

품종별 유채박 단백질의 추출에 관한 연구

강동섭 · 이장순* · 강영주

제주대학교 식품공학과

*제주전문대학 식품영양과

Studies on the Extraction of Rapeseed Protein from Some Species

Dong-Sub Kang, Jang-Soon Lee*, and Yeung-Joo Kang

Dept. Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju, 690-756, Korea.

*Dept. Food and Nutrition, Cheju Junior College, Cheju, 690-140, Korea.

Abstract

Studies on protein and antinutritional factors of rapeseeds are necessary for effective utilization of defatted rapeseed meal. Proteins were extracted from seeds of several species of rapeseeds and analyzed by SDS-PAGE, and the contents of glucosinolate and phytate were determined. One percent solution extraction, and extraction yield was relatively higher for *B. campestris* and *B. juncea* than for other species. SDS-PAGE revealed that rapeseeds of most species were rich in low molecular weight proteins, and that, in particular, the proteins of *B. napus* var. Halla and *B. juncea* were composed of simpler subunits as compared with other species. The content of glucosinolate was around 10mg/g of defatted meal for *B. juncea*, however, for var. Halla it was 7.26mg/g of defatted meal and 0.46mg/g of protein concentrate, which were the lowest values. The level of phytate was between 2.7 and 4.6% for all species tested. Our results indicate that *B. napus* var. Halla is the desired species for the utilization of rapeseed proteins.

서론

십자화과에 속하는 유채는 북구와 온대 지역에서 식용유 원료로 널리 이용되고 있는데 탈지 유채박중에는 약 60%의 단백질을 함유하고 있어 인간과 동물의 단백질 공급원으로서 구성 아미노산이 유종실중 유채실이 가장 우수하고 특히 식물성단백질에 부족하기 쉬운 함황아미노산 함량이 많은 단백질원으로 알려져 있다¹⁾.

그러나 유채박에서 단백질을 추출할 때 수반되는 glucosinolate가 비반추동물의 성장과 생리적

기능에 독작용이 있어 유채박 단백질의 이용에 문제점으로 제기되어져 왔으며²⁾, phytate도 무기성분과 염을 형성하여 단백질 이용과 영양적 가치를 저하시키고 있다³⁾.

제주지역에서 재배되고 있는 유채는 식용유 자원 및 꿀자원으로 중요한 농산물이며 현재 주로 유기질 비료로 이용되고 있는 유채박을 단백질 자원으로 이용할 수 있는 방안을 모색하고 유채실의 이용성을 높이기 위한 기초자료를 얻고자 품종별로 분류하여 추출조건에 따른 단백질, glucosinolate, phytate 함량 등을 검토하였다.

재료 및 방법

재 료

본대학 농학과에서 제주도산 품종중 *Brassica napus*(Youngsan), *Brassica campestris*, *Brassica juncea*를 분리하여 재배된 유채실과 신포종인 *Brassica napus*(Halla)를 농촌진흥원에서 분양받아 시료로 사용하였다. 유채실은 마쇄한 후 사별과 풍력을 이용하여 껍질을 제거한 다음 실온에서 n-hexane을 사용하여 탈지한 후 풍건에 의하여 나머지 n-hexane을 제거하고 40mesh로 분말화하여 탈지박분을 제조하였다.

실험 방법

단백질의 추출

탈지된 유채박을 Thompson등⁴⁾의 방법에 따라 1% SHMP(sodium hexametaphosphate, w/v, pH 6.9) 용액을 사용하여 2회에 걸쳐 추출한 후 2N HCl용액으로 침전시키고 원심분리한 다음 침전물을 증류수로 두번 수세한 후 진공동결건조하는 공정은 Fig. 1과 같다.

유채박 및 추출단백질의 일반성분

유채실의 수분과 지방정량은 AOAC⁵⁾의 방법에 따라 실시하였으며 유채박과 추출단백질의 함량은 micro Kjeldahl(AOAC)방법을 사용하였다.

Glucosinolate 및 phytate의 정량

Glucosinolate는 Wetter와 Young⁶⁾의 방법에 따라 유채박과 추출단백질에 함유하는 총 isothiocyanate와 5-vinyl-OZT량을 측정하였다.

Phytate의 함량은 Wheller와 Ferrel⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다.

