海藻蛋白質의 抽出에 관한 硏究**

1. 水溶性 蛋白質의 抽出

柳洪秀* ·李康鎬*

STUDIES ON THE EXTRACTION OF SEAWEED PROTEINS

1. Extraction of Water Soluble Proteins

Hong-Soo RYU* and Kang-Ho LEE*

Distribution of marine algae is diverse in Korea and the resource of edible algae is abundant marking 239,037 tons of yearly production in 1976. They have been known as a protein source and used as a supplement in Korean diet. It is necessary to estimate the potentiality and properties of usable algal proteins especially as food resources and studies of extraction and separation of the proteins, therefore, are basically required for this purpose.

In this study, the influence of various factors including the sample treatment, extraction time and temperature, sample *vs* extraction solvent ratio and pH upon the extractability of the water soluble protein was determined. And the effect of precipitation treatment for isolation of the algal protein from the extracts was also tested.

Nine species of algae, the major ones in consumption as food namely *Porphyra suborbiculata, Undaria pinnatifida, Hizikia fusiforme, Sargassum fulvellum, Enteromorpha linza, Codium fragile, Sargassum kjellmanianum* and *Ulva pertusa* were collected as fresh from Kijang, Yangsan Gun, in the vicinity of Busan city.

The content of crude protein ($N \times 6.25$) of the algae ranged from 9.46% to 24.14% showing the highest value in *Porphyra suborbiculata* and the minimum in *Hizikia fusiforme.*

In the effect of maceration or blending methods on the extractability, immersion freezing in dry ice-methanol solution appeared most effective yielding 1.5 to 2.5 times extractability than that of the mortar grinding method.

The effect of the ratio of sample *vs* solvent on extractability differed from species. It was enhanced at the ratio of 1:20 (w/v) in *Ulva pertusa* and *Enteromorpha linza* while the ratio was 1:30 (w/v) for *Codium fragile, Undaria pinnatifida, Hizikia fusiforme, Sargassum fulvellum* and *Porphyra suborbiculata* and 1:40 for *Sargassum kjellmanianum* respectively.

The effect of extraction time and temperature was revealed differently from species which might be caused by differences in the constitution of algal tissues resulting in that the extraction for 1 hour at 50°C gave the maximum extractability in *Ulva pertusa* and *Enteromorpha linza*, 2 hours in *Porphyra suborbiculata, Hizikia fusiforme, Undaria pinnatifida, Sargassum kjellmanianum* and 3 hours

* 釜山水産大學 食品工學科, Dept. of Food Science and Tech., National Fisheries Univ. of Busan

** 본 연구는 1977년도 문교부 학술 연구 조성비로 이루워졌고 본 논문은 유홍수의 석사학위 논문의 일부임.

in *Codium fragile*. And the extractability was higher at 50°C to 60°C for the most of the tested samples except *Hizikia fusiforme*. The optimum pH for the extraction was 9 to 12.

The recovery of extractable nitrogen to the the total nitrogen was 63% in average with the first extracts and 8.6% with the second extracts respectively. Both extracts were prepared by 2 hour extraction at 50±1°C with dry ice-methanol frozen and seasand macerated materials. And these conditions assumed to be an optimum for the extraction of water soluble algal proteins since the nitrogen content after the first extraction covered 90% of the total water extractable nitrogen. In the precipitation of the extracted proteins, Barnstein method and methanol treatment seemed to be more efficient than other precipitation methods.

緒 論

海藻類 資源이 比較的 豊富한 우리나라는 그 分布가 63科 178屬 414種에 이르고 있는데(Kang, 1966), 그 中 實際로 利用되고 있는 海藻는 60餘種으로 1976年의 경우 287,457㎏을 生産하고 있으며 (水産統計年報, 1977), 利用 海藻類 中 김, 톳, 말, 파래等 主要 食用 海藻의 生産量도 239,037㎏에 이르고 있어 全体 年間 海藻 生産量의 83%를 차지하여 國民食生活에 차지하는 比重이 크므로 이에 關한 食糧營養學的인 檢討가 要請되고 있다.

지금까지의 食用海藻에 關한 研究로는 高橋(1943), 梁(1964)等의 數種 食用海藻의 一般成分 組成에 關한 研究와 洪(1962), 權(1960), 李(1962)및 李(1965)等의 窒素分析에 依한 粗蛋白質의 含量, 또는 이들 加水分解에 依한 海藻蛋白質의 아미노산 組成의 分析 程度이고, 食糧資源 및 營養的 側面에서의 本格的인 調査와 研究는 아직 없으며, 利用可能蛋白質 資源의 算定과 그 營養學的인 檢討를 爲해서는 純蛋白質의 量과 그 抽出 및 分離에 關한 研究가 先行되어야 할 것이다.

海藻蛋白質의 抽出에 關한 研究로는 金(1974)의 구멍갈파래(*Ulva pertusa*)와 개말(*Sargassum anumyendo*)에 對한 蛋白質의 抽出, 朴(1976)等의 지충이(*Sargassum tunbegii*), 지누아리(*Grateloupia filicina*), 거머리발(*Phyllospadix japonica*)및 알쏭이모자반(*Sargaocssum confusum*)에 對한 粗蛋白質의 抽出, 奥村(1963)等의 昆布水溶性蛋白質 抽出에 關한 報告가 있고, 그 以外에 Ogino(1955), 大石(1961), Worgam(1972)및 Bruni(1974)等의 海藻의 水溶性 蛋白質, 알콜 可溶性 蛋白質 含量에 對한 研究가 있으나 이들은 特定 溶媒에 녹아나는 蛋白質의 定量이거나 設定된 條件에 따른 蛋白質抽出에 그쳤을 뿐이었다.

本 研究에서는 重要 食用海藻의 效率的인 利用을 爲한 基礎 研究로서 水溶性 蛋白質의 抽出條件을 檢討하고자 하였다.

試料의 選定은 蛋白質 資源으로써 利用度가 높고 量的으로 分布가 큰 미역(*Undaria pinnatifida*), 모자반(*Sargassum fulvellum*), 톳(*Hizikia fusiforme*), 잎파래(*Enteromorpha linza*), 청각(*Codium fragile*), 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*), 쎌만모자반(*Sargassum kjellmanianum*)및 구멍갈파래(*Ulva pertusa*)等을 擇하였으며, 蛋白質의 抽出에 어려운 問題가 되는 藻体 破損에 對하여, 凍結法을 試圖하여 蛋白質 抽出에 對한 綜合的인 檢討의 첫 段階로써, 水溶性 蛋白質의 藻体 處理別, 抽出溫度 및 時間, 試料—溶媒比, 溶媒의 pH 等에 따른 抽出 成績을 實驗하는 同時에 蛋白質의 沈澱分離條件을 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 試料

試料는 1977年 3月 7日부터 同年 5月 14일 사이에 慶南 梁山郡 機張面 大邊里 西岩마을 앞바다에서 4日에 1回씩 採取하여 곧 實驗室로 運搬하였으며, 運搬 즉시 汚物을 除去하고 굵은줄기 部分과 種類에 따라서 볼 수 있는 強靱한 葉脈部는 되도록 除去하고 잎 部分만을 使用하였다.

