

## 해삼 당단백질의 물리화학적 특성과 식이효과

문정혜 · 류홍수<sup>†</sup> · 유병진\* · 문수경\*\*

부산수산대학교 식품생명과학과

\*강릉대학교 식품과학과

\*\*경상대학교 식품과학과

### Physicochemical Properties and Dietary Effect of Glycoprotein from Sea Cucumber(*Stichopus japonicus*)

Jeung-Hye Moon, Hong-Soo Ryu<sup>†</sup>, Byeong-Jin You\* and Soo-Kyung Moon\*\*

Dept. of Food and Life Science, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

\*Dept. of Food Science, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

\*\*Dept. of Food Science, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

#### Abstract

To clarify the potentiality of sea cucumbers as dietary food, the effects of those glycoprotein on dietary proteins and physicochemical properties of those proteins were studied. Crude glycoprotein was efficiently extracted using 20mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) and by salting out with 80% ammonium sulfate saturation. The fractions obtained through the DEAE-cellulose ion exchange chromatography was identified as glycoprotein by Schiff's reagent and SDS polyacrylamide gel electrophoresis. The yields of each glycoprotein from the three kinds of sea cucumbers were 0.814(red), 0.184(blue) and 0.232(black) and the molecular weights of the glycoproteins subunits were ranged from 20,000 dalton(blue and black) to 29,000 dalton(red), respectively. The electrophoretic patterns of the glycoprotein isolates were similar to each other and any significant difference in amino acid pattern was observed. Predominant amino acids were Asx(aspartic acid and asparagine) and Glx(glutamic acid and glutamine); in contrast, histidine and methionine were below 2% as compared to total amino acids. Water holding capacities of the glycoprotein isolates from red, blue and black cucumbers were equally 100% and emulsion activities ranged from 53% to 64%. In addition the emulsion stabilities were 7.04, 1.37 and 2.44, respectively. *In vitro* digestibility of some proteins(casein, SPI and squid) was decreased as increasing the level of the freeze dried sea cucumber powder and glycoprotein isolates. But squid protein was not affected.

**Key words:** sea cucumber glycoprotein, physicochemical properties, dietary effect

#### 서론

우리나라의 전연안과 중국, 일본, 사할린 등에 널리 분포하는 식용해삼은 예로부터 바다에서 나는 인삼으로 불리어져 온 수산건강식품으로 육색에 따라 홍삼, 청삼 및 흑삼 3종류로 구분한다. 해삼에 관한 연구로는 Tanikawa(1)가 영양성분과 화학적 구성성분이 사후 경직에 미치는 영향을 연구하였고, Motohiro(2)는 해삼으로부터 당단백질을 분리하여 구성성분을 분석하

였다. Mourao와 Bastos(3)는 해삼체벽에서 fucose가 풍부한 sulfated polysaccharide를 분리하였고, Li와 Lian(4)은 해삼에서 혈소판 응집에 주요인이 되는 산성 점액성 다당류를 추출하였다. Kariya 등(5)은 해삼의 체벽에서 glycosaminoglycan을 Viera 등(6)은 해삼의 결합조직에서 proteoglycan인 fucose-branched chondroitin sulfate를 추출하였다. 이러한 연구들에 비추어 우리나라에서는 식용 및 약용으로 한 역사가 오래인데도 불구하고 한국산 해삼의 성분조성, 유용성분의 분포 및

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

<sup>§</sup>이 논문은 1994년도 교육부 학술연구 조성비(해양수산과학분야)에 의해 연구되었음.

약리효과에 대하여 충분한 연구가 되어있지 않다.

본 연구에서는 어패류와는 달리 이용율이 낮고 영양생리학적 특성이 구명되지 않은 해양생물자원을 대상으로 부작용이 없고 효과적인 치료식의 제조가능성을 타진하기 위하여 먼저 극피동물 중 해삼에 함유된 유효 성분의 물리화학적 특성 및 식이효과를 밝히고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 동결건조시료

시료 해삼(홍삼, 청삼 및 흑삼)은 1992년 2월 경남 양산군 기장읍에서 양식한 것으로 구입, 운반 즉시 내장을 제거하고 세척하여 진공동결건조한 다음 분말로 만들어 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 시료로 쓴 해삼(홍삼, 청삼 및 흑삼)의 체중 및 가식비율은 Table 1과 같다.

#### 해삼당단백질시료

해삼의 당단백질은 Bayliss(11)의 방법에 따라 추출하였다(Fig. 1). 동결건조 해삼분말을 20mM 인산완충

용액(pH 7.0)으로 현탁시킨(4°C, 24시간) 다음, 원심분리(12,000rpm, 30분)하여 상층액을 취하여, 황산암모늄의 포화 농도가 0~80%까지 염석시켜, 원심분리(12,000 rpm, 30분)하여 침전물을 취하였다. 침전물을 같은 완충액으로 투석하여 염을 제거한 후, 미리 같은 완충액으로 평형화한 DEAE-cellulose ion exchange column (3.5×12cm)에 0.5M, 1.0M 및 1.5M NaCl을 함유한 완충액으로 단계적으로 용해하여, 280nm에서 활성이 있는 분획만 모아, 다시 투석한 후 당단백질 실험에 사용하였다.

