멀전 特性은 차이가 거의 없었으나, 市販 Canola 粕과 市販大豆粕 보다는 약간 낮게 나타났고, 거품能은 감소하였으나 거품安定性은 市販大豆粕과 市販 Canola粕보다 좋았다. 서로 다른 양의 phytate(0.9-4.6%)를 含有하고 있는 油菜蛋白質과 大豆蛋白質에 관한 機能性を 조사한 결과(Dev와 Mukherjee, 1986)에 의하면, 前者가 水分吸收性, 油吸收性, 거품能과 거품安定性에서 後者보다 우수하였으며 에멀전能 및 에멀전安定性은 後者보다 약간 우수하거나 비슷한 수치를 나타내었다. 또한 低含量 phytate 油菜蛋白質이 高含量 phytate 油菜蛋白質보다 에멀전 特性이 우수하다고 보고하고 있다.

본 研究에서는 油菜粕에서 蛋白質을 抽出하고 分離蛋白質을 製造하기 위하여 여러 선진국에서 시도되고 있는 植物性蛋白質의 抽出방법 즉 抽出溶媒, 抽出條件 등의 검토와 함께 油菜蛋白質에 有害成分으로 들어있는 glucosinolate 및 phytate를 가능한 한 줄이기 위하여 酸洗滌이나 UF system의 적용 등 여러가지 방법들을 비교함으로써 이들 不純物들이 제거된 分離蛋白質을 얻을 수 있는 방법을 개발하고자 한다. 그리고 精製된 分離蛋白質의 理化學의 특성 즉 UV 및 固有螢光스펙트럼, 黃色度, 表面疎水性, S-S基 含量, SDS-PAGE分析 및 分子量, 아미노산 含量 등을 測定하고, 또한 分離蛋白質의 機能性 즉 pH別 溶解度 및 動粘度, 表面特性, 갈습 및 熱凝固性, 水分 및 油吸收力 등을 측정하여 食品蛋白質로서의 機能의 特性和 營養學的 價値를 향상시키기 위한 기초지식을 얻고 나아가서 油菜蛋白質의 食品素材로서의 可能性에 대한 資料를 제공하는 데 그 목적이 있다.

## 第2章 材料 및 方法

### 1) 材料

濟州道에서 生産量이 가장 많은 *Brassica napus*, var. *Youngsan*種을 시중에서 구입하여 精選하고 롤러 粉碎機를 사용하여 약 10mesh로 粉碎한 후 체질과 풍선에 의해서 껍질을 제거하고 실온에서 油菜實 1Kg에 대하여 n-hexane 2ℓ씩 가하여 4일간 脫脂를 4회 반복한 후 日乾하고, 건조된 油菜粕을 다시 60mesh로 粉碎하여 油菜粕粉을 만들어 試料로 사용하였다.

### 2) 蛋白質의 抽出方法

抽出溶媒는 豫備實驗에서, SHMP(0.1, 0.5, 1.0, 2.0%), NaCl(2.5%), H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>(0.02N), 1% SHMP와 0.25M EDTA를 검토하였는데 이 중에서 抽出率이 우수한 1% SHMP, 5% NaCl, H<sub>2</sub>O, 1% SHMP와 0.25M EDTA 등을 본 實驗의 抽出 溶媒로 選定하였고, 抽出 pH는 7.0과 8.0으로 調整하여 실시하였다. 一般의인 蛋白質의 抽出工程은 강 등(1990)의 방법에 따라 실시하였다. 즉 試料와 溶媒의 比率를 1:20(W/V)으로 하여 상온에서 1시간 동안 抽出한 1차 抽出液과, 1:10(W/V)으로 하여 30분간 抽出하여 얻는 2차 抽出液을 합하여, 2℃, 10,000×g에서 20분 동안 遠心分離하여 上層液을 얻었다 이 上層液을 等電沈澱(pH 3.5)시켜서 얻은 沈澱蛋白質을 蒸溜水(pH 3.5)로 2회 洗滌한 후, 다시 蒸溜水(pH 7.5)에 녹여서 眞空凍結乾燥하였으며 그 工程은 Fig.1과 같다.

### 3) 抽出蛋白質의 精製方法

抽出蛋白質의 精製를 위하여 等電沈澱, 酸洗滌, UF濃縮 및 酸洗滌과 UF濃縮을 混用하여 處理하였을 때의 蛋白質의 精製效果를 비교하기 위하여, 油菜粕粉 50g을 1% SHMP 溶媒(pH 8.0) 1ℓ에 넣어서 잘 저어주면서 1시간 동안 1차 抽出하고, 2℃ 10,000×g에서 20분 동안 遠心分離하였고, 2차 抽出은 1차 抽出 殘渣를 1% SHMP 溶媒 500ml에 다시 잘 현탁하면서 30분 동안 抽出하고 2℃, 10,000×g에서 20분간 遠心分離하여 1, 2차 上層液을 합하여 (1,600ml) 다음과 같이 處理하였다.

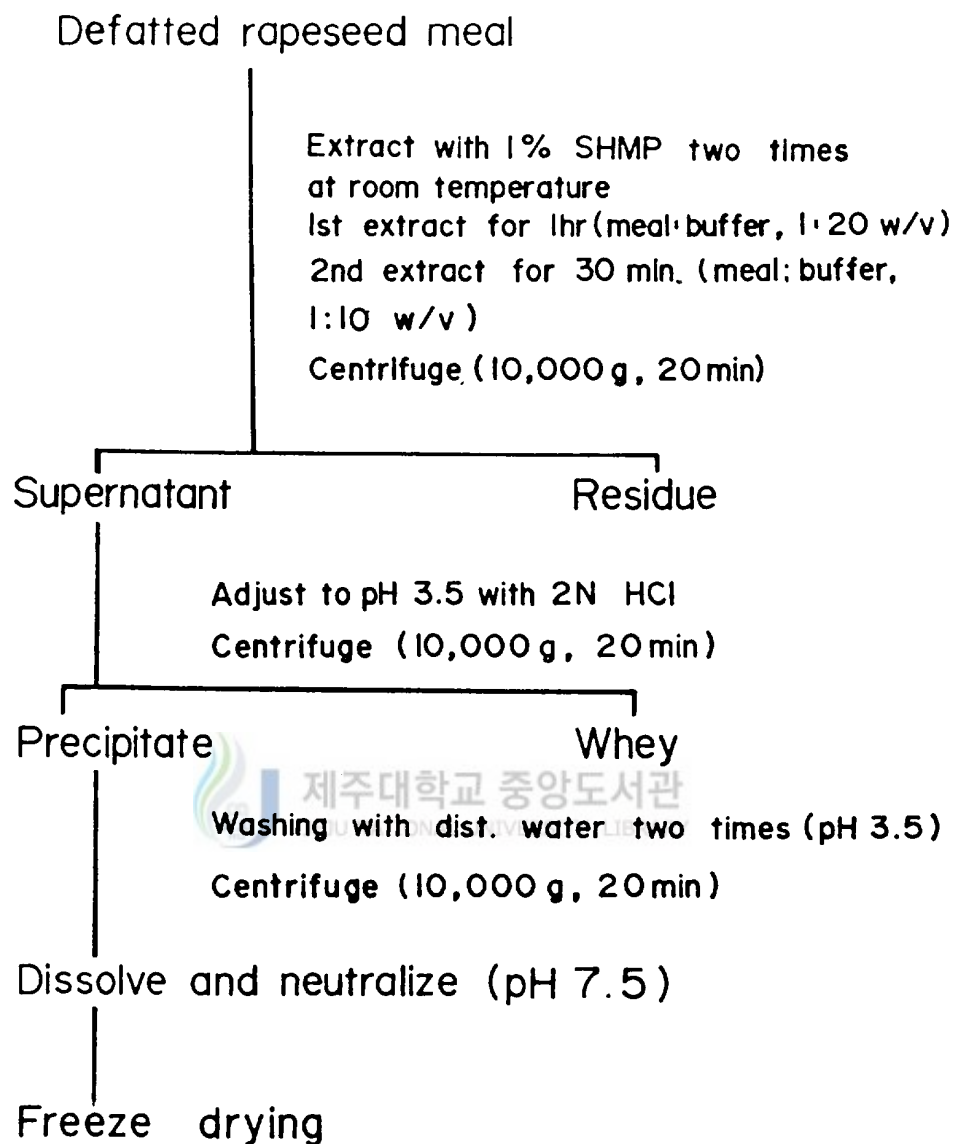


Fig. 1. Preparation of rapeseed protein.

- 1번. 等電沈澱(pH 3.5)→中和(pH 7.5)→眞空凍結乾燥
- 2번. 等電沈澱→1회 酸洗滌(pH 3.5)→中和→眞空凍結乾燥
- 3번. 等電沈澱→2회 酸洗滌→中和→眞空凍結乾燥
- 4번. UF濃縮(30K)→等電沈澱→中和→眞空凍結乾燥
- 5번. UF濃縮(100K)→等電沈澱→中和→眞空凍結乾燥
- 6번. 等電沈澱→中和(500ml)→UF濃縮(100K)→眞空凍結乾燥
- 7번. 等電沈澱→1회 酸洗滌→中和(500ml)→UF濃縮(100K)→眞空凍結乾燥
- 8번. 7번과 工程은 同一하나 抽出溶媒(1% SHMP와 0.25M EDTA)가 다름.

이상의 處理工程에서 等電沈澱은 2N 염산 溶液으로 pH 3.5로 調整한 후 遠心分離(2℃, 10,000×g, 20분)하였고, 沈澱된 蛋白質을 蒸溜水(150ml)에 잘 懸탁한 후 1N 수산화나트륨 溶液으로 pH 7.5로 調整한 후 凍結乾燥하였다. 또한 酸洗滌은 沈澱蛋白質을 150ml 蒸溜水 (pH 3.5)에 넣고 Ultra-turraxhomogenizer (Karlkoib, West Germany)를 사용하여 10,000 rpm에서 약 2분 동안 완전히 懸탁시킨 후 다시 遠心分離(2℃, 10,000×g, 20분)하였다. 1번 工程과 같이 等電沈澱시킨 것을 對照區로 하여 2, 3번 工程은 酸洗滌 效果를, 4, 5번 工程은 UF濃縮效果를, 6번 工程은 等電沈澱 후 UF濃縮效果를, 7번 工程은 酸洗滌과 UF濃縮混用效果를, 8번 工程은 抽出溶媒 1% SHMP에 EDTA 添加 效果를 비교 實驗하였다.

#### 4) 限外濾過器(Ultrafiltration system:UF system) 運用

精製工程에서 UF濃縮에 사용된 限外濾過器를 Pellicon Lab Casset System(Japan Millipore, Tokyo)을 사용하여 주로 濃縮式으로 運用하였고, Pellicon膜(membrane)은 公稱 分子量限界(nominal molecular weight cut off) 30K 및 100K를 사용하였으며, 濾過面積은 240cm<sup>2</sup>(60cm×4)로 일정하게 하였고, 濾過壓力은 出口壓力이 2kg/cm<sup>2</sup>이 되도록 조절하여 1회 UF濃縮 시간을 蛋白質溶液의 부피가 50% 감소할 때까지 실시하였다.

#### 5) 油菜粕의 成分組成

水分, 脂肪, 蛋白質含量은 AOAC방법(AOAC, 1980)에 따라 실시하였다.

## 6) 精製蛋白質의 glucosinolate 및 phytate 含量測定

試料 中の glucosinolate 含量은 Watter와 Young(1976)의 방법에 따라 總 iso-thiocyanate 와 5-vinyl-oxazolidine-2-thione(5-vinyl-OZT)量을 測定하였다. 즉 試料 50ml을 秤量하여 시험관에 넣고 thioglucoside glicohydrolase(myrosinase) 6mg/ml를 含有한 phosphate citrate 緩衝液(pH 7.0) 0.5ml와 methylene chloride 2.5ml를 가한 다음 상온에서 2시간 동안 진탕하여 加水分解시켰다. 이 混合液을 1,000×g에서 20분간 遠心分離하여 下層의 methylene chloride層을 分離하였다. 總 glucosinolate 含量은 methylene chloride 50μl를 20% 암모니아성 에탄올(濃 암모니아 : 무수에탄올, 1 : 4) 3ml가 들어있는 시험관에 넣어 50℃의 물중탕에서 2시간동안 加熱, 冷却시킨 다음 235, 245, 255nm에서의 吸光度로부터 계산하였다. 이때 對照液은 암모니아성 에탄올 3ml에 methylene chloride 50μl를 가한 것이다.

總 glucosinolate 含量은 다음 數式에 의하여 總 isothiocyanate로 표시하였다.

$$\text{corrected O. D.} = \text{O. D.}_{245} - 1/2(\text{O. D.}_{235} + \text{O. D.}_{255})$$

$$\text{總 isothiocyanate} = \text{O. D.}_{245} \text{ corr.} \times (28.55)$$

5-vinyl-OZT 含量은 methylene chloride 50μl를 95% 에탄올溶液 3ml가 들어있는 시험관에 넣어 總 glucosinolate 含量 測定法과 같은 방법으로 구하였다. 5-vinyl-OZT 含量은 다음과 같이 算出하였다.

$$5\text{-vinyl-OZT mg/g sample} = \text{O. D.}_{245} \text{ corr.} \times (22.1)$$

사용된 myrosinase(thioglucoside glucohydrolase)는 長島와 内川(1958)의 방법에 따라 다음과 같이 製造하여 사용하였다.

黃겨자 100g을 粉碎하고 여기에 蒸溜水 300ml를 가한 다음 상온에서 homogenizer로 30분간 處理하였다. 이것을 1시간 동안 靜置한 다음 10,000rpm으로 20분간 遠心分離하여 上層液을 取하고 여기에 同量의 80% 에탄올을 添加하였다. 여기서 얻어진 沈澱物을 다시 10,000 rpm으로 20분간 遠心分離하였으며 3배량의 90% 에탄올 溶液에 재현탁 시킨 다음 다시 10,000 rpm으로 20분간 遠心分離하여 얻은 沈澱物을 蒸溜水 100ml에 溶解시켰다. 이것을 -40℃에서 眞空凍結乾燥 시켜 淡黃色의 粗myrosinase粉末을 얻었으며 이것을 phosphate-citrate 緩衝液(pH 7.0)에 ml당 粗myrosinase 6mg의 濃度가 되도록 調製하여 사용하였다.

試料中の phytate 含量은 Wheeler와 Ferrel(1971)의 방법에 따라 測定하였다. 試料 3.0g을 秤量하여 3% TCA溶液 30ml에 녹여서 30분 동안 진탕한 후 현탁액 15ml를 取하여 6000 rpm에서 10분 동안 遠心分離하여 얻은 上層液을 40ml의 圓錐形 시험관에 넣고 즉시 열화제 2철 溶液 6ml를 가하여 물중탕에서 45분 동안 加熱한다. 단일 30分 加熱 후에도 上層液이 맑지 않으면 3% TCA와 3% 황산나트륨 混合溶液을 1-2방울 添加하여 加熱한다. 실온에서 冷却 후 6,000rpm에서 15분간 遠心分離하여 얻은 沈澱物을 3% TCA 溶液 10ml에 分散시켜 洗滌하고 다시 6,000rpm에서 15분간 遠心分離하여 얻은 沈澱物을 2ml의 蒸溜水에 分散시키고 1.5N 수산화나트륨 3ml를 가하고 蒸溜水를 가하여 부피가 20ml 되도록 하고 물중탕에서 30분간 加熱한 후 濾過紙(Whatman No.2)로 濾過하고 60ml의 熱水로 여러번 씻는다. 濾過紙에 붙은 沈澱物을 3.2N의 뜨거운 질산溶液으로 녹여서 실온에서 冷却 후 蒸溜水를 가하여 100ml되게 定容한다. 이 溶液 5ml를 取하여 삼각 플라스크(100ml)에 넣고 약 70ml의 蒸溜水로 稀釋한 후 1.5M KSCN 20ml를 가하고 蒸溜水로 溶液의 부피를 100ml로 定容하여 480nm에서 1분내에 吸光度를 測定하였다. 標準曲線은 Fig.2와 같으며 phytate含量은 Fe:P의 物比율을 4:6으로 하여 計算하였다.

#### 7) UV spectra 測定

試料蛋白質 0.2g을 正平하여 삼각 플라스크에 넣고 0.1M sodium phosphate citrate 緩衝液(pH 8.0) 20ml를 가하여 녹여서 1% 蛋白質溶液을 만들고 이를 다시 10배로 稀釋하고 濾過紙(Toyo No.2)로 濾過한 濾液을 spectrophotometer(Unikon 860, Kantron製)를 사용하여 250nm에서 400nm까지 吸光度를 測定하였다.

#### 8) 固有螢光 spectra 測定(Intrinsic fluorescence spectrum)

試料蛋白質 0.2g을 正平하여 0.1M sodium phosphate citrate 緩衝液(pH 8.0) 20ml를 가하여 잘 녹이고 이 溶液을 다시 10배로 稀釋하여 濾過紙(Toyo No.2)로 濾過한 濾液을 spectrofluorometer(Perkin-Elmer Ltd. LS-5)를 사용하여 280nm에서 들뜨게 하여 300nm에서 400nm까지의 相對螢光값을 測定하였다.