精選한 試料는 5g씩 polyethylene 주머니에 密封包裝한 다음 供試하였고, 處理가 지연될 경우에는 1~3°C에서 冷藏하여 使用하였다.

2. 實驗方法

1. 水分

常壓 乾燥減量法(105°C)에 依하였다.

2. 粗蛋白質의 定量

Micro Kjeldahl法에 依하였는데 蒸溜裝置는 島津

micro kjeldahl 蒸溜裝置를 使用하였고, 滴定時에는 0.01N H_2SO_4와 methyl red-methylene blue(1 : 2) 混合指示藥을 使用하였다.

3. 試料의 處理

① Dry ice 凍結處理試料

Fig. 1에 圖示한 것과 같이 polyethylene 주머니에

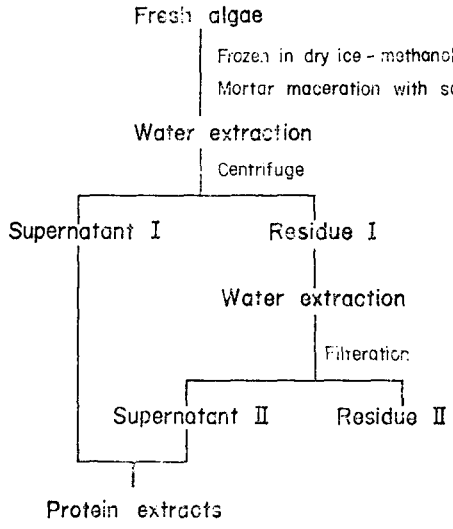

Fig. 1. Extraction procedure of water soluble protein.

密封包裝한 試料를 dry ice-methanol 寒劑中에 10分間 浸漬 凍結 시킨 後 막자사발에서 海砂 7.5g과 少量의 dry ice片을 加하고 7分間 磨碎한 것을 蒸溜水 100ml로써 恒溫水槽에서 50±1°C, 2時間 抽出하였고, 抽出한 것을 10分間 遠心分離(3,500 *r. p. m.*)시킨뒤 그 上澄液 20ml를 取하여 粗蛋白質을 測定하였다.

② 急速凍結(−30°C)處理試料

試料를 1977年 5月 13日 釜山市 南浦洞 所在 五洋冷藏(株) 冷凍室에서 −30°C로 24時間 凍結 시킨뒤 ①에서와 같이 抽出 定量하였다.

③ 막자사발 磨碎試料

生試料 5g, 海砂 7.5g을 加한 試料와 加하지 않은 試料를 區分하여 ①과 같이 抽出 定量하였다.

④ Blendor 處理試料

生試料 5g을 Waring blendor에서 20分間 磨碎 後 ①에서와 같이 抽出 定量하였다.

4. 抽出液의 沈澱處理

蛋白質을 上記 3. ①에서와 같이 一次 抽出한 後 그 殘査에 對한 二次 抽出液을 合한 것의 50ml를 分取한 뒤, 다음과 같은 方法으로 蛋白質을 沈澱시켜 沈澱物의 總窒素量을 測定하였다.

① TCA處理

抽出液 50ml에 30% TCA 溶液 17ml를 加하여(TCA 濃度 10%, 最終 pH 0.9~1.2)교반한 뒤 常溫에서 2時間 放置한 結果 얻어진 沈澱物을 濾過하여 總窒素量을 測定하였다.

② Barnstein method

分取한 抽出液 50ml를 沸騰水浴에서 10分間 加熱한 後 60% $CuSO_4$ 溶液 25ml를 加하여 교반시킨 다음 12.5% NaOH 溶液 25ml를 加하고 30分間 放置시킨 後 濾過하여 沈澱物의 總窒素量을 測定하였다.

③ Methanol 處理

抽出液 50ml에 methanol 100ml를 加하여 교반한 뒤 30分間 放置한 後 ①과 같이 處理하였다.

④ 加熱處理

抽出液 50ml를 沸騰水浴에서 1時間 加熱하여 冷却한 後 ①과 같이 處理하였다.

結果 및 考察

1. 粗蛋白質의 含量

實驗에 使用한 海藻類의 粗蛋白質 含量은 Table 1.에서와 같이 最高 24.14%(둥근돌김, *Porphyra suborbiculata*)에서 最低 7.66%(돗, *Hizkia fusifoirme*)로 나타났다. 粗蛋白質의 含量을 文獻値와 比較하면 本實驗에서 얻은 값은 平均値에 準하여 큰 差가없다.

實驗者마다 多少 差異가 있는 것은 試料의 採取場所와 時期가 同一하지 않음에 緣由하는 것이리라 생각된다.

2. 藻体處理의 抽出效果

海藻蛋白質 抽出에 있어서 藻体處理의 影響에 對하여 Popov(1974)는 液体窒素를 使用하여 急速凍結시킨 試料에 石英砂(quartz sand)를 加하여 磨碎시켰을 때 藻体組織의 破碎와 蛋白質 抽出成績이 매우 좋았다고 報告하고 있으며, Betschart(1973)等이 alfalfa의 蛋白質 抽出 實驗에서 Waring blendor를 使用한 것이 막자사발에서 磨碎시킨 試料보다 1.2~1.6倍의 抽出效果가 있었고, CRC micromill을 使用했을 경우에는 막자사발 磨碎試料보다 抽出效果가 좋아 抽出溶媒에 따라 2.5~6倍 程度의 差異를 보인다고 報告하고 있으며, 細胞壁이 強靱한 海藻의 경우 細胞壁의 破壞가 蛋白質 抽出에 큰 影響을 미칠 것을 豫想하여 藻

