

南氷洋産 크릴蛋白質의 抽出條件

李成基 · 金英明 · 閔丙善

農漁村開發公社 綜合食品研究院

Factors Affecting the Extraction of Protein from Antarctic Krill

Sung Ki Lee, Young Myoung Kim and Byong Yong Min

Food Research Institute, Agriculture and Fishery Development Corporation

Abstract

To recover proteins from antarctic krill(*Euphausia superba*) for the use of food material, some factors affecting the extraction of protein were investigated. The protein solubility profile showed a minimum solubility level(33.2-38.8%) within the range of pH4.0-4.5 and very high solubility levels as 56.8% at pH2.0 and 80.7% at pH11.0. The extraction yield increased as the solvent-to-krill ratios increase in which a ratio of 5:1(volume of solvent/weight of krill) was found to be preferable from the point of handling convenience and extraction yield. The extraction temperatures did not seem to be important variables on extraction of protein. The extraction of krill protein occurred fairly rapidly with little further extraction of protein after 30 minutes. The extraction of protein was slightly decreased at both acidic(pH2.0) and alkaline(pH11.0) conditions with the increasing concentration of sodium chloride. The extractibility of krill protein at strong alkaline condition(pH11.0) was higher than at strong acidic condition(pH2.0) under the same concentration range as 1-6% of sodium chloride. In phosphate treatments, the extraction of protein was slightly influenced by presence of sodium chloride as the concentration range of 3-4% in the aqueous solvent by which maximize the extraction yield as over 80%.

序 論

南氷洋에서 서식하는 크릴(*Euphausia superba*)은 資源量이 10~15 億톤으로 추정되며 人類가 自然生態系를 파괴하지 않고 每年 漁獲可能한 量이 5,000~7,000 萬톤에 달하는 것으로 알려져 있다.⁽¹⁾ 이러한 크릴은 蛋白質 含量이 豊富한 뿐 아니라 大量 漁獲할 수 있다는 점에서 人類의 未來食糧資源으로 큰 기대를 갖게 한다. 이와같은 크릴을 食品素材로 利用하기 위한 研究는 Shibata 等⁽²⁻⁴⁾에 의하여 다양하게 시도된 바 있으나 現在까지 具體的 活用方法이 定立되지 않고 있는 실정이다.

本 研究는 南氷洋産 크릴蛋白質의 效果的인 食糧化 方法의 일환으로 이미 여러 研究者가 他食品素材에 관하여 報告한 바⁽⁵⁻¹³⁾ 있는 化學的 方法에 依한 크릴蛋白質의 抽出方法을 檢討하였으며, 蛋白質抽出에 미치는 水素이온濃度 및 自己消化의 영향, 抽出溶媒의 種類 및 量, 抽出溫度 및 時間의 영향 等 抽出最適條件을 究明하기 위하여 實施하였다.

材料 및 方法

材料: -20°C에 凍結冷藏된 크릴을 碎屑으로 두께 5 mm로 절단한 다음 마쇄기(Seydelmann Chopper, Model W 114 T)와 Colloid Mill(Yanagia, Model MKEA-0602)을 이용하여 페이스트狀으로 粉碎 均質化시켜 實驗用 材料로 使用하였다. 本 實驗에 使用된 크릴의 一般成分과 개발적 試料處理方法은 Table 1 및 Fig. 1 과 같다.