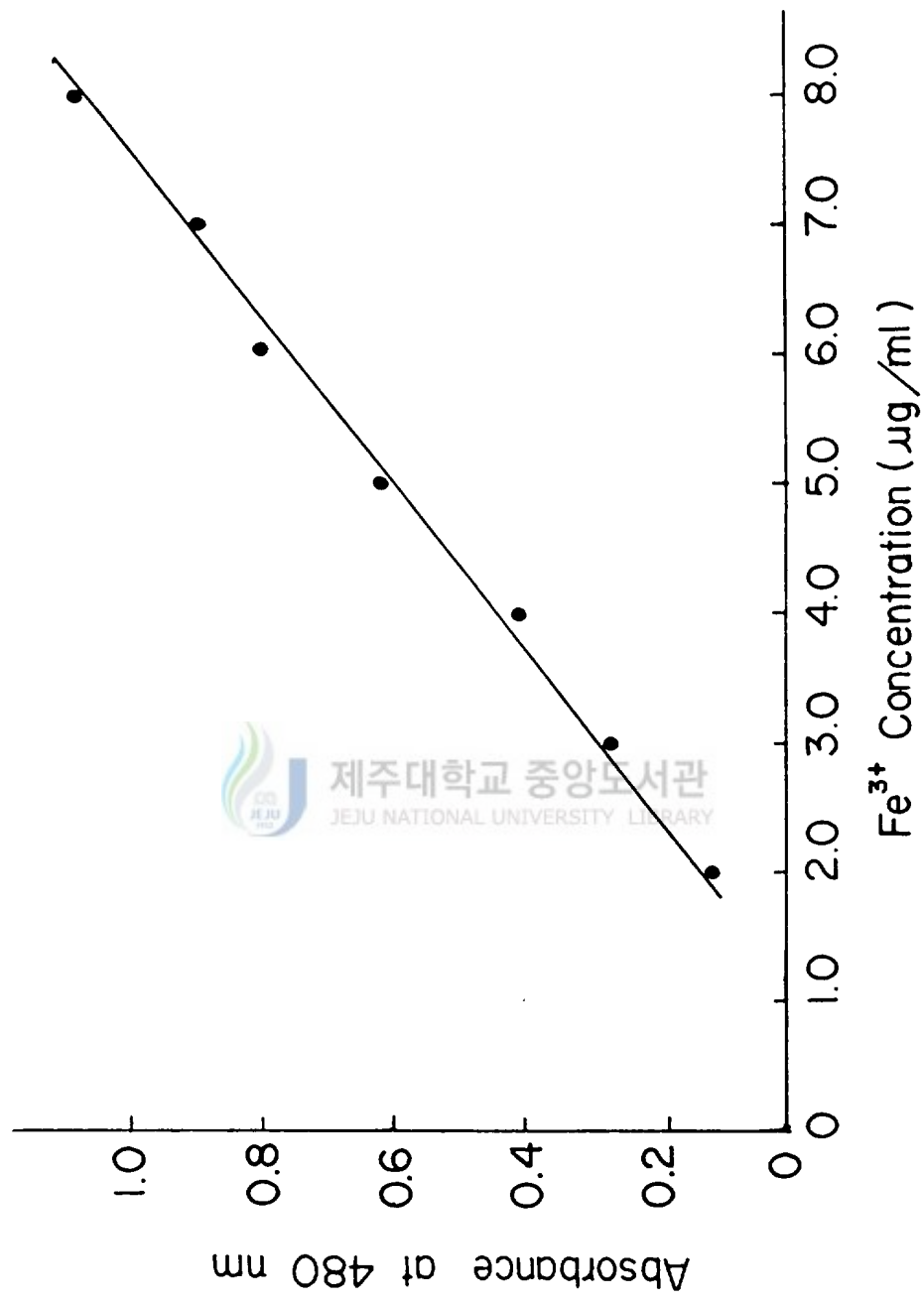


Fig. 2. Standard curve for iron concentration for phytate determination.



## 9) 色度測定

凍結乾燥된 蛋白質을 粉末形態 그대로 유리 測定용기에 넣어서 色差計(Model TC-1, Tokyo Denshoku Co. Ltd)를 사용하여 黃色度(Y<sub>415</sub>)를 測定하였다.

## 10) 表面疎水性(Surface hydrophobicity, S<sub>0</sub>)測定

Toro-vazquez와 Rengenstein(1989)의 방법에 따라 試料蛋白質 0.2g을 正平하여 0.02% NaN<sub>3</sub>을 含有하고 있는 0.01M sodium phosphate-citrate緩衝液(pH 8.0) 20ml에 녹이고 이 溶液을 다시 10배로 稀釋하여 0.1% 蛋白質溶液을 만들어서 濾過紙(Toyo No.2)로 濾過한 濾液을 micro-biuret 방법(BSA, std)으로 蛋白質濃度를 0.25mg/ml 되게 調整한 다음 8mM의 ANS(1-anilino-8-naphthalenesulfonate) 40μl를 가하여 375nm에서 들뜬 상태로 하고 다음 470nm에서 蛋白質量(0.02-0.25mg)을 변화시키며 相對螢光값을 測定하고 直線回歸方程式(linear regression equation)에 의해서 직선의 방정식을 구하고 그 기울기에 의해 S<sub>0</sub>값을 구하였다.

## 11) 遊離SH基와 S-S結合測定

Toro-Vazquez와 Rengenstein(1989)의 방법에 따라 試料蛋白質 75mg을 1ml의 Tris-glycine緩衝液(40.8g Tris, 27.6g glycine, 1.2g EDTA를 蒸溜水 1l에 녹이고 수산화나트륨 溶液으로 pH 8.0으로 調整)에 녹이고 이 溶液에 5M의 guanidine-HCl 5ml를 가하여 Tris-glycine緩衝液으로 전체 부피가 10ml되게 하여 원액을 만든다. 遊離 SH基 測定은 원액 1ml에 urea-guanidine-HCl 40ml를 섞고 Ellman試藥(5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)) 0.05ml를 넣은 후 정확히 30분 후 412nm에서 吸光度를 測定하였다. 總 SH基 測定은 원액 1ml에 2-mercaptoethanol 0.05ml와 urea-guanidine-HCl 4ml를 섞고 시험관에 넣어서 25°C에서 1시간 동안 恒溫處理 시킨 후 12% TCA溶液 10ml를 가하여 다시 1시간 동안 25°C에서 恒溫處理 시키고 5000×g에서 10분간 遠心分離하여 얻은 沈澱物에 12% TCA 溶液 5ml를 가하여 잘 현탁한 후 5000×g에서 10분간 遠心分離하여 2-mercaptoethanol을 洗滌하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 沈澱物에 8M 尿素溶液 10ml와 Ellman試藥 0.04ml를 가하여 정확히

30분간 放置 후 412nm에서 吸光度를 測定한다. 試料中の 遊離 SH基와 S-S 結合含量은 다음 式에 의하여 계산하였다.

$$\text{SH } \mu\text{M/g} = 69.98(A_{412})(D)/(C)(P)$$

A : 吸光度

C : 試料濃度 (mg solid/ml)

P : 乾物重量當 蛋白質 比率

D : 稀釋濃度

S-S 結合含量은 遊離 SH基 含量과 總 SH基 含量의 차이에 의하여 計算하였다.

## 12) SDS-PAGE分析

SDS-PAGE(sodiumdodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)는 강(1985)의 방법에 따라 겔 규격 130W×1D×120Hmm인 slab 겔을 만들어 實驗하였다. 겔의 최종濃度는 8% acrylamide 겔로서 展開 길이는 100mm이며 展開 緩衝液의 pH는 7.5로 調整하였다. 試料量은 20 $\mu$ l(0.5% W/V)이며 試料當 6mA의 電流를 사용하여 8시간 동안 실온에서 展開하였다. 展開된 겔은 0.25% coomassie brilliant blue R-250을 사용하여 8시간 동안 染色시켰으며, 脱色은 混合液(메탄올 : 蒸溜水 : 초산; 2 : 2 : 1, v/v)을 사용하여 실시하였다. 分子量을 測定하기 위하여 標準試藥은 Molecular Weight Marker(Fluka AG Chemische Fabrik CH-9490 Buchs, Mw. 14900-71500)을 사용하였으며, 標準曲線은 Fig.3과 같다.

## 13) 아미노산 含量分析

試料蛋白質의 아미노산 含量分析은 HPLC-PICO. TAG System(Water Co. U. S. A.)를 이용하여 分析하였다. 試料蛋白質 0.3g을 6N 염산 20ml에 잘 녹인 후 엠펙에 넣어서 dryice 와 acetone bath에서 凍結시키고 眞空펌프를 連結하여 공기를 제거하고 解凍시킨다. 엠펙을 封하고 110°C±1°C에서 24시간 加水分解하고 加水分解된 試料蛋白質은 Sep-Pak C18 으로 前處理한 후 다음과 같은 條件으로 分析하였고 표준아미노산의 chromatogram은 Fig. 4와 같다.

1) Column : PICO-TAG Column 3.9mm×15cm Stainless steel

2) Mobile phase : Eluent A : 20g Sodiumacetate-3-hydrate

600 $\mu$ l Triethylamine

1l Milli-quality water

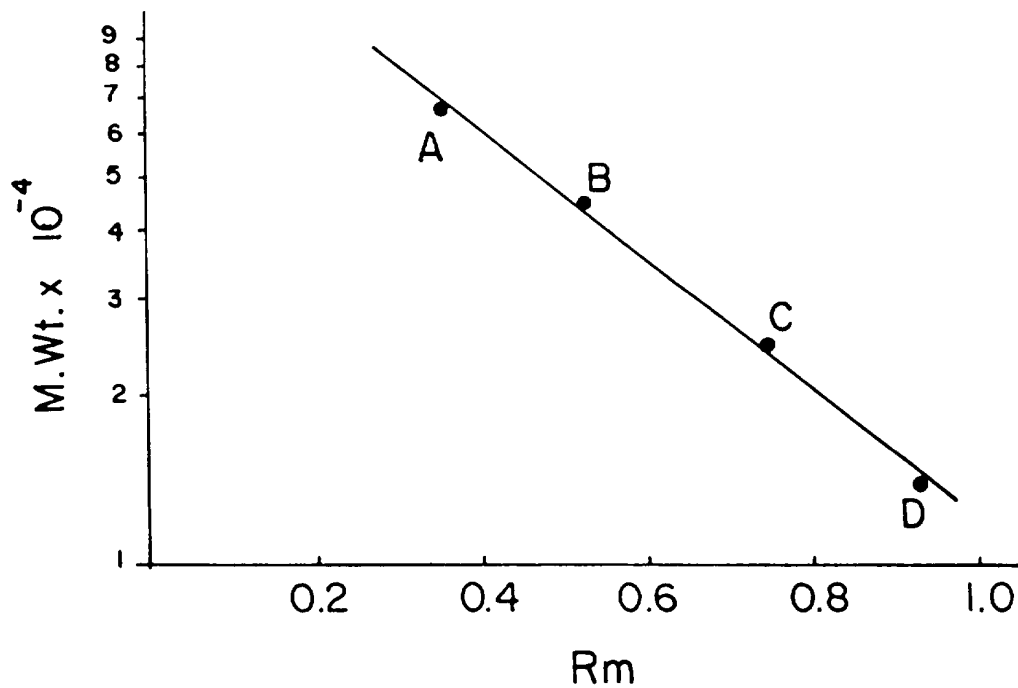


Fig. 3. Standard curve for molecular weight determination on SDS-PAGE.

A : BSA. Mw  $6.7 \times 10^4$

B : Ovalbumin, Mw  $4.5 \times 10^4$

C : Chymotrypsinogen, Mw  $2.5 \times 10^4$

D : Ribonuclease, Mw  $1.37 \times 10^4$

pH 6.4 with phosphoric acid

Buffer : Acetonitrile=94 : 6(V/V) Filter

Eluent B : 60% Acetonitrile

3) Flowrate : 1.0ml/min

4) Detector : M 441 UV/Vis

5) Injection Volume : 10 $\mu$ l

6) Chromatographic condition : Temperature : 48°C

Detection : UV 254nm

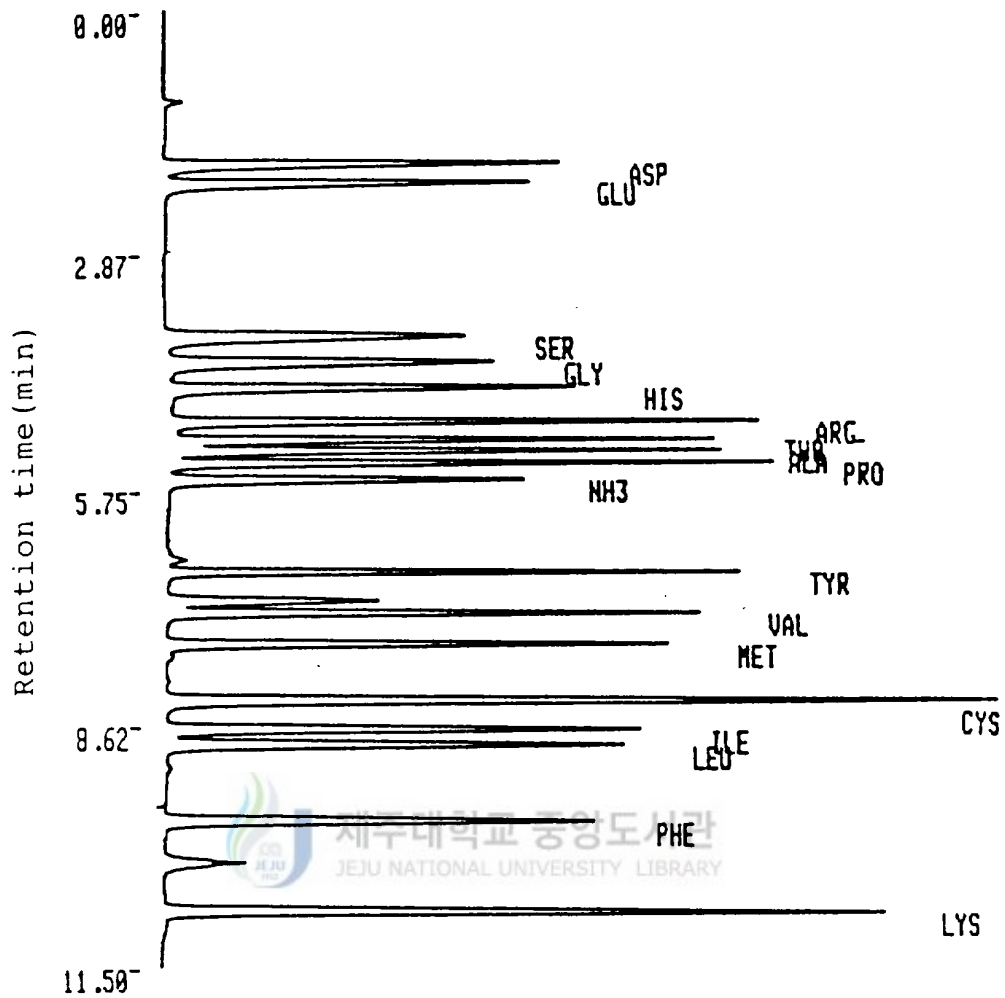


Fig. 4. Chromatograms of authentic amino acids mixture for determination of amino acid in rapeseed proteins by HPLC-PICO, TAG system.

#### 14) pH別 溶解度

試料蛋白質 0.5g을 50ml의 蒸溜水에 녹여서 이 溶液을 1N 수산화나트륨으로 pH 10.0으로 調整한 다음 2N 염산으로 溶液의 pH를 9에서 2까지 再調整하였다. 이 溶液을 pH別로 2ml씩 取하여 시험관에 놓고 10,000×g에서 10시간 遠心分離하여 얻은 上層液을 micro-biuret

방법으로 測定하였다. 蛋白質 溶解度曲線은 pH 9.0에서 溶解度를 100%로 하여 pH에 대한 蛋白質 溶解度를 나타내었다.

### 15) 粘度測定

試料蛋白質 1.0g을 正平하여 비이커에 넣고 蒸溜水 100ml를 가하여 1% 蛋白質溶液을 만들어서 물중탕(25℃) Ostwald 粘度計를 사용하여 試料蛋白質의 動粘度를 測定하였다.

