

## 가시파래 수용성 다당의 추출 및 화학적 조성

최용석 · 구재근<sup>+</sup> · 하진환\* · 윤장택\*\*

군산대학교 식품공학과, \*제주대학교 식품공학과, \*\*국립수산과학원 남해수산연구소

### Extraction and Chemical Composition of Soluble Polysaccharide from Green Laver, *Enteromorpha prolifera*

Yong-Seok CHOI, Jae-Geun KOO<sup>+</sup>, Jin-Hwan HA\* and Jang-Tak YOON\*\*

Department of Food Science and Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-702, Korea

\*Department of Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

\*\* South Sea Fisheries Institute, NFRDI, Yosu 556-823, Korea

Soluble polysaccharide (SP) from green laver, *Enteromorpha prolifera* was extracted 3 times with distilled water at 100°C for 2 hrs and fractionated with cetylpyridinium chloride (CPC) and ion exchange chromatography (DEAE Separose CL-6B). The SP amounted to 23.7% of the dry seaweed weight and contained 68.8% carbohydrate. It was mainly constituted of rhamnose, glucose, xylose, sulfate and uronic acid and was fractionated with CPC into three (CPC-S, CPC-PS, CPC-PP) fractions. The major acid fraction CPC-PS accounted for 10.2% of the dry algal weight. CPC-PS was further fractionated on DEAE Sepharose CL-6B into Fr-1 (8.0%), Fr-2 (35.8%), Fr-3 (23.7%) fractions. The Fr-3 fraction contained 2.2% protein, 21.4% sulfate, 15.3% uronic acid, and 72.4% polysaccharides composed of rhamnose, xylose and glucose. The Fr-2 fraction, which was richer in uronic acid (17.5%) and poorer in sulfate (19.0%) and total sugar (68.8%) than the Fr-3, had a sugar composition close to that of Fr-3. The average molecular weights of Fr-2 and Fr-3 were 510,000 and 830,000 daltons, respectively. Fr-3 turned out to be homogeneous by cellulose acetate electrophoresis.

**Key words:** Green laver, Soluble polysaccharide, Electrophoresis, Chemical composition, Ion-exchange chromatography

#### 서 론

해조는 한국과 일본에서는 식용으로 이용되고 있으나, 유럽 등 다른 나라에서는 알긴산, 카라기난, 한천 등의 식품 첨가물 원료와 비료, 사료 등으로 사용되며 극히 일부분을 식용으로 이용하고 있다 (Ito and Hori, 1989). 그러나 녹조류인 갈파래 (*Ulva* sp.)는 유럽에서도 식용으로 이용되고 있으며, 이에 따라 파래의 식품학적 및 생리 기능성에 관한 연구가 보고되어 있다 (Haug, 1976; Bobin-Dubigeon et al., 1997).

국내에서는 자연채묘 양식기술이 개발되어 갈파래과 (*Ulva-ceae*)에 속하는 가시파래 (*Enteromorpha prolifera*)는 동계를 제외하고 연중 채묘가 가능하게 되어, 새로운 양식품종으로 생산하고 있다. 그러나 국내에서 양식되고 있는 가시파래의 식품학적 특성에 관한 연구가 부족한 실정인바, 가시파래의 효율적 이용을 위한 응용 연구가 필요하다.

본 연구에서는 국내에서 양식되는 가시파래 (*E. prolifera*)의 효율적인 이용을 위한 기초 조사로서 가시파래의 수용성 다당을 추출, 분획하고 화학적 특성을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재 료

본 실험에 사용한 가시파래 (*E. prolifera*)는 2000년 5월에 국립

수산과학원 여수 분소로부터 건조된 가시파래를 제공받아 불순물을 제거한 다음 분쇄한 후 -20°C에 밀봉 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

##### 일반 성분 분석

가시파래의 일반성분은 AOAC법 (1990)에 따라 수분함량은 상압건조법, 조지방은 soxhlet 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조회분은 건식회화법으로 분석하였다. 그리고 염도 측정에는 염분농도계 (Yellow Springs Instrument Co., YSI Model 30 Handheld, USA)로 측정하였다.