SDS-PAGE 분석

단백질의 전기영동 분석은 강⁸⁾의 방법에 따라 10% gel을 사용하여 실시하였다.

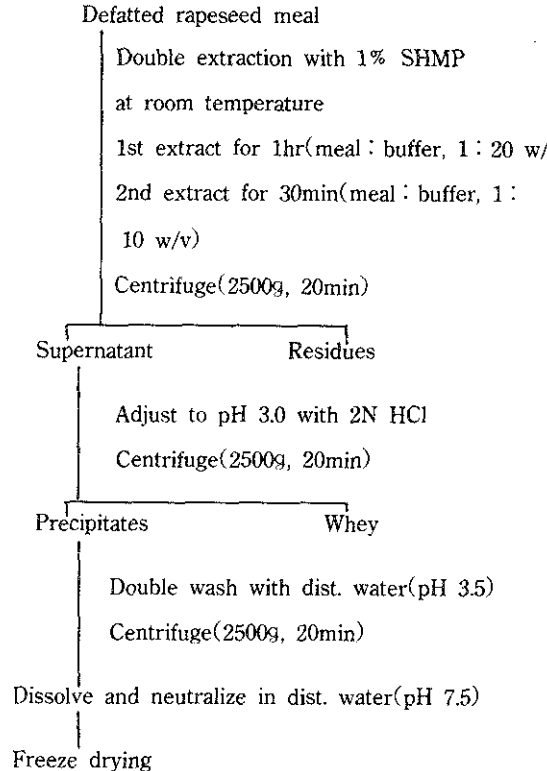


Fig. 1. Preparation of rapeseed protein concentrates

결과 및 고찰

유채단백질의 추출율 및 단백질함량

유채는 품종에 따라 성분조성에 있어서 차이를 보이고 있는데(Table 1) 22~26%의 조단백질, 37~46% 조지방으로, 제주도에서 주로 재배되는 *B. napus*(Youngsan) 품종은 조지방 함량이 타 품종에 비해 높아서 식용유원으로 적당하며, 단백질 함량은 *B. juncea* 품종이 26%로 가장 높게 나타났으며 단백질 함량과 지방 함량과는 역상관 관계를 나타내는 것으로 조사되었다. 또한 탈지유채박도 39~45%의 단백질 함량을 나타내었는데, *B. juncea* 품종이 45%로 가장 높은 함량을 나타내어 단백질원으로 적합한 것으로 생각되며 이 함량은 Sosulski⁹⁾가 보고한 40%의 함량과 비슷하다.

Table 1. Composition of rapeseeds
(%, dry basis)

Species	Crude protein	Crude fat
<i>B. napus</i> (Youngsan)	22	45.8
<i>B. napus</i> (Halla)	23	42.5
<i>B. campestris</i>	25	40.6
<i>B. juncea</i>	26	37.2

Table 2. Extraction yields of rapeseed proteins fractionated with SHMP buffer^{a,b}
(%, dry basis)

Species	SHMP(%)	Ppt protein ^c	Residue	Whey
<i>B. napus</i> (Youngsan)	0.1	51.8	30.6	12.8
	0.5	58.4	28.0	10.1
	1.0	63.1	23.2	10.3
<i>B. napus</i> (Halla)	2.0	52.4	28.2	15.4
	0.1	51.9	30.3	12.8
	0.5	53.2	30.8	11.1
<i>B. napus</i> (Halla)	1.0	64.8	21.8	10.1
	2.0	51.5	26.5	18.2
	0.1	51.0	31.5	12.6
<i>B. campestris</i>	0.5	55.2	30.1	11.5
	1.0	62.3	20.5	13.2
	2.0	56.2	23.5	16.5
<i>B. juncea</i>	0.1	52.1	31.2	12.3
	0.5	53.7	30.4	12.5
	1.0	61.4	21.6	13.3
	2.0	51.1	27.4	16.8

a : Calculated from N×6.25

b : Calculated for 100g of defatted meal

c : Proteins precipitated by acid(pH 3.5) without washing after extraction.

추출용매인 SHMP원추액의 농도에 따른 단백질 추출율의 변화는 Table 2에 나타내었다.