### 16) 거품성

Hsu 등(1977)의 방법에 따라 試料蛋白質 0.5g을 50ml의 蒸溜水에 녹여 이 溶液 20ml를 取하여 ultra-turrax homogenizer로 10,000rpm에서 약 30초 동안 잘 攪拌한 후 즉시 100ml 눈금 실린더에 넣어서 그 부피를 測定하고 실온에서 1시간 放置한 후 거품 溶液의 부피를 測定하여 거품 安定性으로 나타내었다.

$$\text{Foam capacity}(\%) = \frac{\text{Volume after whipping} - \text{Volume before whipping}}{\text{Volume before whipping}} \times 100$$

$$\text{Foam stability}(\%) = \frac{\text{ml liquid released from foam}}{\text{ml initial volume before whipping}} \times 100$$

### 17) 에멀전 特性

Pearce와 Kinsella(1978) 방법에 따라 에멀전 活性指數(emulsion activity index), 에멀전 安定性(emulsion stability), 에멀전 熱安定性(emulsion heat stability)을 測定하였다. 試料 蛋白質 0.2g을 0.01M sodium phosphate-citrate 緩衝液(pH 8.0) 20ml에 녹이고 이 溶液 12ml를 取하여 비이커에 넣고 8ml의 옥수수기름을 가하여 ultra-turrax homogenizer로 10,000 rpm에서 20초 동안 잘 攪拌한 후 이 溶液 中 50ml를 取하여 시험관에 넣고 0.1% SDS溶液 4.95ml를 가하여 500nm에서 吸光度를 測定하여 다음과 같은 式에 의하여 계산하였다.

$$\text{EAI} = \frac{2(2.303 \cdot A)}{\phi \cdot C} \times 10^4 \times 10^4$$

A = 吸光度, C = 蛋白質濃度,  $\phi$  = 體積分率(蛋白質溶液 : 옥수수기름, v/v)

에멀전 安定性은 위와 같은 방법으로 하여 잘 현탁한 후 이 溶液 5ml를 取하여 3000×g에서 5分 동안 遠心分離하여 上層液을 200μl 取하고 여기에 0.1% SDS 溶液 2.8ml를 가하여 500nm에서 吸光度를 測定하였고, 에멀전 熱安定性은 위와 같은 방법으로 3000×g에서 5분간 遠心分離하여 얻은 上層液을 200μl 取하여 80℃에서 30분간 加熱한 다음 실온에서 放冷한 후 앞서와 같이 遠心分離하여 200μl를 取하고 0.1% SDS 溶液 2.8ml를 가하여 500nm에서 吸光度를 測定하였다.

$$\text{Stability} = \frac{2(2.303 A)}{\phi C} \times 10^2 \times 10^{-4}$$

### 18) 칼슘 凝固性

칼슘 凝固性은 강(1985)의 방법에 따라 試料蛋白質 0.02g을 20ml의 蒸溜水에 녹여 이 溶液 8ml를 取하여 60%의 염화칼슘溶液(w/v) 0.133ml를 가하여 vortexing mixer로 잘 섞고 4,000×g에서 20분간 遠心分離하여 上層液 中の 蛋白質含量을 micro-biuret 방법으로 測定하였다. 標準曲線은 Fig. 5와 같다.

### 19) 熱凝固性

Kramer와 Kwee(1977)의 방법에 따라 試料蛋白質을 0.5g을 50ml의 蒸溜水에 녹여서 이 溶液 10ml를 取하여 시험관에 넣고 20분간 물중탕(100℃)에서 加熱하여 상온에서 식힌 후 이 溶液을 3,000×g에서 20분간 遠心分離하여 얻은 上層液 中の 蛋白質含量을 micro-biuret 방법으로 測定하였다.

### 20) 水分 및 油吸收力

水分吸收力은 Conway unit(WITEG)를 사용하여 내경에 試料蛋白質 50mg을 넣고 외경에 蒸溜水를 넣어 密閉하여 상온에서 2시간 동안 靜置한 후 試料에 吸收된 水分의 量을 測定하였다. 水分吸着力은 1.0g의 試料에 吸收된 水分의 量을 g수로 나타내었다.

油吸收力 測定은 Sathe와 Salunkhe(1981)의 방법에 의하여 1.0g의 試料에 옥수수기름 10ml를 각각 가하여 vortexing mixer로 잘 섞고, 실온에서 30분간 靜置한 다음 4,000×g에서

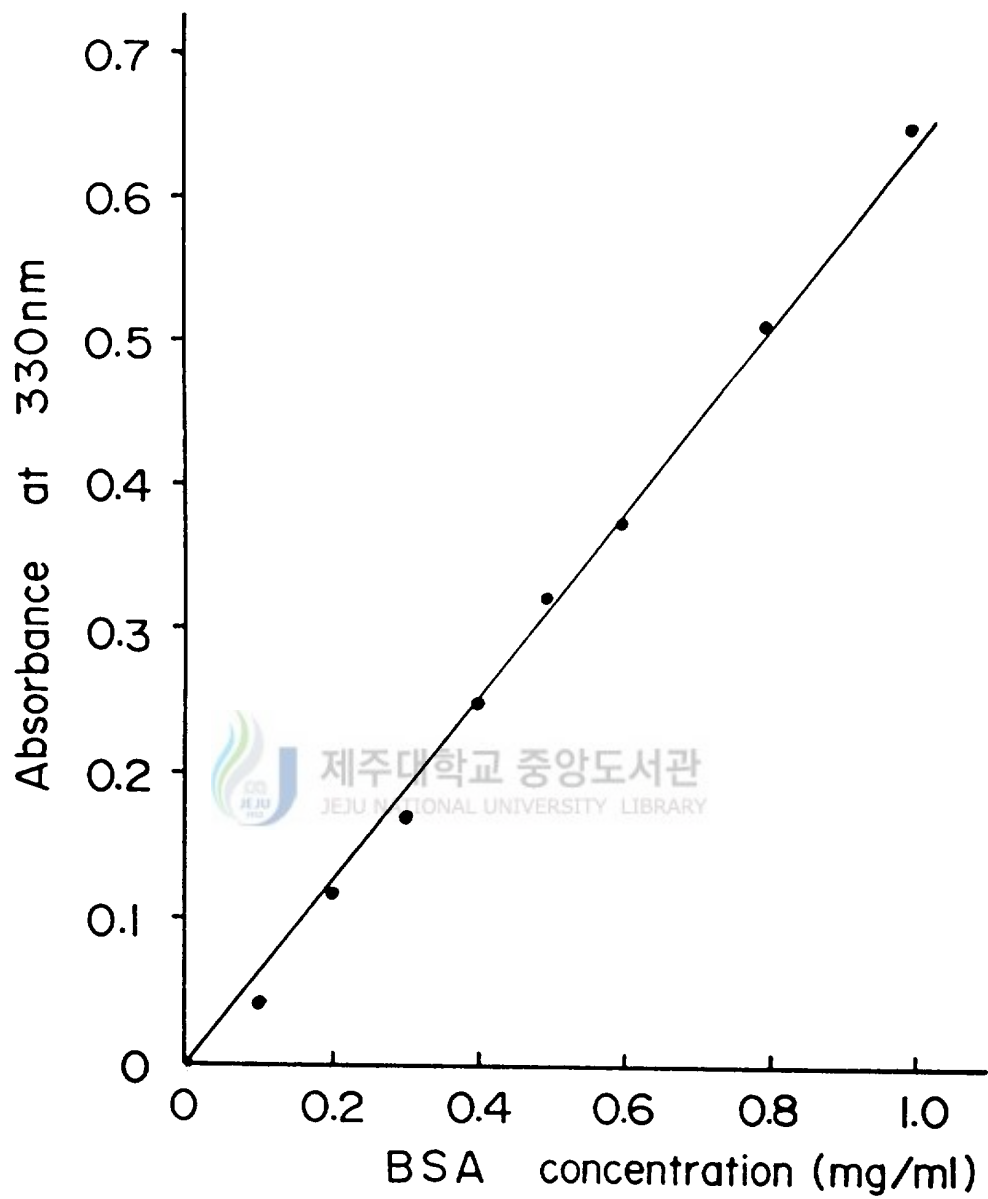


Fig. 5. Standard curve for protein determination by micro-biuret method.

20분간 遠心分離하여 얻은 上層液의 부피를 10ml 눈금 실린더를 사용하여 測定하였다. 油吸收力은 1.0g의 試料에 吸收된 옥수수기름의 부피를 ml수로 나타내었다.

### 第3章. 結果 및 考察

#### 1) 油菜粕製造 및 一般成分組成

油菜實에서 蛋白質을 抽出하기 위해서는 脂肪成分을 抽出하고 남은 粕에서 抽出하는 것이 경제적이며 蛋白質 抽出收率도 증가한다. 따라서 본 實驗에서 抽出收率을 높이기 위하여 油菜實을 破碎하고 껍질을 제거한 후 실온에서 n-hexane으로 脂肪성분을 제거한 후 油菜粕粉을 製造하였다. 製造된 油菜粕粉의 一般成分組成과 收率은 Table 1과 같다. 蛋白質含量은 油菜實에서 油菜粕이 製造됨에 따라 22.5%에서 43.6%로 증가하였으며 이는 Sosulski 등(1983)이 보고한 캐나다產 油菜粕에서의 35-40% 보다 약간 높은 값을 나타내었다. 또한 이것을 收率면에서 보면 油菜實에서 얻은 油菜粕粉의 收率은 45.2%이었고 껍질을 제거한 알갱이는 83.1%를 얻었으며 껍질의 양은 약 17%로 조사되었다. 캐나다產 油菜實 껍질 比率은 일반적으로 22%(Sosulski 등, 1983)로 보고되고 있어서 본 實驗에 사용한 油菜實은 5% 정도 낮게 나타났는데 이것은 실제로 國內產 油菜實 껍질 比率이 적은 것이 아니라 껍질 제거가 완전히 되지 않은 것을 뜻하며 껍질의 완전 제거는 대량 處理과정에서는 거의 不可能하

Table 1. Chemical composition of rapeseed and meal<sup>a)</sup>

	(%)					
	Moisture	Crude fat	Crude protein	Carbohydrate <sup>b)</sup>	Ash	Yield
Whole seed	5.04	41.62	22.5	23.78	7.06	100
Dehulled seed	5.68	44.36	28.3	15.24	6.42	83.1
Dehulled, defatted meal	3.61	6.42	43.6	40.27	6.10	45.2

a) All analyses were carried out in triplicate and means reported.

b) By difference.



거나 특수한 裝置가 이용되어야 할 것으로 생각되며 蛋白質抽出率을 향상시키기 위하여서는 앞으로 油菜實에서 껍질을 効果적으로 제거하는 방법이 研究되어야 할 것이다. 또한 Sosulski 등(1978)에 의하면 껍질안에 들어있는 기름의 손실을 방지하기 위하여 껍질을 제거하지 않고 기름을 抽出하게 되면 脱脂 후 脱脂粕 중 껍질의 量은 25~35% 정도로 높아져서 粕에는 높은 含量의 粗纖維가 들어있게 되므로 좋은 品質의 油菜蛋白質을 製造하기 위해서는 껍질의 除去段階가 필수적으로 이행되어야 한다고 보고하고 있다.

## 2) 油菜蛋白質의 抽出

一般的으로 油種實蛋白質의 抽出에는 溶媒의 種類, 抽出溫度, pH, 鹽濃度, 粕과 溶媒의 比率 등 많은 影響因子들이 關係하게 된다. 一般的인 抽出溶媒로는 물, 알칼리, 鹽溶液 등을 들 수 있으며 抗營養因子인 phytate를 제거하려고 EDTA 添加溶媒들을 사용하여 油菜蛋白質의 抽出방법을 研究하고 있다(Serraino와 Thompson, 1984). 따라서 본 研究에서는 抽出溶媒로 물, 1% SHMP, 5% NaCl, 1% SHMP와 0.25M EDTA를 選定하여 pH 7.0과 8.0에서 抽出하였으며 그 결과는 Table 2와 같다. 모든 抽出溶媒에 대하여 pH 0.7에서 보다 8.0에서 抽出率이 증가를 보이고 있어 抽出 pH 8.0이 적당한 것으로 생각된다. 물론 抽出 pH를 8.0 以上으로 하였을 때 더 증가할 것으로 예상되며 실제로 허와 양(1986)은 pH 11.5에서 94.5%, pH 11.0으로 抽出 하였을 때 약 90% 이상(EI Nockrash와 Mukhejee, 1977; Yang과 Kim, 1978)의 높은 抽出收率을 보고하고 있으나 강알칼리 하에서 抽出蛋白質의 변

Table 2. Effects of variable solvents on extraction of nitrogen from rapeseed meal<sup>a)</sup>

Extraction <sup>b)</sup>	pH	1% SHMP	5% NaCl	dist. water	1% SHMP+0.25M EDTA
1st	7.0	57.2	53.2	40.2	71.6
	8.0	65.6	56.8	43.2	75.6
2nd	7.0	11.9	6.6	3.6	5.8
	8.0	7.4	3.3	4.7	3.5
Total	7.0	69.1	59.8	43.8	77.4
	8.0	73.0	60.1	47.9	79.1

a) Extractable nitrogen % measured by micro-kjeldahl method.

b) Two times extraction as described in Fig. 1.

성 및 lysinoalanine의 생성 가능성(Friedman 등, 1979)이 예상되며, 또한 pH 9.0 이상에서는 蛋白質의 색택이 어두어지고, 風味가 나빠진다는 보고(Serraino와 Thompson, 1984)에 따라서 食品學的인 機能性を 지닌 蛋白質 抽出에는 一般的인 방법이 아니라고 생각되어 본 實驗에서는 pH 8.0에서 抽出하였다. 그리고 蛋白質 抽出은 대부분 1차 抽出에서 이루어지고 있으나 2차 抽出에서도 1차 抽出量の 약 10% 정도가 더 얻어지고 있어서 2단계 抽出 방법을 실시하였다.

1% SHMP를 抽出溶媒로 選定하여 사용한 것은 강 등(1990)의 實驗 결과와 Thompson 등(1982)의 결과에 의한 것으로서, 低濃度인 0.25% SHMP와 0.5% SHMP의 溶媒를 사용하여 抽出한 결과에서는 蛋白質의 抽出量은 많았으나 等電沈澱(pH 3.5)되는 蛋白質의 量이 적으며, 高濃度인 2% SHMP 溶媒로 抽出한 경우는 1% SHMP 溶媒로 抽出한 蛋白質의 量보다도 적었고, 또한 等電沈澱되는 蛋白質의 量도 훨씬 적어서 이 결과와 본 豫備實驗 결과에 따라 1% SHMP 溶媒로 選定하였다. 본 實驗에서 사용된 溶媒들 중에서 蛋白質 抽出率은 물, 5% NaCl, 1% SHMP, 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒 순으로 抽出率이 높았으며 가장 높은 것은 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로서 pH 8.0에서 79.1%였고, 두번째로 높은 것은 1% SHMP 溶媒를 사용하였을 때 73.0%인데 이는 Thompson 등(1982)이 보고한 79.7% 보다는 낮게 나타났다. 이는 油菜粕에 포함되어 남아있는 껍질 또는 品種 차에서 오는 影響으로 생각된다. 그리고 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 抽出한 蛋白質溶液의 抽出率은 가장 높았으나 이것은 等電沈澱 시킨 후 얻어지는 蛋白質收率이 약 34% 정도로 상당히 낮았으며, 1% SHMP 溶媒를 사용하여 抽出한 蛋白質溶液을 等電沈澱 시켰을 때 蛋白質收率은 70% 정도로 높게 얻을 수 있어서 결국 본 實驗에서의 效果的인 抽出溶媒로서는 1% SHMP 溶媒로 判斷되었다(Fig. 6). 또한 蛋白質抽出 과정에서 蛋白質 抽出溶液을 等電沈澱 시키는 工程을 選定한 것은 실제적인 工程에 있어서 處理液量을 감소시켜 줌으로써 工程 과정의 效率面과 簡便化를 모색한 필수적인 工程으로 생각된다.

### 3) 抽出蛋白質의 精製效果

油菜蛋白質의 精製에 있어서 기본적인 목표는 蛋白質含量增加, 抗營養因子의 제거 및 品

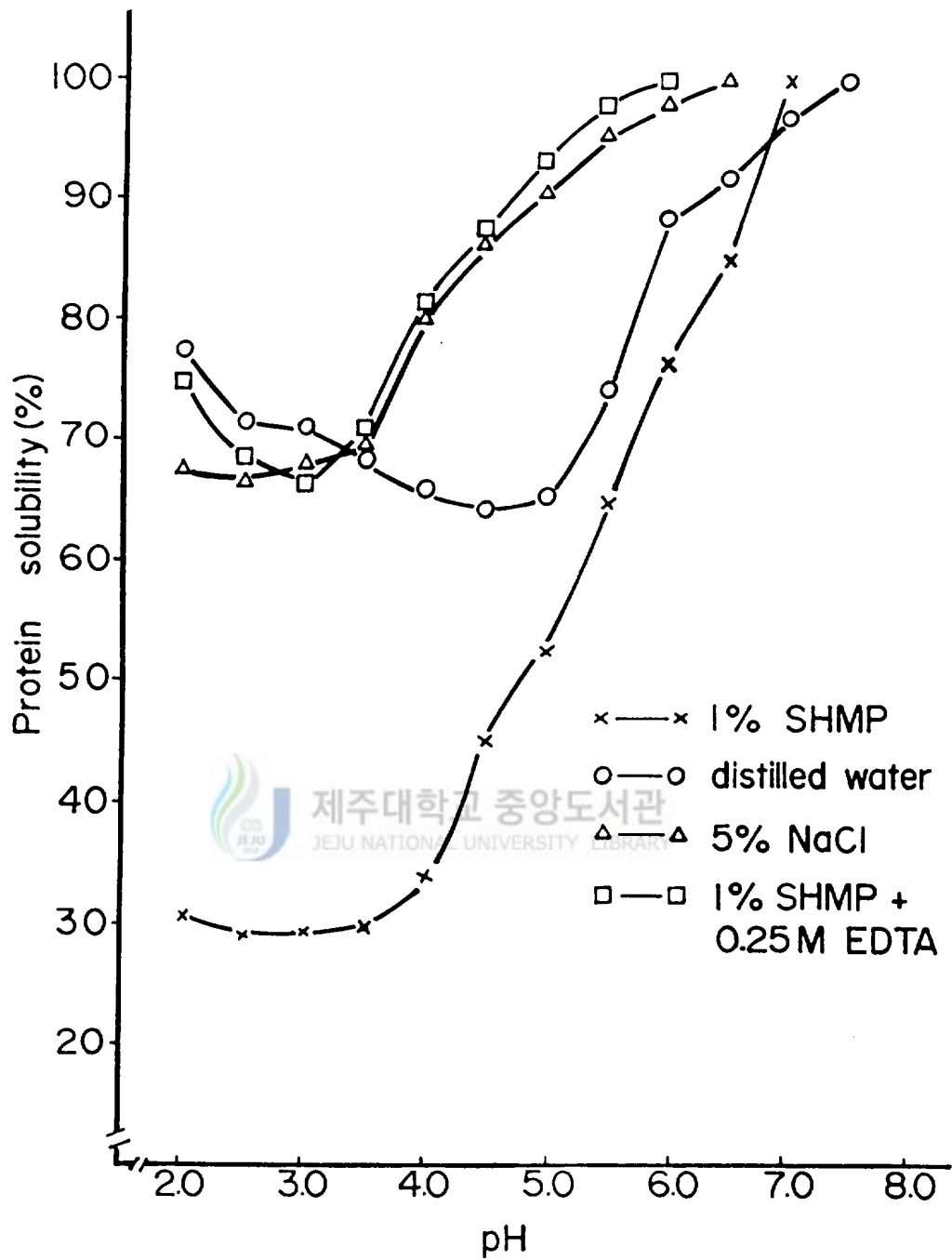


Fig. 6. Effect of pH on precipitation of rapeseed proteins extracted by various solvents.