##### 수용성 다당의 추출 및 분획

가시파래의 수용성 다당은 열수로서 3회 반복 추출한 후 Scott (1965)의 방법에 따라 cetylpyridinium chloride (CPC)로 분획하였다. 즉, 분쇄한 건조 가시파래에 증류수를 가한 후 100°C에서 2시간 동안, 3회 반복 추출 후 여액을 에탄올 침전시켰다. 침전된 다당을 원심분리 (4,000 g×15 min.)한 후 동결 건조하여 수용성 다당 (soluble polysaccharide, SP)을 얻었다. 1% SP 용액에 0.02M의 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 가하고 5% CPC를 처리하여 CPC-상층액 (CPC-S)과 CPC-침전물 (CPC-P)로 분리하였다. CPC-P로부터 산성 다당을 분리하기 위해 CPC-P를 2M NaCl 용액으로 35°C에서 48시간 교반하여 산성 다당 복합체에서 CPC를 유리시킨 후 이를 원심분리하여 CPC-침전물-상층액 (CPC-PS), CPC-침전물-잔사 (CPC-PP)로 분획하였다. 각 획분들 (CPC-S, CPC-PS, CPC-PP)은 증류수로 투석 (M.W. 12,000~14,000)한 후 농축하여 동결

\*Corresponding author: Kseaweed@kunsan.ac.kr

건조하였다. CPC-PS는 DEAE Sepharose CL-6B로 재차 분획하였다. DEAE Sepharose CL-6B (Cl<sup>-</sup> form, Pharmacia, Sweden)를 충전한 칼럼 (2.6×80 cm)에 CPC-PS (300 mg)를 소량의 증류수에 녹인 시료를 칼럼에 주입하였다. 시료의 용출은 염 농도를 0 M (H<sub>2</sub>O), 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M NaCl로 단계적으로 증가시키면서 50 mL/hr 속도로 용출하였고, 용출액을 fraction collector로 10 mL씩 취하여 황산기와 총당의 함량을 측정하였다. 각 획분을 합쳐 투석한 후 농축하여 동결 건조하였다 (Fr-1, Fr-2, Fr-3).

#### 수용성 다당의 화학적 조성 분석

총당의 함량은 glucose를 standard로 사용하여 phenol-sulphuric acid법 (Dubois et al., 1956)으로 측정하였고, 단백질의 함량은 Lowry법 (Lowry et al., 1951)에 따라 bovine serum albumin (Sigma Co., USA)를 표준물질로 사용하여 정량하였다. 황산기의 함량은 Dodgson and Price (1962)의 방법에 따라 측정하였다. 우론산의 함량은 Knutson and Jeanes (1968)의 방법에 따라 측정하였고, D-glucuronic acid를 standard로 사용하였다. 구성당 조성 분석은 Fureneaux et al. (1990)의 방법에 따라 gas chromatography (HP 6890)로 분석하였다. 칼럼으로는 SP-2330 칼럼을 사용하였고, 230°C에서 등온 분석하였다. 구성당의 확인은 표준 시약의 크로마토그램과 retention time을 비교하여 확인하였고, 정량은 내부 표준물질 (myo-inositol)과 표준시약 (D-galactose, D-glucose, D-mannose, L-rhamnose, D-xylose, L-arabinose)을 시료와 동일하게 acetylation시켜 농도별 상대 면적비를 구하여 환산하였다.

