

용매추출과 분무건조의 통합방법을 이용한 후코이단의 냄새 저감 공정 개발

조은혜¹, 박근형², 김소영², 오창석², 방순일², 채희정^{1,2*}

Process Development for Deodorization of Fucoidan Using a Combined Method of Solvent Extraction and Spray Drying

Eunhye Cho¹, Keunhyoung Park², Soyoung Kim², Chang Seok Oh², Soonil Bang², and Hee Jeong Chae^{1,2*}

접수: 2010년 12월 7일 / 게재승인: 2011년 1월 11일

© 2011 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Volatile components of crude fucoidan and its raw material, *Undaria pinnatifida sporophylls* were identified by GC/MSD analysis, and the effects of a combined method of solvent extraction and drying (hot-air drying or spray drying) on deodorization of fucoidans were examined. The major components of seaweed smell (odor) in crude fucoidan and *Undaria pinnatifida sporophylls* were identified as alkanes (octadecane, heptadecane, tetradecane) and acids (hexadecanoic acid, oleic acid). Solvent extraction and drying were combined for the deodorization of fucoidans: hot-air drying/deodorization process (HDDP) and spray drying/deodorization process (SDDP). The deodorization effects of solvent extraction using solvents including water, ethanol, and acetone were investigated. Among the tested solvents, ethanol was selected as a deodorization solvent, because the seaweed smell and taste were mostly lowered by ethanol extraction followed by drying. In addition, HDDP and SDDP were compared, showing that SDDP gave higher sensory characteristics than HDDP. When the crude fucoidan was treated by ethanol extraction for 30 min followed by SDDP, approximately 60% of off-flavor components of crude fucoidan was removed

based on GC/MSD peak area, and the total sugar and sulfate contents and APTT-anticoagulant activity significantly increased compared to crude fucoidan. In conclusion, SDDP after ethanol treatment was proposed and established as a deodorization process for fucoidan preparation.

Keywords: deodorization, fucoidan, spray drying, solvent extraction

1. 서론

해조류는 알칼리성 건강식품으로 널리 알려져 있으며, 최근에는 변비, 비만, 콜레스테롤 등을 조절하는 기능 등의 다양한 생리학적 조절기능이 밝혀지면서 해조류 섭취량은 크게 증가하고 있다. 최근들어 해조류로부터 유래되는 다양한 생리활성 물질들은 항종양성 [1-2], 항바이러스성 [3], 항혈액응고 [4] 및 면역력 증강 [5-6] 등의 기능을 갖고 있는 것으로 알려져 있다. 이와 관련하여 한국과 일본 및 중국의 동아시아에서 오랜 기간 섭취하여 온 미역과 다시마 등의 갈조류에 함유된 고분자 다당체인 후코이단 (fucoidan)에 대한 관심이 집중되고 있다 [6].

후코이단은 특이적으로 갈조류 (미역, 다시마, 툯, 대황, 곰피, 감태 등)의 세포벽 성분인 점질 다당에 함유되어 있는 다당류로서 다시마와 미역포자엽의 건조중량 중 3~4% 정도의 극소량이 함유되어 있다 [7]. 후코이단은 세포 내 골지체에서 합성되어 세포간 조직에 존재하며 종에 따라 엽체의 삼출액 (exudate)에도 존재하는 다당류로서 L-fucose가 주로

¹호서대학교 식품생물공학과 및 기초과학연구소

¹Department of Food and Biotechnology, Institute of Basic Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea
Tel: +82-41-540-5642, Fax: +82-41-532-5640
e-mail: hjchae@hoseo.edu

²내추럴choice(주)

²Natural Choice Co., Ltd. Asan 336-795, Korea

α -(1 \rightarrow 3) 결합으로 이루어진 골격에 mannose, glucose, galactose, xylose, glucuronic acid, rhamnose 등이 결합된 복합 hetero형 산성 다당이다 [8-11]. 후코이단은 갈조류의 채취시기 및 종에 따라 평균 분자량이 100,000-2,000,000 Da으로 다양하며, 후코이단의 생리활성에 중요한 영향을 미치는 fucose 함량 및 황산기 함량도 차이가 난다 [12].

일반적으로 후코이단은 L-fucose의 에스테르화 황산을 주 성분으로 하여 glucuronic acid를 함유한 U-후코이단, 황산 fucose로 구성된 F-후코이단, 그리고 galactose를 함유한 G-후코이단으로 구분된다. 후코이단은 일반적으로 L-fucose가 α -(1 \rightarrow 2) 결합을 하고 있으며, 4번째 탄소에 황산기가 결합되어 있는 구조로 되어 있다. 종에 따라서는 α -(1 \rightarrow 2) 대신 α -(1 \rightarrow 3) 결합이 기본 결합으로 되어 있는 경우가 있으며, α -(1 \rightarrow 3) 및 α -(1 \rightarrow 4) 결합이 복합적으로 존재하는 경우도 있다 [13].

이러한 해조류를 건강식품 소재로 하는 다양한 가공 제품 개발이 시도되고 있으며, 실제로 해조분말, 해조분말 환과 같은 1차 가공제품에서부터 해조면과 같은 해조의 화학적 특성을 이용한 가공제품까지 시판되고 있다. 미역과 다시마와 같은 해조류는 특별한 처리공정을 거치지 않는 경우 비린내가 심하여 다양한 용도 개발에 어려움이 있다 [14]. 특히 해조류를 원료로 하는 건강음료의 개발에는 많은 제한이 있어 왔는데, 이것은 해조류 특유의 갯내음 때문이다 [15].