質向上을 들 수 있다. 1% SHMP 溶媒를 사용하여 pH 8.0에서 抽出된 蛋白質溶液을 精製하기 위하여 等電沈澱, 酸洗滌, UF濃縮, 酸洗滌 및 UF濃縮混用 등으로 處理하였을 때 얻어지는 油菜粕蛋白質의 含量과 收率에 대한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3. Effects of acid washing and UF concentration on the yields of rapeseed proteins extracted with 1% SHMP buffer (pH 8.0)<sup>a)</sup>

Treatment <sup>b)</sup>	Protein <sup>c)</sup>	Solid	N
Starting meal	43.6	100	100
pI ppt. only	72.1	45.7	75.6
1st washing	73.4	42.5	71.5
2nd washing	75.3	37.1	64.0
Concn by UF(30K)	68.4	43.7	68.5
Concn by UF(100K)	70.6	42.4	68.7
Concn by UF(100K) after pI ppt.	71.2	43.2	70.5
Concn by UF(100K) after pI ppt. and 1st washing	72.4	42.1	70.2
Concn by UF(100K) after pI ppt. and 1st washing (1% SHMP+0.25M EDTA)	82.4	10.7	20.2

a) As of meal.

b) Processed as described in the Method section.

c) Protein 1% in products.

여러가지 工程에 따라 만들어진 油菜蛋白質 濃縮物들의 蛋白質含量은 약 70% 前後를 나타내었고, 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒를 사용했을 때가 82.4%로 가장 높게 나타났지만 蛋白質固形物의 收率과 窒素收率이 앞서 언급된 抽出에서와 같이 다른 工程들에 비하여 약 1/4 정도로 크게 감소하여서 이 工程은 실제적인 면에서 有用성이 없다고 判斷되는데, 이렇게 蛋白質固形物의 收率が 현저히 적게 나타난 것은 EDTA를 添加하므로써 油菜蛋白質의 等電點인 pH 3.5에서는 溶解度가 증가하여 沈澱率이 적어졌기 때문이라고 생각된다. 1% SHMP 溶媒로 抽出하여 等電沈澱시킨 후 2회 酸洗滌하여 얻은 75.3%의 蛋白質 含量은 Thompson 등(1982)이 1% SHMP 溶媒를 사용하여 같은 방법으로 處理했을 때 얻은 79.7% 보다 약간 낮았는데 이는 Thompson 등(1982)은 油菜粉의 蛋白質含量이 59.3%로서 본 實驗

의 43.6%의 脂肪粕 보다 높은 蛋白質含量을 가진 試料를 사용한 차이라고 생각된다.

蛋白質固形物의 收率は 油菜粕을 100으로 하였을 때 等電沈澱만 시킨 경우 45.7%를 얻었고 나머지 工程들에서는 대체로 42~44%에서 얻어지고 있는데 이것은 Thompson 등(1976)이 보고한 2% SHMP 溶媒를 사용했을 때의 34%의 收率 보다는 약 10% 정도 높았고, Thompson 등(1982)이 1% SHMP 溶媒로 얻은 43.8%의 收率과는 거의 일치하는 결과이었다. 그러나 等電沈澱 시킨 후 2회 酸洗滌한 工程에서는 蛋白質固形物 收率が 37.1%로서 낮게 얻어졌다. 窒素收率は 대체로 70~75% 범위에서 얻어지고 있는데 이것은 Thompon 등(1982)이 1% SHMP 溶媒로 抽出하여 等電沈澱 시킨 후 얻은 62.9% 보다 약 10% 정도 높았으며, Tzeng 등(1988)이 1% SHMP 溶媒를 사용하여 抽出한 후 活性炭處理, UF濃縮, diafiltration, 양이온교환수지 處理하여 얻은 63.1%의 窒素收率 보다는 약 10% 정도 높은 收率을 얻었다. 이것은 본 實驗에서는 剝皮한 油菜種實을 사용한 반면, Tzeng 등(1988)은 剝皮하지 않은 油菜種實을 사용한 결과의 차이 뿐만 아니라 여러 工程이 추가됨에 따른 손실에 기인하는 것으로 생각된다.

여러가지 工程에 따른 蛋白質抽出溶液에 대한 glucosinolate와 phytate 除去效果에 대한 결과는 table 4와 같다. Sosulski 등(1983)에 의하면 *B. napus*種인 경우는 약 12mg/g, *B. campestris*種은 7mg/g 정도가 함유되어 있으며, 강 등(1990)은 우리나라에서 栽培되는 *B. napus*種에는 약 7~9mg/g, *B. campestris*種에는 8.9mg/g, *B. juncea*種에는 약 10mg/g 정도 들어있다고 보고하였고, 김 등(1988)은 *B. napus*(*Youngsan*)種은 13.6mg/g로 보고하고 있으나, 본 實驗에서의 油菜粕 안의 glucosinolate의 含量은 17.05mg/g이었다. 이는 강 등(1990) 및 김 등(1988)은 栽培된 品種을 잘 분리 選定되어 사용하였으며 본 實驗에 사용된 시중에서 구입한 品種(*Youngsan*)은 在來種(*Ashahi*)과 混雜 또는 混入된 것으로 생각된다. Glucosinolate의 除去效果를 보면 酸洗滌과 UF濃縮處理 등의 工程으로 매우 좋은 精製效果(0.13~1.42mg/g)를 보여 주고 있으며, 특히 2회 酸洗滌한 경우(99.2%)와 1회 酸洗滌 및 UF(100K)濃縮處理한 工程에서는 殘存量이 測定되지 않았다. 이는 Thompson 등(1982)이 1% SHMP 溶媒에 의한 蛋白質抽出에서 2회 酸洗滌한 경우 glucosinolate가 測定되지 않았다는 결과와 거의 일치하고 있다. Phytate의 除去效果에 대해서는 油菜粕中の phytate의 含量이 2.41%인데

**Table 4. Effects of acid-washing and UF concentration on the composition and residual rate of glucosinolate and phytate in rapeseed proteins extracted with 1% SHMP buffer (pH 8.0)**

Treatment <sup>a</sup>	Composition			Residual rate	
	Glucosinolate <sup>b</sup> Total	5-vinyl-OZT	Phytate %	Glucosinolate	Phytate
Starting meal	17.05	9.86	2.41	100	100
pl ppt. only	1.76	1.22	1.97	10.3	81.7
1st washing	0.52	0.10	0.98	3.1	40.7
2nd washing	0.13	ND	ND	0.8	ND
Concn by UF(30K)	1.32	0.51	1.80	7.7	74.7
Concn by UF(100K)	1.42	0.90	1.77	8.3	73.5
Concn by UF(100K) after pl ppt.	0.55	0.29	1.35	3.2	56.0
Concn by UF(100K) after pl ppt. and 1st washing	ND	ND	0.37	ND	15.4
Concn by UF(100K) after pl ppt. and 1st washing (1% SHMP+0.25M EDTA)	0.19	ND	ND	1.1	ND

a) Processed as described in the Method section : ND, not detected.

b) mg/g.

等電沈澱과 UF濃縮處理工程에서는 除去率이 19%와 26%로서 아주 낮았지만, 2회 酸洗滌하는 工程과 1회 酸洗滌 및 UF濃縮混用工程인 경우에는 거의 제거(85-99%)되고 있다. 이는 pH 3.5에서 蛋白質의 溶解度가 最小가 되며 phytate의 溶解度는 最大가 되는 條件(Serraino와 Thompson, 1984)이어서 酸洗滌에 의한 phytate 除去效果가 좋은 것으로 생각된다. 강 등(1990)이 보고한 油菜實의 品種別 研究에서 Youngsan種인 경우 2회 酸洗滌에 의하여 phytate가 3.6% 정도 分離蛋白質에 殘存하고 있는 것으로 보고하고 있으나, 본 實驗에서는 2회 酸洗滌 工程인 경우 phytate가 모두 제거되었다. 이는 洗滌방법의 차이로 생각되는데 본 實驗에서는 ultra-turrax homogenizer를 사용하여 완전히 懸濁시켜서 可溶性 성분들이 충분히 제거된 결과로 생각된다. 또한 2회 酸洗滌 工程인 경우 蛋白質固形物의 收率(37%)과 窒素收率(64%)이 크게 감소한 것(Table 3)은 酸洗滌 후 遠心分離 하여도 蛋白質이 충분히 分離되지 않아서 whey 蛋白質로 제거되기 때문이었고, 이는 油菜蛋白質에는 低分子量 및 糖蛋白質이 많아서(Venkatesh와 Rao, 1988) 等電沈澱 시킨 후 酸洗滌 工程이 반복됨에 따라

沈澱蛋白質 중 鹽濃度가 감소하여 이에 따라 이온強度가 감소하기 때문에 蛋白質의 溶解度가 증가하여 酸洗滌시 씻겨져 나간 것으로 생각된다. 이러한 결점을 보완하기 위하여 UF에 의한 濃縮을 實驗하였다.

豫備實驗에서 UF 濾過膜은 10K, 30K, 100K를 사용하였는데, 10K와 30K는 蛋白質 抽出溶液의 부피(1600ml)를 1/2로 감소시키는데 8~15시간이 소요되어서 非效率的이었으나, 100K 濾過膜을 사용한 경우에는 약 2.5시간이 소요되었고 蛋白質 손실도 30K에 비하여 2% 정도로 별 차이가 없어서 충분히 實用性이 있는 것으로 判斷되었다. 그러나 UF濃縮에 의한 處理만으로는 油菜粕蛋白質의 有害物質들을 충분히 제거할 수가 없었다. Diosady 등(1984)이 UF(100K)를 사용하여 얻어낸 油菜分離蛋白質 중에서 glucosinolate의 除去率이 약 91%라고 보고하고 있는데, 본 實驗에서도 UF(100K)를 사용하여 濃縮處理하였을 경우 약 92%의 除去率을 보여 주고 있어 비슷한 除去效果를 얻었으나, glucosinlonate 殘存量이 1.41mg/g으로 상당히 높은 값을 나타내고 있기 때문에 더 除去할 필요가 있었다. 따라서 UF濃縮 處理만으로는 glucosinolate를 완전히 제거할 수가 없는 것(Omosaiye와 Cheryen, 1979)으로 생각되어서 等電沈澱 시킨 蛋白質을 1회 酸洗滌한 후 UF(100K)濃縮處理한 결과 glucosinolate는 거의 모두 제거되는 效果를 얻었다. 또한 phytate 경우에서도 UF濃縮만으로 處理하였을 경우 phytate 除去率이 30~50% 정도로 낮았으나, 1회 酸洗滌한 후 UF(100K)濃縮處理한 결과 약 85%의 좋은 除去率을 얻을 수 있었다. 이는 Tzeng 등(1988)이 보고한 活性炭處理, UF濃縮, diafiltration, 양이온교환수지 處理 등 복잡한 工程과정을 실시하였을 때 약 86%의 phytate 除去率과 거의 비슷한 결과이었다. 따라서 酸洗滌 및 UF(100K)濃縮處理하는 混合運用 工程을 採擇하여 蛋白質 抽出溶液을 等電沈澱 시킨 후 1회 酸洗滌하고 이를 蒸溜水(pH 7.5)에 溶解하여 UF(100K)로 濃縮處理한 결과 glucosinolate와 phytate의 충분한 除去效果를 얻을 수 있었다. 결국 有害物質들의 除去率과 蛋白質含量, 蛋白質收率을 모두 고려할 때 蛋白質抽出溶液을 等電沈澱(pH 3.5) 시킨 후 1회 酸洗滌과 UF(100K)濃縮處理하는 混合運用工程이 비교적 效果的인 精製工程이라 생각된다.

#### 4) UV 및 固有螢光 spectra

純粹한 蛋白質의 UV 및 固有螢光 spectra는 構成 아미노산 중에서 tyrosine,

phenylalanine, tryptophan에 의해서 이루어지며, 이들 아미노산들의 함량 뿐만 아니라 蛋白質들의 立體的構造와도 깊은 관계가 있다고 알려지고 있다(Schmid, 1989). 물론 이와 같은 研究는 純度가 높은 蛋白質試料를 사용하여 이루어져야 精確한 結果를 얻을 수 있으나 본 研究에서는 사용된 工程 차이에 따른 相對的 차이를 비교하기 위하여 油菜蛋白質의 UV 및 固有螢光 spectra를 測定하였으며 그 結果는 Fig. 7, 8과 같다. Fig. 7에서 대부분 280nm 부근에서 最大吸收를 나타내는 전형적인 蛋白質 스펙트럼을 나타내고 있으나, 1회 酸洗滌 및 UF(100K)濃縮混用工程(7번)인 경우와 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒를 사용한 工程인 경우(8번)는 270nm 부근에서 最大吸收를 나타내어 약간의 blue shift가 일어났다. 그리고 이들 UV spectra에서 325~330 範圍에서는 또 하나의 peak 또는 shoulder를 나타내고 있는데 試料에 따라 달라서 對照區(1번)에서는 peak로, 나머지는 shoulder 形態를 나타내고 있다. 이는 試料에 포함되어 있는 黃色系統의 phenolic 物質의 影響으로 생각되며 kozłwska 등(1975)은 油菜粉에 포함되는 phenolic 主 성분으로 p-hydroxybenzoin, cinnamin 및 sinapin산 등이 들어있어 이들 성분이 油菜蛋白質의 主 着色성분으로 보고하고 있다. 그리고 spectra에서 吸光度의 차이는 試料에서 蛋白質含量的 차이에 의하여 이루어진 것으로 생각된다.

Fig. 8은 油菜蛋白質의 固有螢光 spectra이며 대체로 345nm 부근에서 모두가 peak를 보였고, 工程 차이에 따라서 相對螢光값이 상당히 차이를 나타내고 있다. 이와 같은 固有螢光 스펙트럼의 peak는 주로 tryptophan 殘基에 의하여 나타나는 것(kella 등, 1988)으로 1번 工程에서 等電沈澱 시켜 얻은 蛋白質에 비하여 酸洗滌과 UF濃縮 등 여러가지 工程을 실시함에 따라 2~8번 工程들에서는 不純物들이 제거되어 分子內에 가리워져 있던 tryptophan 殘基가 보다 많이 노출이 되고, 또한 그 양이 相對的으로 증가된 結果에 따라 固有螢光 스펙트럼의 相對螢光값이 크게 나타난 것으로 생각된다. 8번 工程에서 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 얻은 蛋白質의 경우는 相對螢光값이 가장 크게 나타났으며 다른 것들에 비하여 낮은 파장인 335nm 부근에서 peak를 보여 약간의 blue shift가 일어나고 있다. 이는 蛋白質이 構造가 변할 때 일어나는 현상(Schmid, 1989)으로서 抽出溶媒에 EDTA의 添加로 蛋白質의 溶解度가 증가하여 低分子量 蛋白質들의 손실 또는 蛋白質의 4차 構造가 달라져서 일어난 結果(Venkatesh와 Rao, 1988)로 생각된다.