Table 1. Protein content (N × 6.25) in selected marine algae

Common name (Korean name)	Scientific name	Protein content (% dry basis) Investigated	Reported	Reference
Laver (둥근돌김)	*Porphyra suborbiculata* Kjellman	24.14		
Sea mustard (미역)	*Undaria pinnatifida* Suringa	5.19	19.93	Ogino., 1955
			9.55	Lee., 1960
			3.91	Yang., 1964
			19.12	Oishi., 1967
			20.20	Chae., 1975
Fusiforme (톳)	*Hizikia fusiforme* Okamura	7.66	5.75	Ogino., 1955
			9.35	Yang,. 1964
			9.70	Chae., 1975
Gulf weed (모자반)	*Sargassum fuvellum* Agardh	12.61	10.73	Kim., 1974
(셀만모자반)	*Sargassum kjellmanianum* Yendo	14.08	10.00	Park., 1976
Green alga (잎파래)	*Enteromorpha linza* Agardh	10.86	10.15	Ogino., 1955
			14.07	Oishi., 1967
Sea lettuce (구멍갈파래)	*Ulva pertusa* Kjelman	16.60	16.75	Ogino., 1955
			8.75	Tsuruga., 1962
			12.50	Oishi., 1967
			17.26	Moda., 1971
			21.37	Kim., 1974
			6.6	Park., 1976
Sea saghorn (청각)	*Codium fragille* Hariot	9.89	10.68	Ogino., 1955
			13.31	Yang., 1964
			11.90	Chae., 1975
(누운청각)	*Codium coarctatum* Okamura	9.46	10.75	Yang., 1964

Table 2. Effect of sample treatment on extractability of protein in selected algae

Scientific name (Korean name)	Method of treatment (% extracted protein) Blending	Mortar grinding	Mortar grinding with seasand	Freezing at −30℃	Freezing with dry ice methanol soln
Porphyra suborbiculata (둥근돌김)	29.21	30.00	44.10	44.51	46.20
Codium fragile (청각)	28.97	22.35	40.00	42.12	44.97
Enteromorpha linza (잎파래)	26.80	27.05	43.33	45.15	46.57
Ulva pertusa (구멍갈파래)	32.51	41.33	53.36	58.88	59.35
Hizikia fusiforme (톳)	28.01	28.90	51.38	52.21	54.67
Undaria pinnatifida (미역)	24.58	22.31	47.39	49.04	54.43
Sargassum kjellmanianum (셀만모자반)	50.33	42.62	52.50	53.92	55.44
Sargassum fulvellum (모자반)	44.52	29.84	47.37	54.40	59.16

体 處理法에 따른 抽出效果를 檢討하였다.

試料의 處理는 ① 生試料 5g을 Waring blendor에서 20分間 磨碎 ② 막자사발에서 海砂를 添加하지 않고 7分間 磨碎 ③ 막자사발에서 海砂 7.5g을 加하여 7分間 磨碎 ④—30℃, 24時間 凍結 後 海砂 添加磨碎 ⑤ dry ice-methanol 寒劑中에서 10分間 凍結 磨碎한 試料等에 對하여 50±1℃, 2時間, 試料—溶媒比(w/v)1 : 20의 條件에서 抽出한 結果는 Table 2.와 같다. 이 結果에서 보면 blendor와 막자사발에서 磨碎시킨 試料는 紅藻類와 綠藻類의 경우는 大同小異하며 막자사발 磨碎의 경우가 약간 높은 경향을 보였으며, 褐藻類의 경우는 blendor 破碎試料가 오히려 높은 편이었다. 이러한 結果는 海藻類의 細胞構造가 一般 草類細胞보다 強靭한 관계로 特히 구멍갈파래 (*Ulva pertusa*) 잎파래(*Enteromorpha linza*)의 경우는 葉体가 얇고, 또한 粘質物이 적은 관계로 막자사발 磨碎로서도 組織의 破碎가 比較的 용이한 때문인것 같으며, 褐藻類는 葉体가 強靭하고 粘質物層이 두꺼운 관계로 막자사발 磨碎效果보다는 機械的인 切斷破碎인 blending의 效果가 좋은 것 같았다. 試料를 막자사발에서 磨碎시킬 때, 海砂를 添加한 試料와 添加하지 않은 試料는 어느 試料에 있어서나 海砂를 添加한 試料가 1.5~2倍의 抽出效果가 좋았다. 그리고 —30°C 凍結試料는 이보다 抽出이 좋았고, 特히 dry ice-methanol寒劑로 處理한 試料는 막자사발 處理試料보다 最高 2.5倍(톳, *Hizikia fusiforme*)에서 最低 1.5倍(쇠만모자반, *Sargassum kjellmanianum*)의 높은 抽出效果를 보여, 凍結에 依한 組織의 損傷이 機械的인 破碎보다 훨씬 抽出效果가 좋은 結果를 보였다. 이는 凍結에 依한 藻体內의 氷結晶의 生成으로 因하여 細胞膣의 破壞가 용이하게 되기 때문이라 여겨지며, 또한 磨碎過程中 低溫이 維持되어 磨碎中에 일어나는 磨擦熱에 依한 蛋白質 變性도 防止할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 試料를 大量으로 處理할 때를 考慮하면 —30℃에서 凍結하여 抽出하는 것이 보다 實用的일 것으로 생각된다.

3. 試料—抽出溶媒比(w/v)의 影響

蛋白質 抽出에 對한 抽出溶媒量의 影響을 檢討하기 爲하여 dry ice 凍結, 磨碎한 試料 5g에 증류수 50ml, 75ml, 100ml, 150ml, 200ml, 250ml 및 300ml를 각각 加하여 50±1℃에서 2時間 蛋白質을 抽出 定量한 것을, 總粗蛋白質(N×6.25)에 對한 百分率로 表示한 結果는 Fig. 2.와 Fig. 3.과 같다. 이 結果에 依

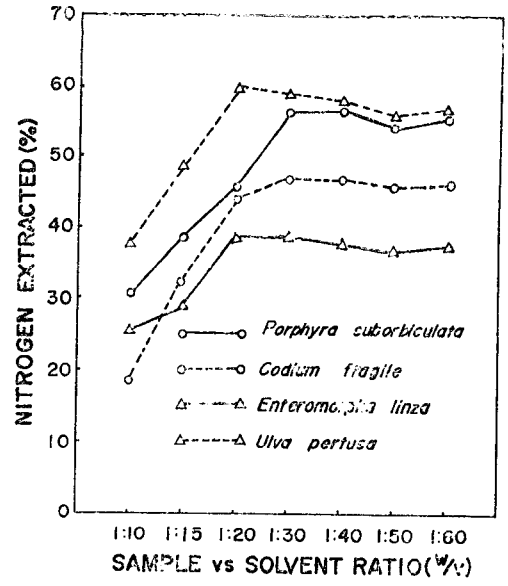

Fig. 2. Effect of sample-solvent ratio on the extraction of protein.

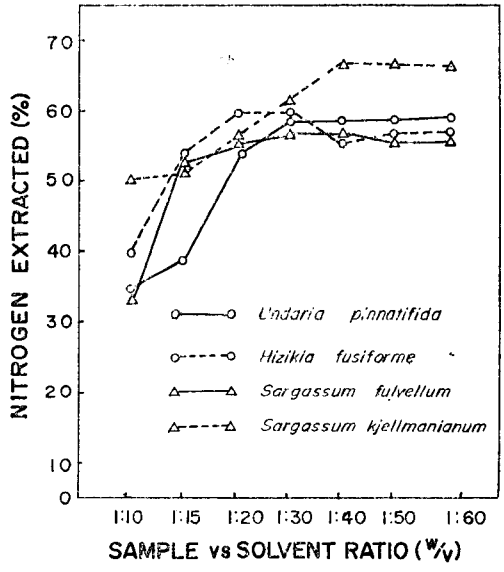

Fig. 3. Effect of sample-solvent ratio on the extraction of protein.

