

이온교환크로마토그라피를 이용하여 굴 박신액에서 Taurine의 분리

이영철 · 구재근 · 김동수 · 김영명

한국식품개발연구원

The Isolation of Taurine from the Oyster Shucking Juice Using Ion Exchange Column Chromatography

Young-Chul Lee, Jae-Geun Koo, Dong-Soo Kim and Young-Myoung Kim

Korea Food Research Institute

Abstract

The study was attempted to isolate taurine from the oyster shucking juice known as one of the by-products of oyster processing using ion exchange column chromatography. Three hundred grams of the oyster shucking juice were loaded onto a column packed with 300 ml of the Dowex 50W H⁺ form. And taurine-rich fractions were further purified in columns packed with 150 ml of Dowex 2 OH⁻ form and the 150 ml of Amberlite IRA-410 OH⁻ form consecutively. The purity and the yield of taurine recovered from the oyster shucking juice by this method were 94.7% and 84.8%, respectively.

Key words: taurine, isolation, oyster shucking juice, ion exchange column chromatography

서 론

Taurine(NH₂CH₂CH₂SO₃H)은 인간을 비롯한 포유동물의 장기에 존재하는 아미노산의 일종으로 단순히 함황아미노산의 노폐물로 여겨져 왔다. 그러나 1970년 후반부터 일부 수산동물에서 삼투압을 조절한다는 사실이⁽¹⁾ 밝혀지면서 이에 대한 관심이 증대되고 있다. Taurine의 생리적 기능은 생체막의 안정화, cholesterol의 저하작용, 면역증강작용, 혈압강하, 항부정맥작용, 해독작용 및 각종 조직의 흥분성조절에 대한 생리적 효과가 보고되어 있다^(1~3). Taurine의 생산기술 및 이용 동향은 상업적 특성 때문에 정확히 파악하기 곤란하나 일본의 경우 조제분유, 건강음료 등의 첨가소재로, 구미유럽에서도 조제분유, 이유식, 비타민제에 사용하고 있다. 한편 국내에서는 합성 taurine이 일부 의약품에 사용하고 있으나, 천연 taurine이 생산가능할 경우 이용 전망은 밝다고 할 수 있다. 특히 수산 가공 부산물 중 taurine 함량이 많은 굴의 박신액은 년간 4~5만톤이 발생되는 것으로 추정되고 있으나, 전량 폐기되고 있는 실정이며, taurine의 분리 정제 연구는 일본에서 몇 편의 특허로 등록^(4,5)되어 있을 뿐 이에 대한 연구는 극히 미비하다. 따라서 본 연구에서는 효과적으로 이용하지 못하는 굴 박신액에서 이온교환수지를 이용하여 taurine의 분리기술을 개발하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

재료

굴 통조림 가공 부산물의 일종인 박신액은 91년 4월 경남 충무소재의 진양어업에서 구입하여 사용하였으며 이들의 일반성분, 염 및 taurine 함량은 Table 1에 나타내었다.

시약

Taurine 표준시약과 Dowex-2 이온교환수지인 Dowex-50W(100~200 mesh), Dowex-2(100~200 mesh)와 Amberilite IRA 410은 Sigma Chem. Co.(ST. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

분석방법

일반성분은 AOAC 공정법⁽⁶⁾으로 측정하였으며, NaCl 함량은 염도측정기(Presto-Tek. Co., Model No. SM-10, USA)로 측정하였다. 이온교환수지 컬럼을 통과한 액의 유리아미노산 함량은 Church 등⁽⁷⁾이 사용한 방법인 O-phthalodialdehyde법(OPA)에 따라 측정하였다.

Taurine의 측정

박신액 및 용출시료 약 5g에 10% TCA 50 ml를 가해 균질화하여 여과 후 상등액을 종류수로 정용한 100 ml 액에서 20 ml를 취해 분액여두에 옮겨 50 ml 에틸에테르를 가하여 TCA를 제거하였다. TCA를 제거한 물층을 모은 후 50°C에서 갑각농축시켰다. 농축물을 10 ml의 0.2 N sodium citrate buffer/loading buffer, pH 2.2, Utropac

Corresponding author: Young-Myoung Kim, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun, Bundang, Sungnam, Kyonggi, 463-420, Republic of Korea

Table 1. Chemical properties of oyster shucking juice

	Moisture (%)	Crude ash(%)	Crude protein(%)	Crude carbohydrate(%)	NaCl (%)	°Brix	Taurine (mg%)
Oyster shucking juice	68.7	22.1	8.2	1.0	20.0	36.0	302.0

Chemicals, LKB Biochrom Ltd., Cambridge, England)에 용해하여 아미노산 분석기로 유리아미노산을 분석하여 수율과 순도를 조사하였다⁽⁸⁾.