#### 분자량 측정 및 전기영동

분자량을 측정하기 위해서 HPLC를 사용하였다. YMC-Pack Diol-300 칼럼 (300×8.0 mm I.D.)에 0.25% 다당 용액을 50 µL를 주입한 후 이동상으로 증류수 (0.6 mL/min)를 흘려 RI detector (Waters, Waters 410, USA)로 측정하였다. 표준 pullulan의 분자량은 P-800, P-400, P-200, P-100을 사용하였다. 전기영동은 Seno et al. (1970)의 방법에 따라 cellulose acetate film을 미리 0.3 M calcium acetate 용액에 침지하여 활성화시킨 후 여지로 과잉의 물기를 제거하고 5분간 평형화하였다. 시료용액 (0.1%)을 cellulose acetate film에 capillary pipette으로 2 µL를 loading한 후 0.3 M calcium acetate 전개액 중에서 3 mA 전류로 3시간 전개한 뒤 실온에서 건조한 후 0.5% toluidine blue로 발색시켰다.

## 결과 및 고찰

#### 가시파래의 일반성분

본 실험에 사용한 가시파래의 일반조성은 Table 1과 같다. 가시파래는 건물당 탄수화물의 함량이 54.7%로 가시파래의 주성분이었고, 회분, 조단백질 그리고 조지방의 함량이 각각 24.9%, 18.8% 그리고 1.6% 순으로 나타났다. 회분의 함량이 높은 것은 NaCl의 함량 (10.3%) 등 해수의 무기염과 해조 자체의 무기염 때문으로 여겨진다 (Ito and Hori, 1989).

**Table 1. Proximate composition of dried *Enteromorpha prolifera* (% , dry basis)**

Protein	Lipid	Carbohydrate <sup>1)</sup>	Ash	NaCl
18.8	1.6	54.7	24.9	10.3

<sup>1)</sup> 100 - (protein + lipid + ash).

#### 수용성 다당의 추출 및 분획

가시파래를 열수 추출한 수용성 다당 (SP) 수율 및 화학적 조성은 Table 2와 같다. 가시파래를 열수로 3회 반복하여 추출하였을 때 수용성 다당의 수율은 23.7%였으며, 총당, 우론산, 황산기의 함량이 각각 68.8%, 11.3% 그리고 20.4%였다. 구성당의 조성은 xylose가 15.2%, rhamnose가 40.3%, glucose가 40.3%로 이들 3종의 당함량이 총당의 95% 이상을 차지하였으며 물비율은 1:2.5:2.3였다. Mannose와 galactose는 소량 존재하였다.

기존에 보고된 *U. lactuca* 수용성 다당의 수율 및 화학적 조성은 냉수로 추출하였을 때 수율이 6%, 황산기와 우론산의 함량이 각각 18.2%와 15.9%이었으나 (McKinnel and Percival, 1962), 열수로 반복 추출하였을 때 수율이 23%, 구성당 조성은 rhamnose, xylose, glucose와 소량의 mannose와 galactose가 존재한다고 보고하였다 (Percival and Wold, 1963). Ray and Lahaye (1995a)는 *U. rigida*를 sodium oxalate (pH 6)와 열수로 병행하여 추출하였을 때 수율은 20.5%이며, 조성은 중성당 30.3%와 우론산이 20.9%가 함유되어 있다고 보고하였다. Medcalf et al. (1972)은 4종 (*U. lactuca*, *E. compressa*, *E. intestinalis*, *E. linza*)의 녹조류로부터 수용성 다당을 추출하였는데, 수율은 3~22%로 종마다 변화가 컸으며, 총당이 67~77%, 황산기가 12.7~19.8%, 우론산이 19~22%였고 4종 모두 주요 구성당은 xylose와 rhamnose로 물비율은 1:2.8~6.2였다고 보고하였다.

본 실험에서 추출된 SP는 기존의 보고에 비하여 구성당 조성 중 glucose의 함량이 40.3%로 높았는데, 이는 녹조에 함유되어 있는 amylose type의 전분이 추출과정 중 수용화 되어 함유되었기 때문으로 여겨진다. 또한 황산기의 함량이 높았고, 우론산의 함량이 적었다. 이러한 차이는 시료의 종 (species), 추출방법, 채취시기, 서식장소 등의 차이로 여겨진다.