#### 동결건조시료의 성분분석

##### 일반성분 및 무기성분

수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semimicro-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식회화법으로 분석하였다. 무기원소는 AOAC(7)의 방법에 따라 5g의 동결건조 해삼분말시료에 과염소산과 질산을 가하여 낮은 온도에서 서서히 가열 분해하고 증류수로서 정용하여 원자흡광분광광도계(Varian사, Spect AA-30)로써 측정하였으며, 표준품에 대하여 측정된 값과 대비하여 각 원소의 농도를 계산하였다. 위의 실험에서 얻어진

Table 1. Body weight and edible portion of sampled sea cucumbers

	Red sea cucumber	Blue sea cucumber	Black sea cucumber
Body weight(g)	72.96 ± 4.33 <sup>1)</sup>	72.96 ± 4.33	53.56 ± 3.05
Edible portion(%)	59.65 ± 3.23	62.31 ± 3.24	57.58 ± 2.32

<sup>1)</sup>Mean ± standard deviation

Freeze dried sea cucumber powder

Make suspension with 20mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) at 4°C for 24hr, and centrifuge (12,000rpm, 30min.)

Supernatant

Salt-out with 80% ammonium sulfate saturation and centrifuge(12,000rpm, 30min.)

Precipitate

Dissolve with of 20mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) and dialyze with 100vol. of the same buffer at 4°C for 8hr.

Crude extract

Apply to DEAE-cellulose column preequilibrated with 20mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) Elute with the same buffer and 0.5M and 1.0M NaCl solution, stepwisely

Glycoprotein isolates

Fig. 1. Preparation of glycoprotein isolates from sea cucumbers.

분석 결과는 반복실험에 의하여 오차범위내의 측정값을 평균하여 나타내었다.

#### 황산콘드로이친

분광분석법에 의한 정량; 국립보건원의 의약품 기준 및 시험방법(8)에 준하여 실시하였다. 즉, sodium chondroitin sulfate A와 B를 건조(105°C, 4시간)하여 혼합한 것을 약 100mg 정도 취하여 물에 녹인 후, 초산·초산칼륨완충액으로 50ml로 하여 표준액으로 하였다. 표준액, 시험용액 및 대조액 2ml을 취해 0.5N NaOH 용액 0.2ml을 가하여 혼합 가열(90°C, 30분)한 후, 일정액에 acriflavine용액으로 침전을 석출시켜 membrane filter로 여과한 다음, 메탄올로 일정액으로 정용하여 460nm부근의 각 흡수극대파장에서 흡광도를 측정하였다.

Gas chromatography에 의한 정량(9); 동결건조시료를 탈지하여 pH 7로 조정 후, pronase용액(750,000 tyrosine unit/g, 100mg/ml)으로 단백질을 분해시킨 다음, 원심분리(3,000rpm, 10분)하고 상층액을 물로 일정액으로 정용하여 시험용액으로 하였다. 메탄올로써 침전을 석출시켜 방치한 후 원심분리(3,000rpm, 5분)하여 얻은 침전을 methanolysis 및 TMS화를 행하여 잔류물을 hexane에 녹여 GC로 분석하였다.

#### 아미노산 조성

동결건조해삼분말에 1%(w/v) phenol을 함유한 6N HCl 20ml를 가하고 질소가스를 취입하여 산소를 제거한 다음, 110°C에서 24시간 동안 가수분해하였다. 가수분해한 시료는 진공회전증발기로서 감압건조한 다음 건조제(ethanol : water : triethylamine=2 : 2 : 1) 20ml를 가하고 재차 진공건조하였다. 다음에 PITC (phenylisothiocyanate, pierce)유도체화시약(ethanol : water : triethylamine : phenylisothiocyanate=7 : 1 : 1 : 1)을 20ml를 가하고 상온에서 10분간 방치한 다음 진공건조하여 Pico-Tag<sup>TM</sup> column(3.9×150mm)를 장착한 HPLC (Waters사)로써 정량하였다.

#### 유화성, 유화안정성 및 보수력

유화성과 유화안정성은 Wang과 Kinsella(15)의 방법을 수정하여 측정하였다. 유화성은 동결건조해삼분말 0.3g에 10ml의 증류수를 가하여 균질화(5,000 rpm, 1분)하여, 원심관내 총 내용물의 높이에 대한 유화된 층의 높이를 백분율로 나타내었다. 다음, 유화안정성은 유화액을 가열(80°C, 30분), 냉각(15°C)하여 원심분리(5,000rpm, 15분)한 다음, 유화성의 측정과 동일한 방법으로 측정하였다. 보수력은 Lin 등(16)의 방법에 따라 동결건조 해삼분말 1g을 취하여 10ml의 증류수

를 가하여 20°C에서 1시간 방치하면서 수시로 Vortex 로써 교반하여 용해된 시료들을 원심분리(5,000 rpm, 20분)하여 상층액을 제거하고 여지상에서 수분을 제거한 다음, 건조시료의 중량증가 %로서 나타내었다.