pH에 따른 蛋白質의 溶解度: 크릴試料 50 g을 精粹한 후 증류수를 넣고 저어 주면서 염산 및 수산화나트

Table 1. Proximate composition of krill

Moisture	79.4%
Protein	14.5%
Fat	2.4%
Ash	3.0%
Salt	1.4%
pH	7.4%

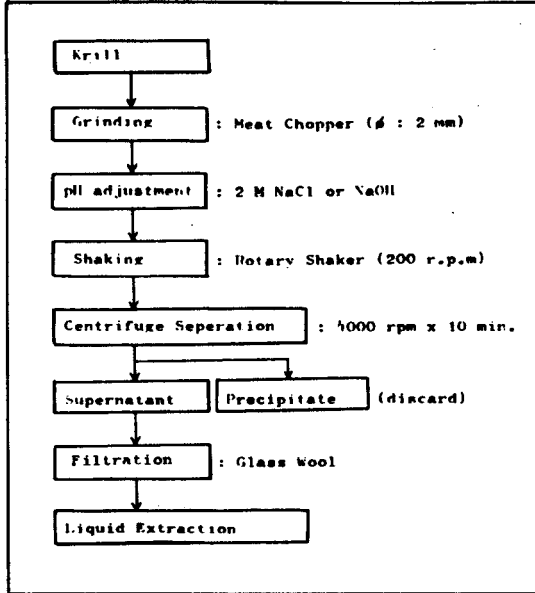


Fig. 1. Schematic flow-chart of protein extraction from krill

물을 하여 pH를 조절하였으며 크릴試料의 最終 희석배수는 1 : 4가 되도록 하였다. 이 크릴溶液을 상온(20°C)에서 40分間 振盪시킨 다음 4,000 rpm에서 10分間 遠心分離시켜 分離된 상등액을 유리솜으로 여과하여 不溶性 物質을 除去한 後 여과액의 容量을 메스실린더로 측정하였다.

질소함량의 分析 : Macro-Kjeldahl 方法으로 分析하였다.

蛋白質의 抽出率 : 크릴試料中の 질소량에 대한 抽出溶液中の 질소량의 百分率로 나타내었다.

抽出溶媒의 量 : 크릴試料를 20, 40, 50, 60, 100 g씩 각각 取하여 最終 溶液의 量이 200 ml가 되도록 하였으며 이때 용액의 pH는 2.0 과 11.0 으로 各各 調整하였다.

抽出溫度 및 時間 : pH를 調整한 크릴용액을 各各 5, 20, 30, 40, 50, 60 및 70°C 條件에서 5, 15, 30, 60, 90, 120 및 180分間씩 加열교반하면서 抽出하였다.

鹽化나트륨 및 인산鹽의 添加 : 염화나트륨은 pH 2.0 과 pH 11.0 으로 調整된 抽出溶媒에, 인산염은 pH가 調整되지 않은 중류수에 各各 1, 2, 3, 4, 5 및 6%가 되도록 加하여 完全히 溶解시켰으며 인산염은 sodium phosphate dibasic, sodium phosphate tribasic, sodium pyrophosphate, sodium polyphosphate, sodium trimetaphosphate, sodium hexametaphosphate를 使用하였다.

結果 및 考察

pH에 따른 크릴蛋白質의 溶解度

抽出溶媒의 pH變化에 따른 크릴蛋白質의 溶解도는 Fig. 2 에 나타낸 바와 같이 pH 4.0~4.5 에서 33.2~38.8%의 蛋白質이 溶出되어 最低溶解水準을 나타내었으며 이와같은 最低溶解 pH條件보다 더 낮거나 높은 pH條件에서는 蛋白質의 溶解度가 增加하는 傾向을 보였다. 이는 오징어 蛋白質의 最低溶出 pH범위가 pH 5.0 이었다는 Kahn等⁽¹⁴⁾의 實驗結果나 一般 魚類 및 肉類 蛋白質의 溶解度에 관한 많은 研究結果와 거의 一致하였다. 酸 및 鹼性 領域에 있어서의 크릴蛋白質 溶解도는 最低溶出 pH범위인 等電點보다 낮은 pH領域에서는 pH 2.0 에서 56.8%의 蛋白質이 溶出되어 最大의 溶解度를 나타내었고 等電點보다 높은 pH領域에서는 pH가 높아질수록 溶解度가 급격히 增加하여 pH 8.0 이상에서는 pH 2.0에서의 溶解도보다 높게 나타났으며 pH 11.0에서는 80.7%의 蛋白質이 溶出되었다.