이온교환수지의 전처리

이온교환수지는 중류수, 2N NaOH, 중류수, 2N HCl로 2회 반복 세정하여 양이온교환수지의 H^+ 형과 음이온교환수지의 OH^- 형으로 만든 다음 각각 수지를 컬럼에 충진하여 중류수로 중성이 될 때까지 세척하였다.

양이온교환수지와 음이온교환수지에 의한 taurine의 분리

굴 박신액 300g을 양이온교환수지 Dowex 50W H^+ 형(bed volume 300 ml)에 통과시키고, 다시 이 용출물 중 OPA와의 반응시 흡광도가 0.1 이상 나타난 회분을 음이온교환수지인 Dowex 2 OH⁻형(bed volume 150 ml)에 다시 통과시켜 taurine의 음이온성 물질을 제거한 후 얻어지는 용출물 중 OPA와의 반응시 흡광도가 0.1 이상 나타난 회분을 Amberite IRA-410 OH⁻형(bed volume 150 ml)로 처리하여 taurine을 흡착시키고 나머지 반응하지 않은 물질을 중류수로 세척하였다. 흡착한 taurine은 0.1M acetic acid로 용출하였다. 사용한 컬럼의 직경은 2.6 cm, 유출속도는 peristaltic pump(LKB 2232)를 이용하여 상향유출방식으로 분당 1.2 ml로 유출하였

고, fraction collector(LKB 2211, superac)로 10 ml/씩 분획한 분획물들의 유리아미노산 함량은 OPA법으로 조사하였다.

결과 및 고찰

양이온교환수지와 음이온교환수지에 의한 taurine의 분리

양이온교환수지 Dowex 50W H^+ 형에 박신액 300g을 통과시킬 때 용출되는 용출액의 O-phthalodialdehyde(OPA)와의 흡광도의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 용출액의 OPA에 대한 흡광도는 220 ml 용출(pH 1 이하 fraction) 시 0.1 이상으로 증가하다가 300 ml 용출하였을 때 최대 흡광도를 나타낸 후 서서히 감소하다가 540 ml 용출(pH 2.4 fraction) 시 흡광도가 0.1 이하로 나타났다. 흡광도 0.1 이상의 fraction의 경우 pH가 2.5 이하로 나타나 OPA와의 흡광도를 측정하지 않고 pH만을 간단히 측정하여 pH 2.5 이하의 용출액만을 모아 음이온교환수지에 처리하면 될 것으로 생각되었다. 이를 용출물 중 흡광도가 0.1 이상을 나타낸 용출분획만을 모아 이들을 다시 음이온교환수지인 Dowex 2 OH⁻형 컬럼에서 용출시켰다. Dowex 2 OH⁻형에 처리시 용출액의 OPA와의 흡광도의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 용출액의 OPA에 대한 흡광도는 300 ml 용출(pH 9 fraction과 pH 1 이하 fraction) 시 0.1 이상으로 증가하여 320 ml 용출하였을 때 최대

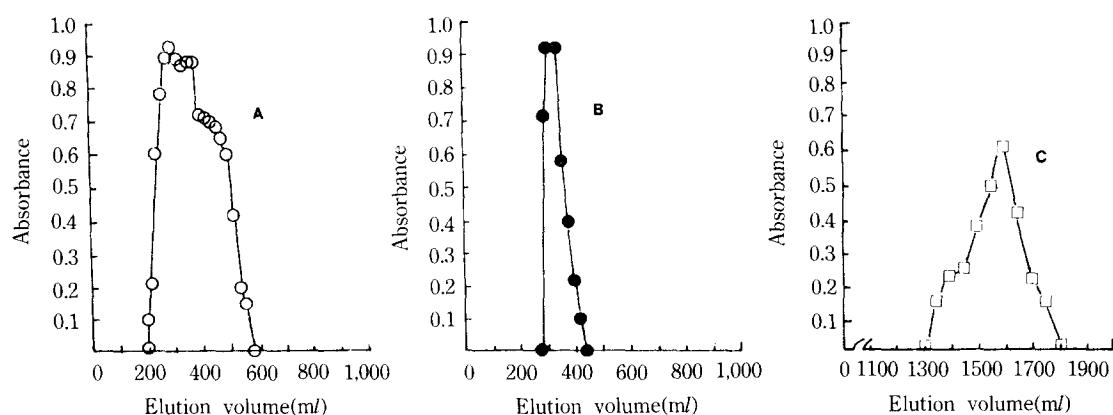


Fig. 1. Elution patterns of the oyster shucking juice by ion exchange column chromatography for the isolation of taurine