해조류의 갯내음과 같은 이취를 제거하기 위해 다양한 시도들이 있어 왔는데, 이 중에는 미역의 유기산 추출물에 유산균 발효를 이용한 방법 [14-16]이 있으며, 해조류를 곡물류, 과일류, 약초류 등 식물류 분말 등을 혼합하여 식품을 제조하는 방법이 있으나, 해조 특유의 이취가 완전히 제거되지 않는 문제점이 있다 [15-17]. 해조류를 마쇄한 후 알칼리 용액에 침지시켜 이취를 제거한 보고 [18]도 있으나 이는 해조의 이취가 완전히 제거되지도 않을 뿐만 아니라 침지되었던 알칼리 용액의 성분이 해조류에 남을 수 있어 식용으로 적합하지 않다. 또한 미역취를 차폐시킬 목적으로 계피 분쇄물을 가열 초기에 첨가하고, 합성향이나 분말을 첨가하여 짬으로 제조한 사례 등이 있다 [19].

해조류의 냄새성분에 관한 연구로서, 다시마의 향미성분에 관한 연구로 70% ethanol에 의한 추출과 이에 따른 향미성분을 분석하여 보고 [20]한 바 있으며, 효소와 열수에 의한 추출 및 한외여과에 의한 알긴산 제거 시 다시마 추출액의 휘발성 향미성분에 대한 연구 보고 [21], 그 외에 다시마의 향미성분을 분석한 연구 보고 [22] 등이 있다.

본 연구에서는 후코이단의 갯내음 및 비린맛을 효과적으로 감소시키기 위한 공정으로서 용매탈취 (deodorization by solvent extraction) 및 분무탈취 (deodorization by spray drying)의 복합 공정을 제안하였고 다양한 처리 방법에 의해 제조되는 후코이단의 냄새성분의 변화를 분석하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 시약

후코이단의 원료로 사용되는 미역포자엽 (*Undaria pinnatifida*

sporophylls)은 2007년 3월에 기장 양식장 (부산, 한국)에서 채취한 기장산 미역포자엽을 수분 함량이 5% 이하가 되도록 충분히 건조하여 저장한 것을 원료로 사용하였다. 비교를 위해 사용한 후코이단으로서 미역 (*Undaria Pinnatifida*) 유래 후코이단 (순도 85%)을 Sigma사 (MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 그 밖의 모든 시약은 1급 이상의 것을 사용하였다.

2.2. 미역포자엽으로부터 후코이단의 추출

미역포자엽을 2 × 3 cm의 크기로 절단하여 미역포자엽에 40배에 해당하는 증류수를 넣고 0.1 N HCl으로 pH 8로 조절한 후 진탕배양기에서 85°C, 140 rpm으로 4시간 동안 열수추출하였다. 열수추출 후 원심분리 (2230 × g, 20 min) 하여 잔사를 제거하고 상등액에 CaCl₂ (식품첨가물용)를 2% (w/v)의 농도로 첨가하여 1시간 방치하였다. 침전된 알긴산을 원심분리 (2230 × g)로 제거하고 상등액을 취하였다. 알긴산을 제거하고 남은 상등액을 rotary evaporator (Eyela, Japan)를 이용하여 80°C에서 고형분 함량이 20-30%가 될 때까지 농축하였다. 농축된 용액에 주정을 3배 (v/v) 첨가하여 상온에서 12시간 방치한 후 원심분리 (2230 × g, 20 min)하여 crude fucoidan을 침전시켰다. 알콜침전하여 얻은 crude fucoidan에 소량의 물을 첨가하여 용해한 후 투석막 (MW 3,500, Biodesign Dialysis, NY, USA)을 사용하여 12시간 투석시켰다. 투석 후 동결건조하여 미역포자엽에서 crude fucoidan을 획득하였다.

2.3. 갯내음 저감 후코이단의 제조방법

미역포자엽으로부터 추출한 후코이단에 20배 증량의 용매를 넣고 진탕배양기에서 250 rpm으로 30분 동안 처리하였다. 용매 처리의 조건에 따라 증류수, 에탄올 (ethanol), 아세톤 (acetone)으로 각각 처리하거나 1차로 에탄올을 처리한 후 2차로 아세톤을 처리하였다. 진탕배양 후 후코이단을 열풍건조기 (태양전자, 한국) 및 분무건조기 (미현엔지니어링, 한국)를 이용하여 건조하였다. 열풍건조는 60°C에서 6-12시간 동안 시행하였으며, 분무건조는 내부온도 170-200°C, 외부온도 100-120°C, 유속 30-40 mL/min 및 분무속도 1,720-1,750 rpm으로 시행하였다.

2.4. GC/MSD 분석

후코이단의 갯내음 저감 공정에 따른 냄새성분의 변화를 알아보기 위하여 시료 0.1 g에 dichloromethane 20 mL을 첨가한 다음 20분간 진탕배양을 하였다. 추출액을 질소 가스를 이용하여 1 mL로 최종 농축하여 gas chromatography-mass spectrometry (GC/MSD) 분석시료로 사용하였다 [23-25]. 냄새성분의 분리 및 분석은 HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)이 장착된 GC/MSD (HP 6890 N/5973 N MSD, Agilent, USA)를 이용하였다. GC/MSD의 컬럼 온도는 40°C에서 10분간 유지한 후 280°C까지 10°C/min으로 승온하여 10분간 유지하였다. 시료는 1 μL를 주입하였으며 split ratio는 30 : 1로 하였다. 각 성분은 GC/MSD에 의해서 얻은 총 이온크로마토그램에서 각 피크의 mass spectrum과 Wiley NBS Library Search System (John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA)을 이용하여 확인하였다.