溶媒의 量과 蛋白質의 抽出率

酸 또는 鹼性용매를 使用하여 크릴蛋白質을 抽出分離코져 할때 溶媒量은 경제적으로 매우 중요한 意味를 갖는다. 실제로 原料量에 對한 溶媒量이 增加할수록 發生하는 폐수의 處理나 副産物의 分離回收 工程이 용이해 질수 있는 長點이 있으나 抽出蛋白質의 回收 및 濃縮에 必要한 에너지量 및 工程所要시간과 설비규모가 각각 확대되는 短點이 豫想된다. 또한 溶媒量이 지나치게 적으면 處理溶液의 粘度가 增加하고 凝胶現象이 發生하여 蛋白質의 抽出分離工程이 매우 어렵게

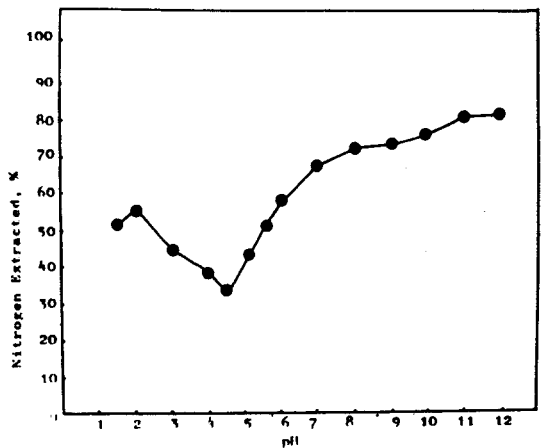


Fig. 2. The effect of pH on the extraction of protein from krill at 20°C

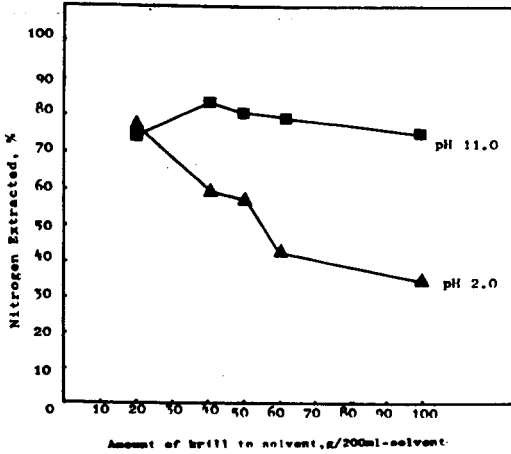


Fig. 3. Effect of the ratio of krill to extractant (w/v) on the amount of protein extracted (Extraction time; 90 min., Extraction temperature; 20°C)

된다. Fig. 3 은 크릴단백질의 溶出性에 미치는 溶媒量의 영향을 調査한 결과로서 대체로 알칼리용매 (pH 11.0)인 경우 처리용매 200 ml 당 원로크릴 40 g 이 混入되었을 때가 最大 83.7%의 蛋白質 抽出率을 보였으나 전반적으로 용매량의 변화에 따른 단백질 추출율의 變化幅은 微微하였다. 그러나 pH 2.0의 酸性 溶媒를 사용한 경우 溶媒量이 낮아질수록 蛋白質의 抽出率도 현저히 낮아지는 경향을 보였다.

이상의 실험결과로부터 蛋白質의 抽出率과 工程의 容易度, 抽出蛋白質의 回收濃縮 및 폐수처리等 製法사항을 고려할 때 알칼리성 용매를 사용할 경우 溶媒量對 원로크릴량의 適正比率은 4:1 ~ 5:1 정도로 생각된다.

抽出溫도의 영향

蛋白質 抽出時 溫도의 영향은 Fig. 4 에 나타낸 바와 같다. 알칼리 抽出에서는 온도의 증가에 따른 큰 변화가 없었으나 酸抽出時에는 감소하는 경향을 보였으며 自己消化에 의한 추출 (pH 7.4)에서는 20~40°C 범위에서 抽出率이 매우 높았으나 40°C 이상에서는 급격히 감소하는 경향을 보였다. 전반적으로 모든 溫度條件에서 알칼리抽出 > 自己消化抽出 > 酸抽出 順으로 抽出率 이 높게 나타났다. 특히 自己消化抽出時 40°C 이상으로 온도가 상승하면 抽出率이 감소하였는데 이는 크릴 자체에 含有된 蛋白質分解酵素가 熱에 의하여 不活性化되고 원로크릴蛋白質이 熱變性으로 一部가 不溶化된 데 基因한 것으로 생각된다. 이와같은 결과는 Saito 等⁽¹⁶⁾이 魚肉과 肉類의 筋纖維 및 筋漿蛋白質 抽出時