(A); The oyster shucking juice was loaded onto Dowex 50W H^+ column, (B); Fractions eluted between 220 and 540 ml in Dowex 50W H^+ column were applied to Dowex 2 OH⁻ column, (C) Taurine-rich fractions eluted from Dowex 2 OH⁻ column were rechromatographed in Amberite IRA-410 OH⁻ column and eluted with 0.1 M acetic acid

흡광도를 나타낸 후 서서히 감소하다가 420 ml 용출(pH 1 이상 fraction) 시 흡광도가 0.1 이하로 나타났다. 흡광도 0.1 이상의 fraction의 경우 주로 pH가 1 이하로 나타나 OPA와의 흡광도를 측정하지 않고 pH만을 간단히 측정하여 알칼리 영역인 pH 12에서 급격히 변하는 용출액부터 pH 1 이하의 용출액을 모아 taurine을 흡착시킬 이온교환수지에 처리하면 될 것으로 생각되었다. 이들 용출물 중 흡광도가 0.1 이상을 나타낸 용출분획만을 모아 다시 음이온교환수지인 Amberite IRA-410 OH⁻ 형에 용출시켜 taurine을 흡착시켰다. Amberite IRA-410의 경우 Fig. 1에서처럼 1340 ml에서 1980 ml 사이의 용출물이 OPA와의 흡광도가 0.1 이상을 나타내었다. 흡광도가 0.1 이상의 분획을 모아 진공하에서 농축하여 crude taurine으로 하였다. 이들의 taurine을 포함한 아미노산의 조성을 아미노산분석기로 조사한 결과 taurine, asp, glu, NH⁺만이 존재하였으며, 이들 함량은 765.1 mg%, 10.7 mg%, 20.3 mg%, 10.2 mg%로 각각 존재하여 taurine의 순도는 94.9%였고 수율은 84.8%였다.

결론적으로 Dowex 50W H⁺ 형과 Dowex 2 OH⁻ 형으로 처리하여 taurine 외 물질을 제거한 후 용출액 중 흡광도가 높게 나타난 획분을 Amberite IRA-410 OH⁻에 처리하여 taurine을 흡착시킨 후 흡착한 taurine을 0.1 M acetic acid로 용출시키면 비교적 수율과 순도가 높은 taurine을 얻을 수 있을 것으로 생각되었다.

요 약

본 연구에서는 효과적으로 이용하지 못하는 굴박신액

에서 이온교환 크로마토그라피로 taurine의 분리하고자 하였다. Dowex 50W H⁺ 형과 Dowex 2 OH⁻ 형으로 처리한 용출액 중 흡광도가 높게 나타난 획분을 Amberite IRA-410 OH⁻ 형에 다시 용출시켜 taurine을 흡착시킨 후 흡착한 taurine을 0.1 M acetic acid로 용출시키면 수율과 순도가 84.8%와 94.9%인 taurine을 얻을 수 있었다.

문 현

1. Gaull, G.E.: Taurine: Biological update. *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 427(1986)
2. 板野一臣: 魚介類に含有される成人病豫防物質. *Seikatsu Eisei*, **32**, 21(1988)
3. 坂口守彥: Taurine: その代謝, 生理機能 および 著養有效性. *Health Digest*, **4**, 1(1989)
4. 鴻葉章二: Taurineの製造方法. 日本特許公報, 昭59-1675 59(1984)
5. 田代智康: Taurine 含有液 處理方法. 特許出原公開 昭60-92253(1985)
6. A.O.A.C.: Official Methods of Analysis, 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., p.876(1980)
7. Church, F.C., Swaisgood, H.E., Porter, D.H. and Catignani, G.L.: Spectrophotometric assay using O-phthalodialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *J. Dairy Sci.*, **66**, 1219(1983)
8. 김영명, 김동수, 이영철, 구재근: 어패류를 이용한 조미 소재 개발에 관한 연구. 한국식품개발연구원, E1059-0065 (1989)

(1992년 8월 10일 접수)