SP를 산성도에 따라 분획하기 위해 CPC를 처리하여 CPC와 복합체를 형성하지 않는 중성 획분 (CPC-S)과 침전하는 산성다당 획분 (CPC-PS, CPC-PP)을 얻었고 이들의 수율 및 화학적 조성은 Table 2와 같다. 수율은 CPC-PS가 시료인 가시파래의 10.2%, CPC-S는 7.3%로 대부분을 차지하였다. CPC-PS는 SP에 비해 총당의 함량이 68.8%에서 72.8%로 증가하고, 황산기 및 우론산의 함량도 각각 20.4%에서 21.8%, 11.3%에서 19.5%로 증가한 반면 단백질의 함량은 6.7%에서 3.1%로 감소하였다. 또한 구성당 조성은 rhamnose와 xylose가 각각 40.3%에서 71.6%, 15.2%에서 20.8%로 증가한 반면 glucose는 40.3%에서 4.9%로 감소하여 xylose:rhamnose:glucose의 물비율은 1:3.1:0.2 이었다. CPC-S는 황산기와 우론산의 함량이 각각 0.9%, 2.0%로 극성도가 낮은 중성 다당으로 단백질 및 총당의 함량이 각각 14.3%, 53.2%이며 주요 구성당은

**Table 2. Yields and chemical composition of CPC-S, CPC-PS and CPC-PP obtained by cethylpyridinium chloride treatment of SP (% , dry basis)**

Fractions	Yield <sup>1)</sup>	Sulfate	Protein	Uronic acid	Total sugar	Sugar composition <sup>2)</sup>				
						Rhm	Xyl	Man	Gal	Glc
SP	23.7	20.4	6.7	11.3	68.8	40.3	15.2	1.5	2.7	40.3
CPC-S	7.3	0.9	14.3	2.0	53.2	1.0	28.0	0.8	tr <sup>3)</sup>	70.2
CPC-PS	10.2	21.8	3.1	19.5	72.8	71.6	20.8	tr	2.7	4.9
CPC-PP	1.0	3.0	12.5	2.8	54.8	7.7	3.0	1.4	2.1	85.7

<sup>1)</sup> Percent of dried *Enteromorpha prolifera*.

<sup>2)</sup> Calculated from GC analysis, considering the total amounts under the five monosaccharides as 100%.

<sup>3)</sup> Trace.

glucose와 xylose가 대부분을 차지하고 있었다. 반면에 CPC-PP는 황산기를 소량 함유한 당단백질로 여겨지며 주 구성당은 glucose로 85.7%를 차지하고 있었으며, 소량의 rhamnose로 구성된 다당획분이었다.

**이온교환수지에 의한 분획 및 특성**

화학적 및 분자량이 균일한 다당을 얻기 위해서 정제 다당내의 황산기 특성을 이용하여 음이온 교환수지를 이용하여 분획을 하였다. CPC로 정제한 다당 중 CPC-PS 300 mg을 DEAE Sepharose CL-6B로 충전된 칼럼에 넣고 염 농도를 0.0 M (H<sub>2</sub>O), 0.5 M, 1.0 M, 1.5 M 증가시키면서 분획한 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. 음이온 교환수지로 분획한 전체 획분의 회수율은 67.5%였으며, 각 획분의 함량은 Fr-1이 24 mg, Fr-2가 107 mg 그리고 Fr-3이 71 mg이었다. Ray and Lahaye (1995b)는 *U. rigida*의 수용성 다당을 염의 농도를 연속적으로 증가(0→1.0 M NaCl)시켰을 때 5개의 획분을 얻었으며, 주획분은 1.0 M NaCl 농도에서 용리되었다고 보고하였다. Bin and Ryu (1996)는 홑파래 (*Monostroma nitidum*)에서 추출한 다당을 음이온 교환수지 (DEAE Toyopearl 650 M)로 단계적으로 용리하였을 때 4개 (H<sub>2</sub>O, 0.5 M, 1.0 M, 2.0 M NaCl)의 획분을 얻었고 주획분은 1.0 M에서 용리되었다고 하였다. 본 실험에

서도 수열면에서는 1.0 M NaCl용액으로 용출한 Fr-2가 주획분이었다. 각 획분의 화학적 조성은 Table 3과 같다. 용출액의 염농도가 높을수록 황산기와 총당의 함량이 증가하는 경향을 나타내었으나 그 차이가 미미하고, 단백질과 우론산의 함량은 일정한 경향이 없었다. 또한 주 구성당은 3가지 획분 모두 rhamnose와 xylose였으며 Fr-1 획분은 glucose의 함량이 상대적으로 높았다. 따라서 화학적 조성상으로는 Fr-2와 Fr-3 획분간의 큰 차이는 없었다.

