

海藻蛋白質 抽出에 關한 研究

3. NaOH 可溶性 蛋白質의 抽出

李 康 鎬* · 禹 順 姪** · 柳 洪 秀*

STUDIES ON THE EXTRACTION OF SEA WEED PROTEINS

3. Extraction of NaOH Soluble Proteins

Kang-Ho LEE*, Soon-Im WOO** and Hong-Soo RYU*

In present study, the effect of various factors including the solvent concentration, extraction time, extraction temperature and the ratio of sample *vs* extraction solvent(w/v) upon the extractability of the NaOH soluble proteins of marine algae were investigated.

Seven species of sun-dried algae, the major ones in consumption as food, namely *Porphyra suborbiculata*, *Undaria pinnatifida*(natural and cultivated), *Sargassum fulvellum*, *Sargassum kjellmanianum*, *Ulva pertusa*, *Enteromorpha linza* and *Codium coarctatum* were used for the extraction of the NaOH soluble protein. The frozen and mascerated samples were prepared by the same method described in previous paper(Lee, 1977).

In case of the TCA insoluble protein, all samples reached maxima at 0.025M NaOH solution while the 0.05M for the extractable total nitrogen.

Variation of the ratio of sample *vs* solvent gave slight effect upon the extractability, 100 ml solvent added to 1 g dried sample was effective.

The effect of extraction time on the extractability differed from species. The extractability of *Enteromorpha linza*, *Ulva pertusa* and *Codium coarctatum* reached maxima within 1 hour extraction and 2 hours for the cultivated *Undaria pinnatifida* while 3 hours for the natural *Undaria pinnatifida*, *Sargassum fulvellum*, *Sargassum kjellmanianum* and *Porphyra suborbiculata*.

The most effective extraction temperature was 60°C for all samples.

緒 言

蛋白質含量이 많다고 알려진 食用 海藻의 効率의 인 利用을 為한 基礎研究의 하나로 前報(李, 1977)에 이어 食用海藻의 알칼리可用性(NaOH soluble)蛋白質의 抽出條件에 關하여 檢討하였다.

海藻의 알칼리可用性 蛋白質의 抽出條件에 關한

報文은 지금까지 찾아보지 못하였고 다만 柳(1977)等이 食用海藻의 水溶性 蛋白質 抽出條件에서 pH의 影響을 檢討한 경우 0.1N NaOH를 使用하여 pH8~10 사이로 調節할 때에 粗蛋白質의 抽出効果가 좋았다고 報告하고 있을 따름이며 葉蛋白質이 抽出에서는 Wu(1975)等이 小麥의 高濃縮蛋白質 製造에 있어서 NaOH 影響을 檢討하고 있으며 그以外에 保

*釜山水產大學 食品工學科, National Fisheries University of Busan

**서울女子大學 家政學科, Seoul Women's University

井(1969), Betschart(1975), Lawhon(1971)等의 alfalfa, 大豆葉, 잎꽃씨 等의 蛋白質抽出條件을 檢討한 内容 中 pH의 影響을 檢討할 때 部分的으로 NaOH의 影響을 檢討하고 있음 程度이다.

이러한 研究 趨勢에 비추어 研究者는 食用海藻의 알칼리可溶性(NaOH soluble) 蛋白質 抽出條件의 檢討를 為하여 利用度가 높고 量의으로 많이 生產되고 있는 미역(*Undaria pinnatifida*, 自然生 및 養殖), 모자반(*Sargassum fulvellum*), 쎈만모자반(*Sargassum kjellmanianum*), 누운청자(*Codium coarctatum*), 잎파래(*Enteromorpha linza*), 구멍갈파래(*Ulva pertusa*), 및 등근돌김(*Porphyra suborbiculata*) 等 7種의 海藻를 指하여, 前報(柳 1977, 李 1977)와 같은 試料前處理條件 即 dry ice-methanol에 依한 凍結破碎法으로 葉體를 破碎하여 NaOH 濃度, 試料一溶媒比(w/v), 抽出溫度 및 時間에 따른 粗蛋白質과 TCA不溶性蛋白質의 抽出成績을 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 試 料

試料는 1978年 3月 10日에서 16日사이에 慶南梁山郡 日光面 七岩里 앞마다에서 採取하여 精選水洗後 10時間 日乾하여 大型 polyethylene 주머니에 密封包裝한 다음 desiccator에 保管하여 貯藏하면서 알칼리可溶性 蛋白質 抽出條件를 檢討하였다.