#### In vitro 단백질 소화율의 측정

시료의 단백질 소화율 측정은 Satterlee 등(17)의 방법을 개량한 AOAC(18) 방법으로 측정하였다. 대조 단백질로서는 ANRC sodium caseinate를 썼으며,  $\alpha$ -chymotrypsin(Sigma제, 41units/mg solid), trypsin(Sigma제, 14,600 BAEE unit/mg solid) 및 peptidase(Sigma제, 50units/g solid)의 혼합효소를 1ml 첨가하여 37°C에서 10분간 가수분해시키고, 55°C에서 protease(Sigma제, *Streptomyces griseus*, 58units/mg solid)로 10분간 다시 가수분해시킨 후, pH를 측정하여 아래의 계산식으로 소화율을 계산하였다.

$$\% \text{ digestibility} = 234.84 - 22.56 \chi$$

$\chi$  : 가수분해 20분 경과시의 pH

또한 동결건조해삼분말과 추출당단백질의 식이효과를 검토하기 위해 이들을 casein을 비롯한 몇몇 단백질원(분유, 오징어, 콩단백추출물)에 10%, 20%, 30% 및 40%(w/w)을 첨가시켜, 소화율에 미치는 영향을 조사하였다.

#### 당단백질의 특성

##### 화학적 성질

전기영동에 의한 검정 : SDS-PAGE 전기영동은 Laemmli(13)의 방법을 부분적으로 개량하여 하층의 분리 gel(7.5% acrylamide)과 상층의 농축 gel(3% acrylamide)로 구성된 disc-gel칼럼(8cm)을 사용하여 불연속적인 변성의 조건하에서 행하였다. 전기영동 후의 gel은 0.25% coomassie brilliant blue R-250을 함유한 ethanol : 초산 : 물=9 : 2 : 9(v/v/v)로 섞은 염색액(여과후 사용)으로 단백질 band를 5시간 염색하였고, 염색이 끝난 gel은 ethanol : 초산 : 물=25 : 8 : 65(v/v/v)로 섞은 탈색액으로 1시간 마다 액을 교환하여 탈색이 완료될 때까지 계속하였다. 또한, SDS-분자량 표준단백질의 전기영동이동도를 SDS화한 당단백질의 전기영동이동도와 비교하여 분자량을 측정하였다. 추출한 해삼의 단백질에 함유된 당의 염색법은 Glossmann와 Neville(14)이 개발한 방법을 이용하였으며 말색제로는 Schiff's 시약을 이용하였다.

IR spectrum에 의한 분석 : KBr을 대조구로 하여 IR spectrum(Perkin Elmer 1330)을 측정하였다. KBr cell은 KBr분말을 130°C에서 24시간 가열건조한 후 데시케

이타에서 방냉시킨 다음, KBr 200mg과 시료 3mg을 잘 혼합한 후 10분간 700kg/cm<sup>3</sup>의 압력하에서 성형하였다.

아미노산조성 : 진공동결건조한 당단백질의 아미노산조성은 앞에서 설명한 진공동결건조해삼분말의 아미노산조성분석방법에 따라 측정하였다.

물리적 성질

점도 : Haake RV-120 viscometer를 사용하였으며, MVI sensor system을 이용하였는 데 이 때 sensor MV-Cup 내경은 4.2cm였고 MV II-bob은 외경이 3.8cm인 것을 사용하였다. 홍삼, 청삼 및 흑삼으로 부터 분리한 당단백질 3mg, 30mg, 16mg을 15ml의 증류수에 녹인 후 이 MV-Cup에 넣어 점도계 본체와 연결하였다. 전단응력(shear stress)과 전단속도(shear rate)는 실험으로부터 구한 회전속도에 따른 torque로 부터 아래의 관계식에 따랐다.

$$\tau = A \times S \times 0.3$$

$$\gamma = M \times n$$

S : torque의 눈금값, A : shear stress factor(3.22), n : 회전속도(min), M : shear rate factor(0.23), 0.3 : 보정상수

유화성, 유화안정성 및 보수력 : 당단백질의 유화성, 유화안정성 및 보수력은 앞에서 설명한 진공동결건조해삼분말의 유화성, 유화안정성 및 보수력 측정방법에 따라 하였다.

해삼 당단백질의 소화율 : 당단백질의 소화율은 앞에서 설명한 진공동결건조해삼분말의 소화율의 측정방법에 따라 구하였다.

결과 및 고찰

동결건조해삼의 성분조성과 소화율

해삼의 일반 성분은 Table 2와 같이 청삼, 홍삼 및 흑삼이 거의 비슷하였는데, 단백질 함량은 2~5%였으며, 지방은 0.2~0.4%로 나타나 전형적인 저지방식품이었다. 무기질은 Ca와 Na이 어류나 연체동물인 굴, 가리비 등에 비해 10배 이상 많은데 비해 K, Zn, Cu와 Fe는 상대적으로 훨씬 적었다(9).

이상의 결과는 해삼의 식품성분표에서의 결과와 별 차이가 없었으나 Ke 등(20)이 연구한 결과와는 차이를 나타냈는데, 이는 먹이에 따른 계절적 차이, 또는 서식 환경의 차이에 그 원인이 있는 것 같다.