2회 추출 후 pH 3.5에서 침전되는 단백질 함량은 SHMP농도가 1%까지는 증가하였지만 2%인 경우에는 오히려 감소하였다. 즉 저농도의 SHMP인 경우는 추출이 잘되지 않아서 잔사에 남는 단백

질량이 많으며 고농도인 2%인 경우는 추출은 되지만 whey로 남아서 pH 3.5에서 침전하는 단백질량이 적어지는 경향을 나타내었다. 이는 고농도의 SHMP가 이온강도에 영향을 주고 이러한 조건하에서 추출한 단백질의 구조적 변화가 유도되어 용해도를 증가시킨 결과로 해석된다.

결과적으로 본 실험조건에서는 SHMP농도가 1%인 경우 가장 좋은 추출효과를 나타내었으며 품종별로 큰 차이는 없었으나 Halla종이 64.8%로 가장 높은 추출율을 나타내었다. 특히 1% SHMP에서 얻어진 추출수율인 60%는 다른 유채박 단백질 추출실험 결과들¹⁰⁻¹²⁾이 보고한 38~58% 보다는 높았으며 단지 El Nockrashy등¹³⁾의 역류 추출방법에 의해 알카리 추출을 행한 결과인 94% 보다는 낮았다.

추출된 단백질을 pH 3.5에서 침전 후 그대로 동결건조시킨 것과 침전 후 다시 pH 3.5로 조정된 증류수에 현탁하여 2회 세척한 경우(Table 3), 단백질 함량은 5~10%가 증가하였으며 품종별로는 *B. juncea*종이 거의 85%가 되어 분리대두 단백질과 비슷한 함량이 되었다. 물론 이는 현탁하는 방법에 따라 상당히 변화 가능한 값으로 생각되기 때문에 세척방법에 따른 단백질 손실율과 공정의 단순화등에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

Table 3. Effect of double washing on protein contents of rapeseed protein extracted with 1% SHMP buffer
(%, dry basis)

Species	Contents of protein	
	No washing ^a	Double washing ^b
<i>B. napus</i> (Youngsan)	72.7	76.6
<i>B. napus</i> (Halla)	72.3	77.5
<i>B. campestris</i>	74.2	83.4
<i>B. juncea</i>	76.2	84.2

a : Protein precipitated at pH 3.5 without washing after extraction.

b : Protein washed twice with distilled water(pH 3.5).

유채단백질의 전기영동분석 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 일반적으로 4~5개 band로 분리되었으며 주band는 분자량이 22,000(9번)으로 대부분 분자량이 37,000~12,000인 저분자량 단백질들이었다.

품종별로는 Youngsan품종과 같은 Halla품종이 subunit(7번)가 거의 나타나고 있지 않으며 *B. juncea* 품종에서는 다른 품종들과 다른 분자량 42,000인 subunit가 나타났다.

따라서 유채단백질은 분자량이 적은 단백질의 주를 이룬다는 보고¹⁴⁾와 비슷한 경향을 나타냈으며 분석방법에 따라 10번 subunit가 거의 없는 보고¹⁵⁾도 있다.

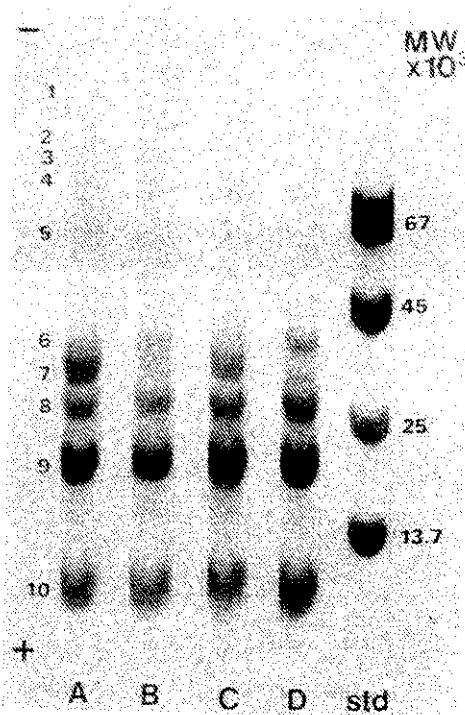


Fig. 2. SDS-PAGE patterns of rapeseed protein concentrates.