2. 實驗方法

水分, 粗蛋白質, 試料의 處理 및 TCA沈澱物에 對한 實驗方法은 前報(李, 1977)와 同一하게 行하였다.

結果 및 考察

1. NaOH濃度의 影響

蛋白質 抽出에 對한 NaOH濃度의 影響을 檢討하기 為하여 乾燥試料 1g 을 凍結破碎하여 0.01, 0.025, 0.05, 0.10, 0.25 및 0.5M NaOH溶液 100ml를 加하여 50±1°C에서 2時間 抽出한 것의 窒素과 抽出液에 TCA를 處理하여 생긴沈澱物의 窒素를 海藻의 全窒素에 對한 百分率로 表示한 結果는 Fig. 1(a), (b)와 같다.

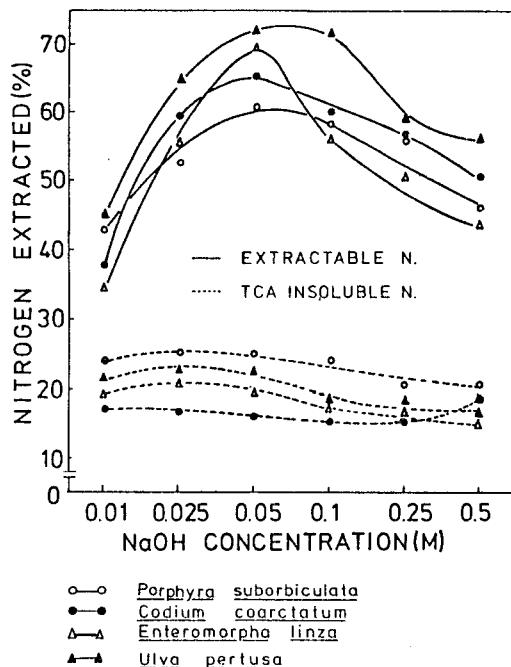


Fig. 1 (a). Effect of NaOH concentration on extractability of protein.

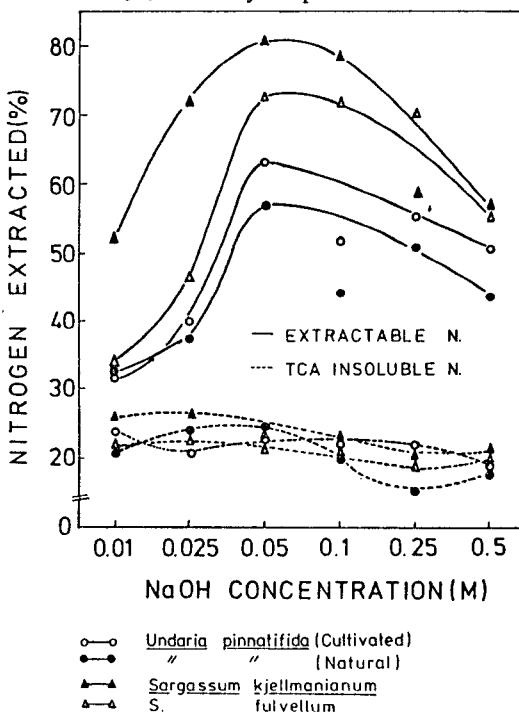


Fig. 1 (b). Effect of NaOH concentration on extractability of protein.