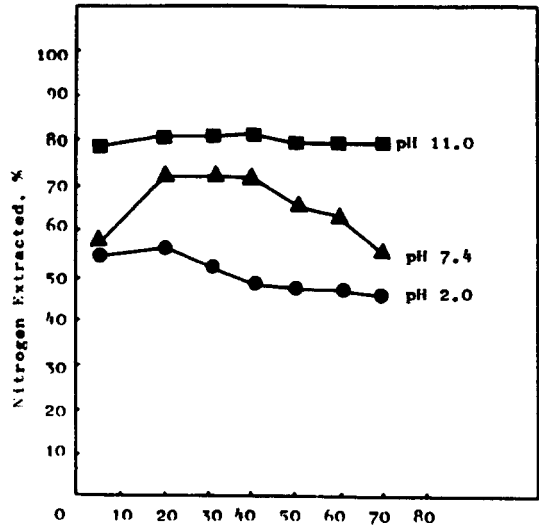


Fig. 4. Effect of extraction temperature on the amount of protein extracted (Extraction time; 90 min., Ratio of krill to solvent; 3:1)

70°C 이상의 溫度에서 10分間의 處理로 約 2%의 抽出率이 低下되었다는 보고로도 뒷받침된다.

한편 抽出方法別 適正 溫度條件은 알칼리 抽出時 20~40°C에서 80.7~81.0%, 酸抽出時는 20°C에서 56.8%가, 自己消化抽出의 경우 20~40°C에서 71.5~71.8%에 이르는 最高의 溶解度를 보였다. 이는 오징어肉의 경우 酸 및 알칼리抽出 最適溫度가 22°C라고 한 Kahn 等⁽¹⁴⁾의 보고와는 비슷하나 소의 胃 및 肺의 蛋白質 抽出時 0°C에 비해 60°C條件에서 2倍이상 抽出되었다는 Swingler 等⁽¹⁷⁾의 보고와는 큰 차이를 보였다. 전반적으로 蛋白質 抽出에 미치는 온도의 영향은 알칼리 추출시에는 微微한 것으로 나타났으나 自己消化 및 酸抽出의 경우에는 비교적 예민하게 나타났다. 따라서 알칼리 추출방법이 다른방법보다 抽出效率도 높고 가동 에너지의 效率도 높은 것으로 보인다.

蛋白質의 抽出時間

同一한 抽出溶媒와 溫度條件下에서 크릴蛋白質의 抽出에 미치는 處理時間의 영향을 調査한 結果는 Fig. 5 와 같다. 즉 알칼리抽出, 自己消化 및 酸抽出等 모든 處理區가 30分이내에 거의 最高의 抽出率을 보였으며 이후 抽出時間이 增加하여도 抽出率은 거의 變하지 않았다. 이는 정어리의 內臟 및 頭部를 原料로 하여 蛋白質을 抽出한 결과 pH 1.5, 抽出溫度 22°C에서 30分間 抽出하는 것이 가장 適當하였다는 Tanaka 等⁽⁹⁾의 보고와 거의 같은 경향을 보였다. 이상과 같은 결과로

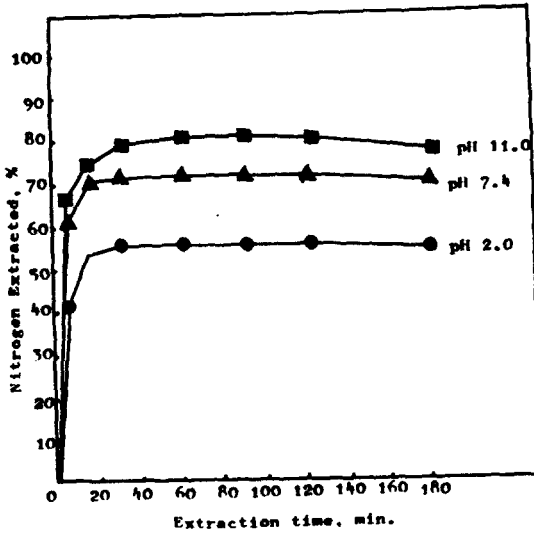


Fig. 5. Effect of extraction time on the amount of krill extracted(Extraction temperature:20°C, Ratio of krill to solvent;3:1)