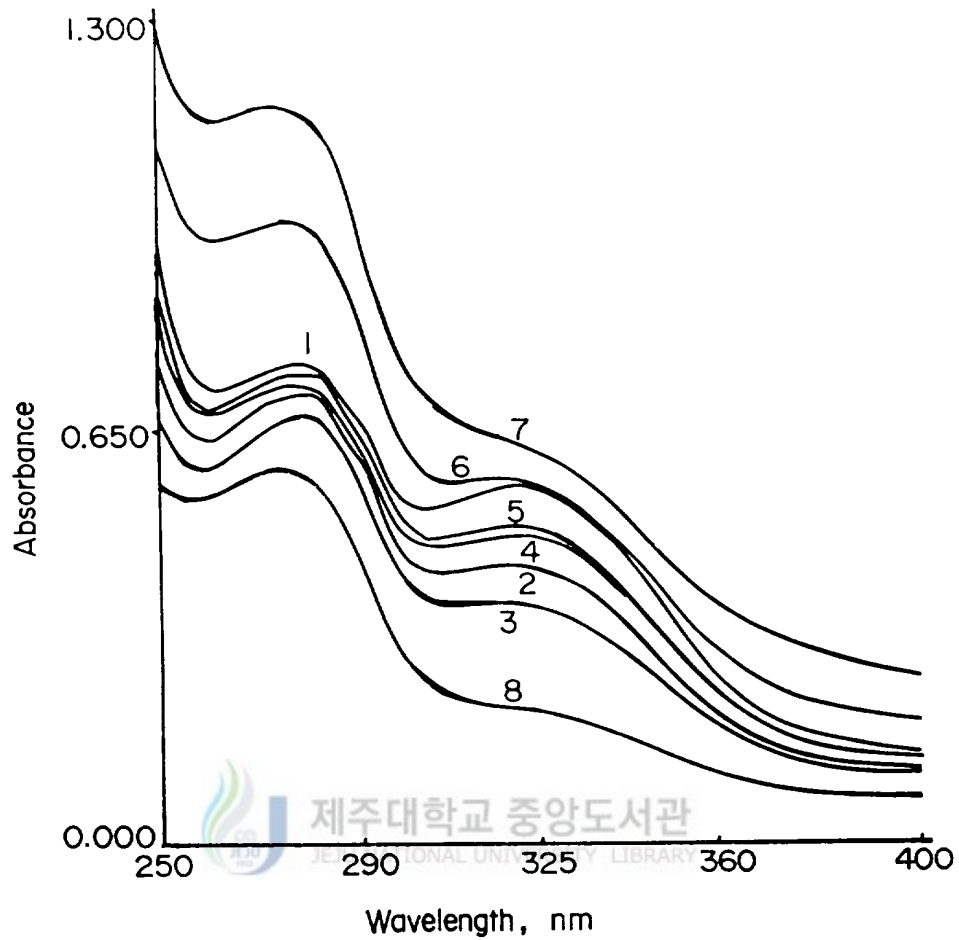


Fig. 7. UV spectra of rapeseed proteins. Spectra were recorded using  $1\text{mg}/\text{ml}$  rapeseed protein concentrate. Number of spectra are the same as described in Method.

##### 5) 黄色度, 表面疎水性 및 S-S基 含量

각 工程別로 얻어진 油菜蛋白質의 理化學的인 性質 차이를 알아보기 위하여 黄色度( $Y_{CIE}$ ) 및 表面疎水性(So)을 測定하였으며 그 결과는 Table 5와 같다.

油菜蛋白質의 着色도는 주로 黄色 성분인데 對照區인 油菜粕粉에서는 黄色度が 60.7이었으나, 等電沈澱, 酸洗滌, UF濃縮處理工程으로 모두 다 改善되고 있는 傾向이며, 7번 工程

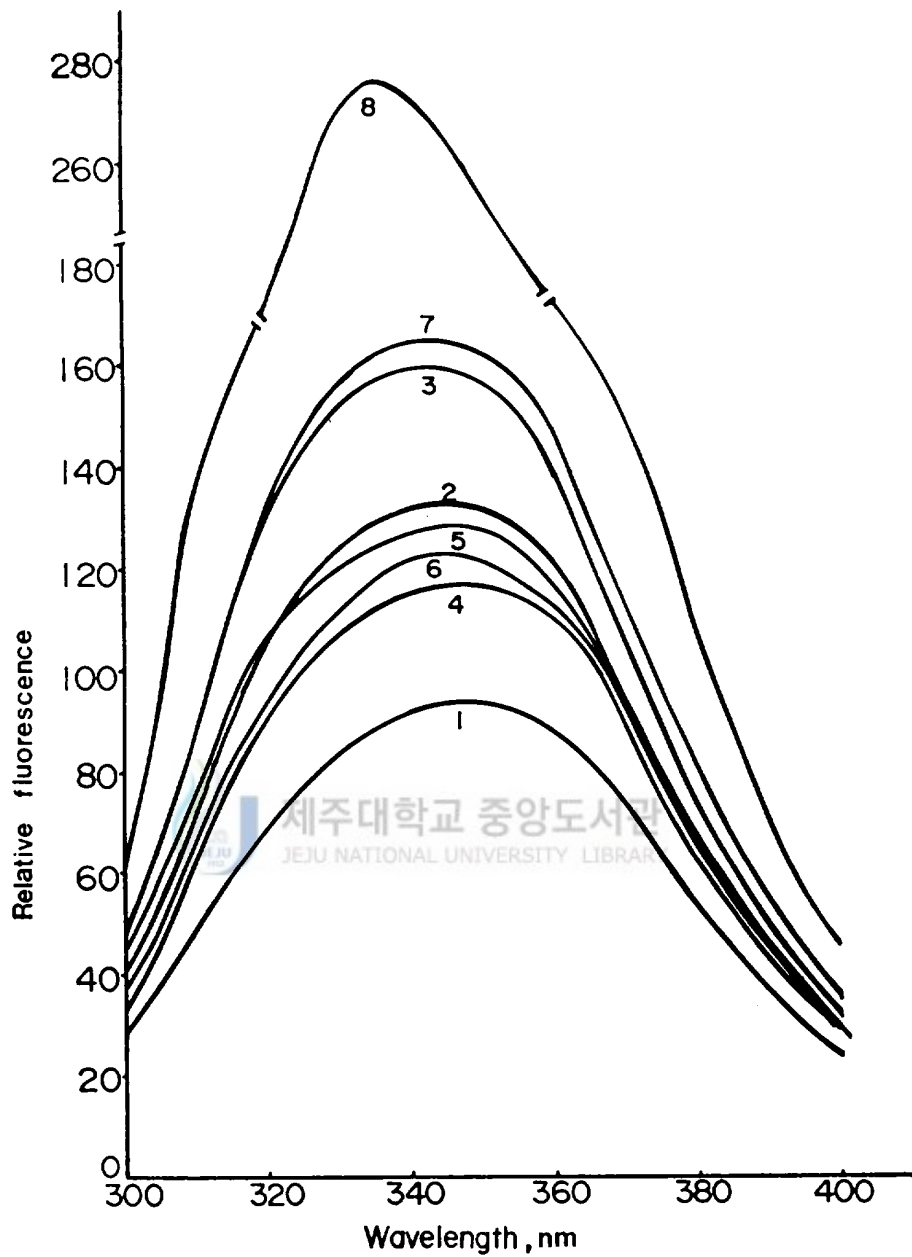


Fig. 8. Intrinsic fluorescence spectra of rapeseed proteins. Number of spectra are the same as described in Method. Protein solutions ( $1\text{mg}/\text{ml}$  in  $0.1\text{M}$  phosphate buffer of  $\text{pH } 8.0$ ) were excited at  $280\text{nm}$  using a  $5\text{nm}$  bandwidth.

Table 5. Color(Y<sub>CIE</sub>) and surface hydrophobicities(S<sub>o</sub>) of rapeseed proteins prepared by different processes

Properties	Processes									
	meal	1	2	3	4	5	6	7	8	
Y <sub>CIE</sub>	60.7	56.6	50.8	49.2	52.5	51.2	52.4	47.6	34.4	
S <sub>o</sub> <sup>a)</sup>	—	13.0	16.8	16.2	17.0	16.1	23.7	31.4	20.9	

a) adding 160mM ANS at pH 8.0 in 0.1M phosphate buffer.

인 酸洗滌 및 UF(100K)濃縮混用 경우에는 47.6으로 상당히 많이 改善되었다. 이것은 Thompson 등(1982)이 1% SHMP 溶媒를 사용하여 抽出한 후 2회 酸洗滌한 蛋白質의 黃色度가 48.5인 것 보다 약간 더 改善되었으며, 8번 工程인 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 얻은 蛋白質의 경우에는 특히 좋았다. 이는 여러가지 工程을 실시함에 따라 低分子量이고 水溶性인 flavonoid系 色素가 제거(Seraino와 Thompson, 1984)되고, EDTA 添加시 蛋白質과 結合되어 있던 나머지 色素 성분들이 제거되는 것으로 생각된다. 또한 이것은 앞서 UV 스펙트럼(Fig. 7.)에서와 같이 325nm 부근에서 吸收 스펙트럼의 결과와 상당히 일치되고 있다.

表面疎水性은 蛋白質 分子들이 表面에 나타나는 疎水性基들의 量으로 나타나는데 0.1% 蛋白質溶液에 ANS를 가하여 測定하였을 때의 表面疎水性은 1번 對照區(13.0)에 비하여 酸洗滌 工程(16.2-16.8)이 높게 나타났고, UF濃縮處理 工程(17-23.7)은 더높게 나타났으며, 7번 工程인 酸洗滌 및 UF(100K)濃縮混用處理 경우에는(31.4) 가장 높게 나타났고, 8번 工程인 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 얻은 蛋白質의 경우는 20.9이었다. 表面疎水性은 蛋白質이 溶液중에서 疎水性物質들과의 結合能力(Kinsella, 1982)을 나타내는 것으로서 여러 가지 工程에 따른 表面疎水性이 높게 나타나는 것은 酸洗滌 등으로 phytate, glucosinolate, polyphenol 등과 같은 不純物들이 제거되고 糖蛋白質 및 일부 低分子量 蛋白質들이 씻겨 나가서 묻혀있던 疎水性基들이 보다 더 많이 노출되었고, 또한 UF 濃縮處理에 의한 蛋白質들의 凝集効果와 polyphenol, 糖蛋白質 및 glucosinolate 등의 低分子物質들이 제거되어 蛋白質分子內的 疎水性基 노출이 증가된 것으로 생각된다.

각 工程別로 얻어진 油菜蛋白質 分子內的 總 SH基, 遊離 SH基, S-S結合들의 含量을 나

타낸 결과는 Table 6과 같다. 총 SH기는 공업 차이에 따른 변화는 1번 對照區 1.32 $\mu\text{g/g}$ 에 비하여 2-6번은 1.22-1.34 $\mu\text{g/g}$ 으로 거의 차이가 없었는데 특히 7번, 8번 공업에서 0.32, 0.43 $\mu\text{g/g}$ 으로 총 SH기가 크게 감소하였다. 이는 아미노산인 cystine량이 감소에 의한 것인지는 그 원인에 대하여서는 앞으로 더 研究되어져야 할 것이다. 그리고 S-S結合의 함량은 蛋白質의 거품성, 에멀전 特性, 熱凝固性, 겔형성능 등 蛋白質의 食品學的 機能性에 關聯이 있는 것(Torovazquez와 Rengnestein, 1989)으로 보고되고 있다.

Table 6. Contents of total SH, free SH and SS groups of rapeseed proteins prepared by different processes ( $\mu\text{g/g}$ )

Contents	Processes								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Total SH	1.32	1.29	1.22	1.34	1.23	1.31	0.32	0.43	
Free SH	0.31	0.24	0.20	0.26	0.28	0.26	0.20	0.15	
S-S	1.01	0.05	1.02	1.08	0.95	1.05	0.12	0.28	

## 6) SDS-PAGE 分析

각 공업別로 얻어진 油菜蛋白質의 SDS-PAGE 分析은 Fig. 9 및 Table 7과 같다. 油菜蛋白質의 band는 9개로 나타났으며 현저하게 명백히 나타난 band는 6, 7, 8, 9였고 相對移動度(Rm)에 따라 標準蛋白質과 비교된 分子量은 Table 7과 같다. 즉 油菜粕蛋白質의 상당부분은  $1.96 \sim 1.59 \times 10^4$  dalton의 分子量을 가진 底分子 band로 構成된 것으로 간주되었고, 나머지는  $3.25 \sim 2.48 \times 10^4$  dalton의 分子量을 가진 band로 構成되어 있는 것으로 생각되었다. Gruraj Rao 등(1978)은 油菜蛋白質을 高分子량과 低分子量 두 劃分으로 나눌 수 있으며 高分子量 劃分の 蛋白質은 8개의 band로 構成되어 있으며 이들 band의 分子量은 SDS-PAGE分析에 따라  $7 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $3.7 \times 10^4$ ,  $3.4 \times 10^4$ ,  $2.7 \times 10^4$ ,  $2 \times 10^4$ ,  $1.4 \times 10^4$  및  $1.1 \times 10^4$  dalton의 分子量으로 보고되어 있어서 본 實驗에서 얻어진 결과와는 차이가 있었다. 또한 각 공업別 차이에 따른 변화는 거의 볼 수 없었으나 特異하게 8번 程度에서 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 얻어진 蛋白質에서는 9번 band가 거의 나타나지 않았는데, 이것은 EDTA 添加로 인하여 주로 低分子 蛋白質들이 소실되었고, 4, 5, 6, 7, 8번 band가 상당히 증가를 보인

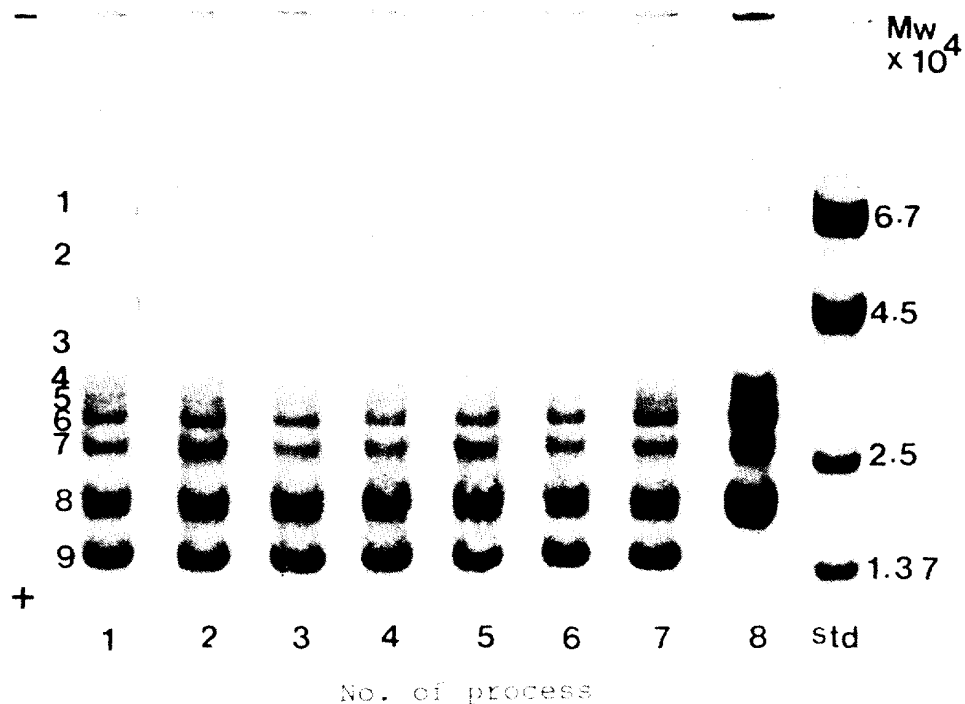


Fig. 9. SDS-PAGE patterns of rapeseed proteins prepared by different processes.

Table 7. Mean molecular weights of protein bands in the rapeseed protein concentrate

No. of bands <sup>a)</sup>	Mean Rm <sup>b)</sup>	Mol. wt.	$\bar{S}$
1	0.316	70,000	-
2	0.399	56,000	-
3	0.545	38,600	± 233
4	0.616	32,500	± 602
5	0.644	30,400	± 180
6	0.670	28,200	± 1643
7	0.724	24,800	± 790
8	0.818	19,600	± 1680
9	0.907	15,900	± 781

a) Labeled on protein bands in Fig. 9.

b) Calculated from standard curve (Fig. 3.).

것은 1% SHMP 溶媒로 抽出했을 때 보다 相對的으로 많은 量의 蛋白質들이 抽出된 것으로 생각된다. Serraino와 Thompson(1984)은 油菜蛋白質의 phytate 除去效果를 높이기 위하여 E DTA를 사용하고 透析시켰을 때 17% 정도의 窒素손실을 보고하고 있으며 이때 손실되는 窒素는 대부분 低分子量 蛋白質에서 由來된 것으로 보고하고 있다.

### 7) 아미노산 含量分析

각 工程別로 얻어진 油菜蛋白質의 HPLC-PICO. TAG System에 의한 아미노산의 分析結果는 Table 8과 같다. 아미노산 含量 변화는 1번 工程에 비하여 모든 工程에서 대체로 약간의 증

Table 8. Amino acid compositions of rapeseed proteins prepared by different processes (g/100g)

Amino acid	Treatment <sup>a)</sup>						
	1	2	3	4	5	7	8
ASP	5.5	5.8	5.9	5.0	5.9	5.4	6.8
GLU	15.8	17.6	17.6	14.2	16.3	15.8	12.0
SER	3.6	4.2	4.2	3.5	4.0	3.9	3.1
GLY	4.5	5.1	4.8	4.1	4.9	4.5	4.1
HIS	2.5	2.9	2.9	2.3	2.9	2.6	1.6
ARG	5.8	6.5	6.3	5.2	6.1	5.8	5.0
THR	3.5	4.0	3.9	3.3	3.6	3.6	2.9
ALA	3.9	4.4	4.3	4.0	4.2	4.0	3.3
PRO	5.8	6.5	6.4	5.2	6.0	5.7	3.7
TYR	1.4	1.9	1.4	1.4	1.1	1.4	1.1
VAL	4.3	4.8	4.2	3.7	4.8	4.2	3.6
MET	1.5	1.6	1.6	1.3	1.1	1.5	0.9
CYS	0.5	0.7	0.7	0.5	0.6	0.7	0.2
ILE	0.3	3.1	2.7	2.4	3.2	2.7	2.2
PHE	1.8	1.6	1.3	1.3	1.9	1.4	1.2
LTS	5.2	6.0	5.8	4.7	5.7	5.4	3.1
LEU	5.1	5.4	4.8	4.3	5.4	4.7	4.1

a) Number of treatment are the same as described in Method.