이結果에 依하면 0.05M의 NaOH溶液(pH 11.2)에서 全窒素에 對하여 最低 56.4%(自然生미역)에서 最高 81%(센만모자반)의 높은 抽出成績을 보이는 것은 Gheyasuddin(1970)等이 해바라기씨의 알칼리可溶性蛋白質抽出條件検討의 結果와 一致하여 前報(柳, 1977)의 水溶性蛋白質抽出에 있어서 pH의 影響을 檢討한 結果와 類似하나 TCA不溶性窒素의 경우는 抽出된 窒素의 約 50%의 窒素가 0.01~0.025M에서 抽出되어 最高의 成績을 보였다. 特히 褐藻類에 屬하는 미역, 모자반, 센만모자반과 粘質物含量이 多은 綠藻類인 누운청각에 있어서는 抽出可能한 全窒素의 경우와는 달리 0.01M에서 TCA不溶性窒素가 가장 많이 抽出되었으며, 粘質物이 적은 둥근돌김, 임파래, 구멍갈파래의 경우는 TCA不溶性窒素가 抽出可能한 全窒素의 경향과 類似하였다. 같은 미역의 경우에 있어서도 養殖미역이 自然生미역보다 0.05M에서 全窒素가 大量 抽出되었으나 TCA不溶性窒素는 오히려 적게 抽出되는 경향을 보이는 것은 興味로운 事實이었다. 上記와 같은 實驗結果는 Wu(1975)等이 小麥의 蛋白質抽出實驗에서, 0.03N NaOH溶液에서 抽出全窒素와 TCA不溶性窒素의 抽出이 最高点에 이른다는 事實과 一致하나, 海藻의 NaOH可溶性蛋白質抽出에 있어서는 粘質物이 多은 海藻는 0.05M NaOH溶液에서 最高의 抽出成績을 보이는 것은 非蛋白態窒素 및 이에 雜伴되는 알긴산 等의 粘質物이 Betschart(1975)의 指摘과 같이 높은 pH에 依하여 葉體의破壞가 일어나서 蛋白質과 多量 抽出되는 것이 아닌가 생각되며 이러한 論據는 組識의 強韌度差異가 현저한 養殖미역과 自然生미역의 全窒素의 抽出現象에서도 엿볼 수 있었다. 그러나 營養上 보다 重要한 것은 純蛋白質이므로 海藻의 NaOH可溶性蛋白質을 抽出할 경우에는 全窒素가 0.05M에서 最高의 抽出成績을 보인다 한지라도 TCA不溶性窒素의 最高 抽出濃度인 0.01~0.025M에서 抽出함이 유리하리라 생각된다.

2. 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 为하여 前項에서 염은 純蛋白質 最大 抽出濃度 0.025M NaOH溶液을 凍結破碎乾燥試料 1g에 對하여 1:50~1:250의 比로 加하여 50±1°C, 2時間 抽出한 結果는 Fig. 2(a, b)와 같다. 이 結果에 依하면 全試料가 1:100의 溶媒比에서 抽出成績이 좋

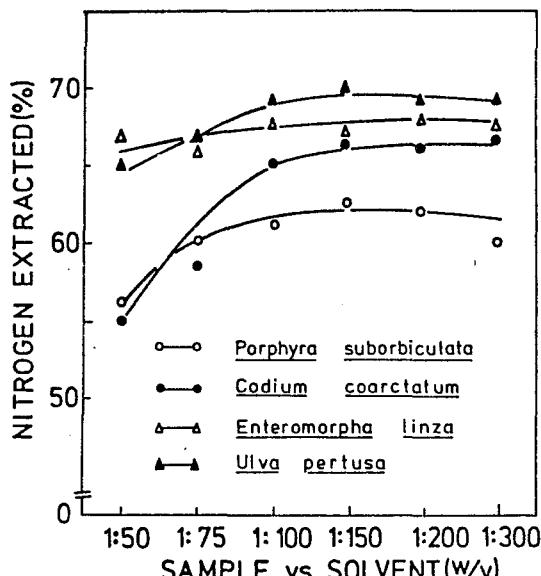


Fig. 2(a). Effect of the ratio of sample vs solvent on protein extractability.

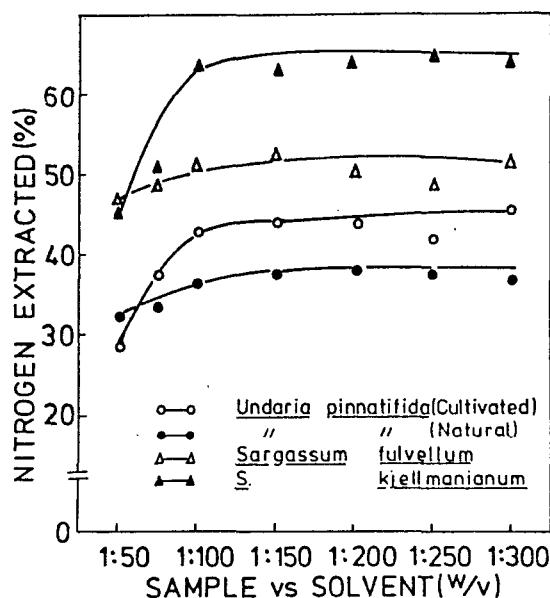


Fig. 2 (b). Effect of the ratio of sample vs solvent on protein extractability.