보아 크릴단백질의 抽出特性은 魚類蛋白質과 매우 비슷함을 알수 있었으며 크릴단백질의 適正抽出時間은 20°C에서 40分 정도로 판단되었다.

蛋白質抽出에 미치는 鹽化나트륨 添加의 영향

pH 2.0의 酸性溶媒, pH 11.0의 鹼性溶媒 및 증류수를 各各 抽出溶媒로 하여 크릴蛋白質을 抽出할 경우 鹽化나트륨의 添加가 抽出率에 미치는 영향을 調査한 결과는 Fig. 6과 같다. 즉 추출용매에 염화나트륨을 첨가함으로써 pH 11.0의 鹼性용매와 증류수로 抽出한 處理區는 염화나트륨을 첨가하지 않은 경우보다 抽出率이 약간 增加하였으나 pH 2.0의 酸性溶媒 處理區는 오히려 抽出率이 감소하는 경향을 보였는데 이는 염화나트륨이 중성 또는 鹼性 조건에서는 단백질 溶解度의 상승작용을, 산성용매 조건에서는 溶解度 低下作用을 하는 것으로 생각된다. 또한 酸 및 鹼 抽出時 鹽化나트륨의 添加濃度가 1~6% 범위에서 濃度가 增加할수록 溶解度는 오히려 서서히 감소하는 경향을 보여 Meinke等⁽¹⁵⁾이 全魚體를 pH 11.0의 용매로 하여 蛋白質을 抽出한 實驗에서 鹽化나트륨을 0.1~1.0% 범위로 添加할 경우 添加濃度가 增加할수록 蛋白質 抽出率이 감소했다는 研究結果와도 一致하나 그 폭이 매우 완만하였다.

인산염 첨가가 蛋白質의 抽出率에 미치는 영향

크릴蛋白質의 抽出率을 높이고 추출된 단백질을 精製濃縮하여 食品素材로 多樣하게 利用하기 위하여는

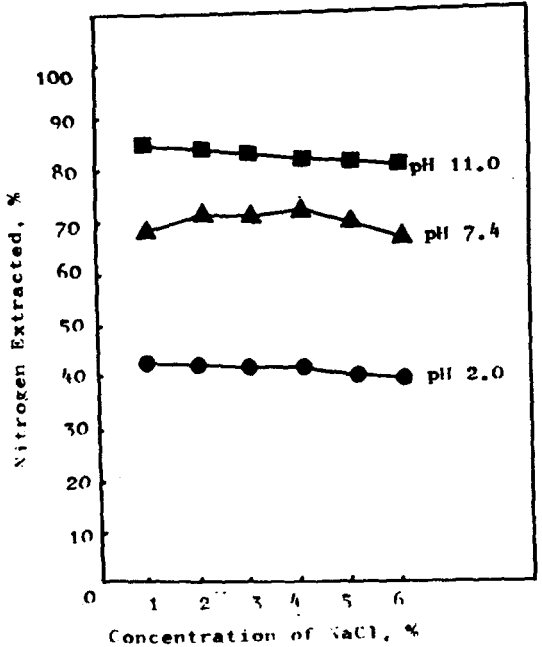


Fig. 6. Effect of NaCl concentration on the solubility of protein from krill (Extraction time;90 min., Extraction temperature;20°C, Ratio of krill to solvent;3:1)