점질다당체의 주성분으로 동물 등의 세포간조직, 신경조직 및 연골조직에서 발견되는 황산콘드로이친은

Table 2. Proximate composition of sea cucumbers (g/100g sample)

Component	Blue	Red	Black
Moisture	90.1±1.4	89.0±1.2	93.7±1.5
Crude protein (N×6.25)	3.8±0.1 (38.4±1.5)	3.1±0.2 (28.2±1.4)	2.3±0.1 (36.4±1.7)
Crude lipid	0.4±0.3 (3.7±0.2)	0.3±0.2 (2.6±0.2)	0.3±0.2 (4.4±0.3)
Crude ash	3.2±0.3 (32.3±0.4)	3.7±0.1 (33.6±0.4)	3.4±0.2 (53.2±0.6)
Mineral(g/100g) <sup>1)</sup>			
Na	12.1±0.5	12.3±0.6	16.1±0.2
Ca	8.1±0.2	5.8±0.2	6.7±0.2
K	0.1±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
Fe <sup>2)</sup>	16.7±0.5	18.8±0.3	21.7±0.7
Zn <sup>2)</sup>	5.7±0.2	5.9±0.2	5.4±0.5
Cu <sup>2)</sup>	0.8±0.1	0.7±0.1	1.2±0.2

<sup>1)</sup>Numericals in parenthesis represent percentile ratio as moisture free basis

<sup>2)</sup>mg/100g

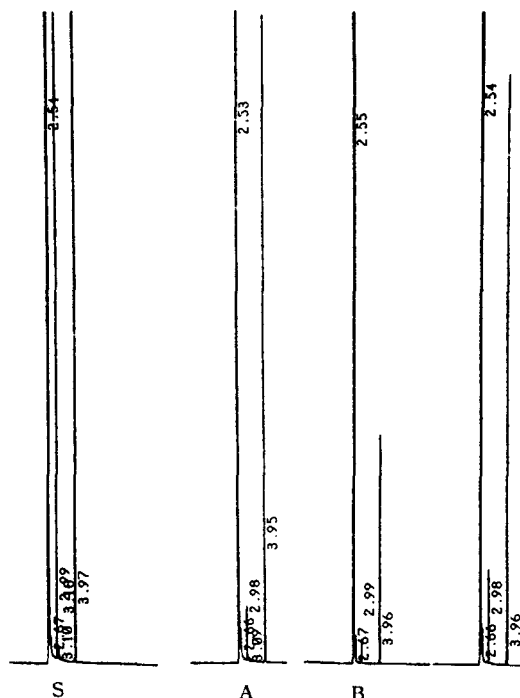


Fig. 2. Capillary gas chromatograms of trimethylsilylated chondroitin sulfate(S) and sea cucumbers (A, red ; B, blue ; C, black).

Conditions : column, fused silica 25mm×0.2mm i.d. carbowax 20M phase(film thickness 0.2mM) ; column temp. program ; 120°C(0.5min.) to 230°C at 8°C/min ; injection temp. ; 230°C ; FID temp., 250°C ; injection, 1μl split ratio ; carrier gas flow rate, N<sub>2</sub> 100ml/min.

**Table 3. Comparisons of chondroitin sulfate contents determined by the spectrometric and gas chromatography (mg%)**

Sea cucumber	Spectrophotometry <sup>1)</sup>	Gas chromatography <sup>2)</sup>
Red	3160.4±21.4	627.3± 5.2
Blue	2660.7±13.2	1726.5±13.5
Black	2730.3±11.5	2199.2±11.7

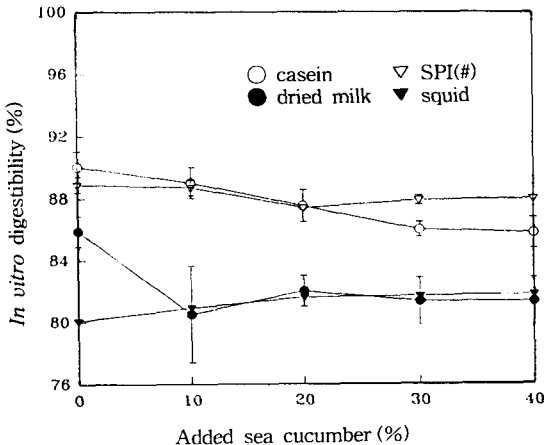
<sup>1)</sup>Values of acriflavin solution  
<sup>2)</sup>GC conditions: same as in Fig. 2

단백질이 다당류와 공유 결합하여 존재하고 있어, 알카리처리 등에 의해 분리 정량하였고, 확인은 gas chromatography에 의해 황산콘드로이친의 표준품(Sigma사, chondroitin sulfate A)과 retention time을 비교하여 검정하였다(Fig. 2와 Table 3). 동결건조해삼분말의 황산콘드로이친은 분광분석법에서 2,660~3,150mg%, GC방법에서는 627~2,200mg%로 정량되었는데, GC보다 분광분석법의 함량이 많은 것은 다른 다당류에 의한 아크리플라빈의 침전도 일부 일어난 결과로 생각된다(21).

동결건조해삼 중 청삼분말을 여러가지 단백질 식품(casein, 분유, 콩단백추출물 및 오징어 단백질)에 첨가하여, 소화율에 미치는 영향을 조사하여 Fig. 3에 나타내었다. 40% 첨가하였을 때 casein, 분유 및 콩단백질 추출물이 6%, 5% 및 3.5%의 소화율 감소를 나타낸 반면에, 오징어 단백질에 대해서는 소화율에 대한 영향은 거의 없었다.