하면 紅藻類인 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*)의 경우, 試料—溶媒比(w/v)가 1 : 30에서 抽出效果가 좋았다. 구멍갈파래(*Ulva pertusa*), 잎파래(*Enteromorpha linza*)의 경우는 1 : 20이나, 같은 綠藻類인데도 청각(*Codium fragile*)은 1 : 20에서 抽出成績이 좋았으며, 褐藻類인 톳(*Hizikia fusiforme*), 미역(*Undaria pinnatifida*), 모자반(*Sargassum fulvellum*)의 경우에는

1 : 30에서 좋은 抽出成績을 보였으며, 特히 셀만모자반(*Sargassum kjellmanianum*)은 1 : 40의 많은 溶媒量이 要하는 結果를 보였다. 이러한 傾向은 奧村(1963)等의 昆布의 水溶性 蛋白質 抽出實驗 結果인 1 : 25~30과 一致하고, Samson(1971)의 coconut 水溶性 蛋白質 抽出實驗에서도 1 : 20, Lu(1975)等의 alfalfa 蛋白質 抽出實驗에서도 1 : 25까지 抽出量이 增加하고 그 以後로는 別差가 없다는 報告와도 類似하다. 이와 같이 海藻類의 水溶性 蛋白質의 抽出에는 1 : 20(w/v 以上의 抽出溶媒量이 必要하며, 各 試料 別로 最適條件이 相異한 것은, 海藻類의 粘質物 含量 또는 海藻細胞의 強靭度와 密接한 關係를 갖는 것이 아닌가 생각된다. 即 粘質物量이 적은 구멍갈파래(*Ulva pertusa*)나 잎파래(*Enteromorpha linza*)는 1 : 20(w/v)의 溶媒量으로도 充分하며, 粘質物量이 많은 청각(*Codium fragile*), 미역(*Undaria pinnatifida*)等은 1 : 30, 셀만모자반(*Sargassum kjellmanianum*)은 1 : 40(w/v) 程度의 抽出溶媒量을 要하는 것을 보아도 알 수 있다. 그러므로 일반적으로 紅藻類, 褐藻類는 綠藻類보다 約2倍 程度의 抽出 水量이 要하게 되는 것 같다.

4. 抽出 時間의 影響

海藻의 水溶性 蛋白質 抽出에 對한 抽出時間의 影響을 檢討하기 爲하여 試料海藻 5*g*을 2에서와 같이 dry ice로 處理한 後, 3에서 얻은 最適 溶媒量으로 50±1 °C에서 30分, 1時間에서 5時間까지 抽出한 結果는 Fig. 4, 5에 圖示한 바와 같다. 이 結果에 依하면, 紅

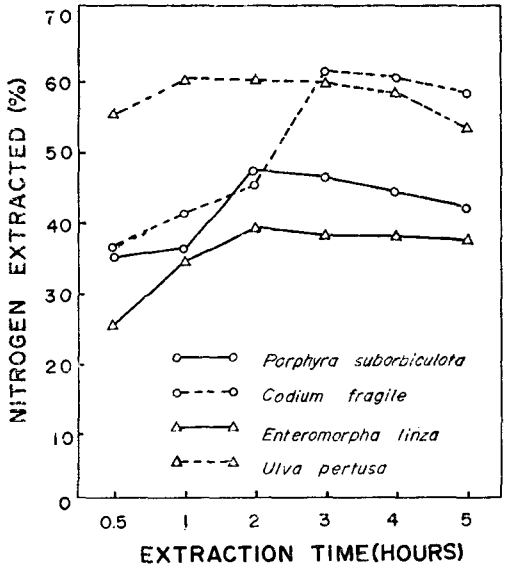

Fig. 4. Effect of extraction time on the extraction of protein.

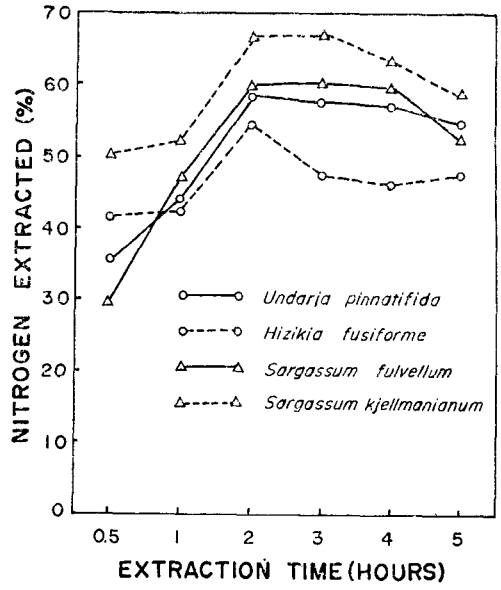

Fig. 5. Effect of extraction time on the extraction of protein.

藻類인 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*)의 경우, 2~3時間사이에서 가장 抽出成績이 좋았으며, 綠藻類인 구멍갈파래 (*Ulva pertusa*), 잎파래 (*Enteromorpha linza*)의 경우는 1~2時間에서 抽出成績이 높았고, 청각(*Codium fragile*)은 3時間에서 抽出成績이 좋은 結果를 보였으며, 4時間 以上에서는 抽出成績이 다소 떨어지는 傾向을 보였다. 褐藻類인 톳(*Hizikia fusiforme*) 미역(*Undaria pinnatifida*), 모자반 (*Sargassum fulvellum*), 셀만모자반(*Sargassum kjellmanianum*)은 둥근돌김의 경우와 같이 2~3時間에서 抽出成績이 좋았고, 이 中 톳(*Hizikia fusiforme*)의 경우에는 3時間에서 抽出成績이 急激하게 감소하는 結果를 보였다.