았으며, 그 以上의 溶媒量에서는 別差가 없었다.

이러한 結果는 前報(柳, 1977)의 水溶性蛋白質抽出條件에서 1:40程度(乾燥試料일 경우는 1:200)에서 褐藻類가 最大 抽出成績을 보이고, 綠藻類, 紅藻類는 1:30(乾燥試料일 경우 1:150)이라는 結果

와比較해 볼 때, 抽出條件의 檢討에 있어서 溶媒量의 影響은 添加한 溶媒에 依한 試料의 膨潤과 蛋白質의 抽出速度等의 効果를 기대하기 위함이라고 생각한다면, 水溶性蛋白質抽出에서 보다는 NaOH의 影響으로 葉綠體等 海藻細胞의 膨潤과 破壞가 쉽게 일어나 添加溶媒量이 水溶性의 경우보다 약간 적어도 最大抽出成績을 나타내는 것이 아닌가 생각된다. 이러한結果는 保井(1969)等이 大豆葉의 0.3% NaOH性蛋白質抽出實驗에서도 純水보다는 溶媒量의 20%程度를 節約할 수 있다는結果와 類似하다. 添加溶媒量이 적으면서 最大의 抽出成績을 얻을 수 있다는 것은 以後의 實驗조작 即 純蛋白質沈澱處理, 遠心分離等의 操作을 迅速하고 便利하게 할 수 있다는 利點을勘案한다면 海藻의 NaOH可溶性蛋白質抽出에 있어서는 乾燥試料의 경우 約 100倍의 溶媒를 添加함이 좋을 것 같다.

3. 抽出時間의 影響

NaOH可溶性蛋白質의 抽出에 對한 抽出時間의 影響을 檢討하기 為하여 乾燥試料 1g에 前項에서 언은 0.025M NaOH溶液 100ml를 加하여 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 0.5~5時間抽出한結果는 Fig. 3(a, b)와 같다.

이結果에 依하면 自然生미역, 모자반, 등근돌김의 경우는 3時間에서, 養殖미역, 셀만모자반은 2時間, 누운청자, 잎파래, 구멍갈파래의 경우에는 1時間程度에서도 最高의 抽出成績을 얻을 수 있었다. 이

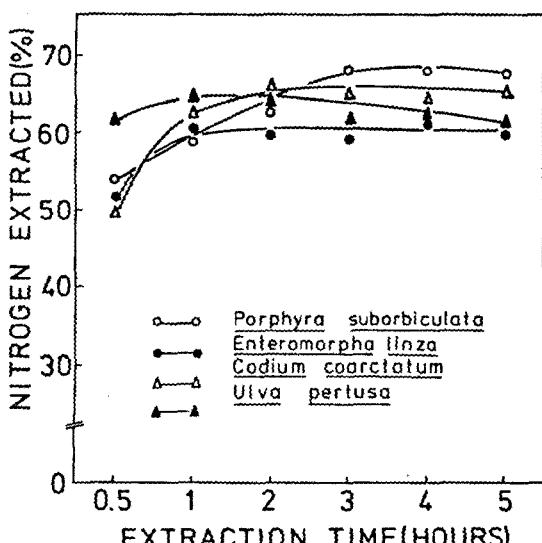


Fig. 3 (a). Effect of extraction time on protein extractability.

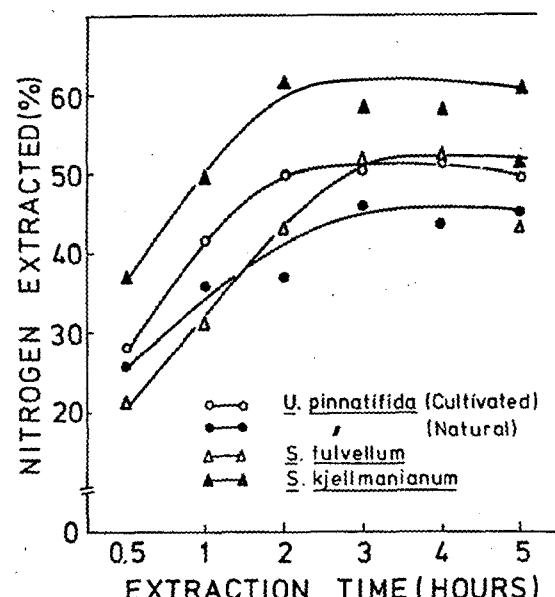


Fig. 3 (b). Effect of extraction time on protein extractability.