Table 1. Volatile component profile of *Undaria pinnatifida sporophylls*, crude fucoidan and standard fucoidan detected by GC/MSD

	Components	<i>Undaria pinnatifida sporophylls</i>		Crude fucoidan		Standard fucoidan	
		P.A.	%	P.A.	%	P.A.	%
Acids	oleic acid	228,694	6.1	228,694	13.7		
	hexadecanoic acid	279,141	7.5	195,439	11.7	95,440	13.5
	tetradecanoic acid	157,225	4.2				
	methyl ester 3-pentylidene-carbamic acid	57,305	1.5				
	total	722,365	19.3	424,133	25.4	95,440	13.5
Alcohols	1,1-dimethylallyl alcohol	4,088	0.1				
Aldehydes	(E)-2-decenal	52,552	1.4				
	(E,E)-2,4-decadienal	49,395	1.3				
	nonanal	38,522	1.0				
	2-heptenal	13,361	0.4				
	total	153,830	4.1				
Alkanes	octadecane			193,177	11.5	193,177	13.4
	hexadecane			154,916	9.2	154,904	10.7
	tetradecane	113,289	3.0	113,303	6.8	113,299	7.8
	dodecane	74,403	2.0	74,403	4.4	74,403	5.1
	decane	38,802	1.0	38,808	2.3	38,808	2.7
	2,4-dimethyl-heptane	25,187	0.7	25,187	1.5	25,187	1.7
	toluene	5,542	0.1	5,541	0.3	5,541	0.4
	heptadecane	174,553	4.7				
	(Z)-3-tetradecen-5-yne	103,786	2.8				
	5-methylundecane	74,425	2.0				
	2-methyl-decane	56,249	1.5				
	octane	15,631	0.4				
	total	681,867	18.2	412,158	24.5	605,319	28.4
Benzenes	1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-benzene	101,040	2.7	101,040	6.0	101,040	7.0
	1,1'-methylenebis[isocyanato-benzene	186,908	5.0				
	trimethyl(1-methylethyl)-benzene	62,780	1.7				
	total	350,728	9.4	101,040	6.0	101,040	7.0
Etc	eicosane	228,988	6.2	228,988	13.7	228,990	15.8
	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol	124,423	3.3	124,428	7.4	124,428	8.6
	1,1'-(1,4-phenylene)bis-ethanone		0.0	62,054	3.7	62,054	4.3
	2,6-dimethylnonane	56,265	1.5	56,265	3.4	56,265	3.9
	3,5-dimethyloctane			38,858	2.3	38,858	2.7
	3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	33,815	0.9	33,819	2.0	33,819	2.3
	tetracosane	288,787	7.8				
	tricyclo[10.2.2.2.5,8]octadeca-5,7,12,14,15,17-hexaene	227,074	6.1				
	neophytadiene	224,003	6.0				
	2,5,8,11,14-pentaoxapentadecane	146,779	3.9				
	1,1,1,3,5,5,5-heptamethyltrisiloxane	146,455	3.9				
	n-ethyl-1,3-dithioisindoline	125,287	3.4				
	2-ethyl-2-phenylmalondiamide	123,500	3.3				
	n-methylcaprolactam	23,687	0.6				
	methyl 2-methylpropenyl ether	4,122	0.1				
	total	1,753,185	47	544,412	32.5	544,414	21.8

* P.A. : peak area.

2.5. 총당 함량 분석

총당 함량 분석은 phenol-sulfuric acid 방법에 따라 측정하였다 [26]. 시료 0.6 mL와 5% phenol 0.3 mL를 혼합한 후 진한 황산 1.5 mL를 첨가하고 교반하여 85°C water bath에서 30분간 반응시켰다. 5분간 방냉 후 490 nm에서 흡광도

를 측정하였고 표준물질로서 fucose를 사용하였다.

2.6. 황산기 함량 분석

황산기 함량은 Dodgson과 Price의 방법 [27]에 따라 측정하였다. 가수분해 시료는 시료 400 mg에 3 N HCl 50 mL를

넣은 후 110-115°C의 autoclave에서 4시간 동안 반응 시킨 후 glass filter를 사용하여 여과하여 조제하였다. 가수분해한 시료용액 0.2 mL에 4% TCA 용액 3.8 mL와 BaCl₂-gelatin 용액 1 mL를 첨가하여 교반하고 실온에서 20분간 방치한 후 360 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로서 K₂SO₄를 사용하여 비교하였다. BaCl₂-gelatin 용액은 젤라틴 용액 1 g을 60-70°C의 증류수 200 mL에 녹여 12시간 보존한 후 젤라틴 용액에 다시 BaCl₂ 1 g을 녹여 2-3시간 방치하여 사용하였다.

2.7. 항혈액응고 활성 (anticoagulant activity) 분석

후코이단의 항혈전 활성 중 내인성 경로 (intrinsic pathway)에서의 활성을 확인하고자 activated partial thromboplastin time (APTT) assay를 사용하였다. 후코이단과 plasma (TEControl N, Teco, Germany)를 1 : 9의 비율로 혼합한 25 µL의 혈장을 APTT (Teco, Germany) 진단시약 25 µL와 혼합한 후 37°C에서 5분간 예열한 다음 37°C에서 미리 예열된 20 mM CaCl₂ 25 µL를 가한 후 coagulometer (Coatron M4, Teco, Germany)를 사용하여 응고가 될 때까지의 시간을 기록하였다. 대조군으로서 순수한 plasma를 이용하여 응고시간을 측정하였다.

2.8. 관능평가

후코이단의 냄새저감처리에 따른 관능적 특성의 변화를 확인하기 위하여 15명의 패널을 선발하여 관능검사를 실시하였다. 후코이단의 냄새저감 정도를 파악할 수 있는 비린내, 비린맛, 전체적 기호도 (overall acceptance)를 5점척도법으로 평가하였다. 실험 결과는 mean ± SD (평균 ± 표준편차)로 나타내었고, 각 실험군 간의 비교분석은 SPSS 14.01 프로그램 (SPSS Inc. Headquarters, IL, USA)을 이용하여 ANOVA 분석을 실시한 후 $\alpha = 0.05$ 에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 후코이단의 냄새 프로파일

본 연구에서는 미역포자엽과 미역포자엽으로부터 추출한 후코이단 조추출물 (crude fucoida) 및 표준품으로 구입한 후코이단의 냄새성분의 함량을 측정하기 위하여 GC/MSD를 이용하여 분석하였다. 분석한 결과, Wiley NBS library의 spectrum과 비교하여 40종의 피크를 동정·확인하였다 (Table 1). 미역포자엽에서 검출된 40종의 화합물은 acid계 화합물 4종, alcohol류 1종, alkane류 13종, benzene류 3종 등이었다. 냄새성분은 40종 화합물의 전체 피크면적을 기준으로 볼 때 13종의 alkane계 및 4종의 acid계 화합물이 전체 휘발성 냄새성분의 38%를 차지하였고, benzene 및 alcohol계 화합물이 각각 9% 및 0.1%를 차지하였으며, aldehyde계 화합물은 4% 수준이었다.