抽出蛋白質에 對한 良好한 加工適性의 부여가 必要하다. 一般的으로 動物性 蛋白質의 抽出에 有效한 것으로 알려진 여러種類의 인산鹽을 1~6%의 水溶液으로 만들어 pH를 調整하지 않고 蛋白質 抽出試驗을 實施한 결과 대체로 3~4%의 인산염 용액의 蛋白質 抽出率이 가장 높게 나타났으며 인산염 種別로는 sodium phosphate, tribasic이 78.2~83.6%, sodium polyphosphate나 sodium pyrophosphate가 80.6~81.6%의 높은 抽出率을 보였다. 이들 인산염 용액의 抽出效果가 높은 것은 Table 2에 나타낸 바와 같이 인산염 種別별 수용액의 pH특성과 밀접한 관련이 있음을 알수있다. 이와 같이 인산염 용액에 의한 크릴단백질의 抽出率이 매우 높은것은 인산염이 갖는 금속이온의 봉쇄효과, pH완충능력, 保水力 조절특성 및 巨大蛋白質分子에 對한 구조적 變性作用 등에 基因한 것으로 생각되나 자세한 作用機構에 대하여는 더욱 研究되어야 할것이며 인산염 용액으로 추출한 크릴단백질의 機能特性에 對하여도 계속 研究檢討 되어야 할 것으로 생각된다.

要 約

南水洋産 크릴을 食品素材로 利用하기 위한 기초적

Table 2. pH values by the type and concentration of Phosphate in extracting solution

Added phosphate	Concentration of phosphate(%)					
	1	2	3	4	5	6
Sodium phosphate, dibasic	7.1	8.0	8.1	8.2	8.2	8.4
Sodium phosphate, tribasic	9.0	9.6	10.1	11.0	11.2	11.6
Sodium pyrophosphate	8.4	8.8	9.1	9.3	9.3	9.4
Sodium trimetaphosphate	8.0	8.4	8.5	8.6	8.7	8.7
Sodium hexametaphosphate	7.6	7.6	7.5	7.4	7.3	7.3
Sodium polyphosphate	8.0	8.3	8.3	8.4	8.4	8.4

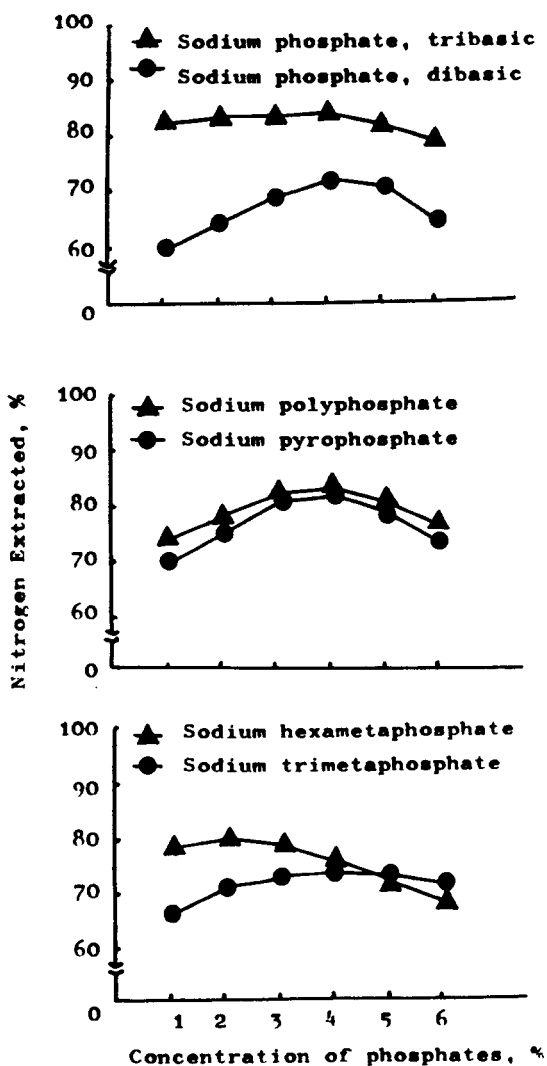


Fig. 7. Effect of type and concentration of phosphate on solubility of protein from krill (Extraction time; 20° C, Ratio of krill to solvent; 3: 1)