- A : *B. napus* (Youngsan)
- B : *B. napus* (Halla)
- C : *B. campestris*
- D : *B. juncea*

분리유채단백질의 glucosinolate 및 phytate 함량

제주도산 유채품종별 glucosinolate 함량은 Table 4와 같다. 대체로 유채박에는 glucosinolate 함량이 높게 나타나고 있는데 단백질 함량이 가장 우수한 *B. juncea*는 10.34mg/g으로서 Clandinin²⁾이 보고한 Canada의 고glucosinolate 품종이 6.3~8.5mg/g보다 높게 조사되었으며 신품종인 Halla 품종인 경우에도 7.36mg/g으로 Canada 등에서 개량된 신품종인 Canola가 2~3mg/g에 비하여 상당히 높은 것으로 조사되었다. 따라서 박자체의 이용에는 양적인 제한이 수반되거나 그 함량을 낮출 수 있는 품종개량, 지역, 재배조건 등 여러가지 개선방법이 따라야 할 것으로 생각된다.

총glucosinolate 중 5-vinyl-OZT는 약 80%에 달하여 유채품종에 분포하는 glucosinolate는 대부분 5-vinyl-OZT로 구성되어 있는 것으로 기 보고값⁶⁾인 30~50% 보다는 상당히 높은 값을 나타내고 있다. 그러나 Finnigan¹⁶⁾이 5-vinyl-OZT가 유채 glucosinolate의 주종을 이루는 것으로 보고하는 것과는 비슷한 결과이다. 이들 glucosinolate의 가수분해산물에 대한 개별 정량 및 분석방법에 대한 연구는 앞으로 좀더 자세히 연구되어야 할 것이다. 유채박에서 분리 유채단백질을 제조하는 과정에서 glucosinolate량은 Halla종이 가장 적은 0.46mg/g으로 측정되었다. Thompson⁴⁾과 Liu¹⁷⁾에 의하여 세척에 따라 거의 glucosinolate가 제거된 분리유채단백질을 얻은 것으로 보고되고 있다. 이는 원료 유채박의 차이와 세척방법의 차이에 기인하는 것으로 생각된다. 특히 세척과정에서 추출단백질의 현탁방법 및 세척액량에 크게 좌우될 것으로 생각된다. 그러나 본실험에서 얻어진 분리단백질에 잔존하는 glucosinolate량은 0.46~0.74mg/g으로 Clandinin²⁾에 의하여 보고된 영계의 성장에 영향을 미치는 5-vinyl-OZT(0.7~1.05mg/g) 보다는 낮은 값을 나타내고 있다. Table 5는 유채박과 분리단백질의 phytate 함량을 나타내고 있다. 유채박에는 4.5% 정도의 phytate가 함유되어 있으며 *B. napus* (Halla) 종이 추출 및 세척과정에서 제거되는 phytate는 glucosino-

Table 4. Glucosinolate contents of rapeseed flours and rapeseed concentrates(mg/g)

Species		Flours	Concentrate	Reduction(%)
<i>B. napus</i> (Yongsan)	Total	9.26	0.57	93.8
	5-vinyl-OZT	7.14	0.44	
<i>B. napus</i> (Halla)	Total	7.26	0.46	93.8
	5-vinyl-OZT	5.67	0.36	
<i>B. campestris</i>	Total	8.95	0.67	92.5
	5-vinyl-OZT	6.93	0.52	
<i>B. juncea</i>	Total	10.34	0.74	92.8
	5-vinyl-OZT	8.25	0.60	

Table 5. Phytate contents of rapeseed flours and rapeseed concentrates

Species	Flours	Concentrate	Reduction
<i>B. napus</i> (Youngsan)	4.5	3.6	25
<i>B. napus</i> (Halla)	3.6	2.7	33
<i>B. campestris</i>	4.5	3.6	25
<i>B. juncea</i>	4.6	2.7	41

late게 비하여 상당히 적어서 25~41%였다.

품종별로는 *B. juncea*와 *B. napus*(Halla)종이 가장 적었으나 Erchman등³⁾이 보고한 5.3~7.3%보다 적은 양이지만 Liu등¹⁷⁾이 보고한 1.26%보다는 높게 나타났다. 그리고 분리대두단백질의 phytate함량인 1.6~2.2%보다도 상당히 높은 값이어서 앞으로 phytate 제거를 위한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