Kajiwawa 등 [21]은 (E,Z)-2,6-nonadienol, (E)-2-nonenal, (Z,Z)-3,6-nonadienal, (E,Z)-2,6-nonadienal, (E)-2-nonenol, myristic acid와 hexadecenoic acid가 일본산 식용 해조류의 주요 냄새성분이라고 보고하였으며, Lee 등 [28]은 다시마

분말의 주요 냄새성분을 2-nonen-1-ol, myristic acid, palmitic acid 및 oleic acid이라고 보고하였다. 본 실험에서 사용한 미역포자엽 분말의 주요 냄새성분은 alkane류 (heptadecane, tetradecane 등), acid류 (hexadecanoic acid, oleic acid 등) 및 benzene류로서 Kajiwawa 등과 Lee 등 [21,28]이 보고한 것과 일치하였다.

미역포자엽으로부터 추출한 후코이단 조추출물 (crude fucoidan)의 냄새성분의 함량은 총 16종이 검출되었으며 acid계 화합물 2종, alkane계 화합물 7종, benzene계 화합물 1종이었다. 냄새성분인 16종 화합물의 전체 피크면적을 기준으로 볼 때 7종의 alkane계 및 2종의 acid계 화합물이 전체 휘발성 냄새성분의 50%를 차지하였고, benzene계 화합물이 6%를 차지하였다.

표준품으로 구입한 후코이단의 냄새성분의 함량은 총 15종이 검출되었으며 acid계 화합물 1종, alkane계 화합물 7종, benzene계 화합물 1종이었다. 냄새성분 15종 화합물의 전체 피크면적을 기준으로 볼 때 7종의 alkane계 및 1종의 acid계 화합물이 전체 휘발성 냄새성분의 52%를 차지하였고, benzene계 화합물이 7%를 차지하였다.

미역포자엽으로부터 추출한 후코이단 조추출물 (crude fucoidan)의 냄새성분과 표준품으로 구입한 후코이단의 냄새성분은 거의 차이가 없는 것으로 나타났으며, 미역포자엽으로부터 추출한 후코이단 조추출물과 표준품으로 구입한 후코이단의 주요 냄새성분은 alkane류 (octadecane, heptadecane, tetradecane) 및 acid류 (hexadecanoic acid, oleic acid)로서 Kajiwawa 등과 Lee 등 [21,28]이 보고한 것과 같이 미역포자엽 분말의 주요 냄새성분과 비슷하게 나타났다.

3.2. 탈취용매의 종류 및 건조방법에 따른 후코이단의 갯내음 제거효과

용매탈취 (deodorization by solvent extraction) 및 건조탈취 (deodorization by drying) 공정의 유효성을 평가하기 위하여 각 처리 조건별로 조제된 시료와 조추출물 (crude fucoidan)의 GC/MSD 분석을 시행하였다. 추출 용매로서 물, 에탄올, 아세톤 및 에탄올/아세톤을 사용하여 30분 동안 용매 탈취한 후 열풍건조 (hot-air drying) 및 분무건조 (spray drying) 방법으로 2종 탈취하였다. 분석한 결과 Wiley NBS library의 spectrum과 비교하여 15종의 피크를 동정·확인하였다 (Table 2).

열풍건조 탈취과정 (hot-air drying/deodorization process, HDDP)을 이용하여 4가지의 용매를 처리하였을 경우, 유기 용매 대신 증류수로 처리하여 제조한 후코이단에서는 분자량이 큰 eicosane와 2,4-dimethyl-heptane이 냄새성분으로 확인되었고, 아세톤을 처리한 후코이단에서는 octadecane, decane 및 2,4-dimethyl-heptane이 확인되었으며, 에탄올을 처리한 후코이단에서는 분자량이 큰 eicosane, octadecane, decane 및 2,4-dimethyl-heptane의 냄새성분이 모두 제거됨을 확인하였다. 또한 아세톤을 처리한 후 에탄올을 처리하여 제조한 후코이단은 아세톤을 처리하여 제조한 후코이단과 같은 냄새성분이 확인되었다. 분무건조 탈취과정 (spray drying/deodorization process, SDDP)을 이용할 경우에는 분무건조

Table 2. Volatile component profile of fucoidans treated using different solvents and drying methods

Components	Crude fucoidan	Peak area							
		HDDP				SDDP			
		W ¹⁾	E ²⁾	A ³⁾	E+A	W ¹⁾	E ²⁾	A ³⁾	E + A
eicosane	228,988	228,990							
(Z)-9-octadecenoic acid	228,694								
hexadecanoic acid	195,439								
octadecane	193,177			193,187	193,177	193,187			193,177
hexadecane	154,916	154,909	154,916	154,910	154,910		154,910	154,916	
2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	124,428	124,428	124,425	124,423	124,426	124,423	124,423	124,423	124,428
tetradecane	113,303	113,289	113,293	113,289	113,299			113,289	113,300
1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-benzene	101,040	101,040	101,040	101,040	101,040	101,040	101,040	101,040	101,040
dodecane	74,403	74,403	74,398	74,403	74,394	74,399	74,403	74,403	74,391
1,1'-(1,4-phenylene)bis-ethanone	62,054								
2,6-dimethylnonane	56,265								
3,5-dimethyloctane	38,858								
decane	38,808			38,808	38,808				
3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	33,819								
2,4-dimethyl-heptane	25,187	25,186		25,184	25,185	25,186	25,185	25,187	25,187
total	1,669,379	822,245	568,072	825,244	825,239	518,235	479,961	593,258	631,523

¹⁾ W: water treatment, 30 min.

²⁾ E: ethanol treatment, 30 min.

³⁾ A: acetone treatment, 30 min.