가를 보이고 있으나 EDTA를 添加한 8번 工程에서는 전체적으로 아미노산 含量이 상당히 감소한 것으로 나타났다. 또한 EDTA 添加 抽出區(8번)를 제외한 蛋白質에서 아미노산 含量을 개별적으로 보았을 때 lysine과 methionine은 평균적으로 각각 5.4g 및 1.5g으로 이미 보고된 결과(Diosady 등, 1984)인 4.4g 및 1.6g과 類似한 값으로 생각되나 나머지 아미노산들은 대부분 적은 값을 나타내고 있다. 그러나 아미노산 含量은 이미 보고된 結果(Diosady 등, 1984; Tzeng 등, 1988; Sosulski, 1983)들 사이에서도 차이가 크게 보고되고 있으며 이는 品種, 試料製造 및 測定 방법에 따라 차이가 큰 것으로 생각된다. 그러나 8번 試料에서 全般的으로 다른 試料 보다 아미노산 含量이 상당히 적게 測定되고 있는 것은 微量으로 試料中에서 殘存되어 EDTA가 아미노산 定量에 어떤 影響을 미치는 것으로 推論할 수 있으나 앞으로 더 깊은 研究가 필요할 것으로 생각된다. 그리고 이 結果는 Serraino와 Thompson(1984)이 EDTA를 添加한 溶媒로 抽出하여 얻은 蛋白質의 아미노산 含量이 감소했다는 보고와 일치하고 있다.

#### 8) pH別 溶解度 및 動粘度

각 工程別로 얻어진 試料蛋白質들의 pH에 따른 溶解度曲線은 Fig. 10과 같다. 모든 試料는 pH가 감소함에 따라 溶解도가 감소하였고, 8번 工程(1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒)에 의하여 만들어진 試料 단을 제외하고는 거의 비슷한 傾向을 나타내었으며 等電點은 pH 3~4에 位置하고 있고 電等點에서 溶解도는 12~23%이었다. 그리고 一般的으로 酸洗滌工程에 의하여 만들어진 試料(2, 3, 7번)는 비교적 等電點 부근에서 溶解도가 적어서 12~17% 정도이었다. 그러나 8번 工程에서 얻어진 試料인 경우에도 1% SHMP 溶媒로 얻은 試料들의 경우도 상당히 다른 溶解度曲線을 나타내고 있으며 等電點도 pH 5.0부근에 位置하고 있는데 이는 抽出溶媒, 抽出條件, 品種 등에 따라 等電點이 달라진다는 Sarwar(1975)의 보고와 일치하고 있으며 EDTA가 킬레이트를 형성함으로써 蛋白質의 立體構造가 변화하게 되고 따라서 蛋白質의 溶解도에 影響을 미치는 것으로 推定된다. 그리고 油菜蛋白質의 等電點이 pH 3.5인 것을 보면 酸性食品에는 等電點이 pH 4.5인 大豆蛋白質을 添加하여 이용하는 것 보다 油菜蛋白質을 사용하는 것이 더 유용할 것으로 생각된다.

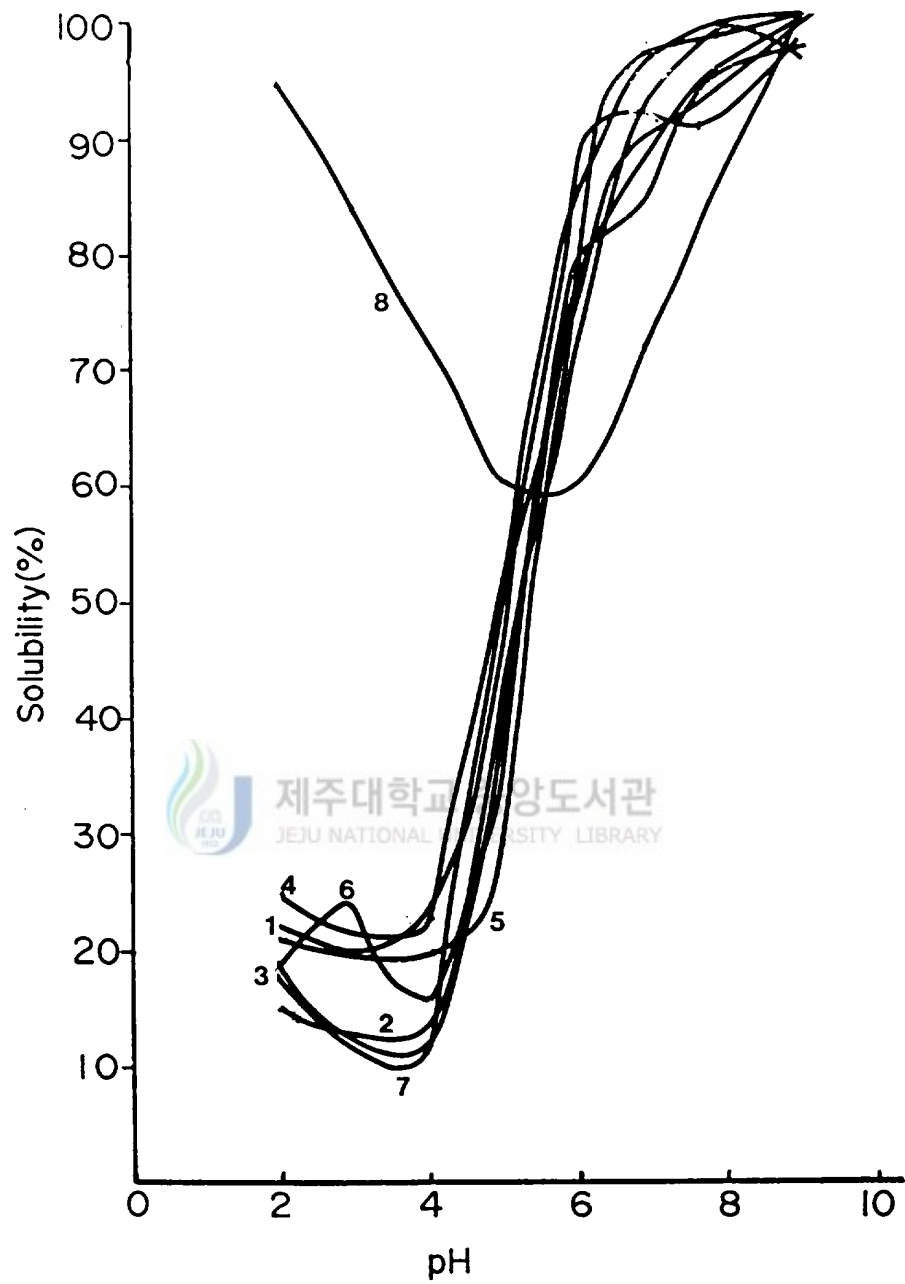


Fig. 10. pH-solubility profiles of rapeseed proteins prepared by different processes.



油菜蛋白質의 動粘度(kinematic viscosity)는 1.02~1.12 centistoke 사이에 있었으며 (Fig. 11) 對照區 및 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 抽出된 蛋白質이 각각 1.10 및 1.12 centistoke로 가장 높았으며, 2회 酸洗滌과 1회 酸洗滌 및 UF(100K) 混用工程인 경우에 각각 1.02 와 1.03 centistoke로 가장 낮은 값을 나타내고 있다. 즉 精製度가 높을 수록 낮은 값을 나타내고 있다. 動粘度는 蛋白質의 水溶液 상태에서 流體力學的인 性質을 나타내는 것으로, 動粘度의 變化는 蛋白質의 立體構造 및 水和力의 變化에 기인하는 것이다(Kella등, 1988). 따라서 본 研究에서 精製度에 따른 粘度의 감소는 不純物의 제거에 따른 水和力의 감소로 생각할 수 있으며 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 얻어진 蛋白質인 경우에는 EDTA에 따른 蛋白質 立體構造의 變化 및 低分子量蛋白質의 제거로 推論할 수 있다.

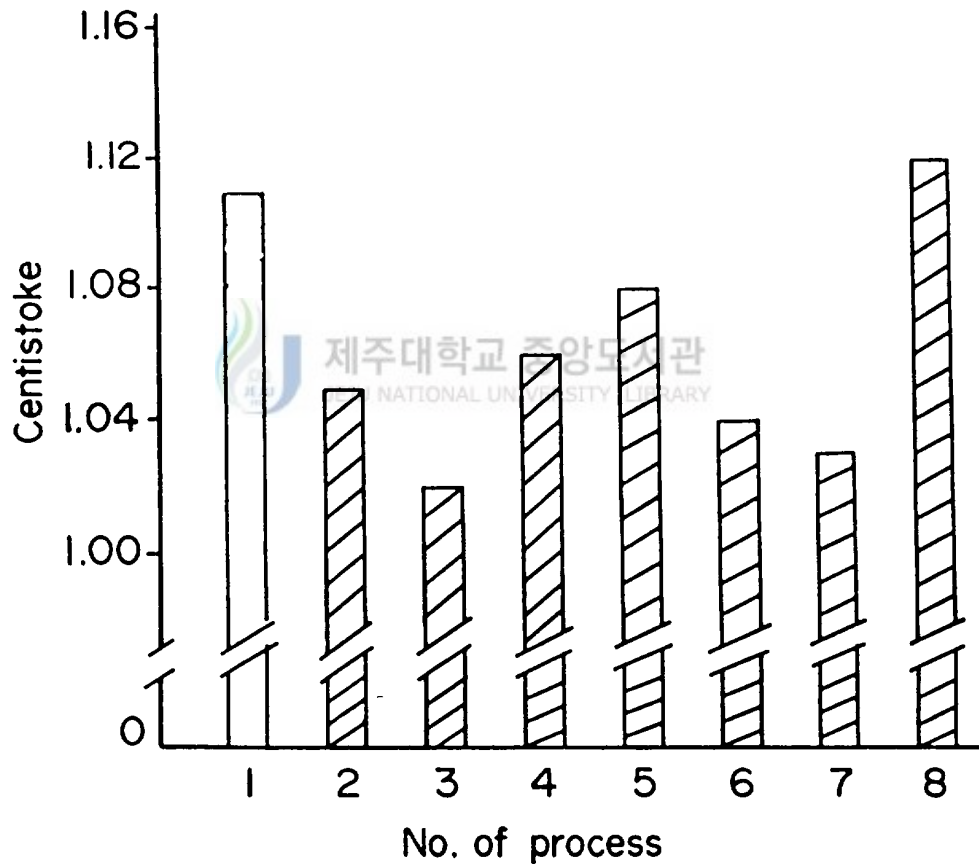


Fig. 11. Kinematic viscosities of rapeseed proteins prepared by different processes measured with 1% solution in distilled water at 25C.

## 9) 表面特性

試料蛋白質에 대한 거품 팽脹성과 거품 안정성을 測定한 결과는 Table 9와 같다. 거품 팽脹성은 8번을 제외한 모든 試料蛋白質에서 150~168%로 거의 비슷한 증가를 나타내었으며 最大値와 最少値의 차이는 5.5ml였다. Dev와 Mukherjee(1986)는 油菜蛋白質의 거품성에 대한 1차적인 결정은 蛋白質의 構造와 立體形態라고 보고하고 있는데 8번의 거품 팽脹성이 178%로 가장 높게 나타낸 것은 EDTA 添加로 인한 蛋白質의 構造 변화에 따른 것으로 推定이 된다. Thompson 등(1982)은 油菜蛋白質이 신선한 卵白의 蛋白質과 비슷한 거품 팽脹성을 갖고 있으며 SHMP는 좋은 거품성을 形成하는데 도움을 준다고 보고하고 있고 3%와 5% 蛋白質溶液을 6분간 高速으로 攪拌했을 때 거품 팽脹성이 각각 628%, 850%로 보고하고 있는데, 본 實驗에서 거품 팽脹성은 試料蛋白質溶液의 濃度(0.1%)와 攪拌시간(30초) 차이로 인한 결과라고 생각된다. 또한 거품 形成能에 影響을 미치는 因子들은 表面張力, 粘度, 液體의 特性 등인데 앞의 動粘度의 결과(Fig. 11)에서 4, 8번 試料의 動粘度가 다른 試料들에 비해서 비교적 높게 나타난 결과와도 관계가 있음을 보여주고 있다. 거품 안정성은 4번(153%), 8번(170%)로 높게 나타났고 그외 다른 試料에서는 1번(135%)과 거의 비슷하였다. 거품 팽脹 시킨 후 1시간 靜置하여 측정된 결과 감소한 거품량은 약 10~20% 정도로서 높은 거품 안정성을 보여주었는데, Thompson 등(1982)은 거품 안정성이 332%로서 약 5%정도의 거품 안정성의 감소를 나타낸다고 보고하고 있어 본 實驗결과와 차이를 보이고 있다.

Table 9. Foaming capacities of the rapessed prepared by different processes

	1	2	3	4	5	6	7	8
Foam expansion(ml)	31	30	32.5	33.5	30.5	32.5	31	35.5
%	155	150	163	168	153	163	155	178
Foam stability <sup>a)</sup> (ml)	27	26.5	27.5	30.5	26	27	27	34
%	135	133	138	153	136	135	135	170

a) Measured at 1 hr after foam expansion measurment.

試料蛋白質에 대한 에멀전 活性指數, 에멀전 安定性, 에멀전 熱安定성을 測定한 결과는 Table 10과 같다. 에멀전 活性指數는 phytate 含量이 낮을 수록 좋은 에멀전 活性指數를 갖

Table 10. Emulsion properties of rapeseed proteins prepared by different processes<sup>a)</sup>

Properties	Treatment <sup>b)</sup>							
	1	2	3	4	5	6	7	8
EAI <sup>c)</sup>	273	222	245	248	253	252	287	187
ES <sup>d)</sup>	3.5	2.6	3.5	3.5	3.4	2.6	3.0	3.6
EHS <sup>e)</sup>	2.7	2.4	2.6	2.5	2.8	2.5	2.6	3.1

a) Calculated by  $m^2/g$ .

b) Numbers of treatment are the same as described in Method.

c) Emulsion activity index.

d) Emulsion stability.

e) Emulsion heat stability.

는데(Dev와 Mukherjee, 1986) 2번에 비하여 3번이, 4번에 비하여 5, 6, 7번의 pyrate 함량이 낮은 결과(Table 3)는 에멀전 活性指數가 2번 보다 3번이 높아진 것과 또한 4, 5, 6, 7번의 순서로 높아진 결과와 關聯이 있는 것으로 나타나고 있어 낮은 함량의 phytate를 지닌 油菜分離蛋白質이 높은 에멀전 活性指數를 갖는 것으로 생각된다. 그러나 8번은 phytate 함량이 가장 적었음에도 에멀전 活性指數가  $187m^2/g$ 으로 가장 낮게 나타난 것은 EDTA 添加로 인한 蛋白質의 構造的인 변화에 의한 것으로 생각이 되나 이에 대한 研究는 앞으로 더 필요할 것으로 여겨지며, 1번의 에멀전 活性指數가  $273m^2/g$ 으로 좀 높게 나타난 것은 다른 工程들에 비해 덜 精製된 不純物들에 의한 影響으로 推定된다. 에멀전 熱安定성은 모든 試料에서 2.4~2.8 정도로 큰 차이를 볼 수 없었으나 8번에서 약간 높았다. 전체적으로 에멀전 活性指數는 모든 試料에서 상당히 높은 값이었으나 에멀전 安定성과 에멀전 熱安定성은 낮은 값이었다. 결국 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 推出된 蛋白質은 理化學的인 성질 및 機能性面에서 1% SHMP溶媒로 抽出한 蛋白質과 상당히 다른 성질을 나타내고 있어 이에 대한 것은 앞으로 더 研究되어야 할 價値가 있다고 생각된다.

#### 10) 칼슘 및 熱凝固性

試料蛋白質들의 칼슘 沈澱성을 測定한 결과는 Fig. 12와 같다. 칼슘 沈澱성은 1번 對照區에

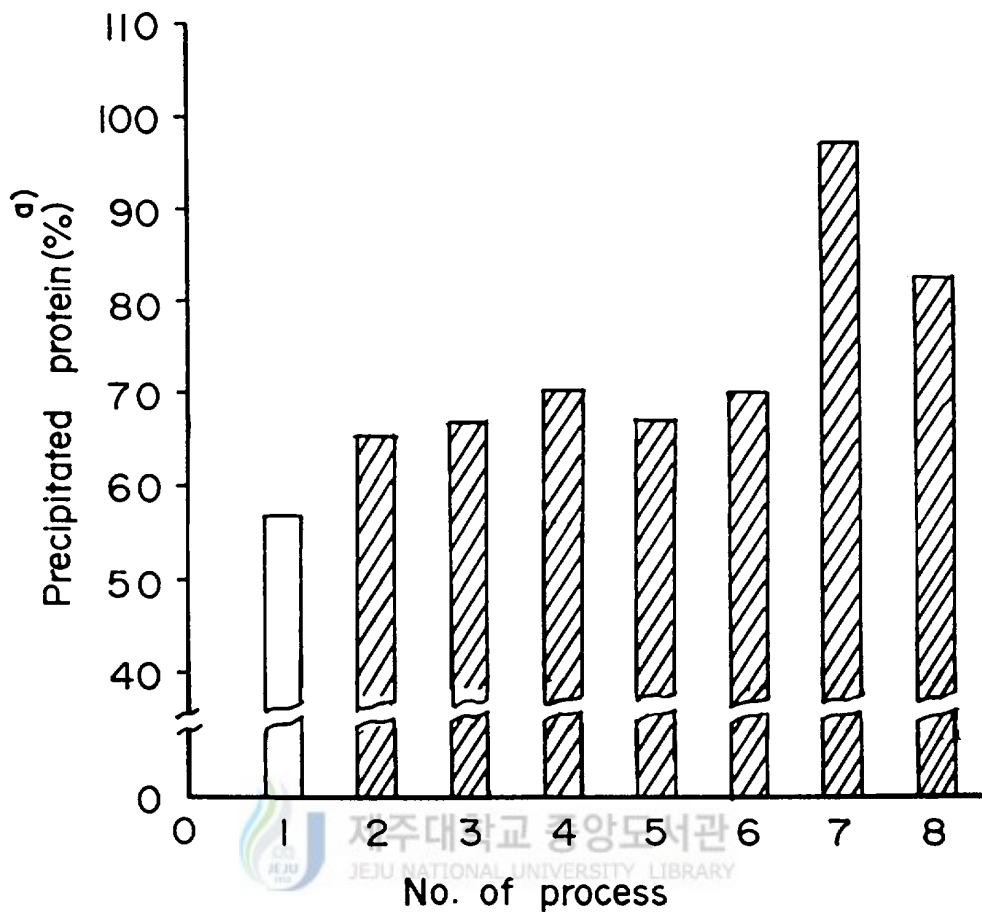


Fig. 12. Properties of calcium precipitation on the rapeseed protein prepared by different processes.

a) % : Precipitated protein from 1% solution of protein/total protein $\times$ 100.