**Table 3. Yields and chemical compositions of fractions recovered from DEAE Sepharose CL-6B chromatography of CPC-PS (% , dry basis)**

Fractions <sup>1)</sup>	Yield <sup>2)</sup>	Sulfate	Protein	Uronic acid	Total sugar	Sugar composition <sup>3)</sup>				
						Rhm	Xyl	Man	Gal	Glc
CPC-PS	-	21.8	3.1	19.5	72.8	71.6	20.8	tr <sup>4)</sup>	2.7	4.9
Fr-1	8.0	17.6	1.7	15.2	65.6	66.6	20.1	0.7	1.1	11.5
Fr-2	35.8	19.0	2.8	17.5	68.8	70.9	18.4	1.3	3.1	6.5
Fr-3	23.7	21.4	2.2	15.3	72.4	69.8	21.5	0.9	1.1	6.8

<sup>1)</sup> Refer to Fig. 1.

<sup>2)</sup> Percent of dried CPC-PS weight.

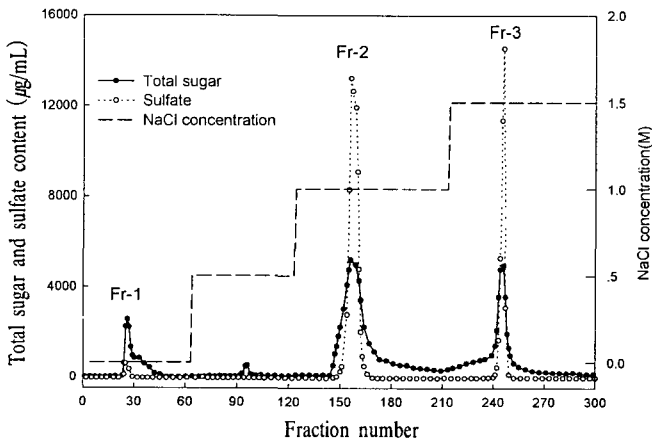
<sup>3,4)</sup> Refer to the Table 2.

**분획 다당의 분자량 및 균일성**

분획 다당의 분자량 및 균일성을 확인하기 위하여 HPLC와 전기영동을 실시하였다. 다당 획분의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 2와 같다. 각 획분의 분자량은 CPC-PS가 620,000, Fr-1은 710,000 (84%), 90,000 (14%), 70,000 (2%), Fr-2는 510,000, Fr-3은 830,000이었다. Fr-1을 제외한 나머지 분획은 단일피크로 대칭성을 나타내어 분자량이 균일함을 알 수 있었다. Cellulose acetate film을 이용한 전기영동법의 결과는 Fig. 3과 같다. 수용성 다당 (SP)과 CPC-PS는 전기영동상 1개의 뚜렷한 band와 1개의 흐릿한 band가 나타났으며, 이를 이온교환수지 처리하여 분획한 획분들 중 1.0 M NaCl에서 용리된 Fr-2를 제외한 Fr-1과 Fr-3는 단일 band를 나타내어 균일함을 알 수 있었다.