⁴⁾ E+A: ethanol treatment followed by acetone treatment, 30 min.

전에 4가지 용매로 용매탈취 처리하였을 경우, 증류수로 처리한 후코이단에서는 octadecane 및 2,4-dimethyl-heptane이 확인되었고, 아세톤으로 처리한 후코이단에서는 hexadecane 및 2,4-dimethyl-heptane이 확인되었다. 에탄올로 처리한 후코이단에서는 octadecane 및 hexadecane이 제거되었으며, 아세톤을 처리한 후 에탄올을 처리한 후코이단에서는 hexadecane이 제거되었다. 위의 결과로부터 후코이단의 15종의 냄새성분 중 9종의 냄새성분이 열풍건조 탈취공정 (HDDP) 및 분무건조 탈취공정 (SDDP)으로 제거된 것을 확인하였다.

용매의 종류 및 건조방법에 따라 처리한 후코이단의 총당 함량을 비교하였다 (Fig. 1(a)). 대조군과 용매를 처리하기 전 후코이단의 총당 함량은 약 70%으로서 유기용매 대신 증류수로 처리한 후코이단의 총당 함량과 비슷한 함량이었지만 아세톤, 에탄올, 아세톤을 처리한 후 에탄올로 처리한 후코이단의 총당 함량은 약 5-10% 증가하였다. 이는 용매처리에 의하여 후코이단의 불순물이 제거되어 순도가 높아진 것으로 판단된다. Fig. 1(b)과 Fig. 1(c)에서 보는 바와 같이 황산기 함량 및 항혈전 활성은 에탄올을 처리한 후코이단에서 높은 함량을 보였다. 이는 후코이단의 황산기 함량이 증가됨에 따라서 항혈액응고 활성이 높아진다고 보고한 Nishino와

Nagumo 등 [29]의 결과와 일치하였다.

후코이단에 용매처리 후 관능적 특성을 조사한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 열풍건조 탈취공정 (HDDP) 및 분무건조 탈취공정 (SDDP) 시 에탄올을 처리하였을 때 비린맛 (seaweed taste) 및 비린내 (seaweed smell)가 크게 감소하였다. 다만 열풍건조 탈취공정 (HDDP)와 분무건조 탈취공정 (SDDP)간에는 커다란 유의적인 차이를 보이지 않았다.

3.3. 후코이단의 갯내음 저감 공정 최적화

후코이단 특유의 갯내음을 제거하기 위한 탈취공정으로서 열풍건조 (HDDP)와 분무건조 (SDDP) 탈취방법에 따른 후코이단의 냄새저감 효과를 알아보기 위하여 시간을 달리 하여 (10분-120분) 에탄올 추출처리를 하고 남아있는 냄새성분의 변화를 GC/MSD로 분석하였다. 분석결과 Wiley NBS library의 spectrum과 비교하여 15 종의 피크를 동정·확인하였다 (Table 4). 후코이단의 주요 냄새성분인 (Z)-9-octadecenoic acid, hexadecanoic acid 및 3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone은 용매처리 시간에 상관없이 쉽게 제거됨을 확인하였다.

Table 3. Sensory evaluation of fucoidans treated using different solvents and drying methods (HDDP and SDDP)

Characteristics	Crude fucoidan	HDDP				SDDP			
		W ¹⁾	E ²⁾	A ³⁾	E+A ⁴⁾	W ¹⁾	E ²⁾	A ³⁾	E+A ⁴⁾
Seaweed smell	4.4 ± 0.3	2.4 ± 0.3 ^{ab}	2.1 ± 0.3 ^a	2.5 ± 0.3 ^{ab}	3.2 ± 0.3 ^b	3.2 ± 0.3 ^b	2.2 ± 0.3 ^a	3.2 ± 0.2 ^b	3.2 ± 0.3 ^b
Seaweed taste	3.8 ± 0.3	2.5 ± 0.4 ^b	2.5 ± 0.3 ^b	2.4 ± 0.3 ^b	2.3 ± 0.3 ^b	3.5 ± 0.3 ^{bc}	2.5 ± 0.3 ^a	2.7 ± 0.4 ^{ab}	2.8 ± 0.3 ^{ab}

* Value are mean±SD, n = 15, p < 0.05.

¹⁾ W: water treatment.

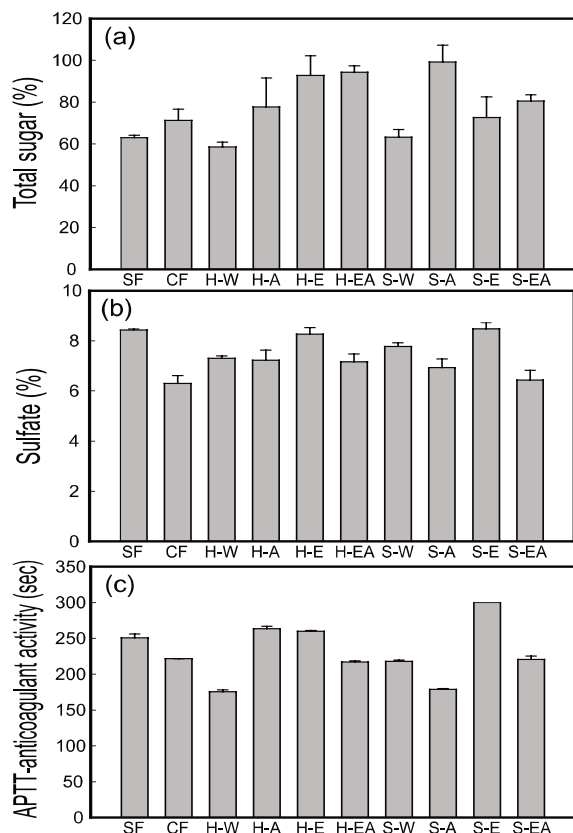
²⁾ E: ethanol treatment.

³⁾ A: acetone treatment.

⁴⁾ E+A: ethanol treatment followed by acetone treatment.