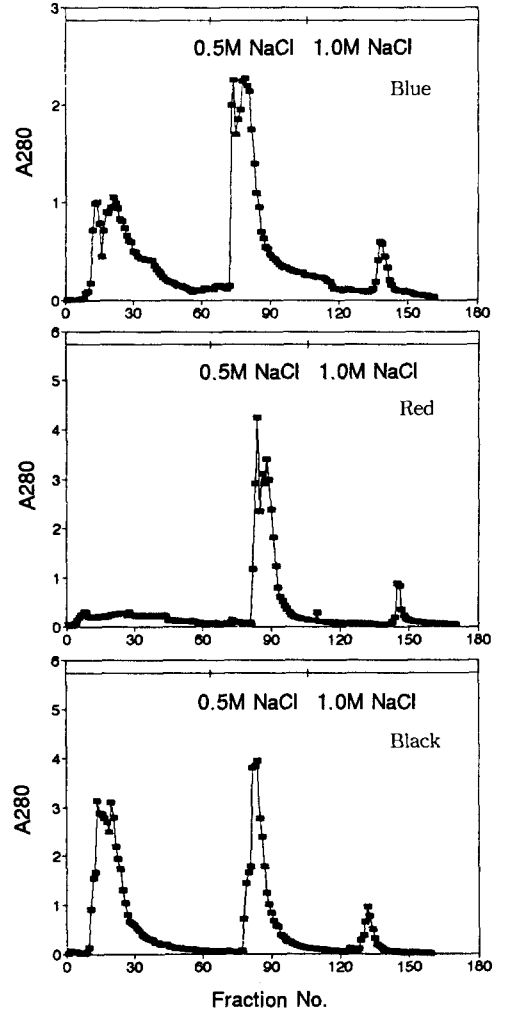
**당단백질의 분획 및 특성**

당단백질을 DEAE-cellulose ion exchange chro-



**Fig. 3. Effect of freeze-dried blue sea cucumber on in vitro digestibility of various food proteins.**

matography로서 분획한 chromatogram을 Fig. 4에 나타내었다. 0.5M, 1.0M 및 1.5M NaCl 함유 완충용액으로 단계적으로 용리하여 280nm에서 활성이 있는 분획만 모아 동결건조하여 정량한 결과, 당단백질의 수율은 홍삼이 0.814%, 청삼이 0.183%, 그리고 흑삼이 0.232%



**Fig. 4. Stepwise elution of DEAE cellulose column chromatography using the 80% saturated ammonium sulfate salted-out fraction of the freeze-dried sea cucumber extracts.**

**Table 4. The yields of glycoprotein isolated from sea cucumbers**

Sea cucumber	Yield (g/100g freeze dried edible portion)
Red	0.814
Blue	0.183
Black	0.232

로 홍삼이 수율이 가장 높았다(Table 4). 0.5M과 1.0M NaCl에서 대부분 용출되었으며 이들의 전기영동상의 이동도가 유사하였다.

당단백질의 특성

동결건조해삼분말을 20mM 인산완충액으로 추출한 다음, 80% 황산암모니움포화액으로 염색하여 얻은 획분을 DEAE-cellulose column chromatography에 의하여 0.5M NaCl와 1.0M NaCl 인산완충액으로 각각 단계적으로 분획하여 얻은 획분과 SDS PAGE 전기영동법으로 실험한 전기영동 pattern을 Fig. 5에 나타내었다. 홍삼에서 추출한 당단백질의 구성 subunit의 분자량이 약 29,000dalton이고, 청삼과 흑삼에서 추출한 당단백질의 구성 subunit는 20,000dalton으로 나타났다(Fig. 6). 해삼동결건조분말의 추출물이 당단백질인지를 확인하기 위하여 SDS PAG 전기영동을 수행한 후, Schiff's 시약을 이용하여 염색한 결과 Fig. 7과 같은 붉은 색으로 나타나, 이 단백질 band가 당을 함유한 당단백질임을 확인할 수 있었다. Fig. 8은 당단백질 구조의 특징적인 기능기를 판단하기 위하여 추출한 당단백질을 KBr을 대조구조 하여 IR spectrum을 측정한

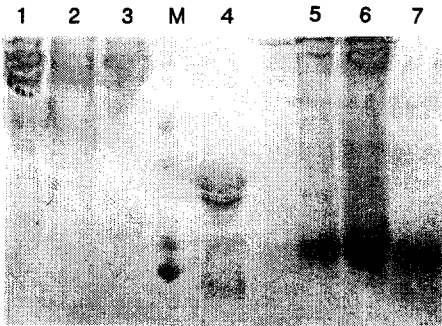


Fig. 5. SDS polyacrylamide gel electrophoresis of the proteins extracted from sea cucumbers.