연구의 일환으로 단백질 抽出實驗을 實施하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 즉 단백질 抽出時 溶解度는 pH 4.0~4.5 일때가 33.2~38.8%로 最低水準을 보였으며 pH 4.0 이하에서는 pH가 低下할수록, pH 4.5 이상에서는 pH가 增加할수록 단백질 抽出率이 크게 增加하여 pH 2.0 에서는 56.8% pH 11.0 에서는 80.7%의 抽出率을 보여 酸보다 알칼리 抽出이 더 効果的이었다. 抽出溶媒量 對 크릴重量의 比率에 있어서는 溶媒量이 增加할수록 抽出率이 높았고 溫度變化에 따른 影響은 적었다. 또한 抽出處理時間別 蛋白質의 抽出率은 抽出初期에 급격히 增加하였고 30 分 이후 부터는 극히 완만하게 증가하였다. 한편 크릴蛋白質의 抽出에 미치는 鹽化나트륨 添加의 影響은 pH 2.0 및 pH 11.0 의 溶媒에 鹽化나트륨을 1~6%의 濃度가 되도록 添加하여 蛋白質을 抽出한 結果 pH 11.0 의 抽出率이 81.0~84.1%로 pH 2.0 의 39.1~42.9% 보다 훨씬 높았으며 同一한 pH條件에서는 鹽化나트륨의 濃度가 增加할수록 抽出率이 감소하는 傾向을 보였다. 또한 인산염용액에 의한 크릴단백질의 抽出效果는 3~4%의 sodium phosphate, tribasic 이나 sodium pyrophosphate 溶液의 抽出率이 80% 이상으로 매우 높았다.

문헌

1. 박영호, 이용호, 이강호, 변재형, 류홍수, 최수안, 김선봉: 한국수산학회지, 12(3), 191(1979)
2. Shibata, N.: Bull. Japan Soc.Sci.Fish., 49(5), 739(1983)
3. Shibata, N.: Bull. Japan Soc.Sci.Fish., 49(5), 745(1983)
4. Shibata, N., Ozaki, H. and Fujii, Y.: Bull. Japan Soc.Sci.Fish., 49(11), 1721(1983)
5. 송인상: 서울대학교 농학박사 학위논문(1982)

6. Etheridge, P.A., Hickson, D.W., Young, C.R., Landmann, W.A. and Dill, C.W.: *J.Food Sci.*, **46**, 1782(1981)
7. Jelen, P., Earle, M. and Edwardson, W.: *J.Food Sci.*, **44**, 327(1979)
8. Young, R.H. and Lawrie, R.A.: *J.Food Tech.*, **9**, 69(1974)
9. Tanaka, M., Suzuki, K. and Taguchi, T.: *Bull. Japan Soc.Sci.Fish.*, **49**(11), 1701(1983)
10. Spinelli, J., Kowry, B. and Miller, R.: *J.Food Sci.*, **37**, 604(1972)
11. Tarky, W., Agarwala, O.P. and Pigott, G.M.: *J. Food Sci.*, **38**, 917(1973)
12. Tannenbaum, S.R., Anern, M. and Bates, R.P.: *Food Tech.*, **24**(5), 96(1970)
13. Sumner, A.K., Nielsen, M.A. and Youngs, C.G.: *J.Food Sci.*, **46**, 364(1981)
14. Kahn, L.N., Bork, Z., Pariser, E.R., Goldblith, S. A. and Flink, J.M.: *J.Food Sci.*, **39**, 592(1974)
15. Meinke, W.W., Rahman, M.A. and Mattil, K.F.: *J.Food Sci.*, **37**, 195(1972)
16. Saito, T., Iso, N., Ohzeki, F., Suzuki, A., Kato, T. and Sekikawa, Y.: *Bull. Japan Soc.Sci.Fish.*, **49**(10), 1569(1983)
17. Swingler, G.R. and Lawrie, R.A.: *Meat Sci.*, **3**, 63(1979)
18. Young, L.L.: *J.Food Sci.*, **40**, 115(1975).
(1984년 11월 8일 접수)