Table 4. Volatile component profile of fucoidans treated by different drying methods (HDDP and SDDP) after ethanol extraction

Components	Standard fucoidan	Crude fucoidan	Area peak										
			HDDP				SDDP						
			10	30	60	120	10	30	60	120			
eicosane	228,990	228,988											
(Z)-9-octadecenoic acid		228,694											
hexadecanoic acid	195,440	195,439											
octadecane	193,177	193,177	193,187						193,187				
hexadecane	154,904	154,916		154,914	154,914	154,915		154,916	154,910	154,910	154,916		
2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	124,428	124,428	124,428	124,423	124,423	124,428		124,423	124,423	124,423	124,428		
tetradecane	113,299	113,303	113,293	113,289	113,289	113,303		113,293				113,299	
1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-benzene	101,040	101,040	101,040	101,045	101,045	101,040		101,040	101,040	101,040	101,040		
dodecane	74,403	74,403	74,392	74,403	74,403	74,403		74,403	74,403	74,403	74,403		
1,1'-(1,4-phenylene)bis-ethanone	62,054	62,054											
2,6-dimethylnonane	56,265	56,265	56,265										
3,5-dimethyloctane	38,858	38,858											
decane	38,808	38,808											
3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	33,819	33,819											
2,4-dimethyl-heptane	25,187	25,187	25,187	25,186	25,186	25,187		25,185	25,184	25,184	25,186		



SF: standard fucoidan, CF: crude fucoidan, H-W: HDDP treatment after water treatment, H-A: HDDP treatment after acetone treatment, H-E: HDDP treatment after ethanol treatment, H-EA: HDDP treatment after ethanol treatment followed by acetone treatment, S-W: SDDP treatment after water treatment, S-A: SDDP treatment after acetone treatment, S-E: SDDP treatment after ethanol treatment, S-EA: SDDP treatment after ethanol treatment followed by acetone treatment

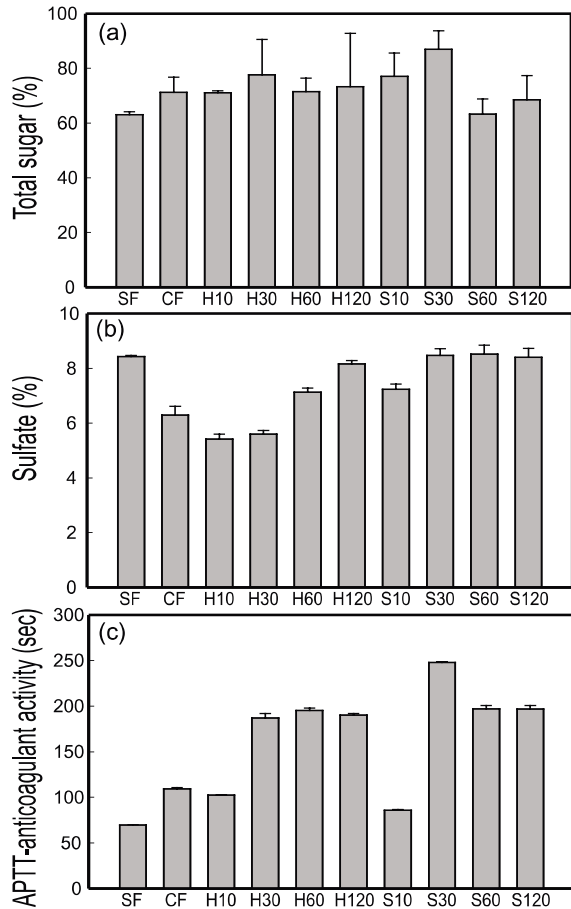
Fig. 1. Total sugar content (a), sulfate content (b) and anticoagulant activity (c) of fucoidans treated using different solvents and different drying methods.

열풍건조 탈취공정 (HDDP)을 이용하여 10분 동안 용매처리를 하였을 경우 분자량이 큰 octadecane 및 2,6-dimethylnonane은 제거되지 않았으며, 30분 동안 용매처리를 하였을 경우 octadecane이 제거되지 않았다. 60분 이상 용매처리를 하였을 경우에는 분자량이 큰 octadecane 및 2,6-dimethylnonane이 모두 제거되었다.

분무건조 탈취공정 (SDDP)을 이용하여 10분 동안 용매처리를 하였을 경우 분자량이 큰 octadecane이 제거되지 않았으며 30분, 60분 및 120분 동안 용매처리를 하였을 경우 octadecane 및 2,6-dimethylnonane이 제거되었다.

용매처리 시간 및 건조방법에 따른 후코이단의 냄새저감 효과의 특성을 조사한 결과, 열풍건조 탈취공정 (HDDP)과 분무건조 탈취공정 (SDDP)을 이용하여 제조한 후코이단의 총당 함량에는 큰 변화가 없었다. 열풍건조 탈취공정 (HDDP)을 이용하여 10분과 30분 동안 용매처리를 하였을 경우 황산기 함량과 항혈전 활성은 낮았지만, 60분-120분 동안 용매처리를 하였을 경우 높은 황산기 함량 및 항혈전 활성을 보였다. 또한 분무건조 탈취 (SDDP)을 이용하여 10분 동안 용매처리를 하였을 경우 황산기 함량과 항혈전 활성은 낮았으며, 30-120분 동안 용매처리를 하였을 경우 황산기 함량과 항혈전 활성이 높은 결과를 보였다 (Fig. 2).

Fig. 2에서 보는 바와 같이, 30분 동안 에탄올 처리한 후 분무건조 탈취 (SDDP)한 경우, crude fucoidan 대비 총당 함량과 황산기 함량 및 항혈전 활성 (APTT활성)의 증가율은 각각 24.28%, 32.25% 및 127.27%이었다. 일반적으로 후코이단의 순도를 나타내는 지표로서 총당 함량과 황산기 함량의 합을 사용하는데 [30], 이렇게 계산한 순도 지표 (총당 함량 + 황산기 함량)는 24.9% 증가하였다. 이는 용매탈취 및 분무건조 탈취 공정이 단순히 탈취의 목적 뿐만 아니라 순도를 높이는 효과가 있는 것으로 판단되며, APTT 활성의 증가도 순도의 증가하였기 때문인 것으로 판단된다.