- Lane 1 : fractions eluted with sodium phosphate buffer(pH 7.0) using the red sea cucumber extract
- Lane 2 : fractions eluted with sodium phosphate buffer(ph 7.0) using the blue sea cucumber extract
- Lane 3 : fractions eluted with sodium phosphate buffer(ph 7.0) using the black sea cucumber extract
- M : molecular weight markers
- Lane 4 : fractions eluted with 0.5M NaCl elution using the red sea cucumber extract
- Lane 5 : fractions eluted with 0.5M NaCl elution using the blue sea cucumber extract
- Lane 6 : fractions eluted with 1.0M NaCl elution using the blue sea cucumber extract
- Lane 7 : fractions eluted with 0.5M NaCl elution using the black sea cucumber extract

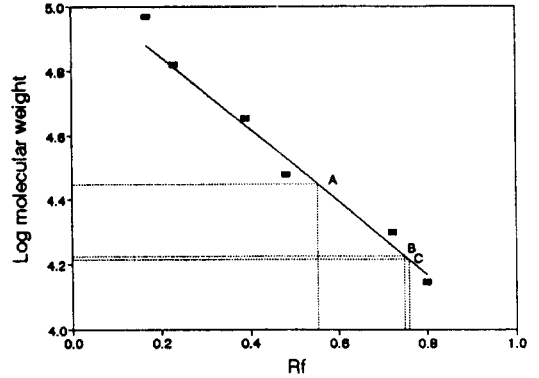


Fig. 6. Molecular weight estimation of the glycoprotein subunit by SDS polyacrylamide gel electrophoresis.

The molecular weight of standard markers were as follows ; phosphorylase b, 97KD ; bovine serum albumin, 66KD ; ovoalbumin, 45KD ; carbonic anhydrase, 31KD ; trypsin inhibitor, 21KD ; lactate dehydrogenase, 14KD

- A : major glycoprotein of red sea cucumber.
- B : major glycoprotein of blue sea cucumber.
- C : major glycoprotein of black sea cucumber.

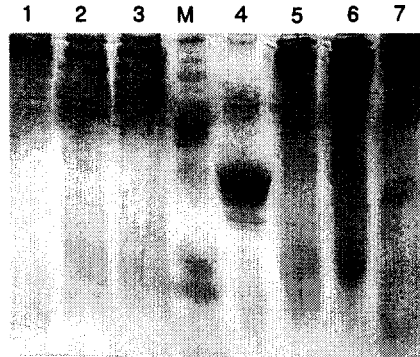


Fig. 7. Electrophoregrams of glycoproteins from sea cucumbers by Schiff's reagent staining.

Lane 1~7 and M were same as Fig. 5.

결과이다. Fig. 8에서 알 수 있듯이 홍삼, 청삼 및 흑삼에서 분리한 당단백질이 모두  $3,400\text{cm}^{-1}$ 에서 OH기,  $1650\text{cm}^{-1}$ 에서 CO기,  $1,000\sim 1,100\text{cm}^{-1}$ 에서 glycoside 결합의 ester형,  $860\text{cm}^{-1}$ 에서  $\beta$ -glycoside 결합이 나타났다. 이러한 spectrum은 당단백질의 특징을 잘 나타내고 있었다. Table 5는 동결건조해삼분말에서 추출한 당단백질의 구성아미노산을 나타내었다. 그 결과 특이한 사실은 홍삼, 청삼 및 흑삼에서 모두 Asx나 Glx와 같은 산성 아미노산의 함량이 10% 이상 나타나는 결과를 보였고 histidine의 함량이 유일하게 2% 이하로 낮게 나타남을 알 수 있었다. 그리고 각종 해삼의

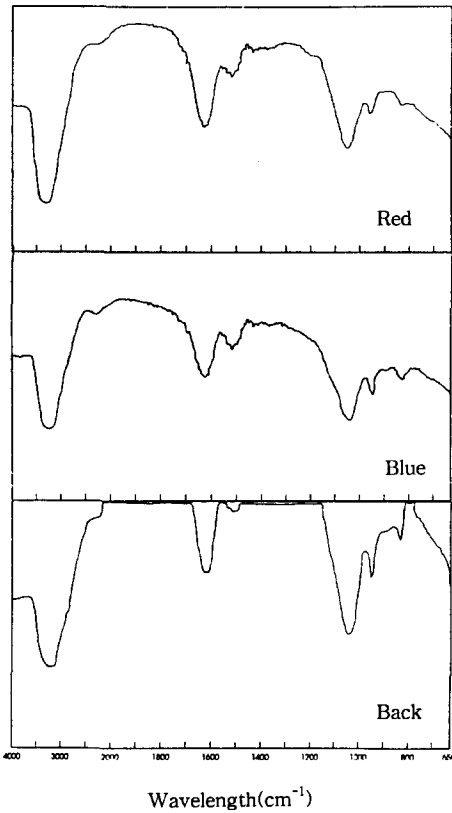


Fig. 8. The infrared spectrum of glycoproteins from sea cucumbers.

아미노산 조성의 차이는 뚜렷하게 나타나지 않음을 알 수 있었으며, 각 당단백질의 아미노산은 동결건조해분말시료 보다 Val, Phe 및 Lys의 함량은 2배 이상 증가하였고 Gly는 60~70%, Arg는 40% 정도 감소하였다.

**물리적 성질**

동결건조해삼분말에서 추출한 당단백질의 점도, 유화성, 유화안정성 및 보수력을 측정하여 Table 6에 나타내었다. 홍삼에서 추출한 당단백질의 점도가 7.1로 나타났으며, 청삼은 1.4, 흑삼은 2.4로 나타난 것으로 보아 홍삼으로 부터 추출한 당단백질의 점도가 가장 높게 나타났다.