結果에서 注目한 것은 抽出時間은 海藻葉體의 強韌度와 密接한 關係를 가진다는 事實이다. 即, 같은 미역일지라도 自然生은 3時間以上에서, 養殖미역은 2時間程度에서 最高의 抽出成績을 보이는 事實과 지금까지 溶媒量, 溶媒濃度에서 같은 抽出條件를 나타내었던 등근돌김과 누운청자이 抽出時間에서는 前者が 3시간, 後者가 1시간에서 最高 抽出成績을 보이는 点과 綠藻類인 구멍갈파래, 잎파래는 1時間程度로서도 最高의 抽出를 기대할 수 있다는 事實이다. 이러한結果는 미역의 경우 自然生미역은 養殖미역보다 比較的 깊은 水深에서 生育한다는 点을 考慮할 때 높은 水壓에 견디기 위해 自然生미역의 葉體強韌度가 높은 것으로 생각되며, 비교적 낮은 水深에서 자라고 있는 잎파래, 구멍갈파래, 누운청자 等은 組織의 強韌度가 떨어져 1시간程度로도 充分한 것이 아닌가 생각된다. 이러한結果는 保井(1966), 神立(1952)等의 크로바일, 大豆葉의 0.3% NaOH性蛋白質抽出에서도 크로바는 15~20分, 大豆葉은 30分程度가 充分하다는 結果를 생각할 때 試料 葉體의 強韌度가 抽出時間에 커다란 影響을 미친다는 事實을 알 수 있었다.

4. 抽出溫度의 影響

海藻의 NaOH可溶性蛋白質抽出에 對한 溫度의

影響을 檢討하기 為하여, 乾燥試料 1g에 前記 1, 2, 3 項에서 얻은 最適 抽出條件으로 30°C에 90°C까지 抽出溫度를 調節하여 抽出한 結果는 Fig. 4(a, b)와 같다. 이 結果에 依하면 抽出되는 全窒素나 TCA不溶性窒素의 抽出 傾向은 全試料가 60°C에서 最高의 抽出成績을 보이고 70°C에서 抽出成績이 急激하게 떨어지며 그 以上의 溫度에서는 완만하고 試料에 따라서는 90°C에서 다소 上昇하는 傾向을 보였다. 綠藻類의 경우는 40°C와 60°C 사이에서 抽出成績이

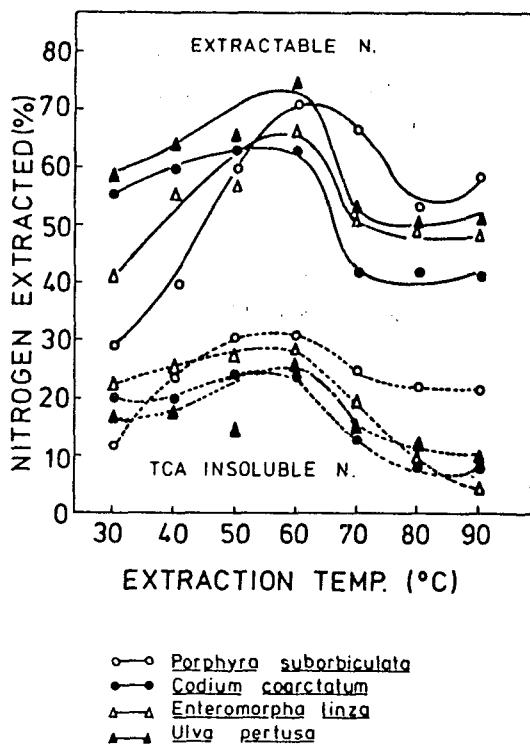


Fig. 4 (a). Effect of extraction temperature on protein extractability.

別 差를 보이고 있지 않으나, 그 以外의 褐藻類, 紅藻類는 溫度에 따라 抽出成績의 差異가 심하였다. 이러한 結果는 植物性蛋白質中 NaOH可溶性蛋白質의 主要 차지하고 있는 glutelin이 60~65°C까지 熱에 比較的 安定하다는 一般論에 비추어 海藻의 NaOH可溶性蛋白質은 70°C以上的 溫度에서 繊性되어 殘渣와 같이沈澱됨으로 하여 抽出成績이 심하게 떨어지는 것이 아님가 생각된다.