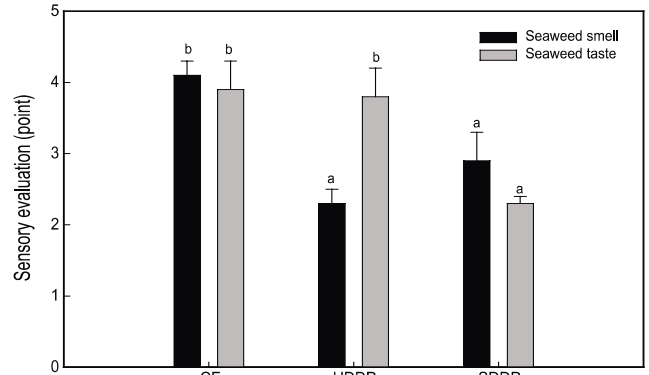
SF: standard fucoidan, CF: crude fucoidan, H10: HDDP treated for 10 min, H30: HDDP treated for 30 min, H60: HDDP treated for 60 min, H120: HDDP treated for 120 min, S10: SDDP treated for 10 min, S30: SDDP treated for 30 min, S60: SDDP treated for 60 min, S120: SDDP treated for 120 min

Fig. 2. Total sugar content (a), sulfate content (b) and anticoagulant activity (c) of fucoidans treated by different drying methods with different treatment times.

용매처리 시간 및 건조방법에 따른 후코이단의 관능적 특성을 조사한 결과, Table 5에서 보는 바와 같이 열풍건조 탈취공정 (HDDP)을 이용하여 용매처리한 후코이단과 분무건조 탈취공정 (SDDP)을 이용하여 용매처리한 후코이단의 관능특성은 처리 시간에 따라 유의적으로 차이가 없었다.

GC/MSD 분석, 총당 함량, 황산기 함량, 항혈전 활성 및 관능적 특성을 종합적으로 보았을 때 열풍건조 탈취공정 (HDDP)을 이용하여 용매처리할 경우에는 용매처리를 1시간 이상 처리하는 것이 냄새저감에 효과적이었고, 반면에 분무건조 탈취공정 (SDDP)을 이용하여 용매처리할 경우에는

30분 이상 처리하는 것이 냄새저감에 효과적인 것으로 판단되었으며, 열풍건조 탈취공정 (HDDP)을 이용하였을 경우보다 분무건조 탈취공정 (SDDP)을 이용하였을 경우에서 관능적 특성 중 비린맛이 더 감소함을 보였다 (Fig. 3).



CF: crude fucoidan, HDDP: HDDP treatment after ethanol treatment (30 min), SDDP: SDDP treatment after ethanol treatment (30 min).

Fig. 3. Sensory evaluation of fucoidans treated by different methods (HDDP and SDDP).

결론적으로 열풍건조 탈취공정 (HDDP)을 이용하여 후코이단의 갯내음을 제거하는 것보다 분무건조 탈취공정 (SDDP)을 이용하여 후코이단의 갯내음을 제거하는 것이 효과적이었으며 분무건조 전 추출용매로서 에탄올로 처리하였을 때 후코이단의 갯내음 제거가 가장 효과적이었다.

4. 결론

후코이단과 후코이단 생산의 주원료인 미역포자엽의 휘발성분을 GC/MSD를 이용하여 동정·확인하였고, 후코이단의 갯내음 및 비린맛을 감소시키기 위한 공정으로서 용매탈취 및 분무건조 및 열풍건조 탈취공정을 이용하여 후코이단의 냄새저감에 미치는 영향을 검토하였다. 미역포자엽으로부터 추출한 후코이단 조추출물의 주요 냄새성분은 알칸류 (octadecane, heptadecane, tetradecane) 및 아실산류 (hexadecanoic acid, oleic acid)이었다. 후코이단의 건조 전에 물, 에탄올 및 아세톤 등의 용매를 이용하여 용매탈취 효과를 검토한 결과, 에탄올을 사용할 경우 비린내 (seaweed smell)와 비린맛 (seaweed taste)이 가장 많이 제거된 것으로 나타났다. 분무건조 (SDDP) 탈취방법과 열풍건조 (HDDP) 탈취방법에 의해 조제된 후코이단의 비교 분석 결과, 분무건조 탈취공정이 보다 우수한 관능적 특성을 나타냈다. 30분

Table 5. Sensory evaluation of fucoidans treated by HDDP and SDDP after ethanol extraction for different treatment time

Characteristics	Crude fucoidan	HDDP				SDDP			
		10 min	30 min	60 min	120 min	10 min	30 min	60 min	120 min
Seaweed smell	4.6 ± 1.4 ^b	2.0 ± 0.3 ^a	1.5 ± 0.2 ^a	1.7 ± 0.2 ^a	1.5 ± 0.1 ^a	2.1 ± 0.3 ^a	1.4 ± 0.2 ^a	1.6 ± 0.2 ^a	1.7 ± 0.1 ^a
Seaweed taste	4.2 ± 1.1 ^b	2.8 ± 0.2 ^a	2.6 ± 0.5 ^a	2.5 ± 0.7 ^a	2.6 ± 0.8 ^a	2.7 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.5 ^a	2.7 ± 0.7 ^a	2.5 ± 0.8 ^a

* Value are mean ± SD, n = 15, p < 0.05.

동안 에탄올 추출 후 분무건조 (SDDP) 탈취방법에 의해 후코이단 고유의 냄새 성분이 60% 이상 제거되었고, 후코이단의 총당 함량, 황산기 함량 및 항혈전 생리활성이 크게 증가함을 확인하였다. 결론적으로 분무건조 탈취방법에 의한 후코이단의 냄새저감 공정을 제안하였고, 이를 통하여 냄새저감 고활성 후코이단의 제조가 가능함을 확인하였다.