유화성, 유화안정성과 보수력은 단백질의 가공적성에 중요한 인자들이며 육제품의 제조 및 기타 식품첨가물로 사용될 때 품질의 지표가 되리라 생각하여 동결건조해삼분말에서 추출한 당단백질의 유화성, 유화안정성 및 보수력을 측정하여 동결건조해삼분말과 비교하였다. 유화성은 홍삼, 청삼 및 흑삼에서 추출한 당단백질이 동결건조해삼분말 보다 56%, 43% 및 77% 증가하였고, 유화안정성은 56%, 33% 및 71%로 증가하였다. 유화성과 유화안정성의 증가는 단백질의 소수부분에 기름방울이 결합하고 그 표면에 다당류가 짝을 지어 수화수를 강력히 흡착하여 안전한 유화를 형성하기 때문이다(22). 당단백질의 보수력은 보수력을 측정하기에 곤란할 정도로 용해도(증류수)가 높아 측정불

Table 5. Amino acid composition of glycoprotein isolates from sea cucumbers (g/100g protein)

Amino acid	Freeze dried sea cucumber	Glycoprotein isolates		
		Red	Blue	Black
Asx <sup>1)</sup>	9.4	12.0	11.1	10.8
Glx <sup>2)</sup>	12.9	15.0	13.3	12.5
Ser	4.2	4.0	4.0	4.2
Gly	15.1	6.0	4.7	5.0
His	1.1	2.0	1.3	1.6
Arg	7.1	4.0	4.7	4.7
Thr	4.6	6.0	6.7	6.7
Ala	6.2	5.0	4.7	4.2
Pro	7.5	6.0	6.0	5.8
Tyr	2.2	3.0	2.7	2.5
Val	3.8	7.0	6.7	7.5
Met	1.3	2.0	2.0	1.7
Ile	3.1	6.0	5.3	5.0
Leu	4.2	5.0	6.7	6.7
Phe	2.7	6.0	5.3	5.0
Lys	3.2	7.0	6.0	5.0
Total	88.6	96.0	91.9	88.9

<sup>1)</sup>Asparagine + aspartic acid    <sup>2)</sup>Glutamine + glutamic acid

**Table 6. Viscosity, emulsifying property and water holding capacity of sea cucumbers and glycoprotein isolates from sea cucumbers**

Sea cucumber	Viscosity (mPa. sn) <sup>1)</sup>	Emulsifying properties(%)		Water holding capacity (%)
		Activity	Stability	
Freeze dried powder.				
Red		41.7±2.5	45.3±3.2	913.5±14.6
Blue		37.3±2.1	45.1±4.7	673.5±12.8
Black		31.1±1.9	38.3±3.5	870.5±12.5
Glycoprotein isolates				
Red	7.1±0.4	64.1±2.5	70.2±5.1	—
Blue	1.4±0.1	53.1±3.1	60.7±4.7	—
Black	2.4±0.1	55.3±3.1	65.3±5.6	—

<sup>1)</sup>Centipose : Coefficient of friction

**Table 7. Changes in *in vitro* digestibility of various proteins by addition of glycoprotein isolates from blue sea cucumber**

Proteins	Added glycoprotein(w/w)		
	0%	10%	20%
Casein	90.0	88.7	84.6
Dried milk	86.6	78.9	76.7
Soy protein isolate	83.5	82.0	79.7
Squid	80.5	80.0	79.0

가능하였고 동결건조한 홍삼, 청삼 및 흑삼의 보수력은 913.4%, 673% 및 870.4%로 나타났다.

**소화율**

동결건조해삼분말에서 추출한 당단백질을 casein, 분유, 콩단백추출물 및 오징어 단백질에 첨가했을 때 동결건조해삼분말과 마찬가지로 오징어 단백질에 대해서는 소화율의 변화가 거의 없었다(Table 7). Casein, 분유 및 콩단백추출물에 대해 청삼에서 추출한 당단백질을 20%(w/w) 첨가하였을 때 6.0%, 11.4% 및 4.6% 정도의 소화율이 저하되었다. 이러한 저하효과는 해삼의 점액성 물질인 fucose branched chondroitin sulfate로 추정되며, 이러한 성분들이 단백질 효소 활성에 영향을 미쳐 소화율을 떨어뜨린다고 추정된다.

**요 약**

육상생물에 비해 활성물질의 급원으로서 이용율이 낮은 해양생물자원인 해삼(홍삼, 청삼 및 흑삼)에서 당단백질을 추출하여 그 화학성분의 조성을 규명하고 이들의 물리화학적 특성과 식이효과를 실험하였다. 일반성분의 함량은 종류에 따라 큰 차이가 없으며, 특히 점질다당체의 주성분인 chondroitin sulfate의 함량이 2.6~3.2%를 함유하고 있다. 동결건조해삼분말에서 추출