海藻類 蛋白質 抽出에 對한 抽出時間의 影響은 奧村(1963)의 昆布에 對한 硏究에서는 30分 以上이 되어야 最高値를 나타내고, 3時間 以上이 경과하면 減少한다고 했으나 그는 昆布를 30mesh 程度로 粉碎하여 100 °C에서 水溶性 蛋白質을 抽出하였는데, 그 最高値는 總粗蛋白質에 對하여 30% 程度의 抽出成績을 보이고 있을뿐이며, 昆布와 組織이 類似하다고 생각되는 미역의 50°C, 30分間 抽出成績인 38.6%보다 크게 떨어지는 것으로 보아, 抽出溫度 選定에 問題가 있었던 것으로 생각된다. 한편 Gheyasuddin(1970)의 해바라기 種子에 對한 蛋白質 抽出實驗에서는 75~90分, Betschart(1975)의 잇꽃(safflower)씨에 對한 實驗에서는 50°C에서 60分 以上이 최적 抽出時間이 된다고 報

告한 것과는 비슷한 結果이고, 朴(1976)等의 海藻蛋白質 抽出 實驗에서와 같이 常溫에서 4時間동안에 抽出한 全体 蛋白質의 70~80%가 抽出된다는 報告와도 一脈相通한다. 이와 같이 一般的인 蛋白質 抽出適溫으로 삼고 있는 50°C에서 海藻蛋白質을 抽出할 경우에는 그 抽出時間이 적어도 2時間 程度는 되어야 最大의 抽出을 期待할 수 있으며, 4時間이 넘어서면 抽出成績이 多少 減少하는 것을 알 수 있다.

蛋白質의 抽出成績을 水可溶性 全窒素量만으로 表示한 것은 非蛋白態 可溶性 窒素量은 抽出時間 및 溫度에 따라 큰 변동없이 거의 일정한 것이 豫備實驗 結果에서 나타났었고, 또한 奧村(1965)等의 硏究結果를 勘案하여 實驗의 번잡을 避하기 爲하여 非蛋白態窒素의 測定을 省略하였다.

5. 抽出溫度의 影響

海藻의 水溶性 蛋白質 抽出에 對한 溫度의 影響을 檢討하기 爲하여 前項의 實驗에서 얻어진 前處理條件 試料—抽出溶媒比(w/v), 抽出時間으로 各試料를 20°C에서 90°C사이에서 蛋白質을 抽出定量한 結果는 Fig. 6과 Fig. 7과 같다. 이 結果에 依하면 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*)의 경우 50~60°C에서 最高 抽出成績을 보였으며 70°C에서 急激하게 減少하는 傾向을 보였고, 구멍갈파래(*Ulva pertusa*)는 40°C에서 심하게 抽出되다가 60%까지 서서히 增加했고, 70°C에서 急激하게 減少하는 것은 돌김의 경우와 類似하

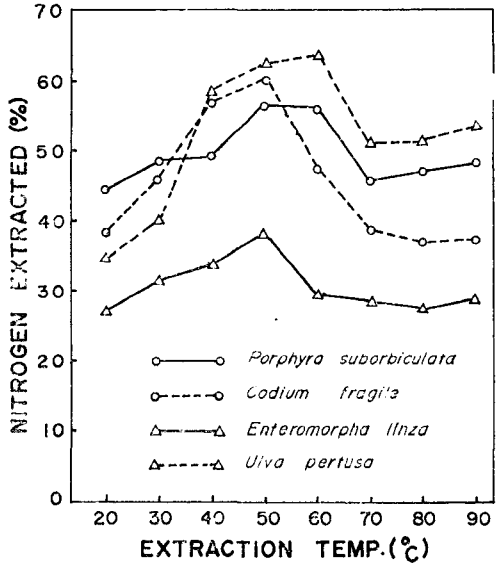

Fig. 6. Effect of extraction temperature on the extraction of protein.

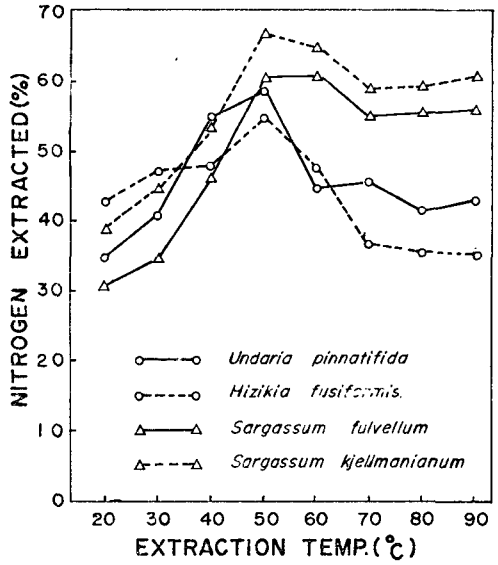

Fig. 7. Effect of extraction temperature on the extraction of protein.

였고, 청각(*Codium fragile*)과 잎파래(*Enteromorpha linza*)는 50°C에서 最高 抽出成績을 보였다. 褐藻類인 모자반(*Sarrgassum fulvellum*), 쎌만모자반(*Sargassum kjellmanianm*)은 50~60°C에서 最高 抽出成績을 보였고, 70°C에서 急激하게 減少하는 것은 돌김, 청각 等의 경우와 비슷했고, 그 以上의 溫度에서는 약간 增加하는 傾向을 보였다. 미역(*Undaria pinnatifida*)과 톳(*Hizikia fusiforme*)은 50°C에서 最高 抽出成績을 보였다. 以上의 結果와 같이, 둥근돌김, 모자반, 쎌만모자반의 水溶性 蛋白質은 50~60°C사이에서 抽出成績이 좋았고, 70°C 附近에서 蛋白質熱變性이 일어나는지 抽出率이 떨어지며, 그 以上의 溫度에서는 Gheyasuddin(1970)의 說明과 같이 高溫에 依하여 凝固蛋白質이 多少 抽出되는 傾向을 보이는것 같으며, 奧村(1963)는 30mesh 程度로 磨碎한 昆布 試料의 水溶性 蛋白質이 100°C에서 가장 많이 抽出된다는 報告와는 相異하였다. 그러나 이 경우 100°C와 같은 高溫에서 蛋白質을 抽出했고, 또한 試料의 前處理가 充分하지 못했기 때문에, 그 抽出率은 30%를 上廻하지 못했고 高溫에 依한 組織軟化現象으로 凝固蛋白質이 多量 抽出되었기 때문이 아닌가 생각된다. 그리고 구멍갈파래, 잎파래, 미역, 톳은 40~50°C 청각의 경우는 抽出適溫이 40~60°C로 보아진다.

6. pH의 影響

蛋白質 抽出에 對한 pH의 影響을 檢討하기 爲하여

乾燥試料 1g에 海砂 3g을 加하고 7分間 磨碎한 뒤, Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane(m. t. 121.14) 0.1M을 100ml 加하고, 0.1N HCl과 0.1N NaOH로서 pH 1에서 14까지 調節한 後, 50±1°C에서 蛋白質을 2時間 抽出하고, 抽出된 蛋白質을 30% TCA 溶液으로 沈澱시킨 結果는 Fig. 8, 9 및 10과 같다.