비하여 모든 공에서 높게 나타났으며, 특히 酸洗滌 및 UF(100K) 濃縮處理한 混合公에서 다른 공들에 비하여 약 30% 증가하여 칼슘에 대한 反應性이 민감하였다. 그리고 酸洗滌 보다 비교적 UF濃縮 處理區에서 대부분 칼슘에 대한 反應性이 높은 것은 酸洗滌 보다는 UF處理가 양이온성 物質의 제거에 效果的이라는 사실과 關聯이 있으며 또한 이렇게 칼슘에 대한 反應性이 예민한 蛋白質들은 겔형태의 食品을 만들 때 유용할 것으로 생각된다.

試料蛋白質들에 대한 熱凝固性을 測定한 결과는 Fig. 13과 같다. 8번 공에서 얻은 試料를 제외한 모든 試料들은 1번 對照區에 비하여 감소하였다. 一般的으로 大豆 蛋白質의 熱處理

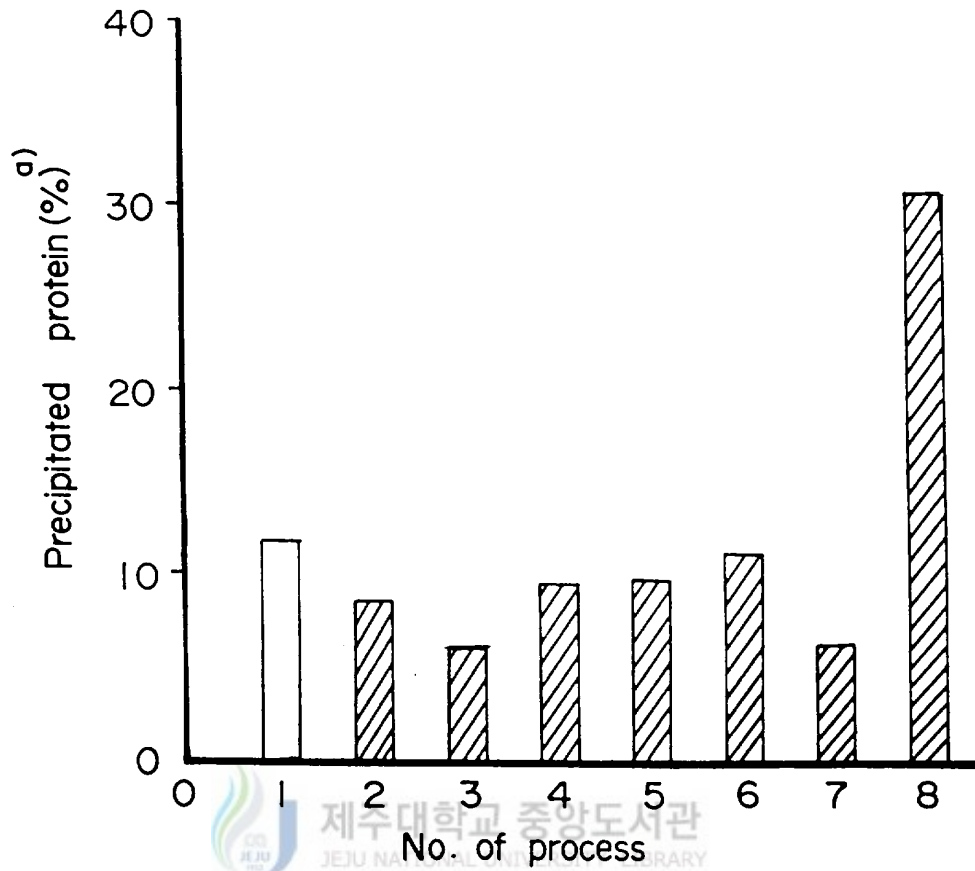


Fig. 13. Properties of heat coagulation on the rapeseed protein prepared by different processes.

a) % : Precipitated protein from 1% solution of protein/total protein $\times$ 100.

특히 濕熱處理時는 蛋白質이 빠르게 不溶化된다(Smith 등, 1978). 그러나 본 實驗에서는 8번 試料를 제외한 모든 試料들에서 熱凝固性이 낮게 나타낸 것은 蛋白質의 熱凝固는 pH, 이온 強度, 加熱溫度, S-S結合 含量 등 여러가지 要因에 의해 影響을 받는데, 특히 熱凝固性和 S-S 結合 形成과는 大豆蛋白質에 있어서는 깊은 관계가 있는 것으로 보고(Kinsella와 Shetty, 1979)되고 있으나 본 研究 결과에는 일치되지 않았다. 즉 總 thiol基 含量(Table 6)이 가장 작은 7번과 8번 試料에서 熱凝固性이 거의 相反되는 결과를 보이고 있다. EDTA 混合溶媒로 얻은 試料인 8번에서 特異하게 熱凝固性이 증가하는 것은 蛋白質 立體構造의 풀림(unfolding)

현상으로 생각되며 강 등(1988)이 酵素處理한 大豆蛋白質의 熱凝固性 증가를 보고한 결과와 비슷한 것으로 생각된다. 그리고 전체적으로 본 實驗에 사용된 油菜蛋白質 試料는 熱凝固性이 10%이하로서 大豆蛋白質의 熱凝固性이 50%인데 비하여 상당히 熱安定性이 좋은 것으로 나타나 熱處理飲料用 蛋白質로 機能性이 좋을 것으로 생각된다.

### 11) 水分 및 油吸收力

試料蛋白質들의 水分 및 油吸收力を 測定한 결과는 Fig. 14, 15와 같다. 水分吸收力은 1번 對照區에 비하여 UF濃縮處理한 工程에서는 큰 차이를 보이지 않았으나, 2회 酸洗滌과 1회 酸洗滌 및 UF(100K) 濃縮處理한 混用工程에서는 낮은 水分吸收력을 나타내었다. 본 實驗에서 水分吸收力은 모든 處理區에서 평균적으로 0.33g/g protein을 나타내고 있어 對照區 보다

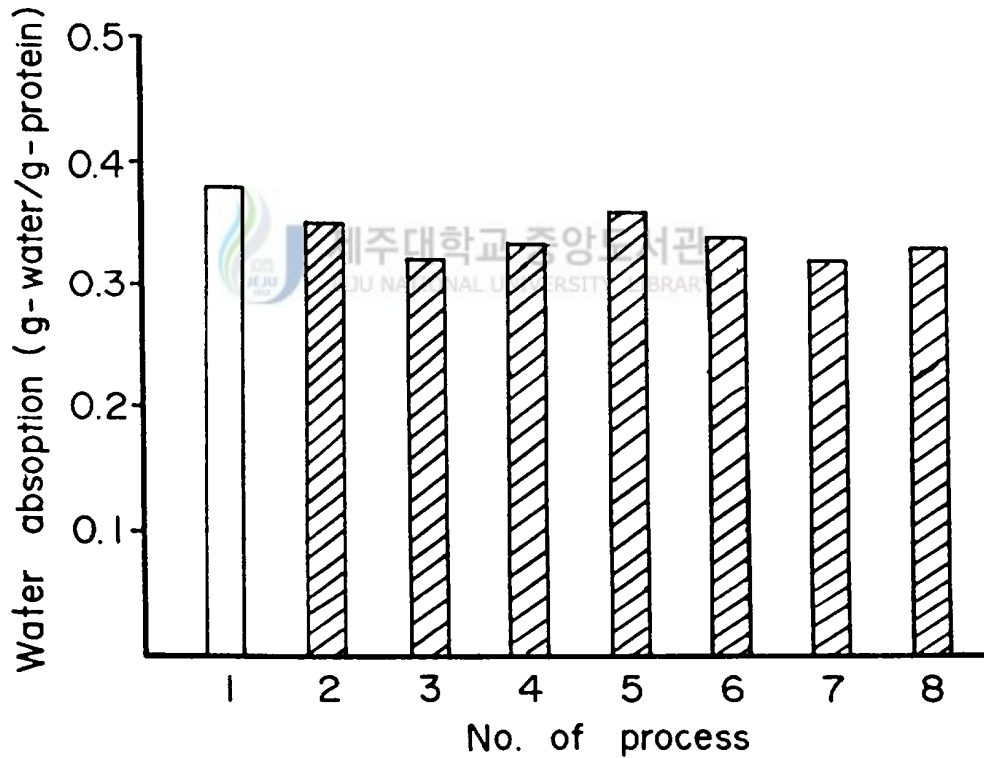


Fig. 14. Properties of water absorption on the rapeseed protein prepared by different processes.

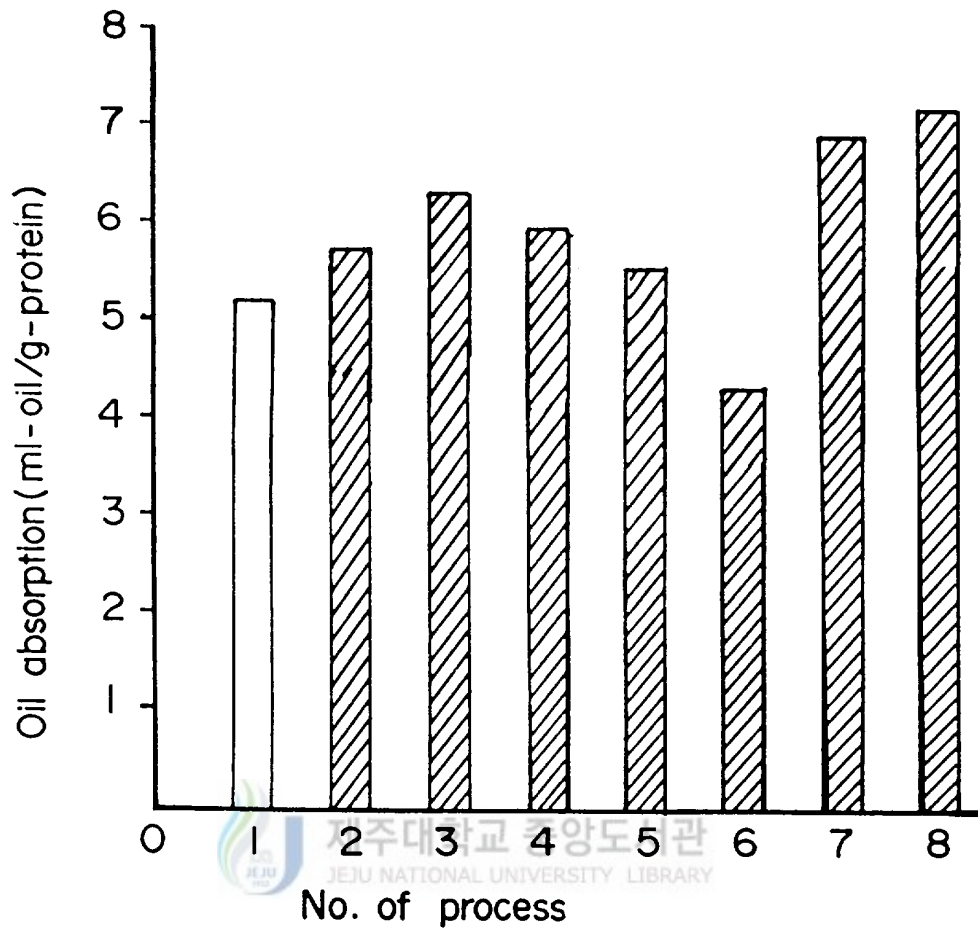


Fig. 15. Properties of oil absorption on the rapeseed protein prepared by different processes.

는 약간 낮았고 大豆分離蛋白質이 평균적으로 水分吸收力이  $0.35g/g$  protein 보다 약간 낮은 값을 나타내고 있다(Kinsella 등, 1985). Hermansson과 Akesson(1975)이 可溶性蛋白質含量이 많을 수록 水分吸收力이 감소한다는 보고와 關聯性이 있으며, Srinivas와 Rao(1986)은 水分吸收力은 蛋白質의 極性 아미노산 殘基에는 크게 影響이 없으나 混在하는 炭水化物들의 성질 차이에 관계가 있다. 그리고 특히 糖質의 量이 적을수록 水分吸收力이 높다고 하였고, 그의 蛋白質의 水分吸收力에 影響을 미치는 因子는 여러가지로서 pH, ion濃度, 蛋白質의 種類, 아미노산의 組成, 炭水化物의 存在, 加工工程 등에 의해서 크게 달라진다고 보고하고 있다.

油吸收力은 5.5~7ml/g protein 모든 工程에서 비슷한 결과를 보이고 있으나, 3, 7, 8번 工程에서 증가하였고 UF濃縮處理한 4, 5, 6번 工程에서는 비교적 적게 증가하였으며, 6번(等電沈澱 후 100K膜 UF濃縮)에서 가장 적은 것으로 나타났다. 油吸收性은 表面疎水性과 에멀전 特性에도 關聯이 있는데 본 實驗에서 表面疎水性(Table 5)이 증가함에 따라 油吸收性도 증가하는 傾向을 보였으나, 表面疎水性이 증가와 에멀전 特性(Table 10)은 7번 工程에서만 일치함을 보여주고 있으며, 그외 다른 工程에서는 뚜렷한 관계를 나타내지 않았다.

油吸收力에 대한 기작은 다른 機能性들에 비해 많이 研究되어 있지 않아서 충분한 설명을 할 수 없지만 Kinsella 등(1979)은 油를 物理적으로 捕獲하는 機作을 油吸收라고 설명하고 있다. 이런 油吸收力은 食品에 있어서 香味를 保存해 주고 입속에서의 감촉을 좋게 해주는 食品의 機能性 중의 하나이다.



## 要 約

國內産 *Brassica napus*, var. *Youngsan*種 油菜粕蛋白質의 抽出條件 및 精製效果를 검토하였고, 精製蛋白質의 理學論的 性質과 食品學的 機能性を 조사하였다.

抽出은 pH 8.0에서 1% SHMP(sodium hexametaphosphate) 溶媒로 하는 것이 우수하였다.

蛋白質含量과 收率은 2회 酸洗滌의 경우 각각 75.3%와 37.1%이었고, 1회 酸洗滌과 UF(100K)濃縮混用工程인 경우는 각각 72.4%와 42.1%였으나, 精製效果 면에서는 2회 酸洗滌工程과 混用工程이 모두 좋았다. 蛋白質收率과 glucosinolate 및 phytate 除去效果를 고려할 때 抽出蛋白質을 等電沈澱(pH 3.5)시키고 1회 酸洗滌한 후 UF(100K)濃縮處理하는 混用工程이 效果의 이었다.

각 工程別로 얻어진 油菜蛋白質의 UV 및 固有螢光 스펙트럼은 각각 280nm, 345nm에서 最大吸收值를 나타내었으나, 1% SHMP와 0.25M EDTA 混合溶媒로 抽出한 蛋白質에서는 약간의 blue shift가 일어났고, 相對螢光값도 상당히 높았다.

酸洗滌, UF濃縮, 酸洗滌 및 UF(100K)濃縮混用工程 순으로 黃色度는 점차 改善되었고 表面疎水性도 증가하였다.

SDS-PAGE 分析결과 9개의 band가 나타났으며 상당부분이  $1.96\sim 1.59\times 10^4$  dalton, 나머지는  $3.25\sim 2.48\times 10^4$  dalton 分子量을 가진 band로 構成되었고 EDTA 混合溶媒로 抽出한 蛋白質에서는 低分子量 band가 거의 나타나지 않았다.

아미노산 含量은 等電沈澱만 시킨 對照區에 비하여 모든 處理區에서 약간씩 높았으나 EDTA 混合溶媒로 抽出한 蛋白質에서는 전체적으로 상당히 낮았다.

EDTA 混合溶媒로 抽出한 蛋白質에서의 溶解度가 가장 높았고 1% SHMP 溶媒로 抽出한 蛋白質의 경우와 매우 다르게 나타났으며, 動粘度는 精製가 잘 될수록 낮은 값이었다. 거품성은 工程에 따른 차이는 거의 없었고 에멀전 活性指數는 精製 정도에 따라 대체로 증가하였으나 EDTA 混合溶媒로 抽出한 蛋白質에서는 상당히 낮았다.