한 당단백질의 유화성과 유화안정성은 동결건조해삼분말 보다 각각 56~77%, 33~71%로 증가하였다. 당단백질은 보수력을 측정하기에 곤란할 정도로 증류수에서의 용해도가 높았으며, 동결건조해삼분말의 보수력은 913.4%(홍삼), 673.5%(청삼) 및 870.4%(흑삼)로 나타났다. 점도는 홍삼으로부터 분리한 당단백질의 점도가 제일 높았으며 청삼과 흑삼은 유사하였다. 해삼에서 분리한 당단백질의 구성아미노산은 홍삼이 청삼 및 흑삼에 비해서 전체 단백질에 차지하는 구성아미노산의 비율이 높은 편이었으며(홍삼 96%, 청삼 91.6% 및 흑삼 88.2%), 각 당단백질의 Asx와 Glx는 모두 10% 이상을 차지하였고, 특히 histidine이 2% 이하의 낮은 결과를 보였다. 동결건조분말에 비해 당단백질의 valine, phenylalanine 및 lysine의 함량은 모두 약 2배 증가하였는데 비해 glycine은 약 60~70%, Arg는 약 40% 감소하였다. 동결건조해삼분말 중 청삼과 여기서 추출한 당단백질을 몇종의 단백질 식품(casein, 분유, 콩단백추출 및 오징어)에 여러가지 비율로 첨가시켜 소화율의 저해효과를 보았을 때 casein, 분유, 콩단백추출물의 소화율이 3.5~6%와 4.5~11.4%의 저해효과를 보았으나 오징어 단백질에 대해서는 모두 큰 저해효과가 없었다.

**문 헌**

1. Tanikawa, E. : Studies on the nutritive of the meat of sea cucumber (*Stichopus Selenka*). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 5, 338(1953)
2. Motohiro, T. : Studies on mucoprotein in marine products-1. Isolation of mucoprotein from the meats of *Stichopus japonicus* and *Cucumaria japonica*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 26, 1171(1960)
3. Mourao, P. A. and Bastos, I. G. : Highly acidic glycans from sea cucumbers. Isolation and fractionation of



- fucose-rich sulfated polysaccharides from the body wall of *Ludwigothurea grisea*. *European Journal of Biochemistry*, **166**, 639(1987)
4. Li, J. Z. and Lian, E. C. : Aggregation of human platelets by acidic mucopolysaccharide extracted from *Stichopus japonicus* Selenka. *Thrombosis & Haemostasis*, **59**, 435(1988)
  5. Kariya, Y., Watabe, S., Ochiai, Y., Murata, K. and Hashimoto, K. : Glycosaminoglycan involved in the cation-induced change of body wall structure of sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Connective Tissue Research*, **25**, 149(1990)
  6. Viera, R. P., Pedrosa, C. and Mourao, P. A. : Extensive heterogeneity of proteoglycans bearing fucose-branched chondroitin sulfate extracted the connective tissue of sea cucumber. *Biochemistry*, **32**, 2254(1992)
  7. AOAC : *Official methods of analysis*. 15th ed., Association of official analytical chemists, Washington, D. C.(1990)
  8. 국립보건원 : 의약품 기준 및 시험방법(1). 추보7, p.96 (1992)
  9. 矢部芳枝, 二宮降博, 栢場英明, 辰濃降, 岡田太郎 : 食品中に添加した コントロイチン酸 ナトリウムの 分析法. *食衛誌*, **28**, 13(1987)
  10. Preuss, A. and Thier, H. P. : *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **175**, 93(1982)
  11. Bayliss, M. T., Venn, M. M. and Ali, S. Y. : Structure of proteoglycan from different layers of human articular cartilage. *Biochemical J.*, **209**, 387(1983)
  12. Carney, S. L. : Proteoglycan. In "*Carbohydrate analysis : a practical approach*" Chaplin, M. F. and Kennedy, K. F.(eds.), IRL Press, Oxford · Washington, D.C., p.109(1978)
  13. Laemmli, U. K. : Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. *Nature*, **227**, 680(1970)
  14. Glossmann, H. and Neville, D. H. : Glycoproteins of cell surfaces : a comparative study three different cell surfaces of the rat. *J. Biol. Chem.*, **246**, 6339(1971)
  15. Wang, J. C. and Kinesella, J. E. : Fuctional properties of novel protein : Alfalfa leaf protein. *J. Food Sci.*, **41**, 286(1976)
  16. Lin, M. Y. Z., Humbert, E. S. and Sosulki, F. W. : Certain functional properties of sunflower meal. *J. Food Sci.*, **39**, 369(1974)
  17. Satterlee, L. D., Kendrick, J. G. and Miller, G. A. : Rapid *in vitro* assay for estimating protein quality. *Food Tech.*, **31**, 78(1979)
  18. AOAC : *Official methods of analysis*. 13th ed., Association of official analytical chemists, Washington, D. C.(1982)
  19. 김세권, 문성훈, 이용호, 강옥주 : 한국산 달팽이의 화학성분에 관한 연구. (1) 민달팽이와 달팽이의 무기질 및 아미노산 조성. 부산수대연보, **23**, 15(1983)
  20. Ke, P. J., Smith, L. B., Hirtle, R. W. and Kramer, D. E. : Technical studies on resource utilization of atlantic sea cucumber(*Cucumaria frondosa*). *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, **20**, 4(1987)
  21. 이영근, 강정미 : Spectrophotometer 및 HPLC에 의한 식용달팽이의 황산콘드로이틴 분석. 한국영양식량학회지, **23**, 945(1994)
  22. 加藤昭夫 : 多糖類修飾による蛋白質の機能變化と新規食品素材の開発. 日本食品工業學會誌, **41**, 304(1994)
  23. 이승원 : 복원력이 좋은 정어리 단백질 농축물의 가공. 부산수산대학교대학원 석사학위 논문(1990)

(1995년 12월 1일 접수)