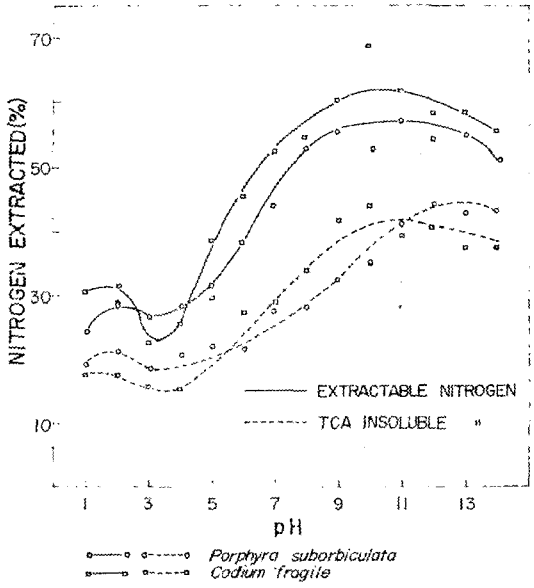

Fig. 8. Effect of pH on the protein extraction.

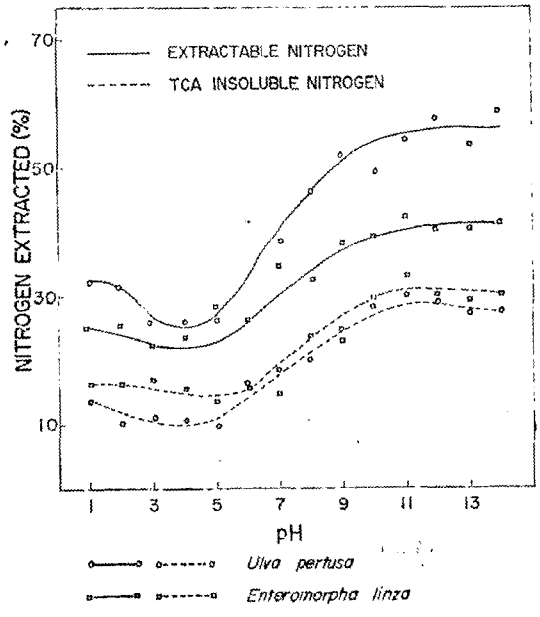

Fig. 9. Effect of pH on the protein extraction.

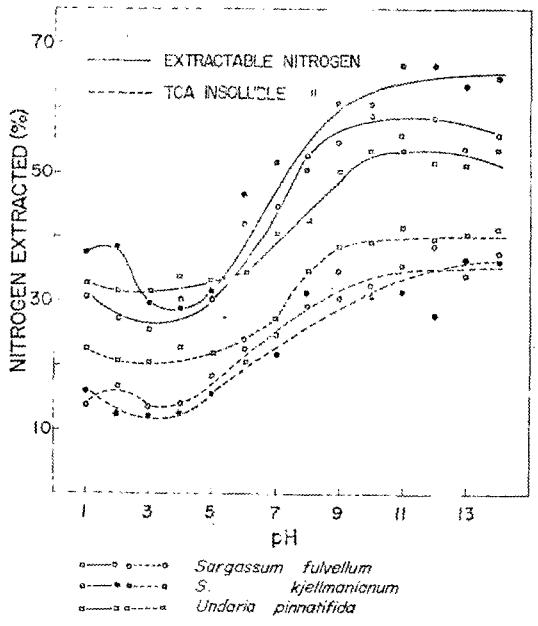

Fig. 10. Effect of pH on the pretein extraction.

이 結果에 依하면, 一般的인 草類 또는 海藻類의 蛋白質 抽出報告 即 奧村(1963), 保井(1969), Samson (1971), Gheyasuddin(1970), Kilara(1972), Betschart(1973), 金(1974), Betschart(1975) 및 朴(1976)等의 結果와 같이 알칼리性일수록 抽出 成績이 높은 傾向을 보였으며, 특히 pH 9~11에서 높은 값을 나타내었다. 이와 같이 높은 pH에서 抽出成績이 좋은 것은 Betschart가 指摘한 바와 같이 pH가 높아지면, 原形質 또는 葉綠体의 파괴가 쉽게 일어나 蛋白質의 抽出도 용이하게 되는 것이라 생각된다. 한편 全抽出蛋白質中의 TCA 沈澱蛋白質에 對한 pH의 影響을 보아도 pH 9~12에서 높은 값을 보임을 알 수 있다.

그런데 pH가 높아질수록 非蛋白態窒素가 낮은 pH에서 보다도 增加하는 것은 強알칼리로 인한 藻体의 分解에 依한 影響이라고 생각된다. 이상과 같은 結果를 綜合해 볼 때 pH 13이상에서의 蛋白質 變性 問題를 考慮한다면, 海藻 蛋白質 抽出에 있어서는 pH를 9~12程度로 調節하는 것이 바람직한 것 같다.

7. 粗蛋白質의 抽出率

앞의 實驗 結果에서 얻은 抽出條件에서 水溶性 蛋白質을 一次 抽出하고, 그 殘査에 對하여 二次抽出을 하고 全体 粗蛋白質에 對한 百分率로 表示한 結果는 Table 3과 같다. 이 結果에 依하면 第一次 抽出에서

Table 3. Extractability of water soluble algal protein

Scientific name (Korean name)	Total N. (% dry basis) (A)	Extractable N. (% dry basis) 1st ext. (I)	2nd ext. (II)	Total (B)	Extraction ratio (%) I/A	II/A	B/A
Porphyra suborbiculata (둥근돌김)	3.86	2.15	0.23	2.38	60.11	5.97	66.08
Ulva pertusa (구멍갈파래)	2.66	1.65	0.23	1.88	60.06	8.94	69.90
Enteromorpha linza (잎파래)	1.74	0.96	0.14	1.10	57.28	.33	65.61
Codium fragille (청각)	1.51	0.95	0.13	1.08	62.64	8.42	71.60
Sargassum fulvellum (모자반)	2.02	1.40	0.23	1.63	69.24	11.29	80.53
Sargassum kjellmanianum (셀만모자반)	2.25	1.54	0.21	1.75	68.37	9.19	77.56
Hizikia fusiforme (톳)	1.23	0.73	0.10	0.83	59.82	8.30	68.12
Undaria pinnatifida (미역)	2.43	1.59	0.20	1.79	65.38	8.10	73.48