TCA不溶性窒素의 경우에 있어서는 抽出되는 全窒素에 比하니 70°C以上에서 极しく 하게 抽出成績

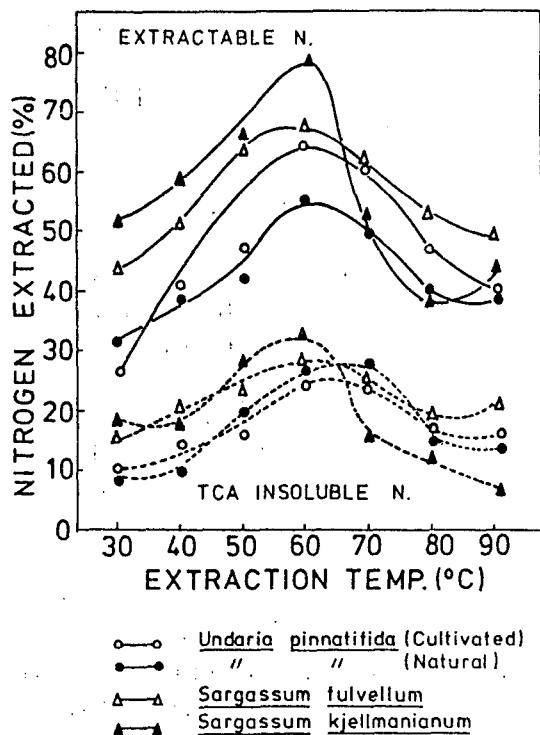


Fig. 4 (b). Effect of extraction temperature on protein extractability.

이 떨어지는 않고 全試料가 50~60°C 사이에서 最高의 抽出成績을 보이고 있었다.

要 約

食用海藻인 통근풀김(*Porphyra suborbiculata*), 일파래(*Enteromorpha linza*), 구멍갈파래(*Ulva pertusa*), 미역(*Undaria pinnatifida*, 自然生 및 養殖), 모자반(*Sargassum fulvellum*), 펜만모자반(*Sargassum kjiellmanianum*), 누운청자(*Codium coarctatum*)의 NaOH可溶性蛋白質抽出에 影響을 미치는 諸要素 即, 抽出溶液의 濃度, 溶媒量, 溫度, 時間에 따른 粗蛋白質과 純蛋白質(TCA不溶性蛋白質)의 抽出 結果를 要約하면 다음과 같다.

- 全試料가 0.05M NaOH溶液에서 가장 좋은 抽出成績을 얻었으나, TCA不溶性蛋白質은 0.01~0.025M에서 抽出成績이 좋았으므로, 0.025M에서 抽出함이 좋을 것 같다.
- 試料一溶媒比(w/v)는 乾燥試料 1g에 對하여 100ml의 溶媒量 添加함이 좋을 것 같다.

3. 抽出時間은 綠藻類는 1시간, 培殖미역 2시간, 自然生米역, 쎈만모자반, 모자반은 3시간에서 最高의 抽出成績을 얻었다.

4. 抽出溫度는 全試料가 60°C에서 最高의 抽出成績을 보였다.

文 献

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

Gheyasuddin, S., C. M. Carter and K. F. Mattil (1970): Effect of several variables on the extractability of sunflower seed proteins. *J. Food Sci.* 35, 453—456.

神立誠・西宏(1952)：草類蛋白質の營養價(第1報). 赤クローバー及びオヤードより蛋白質の單離に就て. 日農化 25, 562—567.

Lawhon J. T. and C. M. Carter(1971): Effect of processing method and pH of precipitation

on the yields and functional properties of protein isolates from glandless cottonseed. *J. Food Sci.* 36, 372—377.

李康鎬·柳洪秀·禹順姚(1977): 海藻蛋白質 抽出에 關한 研究 2. 食鹽可溶性 및 脂肪可溶性 蛋白質의 抽出. 韓水誌 10(4), 189—197.

柳洪秀·李康鎬(1977): 上同研究 1. 水溶性 蛋白質의 抽出. 韓水誌 10(2), 115—125.

Wu Y. Victor and Kenneth R. Sexson(1975): Preparation of protein concentrate from normal and high-protein wheats. *J. Agr. Food Chem.* 23(5), 903—905.

Wu Y. Victor, Kenneth R. Sexson, James E. Cluskey and G. E. Inglett(1977): Protein isolate from high-protein oats. Preparation, composition and properties. *J. Food Sci.* 42(5), 1383—1386.

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.