칼슘 沈澱性は 對照區보다 다른 모든 處理區가 약간씩 높았고 1회 酸洗滌 및 UF(100K)濃縮混用處理區는 약 30% 높아 칼슘에 대한 反應성이 민감하였다.

熱凝固性は EDTA 處理區만 높았고 나머지 모든 處理區에서 상당히 낮은 값으로서 熱安定

성이 높게 나타났다.

水分吸收力은 對照區 이외의 處理區에서 평균적으로 0.33g/g protein으로 큰 차이가 없었으며 油吸收力은 5.5~7ml/g protein으로 對照區 보다 약간씩 증가하였다.

## 參 考 文 獻

- Aman, P. and L. Gillberg. 1977. Preparation of rapeseed protein isolates : A study of the distribution of carbohydrates in the preparation of rapeseed protein isolates. *J. Food Sci.*, 42. 1114~1116.
- Anderson, G. H., G.S.K. Li., J.D. Jones and F.Bender. 1974. Effect of hydrogen peroxide treatment on the nutritional quality of rapeseed flour fed to Weanling rats. *Food Research institute.*, 223. 317~325.
- A. O. A. C. 1980 "Official Methods of Analysis", 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.
- Appleqvist, L. A. and E. Josefson. 1967. Method of quantitative determination of isothiocyanates and oxazolidinethiones in digests of seed meal of rape and turnip rape. *J. Sci. Food Agr.*, 18. 510~519.
- Ballester, D., R. Rodrigo, J. Nakouzi, C.C. Chichester, E. Yanez and F. Monckeberg. 1970. Rapeseed meal. 3. A simple method for detoxification. *J. Sci. Food Agric.*, 21. 143~144.
- Belzile, R. J. and J. M. Bell. 1966. Growth--Depressing factors in rapeseed oil meal, VII. Effect of myrosinase activity on toxicity following treatment with buffered solution. *Can. J. Animal Sci.*, 46. 165~172.
- Bhatty, R. S. and F. W. Sosulski. 1972. Diffusion extraction of rapeseed glucosinolate with etanolic sodium hydroxide. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 49. 346~350.
- Brooks, J. R. and C. V. Morr. 1982. Pytate removal from soy protein isolates using ion exchange processing treatments. *J. Food Sci.*, 47. 1280~1282.
- Brooks, J. R. and C. V. Morr. 1985. Effect of phytate removal treatments upon the molecular weight and subunit composition of major soy protein fractions. *Am. Chem. Soc.*, 33. 1128~1222.

- Clandinin, D.R. and A.R. Robblee. J. 1981. Rapeseed meal in animal nutrition : 2 Nonuminat animals. J. AOCS., 682~686.
- Dev, D.K. and K.D. Mukherjee. 1986. Functional properties of rapeseed protein products with varying phytic acid contents. J. Agric. Food Chem., 34. 775~780.
- Diosady, L.L., Y.M. Tzeng and L.J. Rubin. 1984. Preparation of rapeseed protein concentrates and isolates using ultrafiltration. J. Food Sci., 49. 768~770.
- Diosady, L.L., Naczak, M. and L.J. Rubin. 1985. The effect of ammonia concentration on the properties of canola meals produced by the ammonia-methanol/hexane extraction system. Food Chem., 18. 121~130.
- Eapen, K.E., N.W. Tape, and R.P.A. Sims. 1969. New process for the production of better quality rapeseed oil and meal, II. Detoxification and dehulling of rapeseeds-Feasibility Study. JAOCS., 46. 52~58.
- Eklund, A., G. Agren and T. Langer. 1971. Rapeseed protein fractions. I. -Preparation of a detoxified lipid-protein concentrate from rapeseed by a water-ethanol extraction method. J. Sci. Food Agric. 22. 650~652.
- Elfving, S. 1980. Studies on the naturally occurring goitrogen 5-vinyl-2-thiooxazol-idine. Ann. Clin. Res., 23. 1~47.
- El Nocrashy, A.S., K.D. Mukgejee and H.K. Mangold. 1977. Rapeseed protein isolates by countercurrent extraction and isoelectric pricipitation. J. Agric. Food Chem. 25. 193~197.
- El Nocrashy, A.S., M. Kiewitt, H.K. Mangold and K.D. Mukhejee. 1975. Nutritive value of rapeseed meals and rapeseed protein isolate. Nutr. Metab., 19. 145~152.
- Erdman, J.W. Jr. 1979. Oilseed Phytates : Nutritional implications. Am. Oil. Chem. Soc. 56. 736~741.
- Finlayson, A.J. 1977. Meal and By-product utilization. pp.124. In Rapeseed Oil(ed.

- Bell, J.H. publ. 45, Rape.). ASSOC. of Canada, Winnipeg.
- Friedman, M. 1979. Alkali-Induced lysinoalanine formation in structurally difference proteins. pp. 225~235. In functionality and protein structure. A. pour-El ed. ACS sym. Ser. 92. Washington D.C.
- Girault, A. 1973. The study of some properties of rapeseed protein with a view to protein concentrate production. J. Sci. Food Agric., 24. 509~518.
- Gururaj Rao, A., M. Kantharaj Urs and M.S.Narasinga Rao. 1978. Studies on the proteins of mustard seed(B. Juncea). Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 11. 155~161.
- Gururaj Rao, A. and M.S.Narasinga Rao. 1981. Comparative study of the high molecular weight protein fraction of mustard(B. juncea) and rapeseed(B. campestris) Int. J. Peptide protein Res., 18. 154~161.
- Hartman, G.H. 1979. Removal of phytate from soy protein. J. Am. Oil Chem., 56. 731~735.
- 허재욱, 양차범. 1986. 한국산 평지종실 단백질의 phytate 제거에 관한 연구: 제1보. 평지종실 단백질과 phytate의 용해도에 대한 pH와 염류의 영향. 한국농화학회지., 29. 212~218.
- Hermansson, A.M. and C. Akesson. 1975, Functional properties of added proteins correlated with properties of meat system: Effect of various parameters. J. Food Sci., 40. 595.
- How, J.S.L. and C.V.Morr. 1982. Removal of phenolic compounds from soy protein extracts using activated carbon. J. Food Sci., 47. 933~940.
- Hsu, H.W., D.L. Vavak., L.S. Satterlee and G.A. Miller. 1977. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. J. Food Sci., 42. 1269.
- Itzhaki, R.E. and D.M.Gill. 1964. A micro-biuret method for estimating proteins. Anal. Biochem., 9. 401~410.
- 강동섭, 이장순, 강영주. 1990. 품종별 유채박 단백질의 추출에 관한 연구. 한국영양식량학

회지., 19. 315~320.

姜永周. 1985. 大豆分離蛋白質, 7S 및 11S 蛋白質 機能性的 酵素的 修飾. 釜山大學院 博士學位論文

강영주, 이기춘, 박영호. 1988. 大豆 7S 및 11S 蛋白質의 機能성에 대한 酵素的 加水分解의 効果. 한국식품과학회지., 20. 344~349.

Kella, N. K. D., Y. J. Kang and J. E. Kinsella. 1988. Effect of oxidative sulfitolysis of desulfide bond of bovine serum albumin on its structural properties; A physicochemical study. J. Protein Chemistry., 7. 535~548.

Khan, N. R. Z. and M. Elahi. 1986. Effect of processing on the phytic acid content of wheat products. J. Agric. Food Chem., 34. 1010~1012.

金仁淑, 權泰鳳, 吳成基. 1988. 발아에 의한 유채의 glucosinolate 및 유리당 함량의 변화에 관한 연구. 한국식품과학회지., 20. 194~199.

Kinsella, J. E. 1982. Relationship properties of food proteins. pp.51~103. In Food Proteins, Fox, P. F. and J. J. Condon(ed. Applied Science Publishers). New York.

Kinsella, J. E. and K. J. Shetty. 1979. Chemical modification for improving functional properties of plant and yeast proteins. pp.37~65. In Functionality and protein structure(ed. Akiva Pour-EL). ACS Symp. Ser., 92.

Kinsella, J. E., S. Damodaran and B. German. 1985. Physicochemical and functional properties of oilseed proteins with emphasis on soy proteins. New protein Food., 5. 124~127.

Kozłowska, H., M. A. Sabir and F. W. Sosulski. 1975. Phenolic constituents in rapeseed flour. Can. inst. Food Sci. Technol. J., 8. 160~163.

Kramer, A. and W. H. Kwee. 1977. Functional and nutritional properties of tomato protein concentrates. J. Food Sci., 42. 207~211.

Lawhon, J. T., L. J. Manak and E. W. Lusas. 1980. An improved process for isolation of glandless cottonseed protein using industrial membrane system. J. Food

Sci., 45. 197~201.

- Lee, J.I., Bang, J.K., Kwon, B.S. and Min, K.S. 1984. Breeding for improvement of glucosinolate content in feed utilizability of rapeseed meal, I. Glucosinolate content in rapeseed varieties by different origine. Kor. J. Breeding., 16. 171~180.
- Matil, K.F. 1971. The functional requirements of proteins for foods. J. Am. Oil Chem. Soc., 48. 477~480.
- Murthy, N.V.K.K. and M.S. Narasinga Rao. 1986. Interaction of allyl isothiocyanate with mustard 12S protein. J. Agric. Food Chem., 34. 448~452.
- Maczk, M., L.L. Diosady. and L.J. Rubin. 1985. Functional properties of canola meals produced by a two-phase solvent extraction system. J. Food Sci., 50. 1685~1688.
- Nakai, S. and W.D. Powrie. 1981. Modification of proteins for functional and nutritional improvements. pp.217~242. In Cereals—A Renewable Resource, Theory and practice (eds. Pomeranz, Y and L. Munck). Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, Minnesota.
- 長島善次, 内山正昭. 1958. Myrosinase に關する研究 (第1報) Myrosinase と Thioglucosidase 分別の試み及び兩酵素の活性度の測定法, 農化學, 日本, 33. 478.
- Ohlson, R. and R. Sepp. 1975. pp.65~82. In Food protein sources, (ed. Pirie, N.W.). Cambridge University Press, Cambridge.
- Omosaiye, O. and M. Cheryan. 1979. Low-phytate, Full-fat soy protein products by ultrafiltration of aqueous extracts of whole soybeans. Cereal Chem., 56. 58~62.
- Owen, D.F. and C.O. Chichester. 1971. A process for producing non-toxic rapeseed protein isolate and an acceptable feed by-product. Cereal Chem., 48. 91~96.
- Pearce, K.N. and J.K. Kinsella. 1978. Emulsifying properties of proteins: evaluation of

- a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.*, 26. 716.
- Reynolds, J.R. and C.G. Youngs. 1964. Effect of seed preparation on efficiency and oil quality in filtration extraction of rapeseed. *J. Am. Oil Chem. SOC.*, 41. 63~65.
- Rutkowski, A. 1970. Effect of processing on the chemical composition of rapeseed meal. pp.496. In *Proc. Int. Conf. Science, Technology and Marketing of rapeseed and rapeseed products*, Quebec, Canada.
- Sarwar, G., D.W.F. Shannon. and J.P. Bowland. 1975. Effect of processing conditions on the availability of amino acids in soybeans and rapeseed proteins when fed to rats. *J. Inst. Sci. technol. Aliment.*, 8. 137~141.
- Sarwar, G., D.W.F. Shanmon. and J.P. Bowland. 1985. Effect of processing conditions on the availability of amino acids in soybean and rapeseed proteins when fed to rats. *J. Inst. Can. Sci. Thecnol., aliment*, 8. 137~141.
- Sathe, S.K. and D.K. Salunkhe. 1981. Functional properties of the Great Northern Bean(*Phaseolus Vulgaris L.*) proteins: Emulsion, Foaming, Viscosity and Gelation properties. *J. Food Sci.*, 46. 71.
- Schmid. F.X. 1989. Spectral method of characterizing protein conformation and conformational changes. pp.251~276. In "Protein structure"(ed. T.E. Creighton. IRL Press).
- Schwenke, K.D., B. Raab., J. Uhlig., H. Tkocz., J. Behlke., M.Boettger. and U. Freimuth. 1973. Seed proteins III. Isolation and characterization of albumins from sunflower seed and rapeseed. *Nahrung.*, 17. 791~89.
- Serraino, M.R. and L.U. Thompson. 1984. Removal of phytic acid and protein phytic acid interaction in rapeseed. *J. Agric. Food Chem.*, 32. 38~40.
- Smith, A.K. and S.J. Circle. 1978. *Soybeans : Chemistry and technology*. pp.294~338. AVI Publishing Co., Westport, CT.
- Sosulski, F.W. E.S. Humbert., K. Bui. J.D. Jones. 1976. Functional properties of



- rapeseed flour concentrates and isolate. J. Food Sci., 41. 1349~1352.
- Sosulski, F.W. 1983. Rapeseed protein for food use. pp. 109~132. In Development in food protein-2(ed. Hudson, R.J.) Elsevier Applied Science, New York. U.S.A.
- Sosulski, F.W. and K.J. Dabrowski. 1984. Determination of glucosinolates in canola meal and protein products by desulfation and capillary gas-liquid chromatography. J. Agric. Food Chem., 32. 1172~1179.
- Srinivas, H. and M.S. Narasinga Rao. 1986. Functional properties of poppy seed meal. J. Agric. Food Chem., 34. 222~224.
- Srivastave, V.K. and D.C. Hill. 1974. Glucosinolate hydrolytic products given by sinapis alba and brassica napus thioglucosidases. Phytochem., 13. 1043~1046.
- Thompson, L.U., E. Reyes and J.D. Jones. 1982. Modification of the sodium hexametaphosphate extraction-precipitation technique of rapeseed protein concentrate preparation. J. Food Sci., 47. 982~988.
- Thompson, L.U., P. Allum-Poon and C. Procope. 1976. Isolation of rapeseed using sodium hexametaphosphate. J. Inst. Can. Technol. Aliment., 9. 15~19.
- Thompson, L.U., R.F.K. Liu and J.D. Jones. 1982. Functional properties and food applications of rapeseed protein concentrate. J. Food Sci., 47. 1175~1180.
- Toro-Vazquez, J.F. and J.M. Rengenstein. 1989. Physicochemical parameters of protein additives and their emulsifying properties. J. Food Sci., 54. 1177~1185.
- Tzeng, Y.M., L. Diosady and L.J. Rubin. 1988. Preparation of rapeseed protein isolate by sodium hexametaphosphate extraction, ultrafiltration, diafiltration and ion-exchange. J. Food Sci., 53. 1537~1541.
- Van Etten, C.H., M.E. Daxonbicher and I.A. Wolff. 1969. Natural glucosinolates in foods and feeds. J. Agric. Food Chem., 17. 483~491.
- Venkatesh, A. and A.G. Appu Rao. 1988. Isolation and characterization of low molecular weight protein from mustard (*Brassica juncea*). J. Agric. Food

- Chem., 36. 1150~1155.
- Vermoral, M. 1988. Antinutritional effects of the rapeseed meals, Darmor and Jet neuf, progoitrin together with myrosinase, in the growing rat. J. Sci. Food Agric., 44. 321~334.
- Von Bockelmann, I.V., P. Dejmek, G. Eriksoon and B. Hallstron. 1977. Potential applications in food processing, pp. 445~478. In reverse osmosis and synthetic membrances, (ed. Sourirajan, S.) National Reseach Council of Canada, Publication No, NRCC 15627.
- Wetter, L.R. and C.G. Youngs. 1976. A thiourea-UV assay for total glucosinolate content in rapeseed meals. JAOCS., 44. 162~164.
- Wheeller, E.L. and R.E. Ferrel. 1971. A method for phytic acid determination in wheat and fraction., 8. 312.
- Yang, C.I., J.S. Koh. and K.S. Kim. 1978. Protein isolates from rapeseed countcurrent extraction and isoelectric precipitation. Korean J. Food Sci. Technol., 10. 162~172.





제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

## 謝 辭

本 研究 遂行에 있어 實驗設計에서부터 論文作成에 이르기까지 모든 實驗與件을 마련해 주시고 始終 아낌없이 指導하여 주신 指導教授 姜永周 博士님께 衷心으로 깊은 感謝를 드립니다.

本 論文을 審査하여 주신 朴榮浩教授님, 尹彰焄教授님, 宋大鎮教授님, 金洙賢教授님께도 感謝드리오며, 항상 끊임없는 指導와 激勵로 이끌어 주신 河旻恒教授님, 金在河教授님, 高榮煥教授님께도 深甚한 感謝를 드립니다.

또한 처음부터 實驗遂行에 同參하여 수고해 주신 大學院 康東燮, 康正煥學友와 濟州大學校 食品工學科 食品加工實驗室 여러분들께도 感謝드립니다.

資料의 蒐集과 整理에 協助해 주신 럭키중앙연구소 吳憲承博士님, 金孝宜先生님과 그의 여려가지로 論文完成에 協助해 주신 金亨玟教授님과 濟州專門大學 食品營養科教授님들께도 謝意를 표합니다.

그리고 저에게 이 일을 시작할수 있도록 하셨으며 勇氣를 잃지 않도록 해 주신 어머님과 어려운 時期를 함께 忍耐해 준 아내와 炫宜, 炫周, 宗燁, 承協에게 진심으로 感謝를 드립니다.

끝으로 本 研究遂行에 研究費를 提供하여 支援해 주신 韓國科學財團에 깊은 謝意를 드립니다.