는 最低 57.28%(잎파래, *Enteromorpha linza*)에서 最高 69.24%(모자반, *Sargassum fulvellum*)에 이르고 있으며, 第二次 抽出에서는 最低 5.97%(둥근돌김, *Porphyra suborbiculata*)에서 最高 11.29%(모자반, *Sargassum fulvellum*)의 結果를 보였으며, 一次 抽出 粗蛋白質과 二次 抽出 粗蛋白質을 合한 粗蛋白質은 最低 65.61%(잎파래, *Enteromorpha linza*)에서 最高 80.53%(모자반, *Sargassum fulvellum*)에 達했다. 一次 粗蛋白質과 二次 抽出 粗蛋白質의 比는 平均 7.5 : 1로서, 一次 抽出에서 抽出 可能한 水溶性 蛋白質의 90% 以上이 抽出되는 傾向을 보였다. 이러한 結果는 一次 抽出에서 지충이(*Sargassum tunbegii*)가 15.0%, 지누아리(*Grateloupia filicina*)10.6%, 거머리발(*Phyllospadix japonica*) 14.5%, 알쏭이모자반(*Sargassum confusum*)이 17.3% 抽出되며, 二次 抽出에서 各各 13.3%, 11.6%, 11.4%, 9.6% 抽出되고, 一次에서 四次 抽出까지의 總計가 30~40% 程度라는 朴(1976)의 結果와는 상당한 差異가 있으나, 그는 常溫에서 水溶性 粗蛋白質을 抽出하였고, 試料의 前處理 조작은 日乾한 試料를 20mesh 程度의 粉末로 만들었기 때문에 그 抽出條件이 本 實驗과 매우 相異하였다. 한편 奧村(1963)의 昆布 水溶性 蛋白質抽出에서는 一次 抽出液과 二次 抽出液과의 比率이 15 : 1程度라는 報告와 本 實驗 結果인 7.5 : 1과 差異가 있으나, 그는 100°C에서 抽出했기 때문에, 이미 一次 抽出에서 蛋白質이 變性되어 二次 抽出에서는 少量 抽出되지 않았

나 생각된다.

8. 蛋白質 沈澱分離條件

前項에서와 같이 抽出한 一, 二次 抽出液을 合한 것에서, 各 試料別로 50*ml*를 分取하여 ① TCA處理 ② methanol 處理 ③ 加熱處理 ④ Barnstein method로 處理한 沈澱蛋白質의 窒素量을 抽出液의 總窒素量에 對한 百分率로 計算한 結果는 Table 4와 같다. 이 結果에 依하면 Barnstein method에 依한 沈澱效果가 가장 좋아, 最低 77%(구멍갈파래, *Ulva pertusa*)에서 最高 94%(셀만모자반, *Sargassum kjellmanianum*)의

Table 4. Precipitation of water soluble proteins

Scientific name (Korean name)	TCA treatment	Methanol treatment	Heat treatment	Barnstein method
Porphyra suborbiculata (둥근돌김)	52.34	51.82	47.82	83.00
Undaria pinnatifida (미역)	73.20	88.98	46.24	92.23
Hizikia fusiforme (톳)	48.46	72.04	43.25	82.64
Sargassum fulvellum (모자반)	63.14	72.44	34.59	90.59
Sargassum kjellmanianum (셀만모자반)	52.88	72.35	56.78	94.34
Ulva pertusa (구멍갈파래)	42.04	45.44	32.28	77.18
Enteromorpha linza (잎파래)	59.20	77.17	34.77	92.97
Codium fragille (청각)	42.02	48.08	29.38	84.52

높은 沈澱效果를 보였고, 그 다음이 methanol 處理法으로 最低 48.08%(청각, *Codium fragile*)에서 最高 88.98%(미역, *Undaria pinnatifida*)이며, 그 다음이 TCA 處理法, 加熱處理法 順이었다. Barnstein method에 依한 處理法이 가장 沈澱效果가 좋은 것은 保井(1969)等이 콩잎의 0.3% NaOH性 熱alcohol 可溶性蛋白質의 沈澱性을 實驗한 結果에서도 나타나는데, 같은 試料일지라도 Barnstein method에 依한 處理時에는 95% 以上의 沈澱效果가 있는 反面, TCA 處理時에는 25~60%의 沈澱效果가 있었다는 報告에서도 찾아 볼 수 있다. 한편 methanol에 依한 沈澱效果는 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*)以外의 試料에서 TCA 處理의 경우보다, 그 沈澱效果가 상당하게 앞선 結果는 朴(1976)의 實驗結果와 一致한다. 그러나 加熱處理法의 경우. 金(1973)과 朴(1976)의 硏究報告에 依하면, 상당하게 效果가 좋다고 하나, 本 實驗에서는 셀만모자반(*Sargassum kjellmanianum*)以外의 試料에서는 오히려 TCA 處理效果보다 效果가 떨어졌다. 以上의 結

果에서와 같이, Barnstein method에 依한 處理가 가장 效果가 좋으나, 純蛋白質을 精製할 경우, Cu^{++}이온의 除去 等이 問題가 됨으로 methanol 處理法에 依한 沈澱法이 勸奬할만 하다. 그리고 沈澱劑에 따른 海藻 種類別 沈澱效果는 海藻粘質物, 無機物의 含量 差異로 인한 影響을 考慮할 수 있으며, 앞으로의 硏究課題라고 생각된다.

要 約

分布量이 많고 食用되고 있는 重要 海藻의 效率的인 利用과 營養學的인 意義를 究明하기 爲한 基礎資料를 얻기 爲하여 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*). 잎파래(*Enteromorpha linza*). 톳(*Hizikia fusiforme*). 모자반(*Sargassum fulvellum*), 미역(*Undaria pinnatifida*), 청각(*Codium fragile*), 쎌만모자반(*Sargassum kjellmanianum*), 구멍갈파래(*Ulva pertusa*)等 8種을 選定하여, 이들 海藻의 水溶性 蛋白質 抽出에 影響을 주는 諸要素 即 藻体處理別, 抽出溫度와 時間別, 試料一抽出溶媒比, pH의 影響等을 檢討하고 또한 抽出液中의 蛋白質 沈澱條件에 對하여 檢討하였다.

1. 食用 海藻의 粗蛋白質 含量은 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*) 24.14%, 미역(*Undaria pinnatifida*) 15.7%, 톳(*Hizikia fusiforme*) 7.66%, 모자반(*Sargassum fulvellum*) 12.61%, 쎌만모자반(*Sargassum kjellmanianum*) 14.08%, 잎파래(*Enteromorpha linza*) 10.86%, 구멍갈파래(*Ulva pertusa*)16.60%, 청각(*Codium fragile*) 9.89%이었다.

2. 試料의 處理條件에 따른 抽出效果는 dry ice-methanol 寒劑 中에서 凍結시켜, 海砂를 添加하여 磨碎한 試料가 水溶性 蛋白質 抽出成績이 越等하게 좋아, 막자사발에서 磨碎한 試料보다 1.5~2.5倍의 抽出成績을 보였다.

3. 試料一抽出溶媒比는 粘質物이 적은 구멍갈파래, 잎파래는 1:20(w/v)에서, 粘質物量이 많은 청각, 미역, 톳, 모자반, 둥근돌김 等은 1:30(w/v)에서, 쎌만모자반은 1:40(w/v)일 때 抽出成績이 좋았다.