요 약

유채박 단백질의 이용성을 증대하기 위하여 품종별로 SHMP(sodium hexametaphosphate, pH 6.9)용매에 의한 추출수율 및 추출단백질의 SDS-PAGE분석, glucosinolate와 phytate 함량등을 조사하였다. 단백질 추출에 있어 모든 품종들에 대해 1%SHMP용매가 우수하며 *B. campestris*와 *B. juncea*가 대체로 우수하게 나타났지만 glucosinolate함량이 높아 실제 이용면에서 볼 때는 Ha-

lla품종이 가장 우수하다고 생각된다. 전기영동 분석에서는 대체로 분자량이 낮은 단백질들이 많이 나타나고 있으며 특히 Halla품종과 *B. juncea*품종이 다소 다른 subunit을 갖고 있었다. glucosinolate함량은 대체로 높은 함량을 함유하고 있으며 *B. juncea*품종이 10mg/g이상 함유되어 있는 반면 신품종인 Halla는 가장 낮은 함량인 7.26mg/g을 나타냈으며 농축물도 가장 낮은 0.46mg/g으로 이용면에 있어 가장 바람직한 품종임을 알 수 있다. 또한 phytate함량은 높은 편은 아니나 2.7~4.6%정도 함유되어 대두 분리 단백질에 비해 많은 양을 함유하고 있다.

문 헌

- Serraino, M. R. and Thompson, L. U. : Removal of phytic acid and protein-phytic acid interaction in rapeseed. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 38(1984)
- Clandinin, D. R. and Robblee, A. R. : Rapeseed meal in animal nutrition. *JAOCS*, **58**, 682 (1981)
- Erdman, J. W. : Oilseed phytates ; Nutritional implition. *JAOCS*, **56**, 736(1979)
- Thompson, L. U., Reyes, E. and Jones, J. D. : Modification of the sodium hexametaphosphate extraction-precipitation technique of rapeseed protein concentrate preparation. *J. Food Sci.*, **47**, 982(1982)
- AOAC : *Official methods of analysis of association of official analytical chemists*. 13th ed,

- 858, Washington, D. C., (1980)
6. Wetter, L. R. and Youngs, C. G. : A thiourea-UV assay for total glucosinolate content in rapeseed meal. *JAACS*, **53**, 162(1976)
 7. Wheeller, E. L. and Ferrel, R. E. : A method for phytic acid determination in wheat and wheat fraction, *Cereal Chem.*, **48**, 312(1971)
 8. 강영주 : 대두단백질의 효소적변형 : 분리대두단백질의 기능성에 미치는 단백질가수분해의 영향. *한국식품과학회지*, **16**, 211(1984)
 9. Sosulski, F. W. : Rapeseed protein for food use. In *Development in food protein-2*(B. T. F. Hudson ed.). Elsevier Applied Science, 109 (1983)
 10. Owen, D. F. and Chichester, C. O. : A process for producing a non-toxic rapeseed protein isolate and an acceptable feed by-product. *Cereal Chem.*, **48**, 91(1971)
 11. Eklund, A., Agren, G. and Langlar, T. : Rapeseed protein fractions, I. Preparation of a detoxified lipid protein concentrate from rapeseed(*Brassica napus* L.) by a water-ethanol extraction method. *J. Sci., Food Agric.*, **22**, 650 (1971)
 12. Gillberg, L. and Tornell, B. : Preparation of rapeseed protein isolate, Precipitation of rapeseed protein in the presence of polyacids. *J. Food Sci.*, **41**, 1070(1976)
 13. El Nockerashy, A. S., Mukherjee, K. D. and Mangold, H. K. : Rapeseed protein isolates by countercurrent extraction and isoelectric precipitation. *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 193(1977)
 14. Gurraj Rao, A., Kantharaj Urs, M. and Narasinga Rao, M. S. : Studies on the protein of mustard seed(*B. juncea*). *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **11**, 155(1978)
 15. 강동섭 : 유채박 단백질의 추출에 관한 연구. 제주대학교 대학원 석사학위 논문(1986)
 16. Finnigan, T. J. A., Leuis, M. J. and Dietz, M. : Detoxification of commercial United Kingdom rapeseed meal by glucosinolate hydrolysis with exogenous myrosinase and the tractability of the aglucons by aqueous industrial methylated spirits. *J. Sci. Food Agric.*, **46**, 33 (1989)
 17. Liu, R. F. K., Thompson, L. U. and Jones, J. D. : Yield and nutritive value of rapeseed protein concentrate. *J. Food Sci.*, **47**, 977(1982)

(1990년 2월 19일 접수)