**요 약**

국내에서 양식되는 가시파래 (*E. prolifera*)의 효율적 이용과 새로운 기능성 식품소재로서 사용하기 위한 기초자료를 얻기 위해 가시파래의 수용성 다당을 추출 후 CPC와 음이온 교환수지로 분획하여 화학적 특성을 조사하였다. 가시파래를 열수로 3회 반복하여 추출하여 얻은 수용성 다당의 수율은 23.7%였고 총당, 단백질, 황산기의 함량이 각각 68.8%, 6.7%, 23.7%였다. 수용성 다당을 CPC처리하여 얻은 산성다당인 CPC-PS는 주 구성성분이 황산기, 우론산, rhamnose, xylose였으며 주요 구성당인 xylose:rhamnose:glucose의 몰비는 1:3.1:0.2 이었다. CPC-PS를 음이온 교환수지로 분획하였을 때 3개의 fraction (Fr-1, Fr-2, Fr-3)이 얻어졌으며 각 획분간의 화학적 조성상 큰 차이점 없었다. CPC-PS의 분자량은 620,000이었고, 이를 이온교환수지로 분획한 획분인 Fr-1은



**Fig. 1. Fractionation of CPC-PS of *E. prolifera* on DEAE Sepharose CL-6B.**

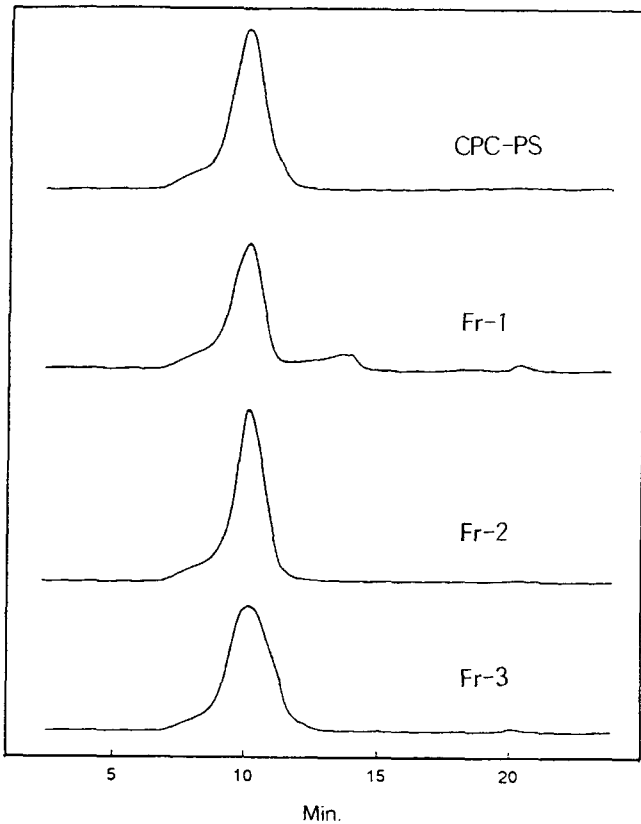


Fig. 2. HPLC chromatogram of fractions recovered from DEAE Sepharose CL-6B chromatography of CPC-PS.

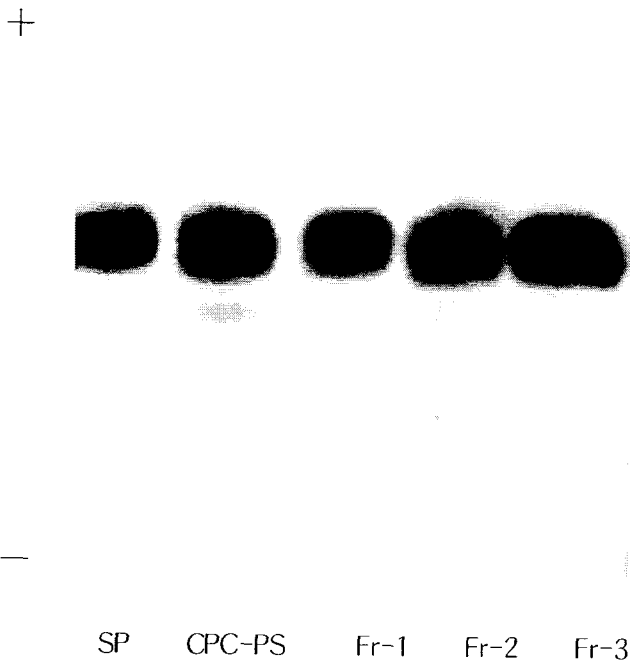


Fig. 3. Electrophoregram of the fractions obtained from *Enteromorpha prolifera*.