4. 抽出時間은 구멍갈파래, 잎파래는 1時間, 둥근돌김, 톳, 미역, 모자반, 쎌만모자반은 2時間, 청각은 3時間 程度에서 가장 效果的이었다.

5. 抽出溫度는 톳이 40°C, 둥근돌김, 청각, 잎파래 미역, 모자반, 쎌만모자반이 50°C에서, 구멍갈파래는 60°C에서 最高의 抽出成績을 보였다.

6. pH의 影響은 各 試料마다 大同小異하여 pH9~12에서 가장 좋은 結果를 얻었다.

7. 抽出 最適條件에서의 水溶性 蛋白質 抽出率은 一次 抽出에서 全粗蛋白質에 對하여 平均 63%, 二次 抽出에서 平均 8.6% 合計 72% 程度의 水溶性 蛋白質 抽出이 可能했으며, 一次에 대한 二次의 抽出比率이 7.5:1이었다.

8. 蛋白質 沈澱分離 操作으로는 Barnstein method, methanol 處理法, TCA 處理法, 加熱處理法 順으로 沈澱效果가 있었다.

文 獻

A. O. A. C. (1975) : Methods of analysis of A. O. A. C. 12ed. 2.049 (pp. 15~16), A. O. A. C., Washington, D. C.

Betschart, A. A. and J. E. Kinsella (1973) : Extractability and solubility of leaf protein. J. Agr. Food Chem. 21(1), 60-65.

Betschart, A. A. (1975) : Factors influencing the extractability of safflower protein (*Carthamus tinctorius* L.). J. Food. Sci. 40, 1010-1013.

Bruni, G and B. Stancher(1974) : Possible use of the protein of some algae of the upper Adriatic after extraction of the valuable polysaccharide. Rass. Chim. 26(3), 151-154.

蔡禮錫(1975) : 營養學槪論. 362—333, 東明社, 서울.

Gheyassudin, S., C. M. Cater and K. F. Mattil (1970):Effect of several variables on the extractability of sunflower seed proteins. J. Food Scj. 35, 453-456.

洪淳佑(1962) : 海藻의 化學的 特性과 系統學的 相關關係에 關하여 (第1報) 海藻 葉狀体 蛋白質의 아미노酸 組成에 關한 硏究. 서울大 論文集(D) 12, 56-62.

Kang, J. W. (1966) : On the geographical distribution of marine algae in Korea. Bull. Busan Fish. Coll. 7, 1-138.

Kilara A. and E. S. Humbert (1972) : Nitrogen extractability and moisture adsorption characteristics of sunflower seed product. J. Food Sci. 37, 771-773.

金俊平(1974) : 非食用海藻에서 蛋白質의 開發硏究 1. 非食用海藻에서 蛋白質의 抽出條件 및 分離된 粗蛋白質의 아미노酸組成. 韓國食品科學會誌

6(1), 17-23.

權泰完. 李泰寧(1960) : 미역中의 蛋白質 및 非蛋白劃分中의 아미노酸 定量에 對하여. 農化誌 1, 55-62.

李敏載. 洪淳佑. 李仁圭(1962) : 數群紅藻類의 유리아미노산 分布에 따른 系統學的 硏究. 藻類의 化學 成分과 系統學的 相關性에 對하여. 서울大論文集(D) 11, 1-16.

李鉉琪(1965) : 미역의 아미노酸 및 비타민에 對한 營養學的 硏究. 化學會誌 9, 201-210.

Lu, P. S. and J. E. Kinsella(1972) : Extractability and properties of protein from alfalfa leaf meal. J. Food Sci. 37, 94-99.

三田 喜代(1960) : 綠藻類の化學的硏究-Ⅰ. 「アオノリ」, 「アナアオサ」の季節に關する生化學的硏究. 日水誌 26 (10), 1010-1012.

野田 宏行(1971, a) : 海藻の生化學的硏究-Ⅱ. あさくさのりの品質と一般成分との關係. 日水誌 37 (1), 30-34.

野田 宏行(1971, b) : 上同硏究-Ⅴ. のりの窒素代謝に及ぼす微量元素の影響. 日水誌 37(10), 992-995.

水産廳(1977) : 水産統計年報, 82—83, 144—145.

大石圭一. 田村裕子. 金井英治 等(1961) : 昆布の品質-Ⅳ. エキスとアミノ酸組成との關係. 日水誌 27(6), 601-605.

奥村彩子. 大石圭一. 村田喜一(1963)昆布の品質-Ⅶ. エキス全Nおよびアミノ-Nの水抽出條件. 日水誌 29(2), 1089-1091.

Ogino C. (1955) : Biochemical studies on the nitrogen compounds of algae. J. Tokyo Univ. Fish. 41(2), 110-113.

朴榮浩. 卞在亨. 吳厚圭. 姜泳周(1976) : 未利用海藻類의 利用化에 開한 硏究 Ⅰ. 未利用海藻類의 成分組成과 藻類蛋白質의 抽出. 韓水誌 9(3), 155-162.

Popov, N. K. (1974). Efficacy of methods for destruction of algae cells and for keeping the soluble protein complex. Dokl., Bulg. Akad. Na. rk 27(2), 243-246.

Samson, A. S., C. M. Cater, R. N. Khaund and K. F. Mattil (1971) : Extractability of coconut proteins. J. Food Sci. 36, 725—728.

高木光造. 大石圭一. 奥村彩子(1967) : 數種海藻の遊離アミノ酸組成について. 日水誌 33(7), 669-673.

高橋武雄. 横山實(1943) : 本邦褐藻類の化學的 組成(第2報)朝鮮産褐藻類の化學的 組成(Ⅰ). 日農化誌 20, 522-525.

Tsuruga H. (1962) : The uptake of radioruthenium by seveial kinds of littoral seaweed. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 28(12), 1149-1154.

Worgan J. T. (1972) : World supplies of protein from unconventional sources ; algae protein food review. Proteins Hum. Nutr., Proc. NATO Advan. Study Inst. 47-74.

山川健重(1953) : 海藻の化學的 硏究 Ⅰ. 各種 アサクサノリの成分. 日水誌 18(10), 478-482.

梁澄鎬(1964) : 海藻類의 成分에 對한 硏究. 中大論文集 9, 377-380.

保井忠彦. 神立誠(1969) : 草類蛋白質營養價 (第18報) 大根葉および青刈大豆葉より 蛋白質の單離について. 日農化誌 43(5), 328-338.

保井忠彦. 神立誠(1969) : 純蛋白質定量に用いる蛋白質 沈澱劑について(第3報) 0.3% NaOH性60% 熱アルコール溶性蛋白質のトリクロル酢酸による沈澱性. 日農化誌 43(1), 71-75.