감사

이 논문은 2008년도 호서대학교의 재원으로 학술연구비 지원을 받아 수행된 연구 (과제번호 2009-0065)이며, 이에 감사드립니다.

References

- Lee, Y. S., D. S. Kim, B. H. Ryu, and S. H. Lee (1992) Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward sarcoma-180 Cell. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 544-550.
- Cho, K. J., Y. S. Lee, and B. H. Ryu (1990) Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Korean Fish. Soc.* 23: 345-352.
- Nakashima, H., Y. Kido, N. Kobayashi, Y. Motoki, M. Neushal, and N. Yamamoto (1987) Purification and characterization of an avian myeloblastosis and human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor sulfater polysaccharide extracted from sea algae. *Agents Chemother.* 31: 1524-1528.
- Nishino, T., Y. Aizu, and T. Nagumo (1991) The relationship between the molecular weight and the anticoagulant activity of two types of fucan sulfates from the brown seaweed *Ecklonia kurome*. *Agri. Biol. Chem.* 55: 791-796.
- Usui, T., K. Asari, and T. Mizuno (1980) Isolation of highly fucoidan from *Eisenia bicyclis* and its antitumor activity. *Agri. Biol. Chem.* 44: 1965-9170.
- Kwon, D. J., S. T. Lim, Y. J. Chung, S. H. Park, and D. K. Kweon (2006) Comprehension and practical use of fucoidan extracted from brown seaweeds. *Food Sci. Ind.* 39: 73-80.
- Park, K. Y., J. H. Back, W. Hur, and S. Y. Lee (2007) *In vitro* glucose and bile acid retardation effect of fucoidan from *Laminaria japonica*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 4: 265-269.
- Chevolot, L., A. Foucault, F. Chaubet, N. Kervarec, C. Sinquin, A. M. Fisher, and C. Boisson-Vidal (1999) Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carbohydr. Res.* 319: 154-165.
- Chizhov, A. O., A. Dell, H. R. Morris, S. M. Haslam, R. A. McDowell, A. S. Shashkov, N. E. Nifant'ev, E. A. Khatuntseva, and A. I. Usov (1999) A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carbohydr. Res.* 320: 108-119.
- McCandless, E. L. and J. S. Craigie (1979) Sulfated polysaccharides in red and brown algae. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 30: 41-46.
- Percival, E. and R. H. McDowell (1967) Chemistry and Ezymology of Marine Algal Polysaccharides. p. 157. Academic Press, NY, USA.
- Li, B., F. Lu, X. Wei, and R. Zhao (2008) Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules* 13: 1671-1695.
- Koo, J. G. (1997) Structural characterization of purified fucoidan from *Laminaria religiosa*, sporophylls of *Undaria pinnatifida*, *Hizikia fusiforme* and *Sargassum fulvellum* in Korea. *Korean J. Fish. Soc.* 30: 128-131.
- Kim, S. K. (2009) Method for producing sea algae powder having no bad smell, the sea algae powder produced thereby and cookie composition including the sea algae powder. *Korea Patent* 0,007,000.
- Cho, S. Y., D. S. Joo, K. S. Kim, and W. G. Yoon (2001) Beverage containing an organic acid extract of *Undaria pinnatifida* and process for the preparation thereof. *Korea Patent* 0,052,362.
- Joo, D. S. (2001) Beverage containing an organic acid extract of *Laminaria religiosa* and process for the preparation thereof. *Korean Soc. Fish.* 2: 177-178.
- Yang, D. Y. (1989) Food from the sea products; fish products; fish meal; fish egg substitutes. *Korea Patent* 0,007,006.
- Choi, J., D. Kim, S. Park, D. Kim, C. Kim, and J. Koo (2000) Effects sea tangle (*Laminaria japonica*) extract and fucoidan components on lipid metabolism of stressed mouse. *J. Korean Fish. Soc.* 33: 124-128.
- Kim, S. J., Y. S. Kim, and S. T. Jung (2004) Improvement of seaweed off-flavor and preparation of jam using sea mustard stem and mustard *Sporophyll*. *Korea Patent* 0,047,488.
- Kim, J. K., S. K. Yoon, W. J. Kim, and H. S. Choi (1996) Effect of viscous materials removal from sea tangle extracts on volatile flavor constituents. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 384-388.
- Kajiwawa, T., A. Hatanaka, T. Kawai, M. Ishihara, and T. Tsuneya (1988) Study of flavor compounds of essential oil extracts from edible Japanese kelps. *J. Food Sci.* 53: 960-962.
- Teruhisa, K. (1958) Chemical studies on the volatile constituents of seaweed. XIV. On the volatile constituents of *Laminaria sp.* *Bull. J. Soc. Sci. Fish.* 24: 346-354.
- Hwang, K. A., S. R. Shin, and K. S. Kim (2005) Changes on the flavor components in the leaf teas of *Lindera obtusiloba* BL by processing methods. *Korean J. Food Preserv.* 12: 68-74.
- Sung, K. C. (2004) Characteristics and analysis of natural pine needles extract. *J. Korean Oil Chem. Soc.* 24: 320-326.
- Lee, O. K., H. J. Lee, Y. S. Shin, Y. G. Ahn, H. J. Jo, H. C. Shin, and H. Y. Kang (2007) Quantitative analysis of the fruit flesh of *Prunus mume siebold* and *zuccarni*. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* 15: 143-147.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Dodgson, 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.
- Lee, J. K., S. K. Yoon, W. T. Kim, and H. S. Choi (1996) Effect of viscous materials removal from sea tangle extracts on volatile flavor constituents. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 384-388.
- Nishino, T. and T. Nagumo (1987) Sugar constituents and blood-anticoagulant activities of fucose-containing sulfated polysaccharides in nine brown seaweed species. *Japan J. Soc. Biosci.* 61: 361-363.
- Park, K. (2008) Extraction and characteristics of fucoidan from *Undaria pinnatifida sporophylls* using enzyme and ultra-high pressure treatments. Ph. D. Thesis. University of Hoseo, Asan, Korea.