710,000 (84%), 90,000 (14%), 70,000 (2%), Fr-2는 510,000, Fr-3은 830,000 daltons으로 Fr-1을 제외한 나머지 획분은 단일피크로 대칭성을 나타내어 분자량이 균일함을 알 수 있었다. 그리고 이 획분들을 전기영동 하였을 때 Fr-1과 Fr-3은 단일 band를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 군산대학교 수산과학연구소의 일부 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th Edition, Kenneth Helrich ed., Association of Official Analytical Chemists, Virginia, U.S.A.

Bin, J.H. and B.H. Ryu. 1996. Characterization of rhamnan sulfate purified from *Monostroma nitidum*. Korean J. Food Sci. Technol., 28, 859~864 (in Korean).

Bobin-Dubigeon, C., M. Lahaye and J.L. Barry. 1997. Human colonic bacterial degradability of dietary fibers from sea-lettuce (*Ulva* sp.). J. Sci. Food Agric., 73, 149~159.

Dogson, K.S. and R.G. Price. 1962. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. Biochem. J., 84, 106~110.

Dubois, M., K.A. Gills, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28, 350~356.

Furueaux, R.H., I.J. Miller and T.T. Stevenson. 1990. Agaroids from New Zealand members of the *Gracilariaceae* (*Gracilariales*, *Rhodophyta*) - a novel dimethylated agar. Hydrobiologia, 204/205, 645~654.

Haug, A. 1976. The influence of borate and calcium on the gel formation of a sulfated polysaccharide from *Ulva lactuca*. Acta Chem. Scand., B30, 562~566.

Ito, K. and K. Hori. 1989. Seaweed: chemical composition and potential food uses. Food Rev. Int., 5, 101~144.

Knutson, C.A. and A. Jeanes. 1968. A new modification of the carbazole analysis. Anal. Biochem., 24, 470.

Lee, Y.S., D.S. Kim, B.H. Ryu and S.H. Lee. 1992. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. Korean J. Soc. Food Nutr., 21, 544~550 (in Korean).

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, L. Farr and R.J. Rindall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 256~275.

McKinnel, J.P. and E. Percival. 1962. The acid polysacchride from the green seaweed, *Ulva lactuca*. J. Chem. Sci., 2082~2083.

Medcalf, D.G., C.F. Root, C.L. Carney, D. Mukhopadhyay, C.K. Miller and W.D. Hopewell. 1972. Chemical characterization of mucilaginous polysaccharides from Ulvaceae Species native to the Puget Sound. Proc. Int. Seaweed Symp., 7, 541~547.

Percival, E. and J.F. Wold. 1963. The acid polysaccharide from the green seaweed *Ulva lactuca*. Part II. The site of the ester sulfate. J. Chem. Soc., 5459~5468.

- Ray, B. and M. Lahaye. 1995a. Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva rigida* (Ulvales Chlorophyta)-Extraction and chemical composition. *Carbohydr. Res.*, 274, 251~261.
- Ray, B. and M. Lahaye. 1995b. Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva rigida* (Ulvales Chlorophyta)-Chemical structure of ulvan. *Carbohydr. Res.*, 274, 313~318.
- Scott, J.E. 1965. Fractionation by precipitation with quaternary ammonium salts. In *Methods in carbohydrate chemistry*, R.L.Whistler ed., Academic press, New York, vol. 5, pp. 38~44.
- Seno, N., K. Anno, S. Nagase and S. Salto. 1970. Improved method for electrophoretic separation and rapid quantitation of isomeric chondroitin sulfates on cellulose acetate strips. *Analytical. Biochem.*, 37, 197~202.

---

2002년 7월 8일 접수

2002년 9월 11일 수리