

우렁쉥이 껍질 성분의 이용에 관한 연구

4. 우렁쉥이 껍질 추출물의 안정성

최병대 · 강석중 · 최영준 · 염말구 · 이강호*

통영수산전문대학 · *부산수산대학 식품공학과

Utilization of Ascidian(*Halocynthia roretzi*) Tunic

4. The Stability of Ascidian Tunic Extracts.

Byeong-Dae CHOI, Seok-Jong KANG, Yeung-Joon CHOI,
Mal-Gu YOUM and Kang-Ho LEE

Tong-Yeong National Fisheries College, Chungmu 650-160, Korea

*Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

The stability of carotenoid extracts from ascidian, *Halocynthia roretzi*, tunics during heating and solvent storage was examined. After 4 hours of heating at 100°C, 10% of total carotenoids was decomposed. The stability of carotenoid extracts were determined in 4 organic solvents. Stability was checked for 1, 2, and 4 weeks at room temperature(15 ± 2 °C), 4 °C, and -20 °C by measuring absorbance. B7(alloxanthin) and B10(halocynthiaxanthin) were more stable than the other carotenoid components. The stability of carotenoid extracts from ascidian tunic was dependent on storage temperature.

서 론

지난 50여년 간 많은 종류의 새로운 카로테노이드가 어류나 조류 등으로부터 분리·동정되었다. 그러나 현재도 새로운 자원으로부터 독성을 갖지 않는 카로테노이드를 분리하여 식품산업을 비롯한 양식산업에 이용하려는 시도가 계속되어지고 있으며 합성 카로테노이드의 독성문제는 이 분야에 관한 연구를 더욱 증진시키고 있다(Spinelli *et al.*, 1974; Spinelli and Mahnken, 1978).

카로테노이드 색소는 고도불포화(polyene)구조로 되어 있으므로 빛과 열에 대하여 대단히 민감하다. 따라서 저장안정성이 적어 실제 식품산업에 이용하기에는 많은 문제점이 있다. 그러나 카로테

노이드 자체는 광에너지를 흡수하여 유기물질의 산화적 분해를 방어하는 작용(Goodwin, 1986), 어류 및 갑각류에는 carotenoprotein으로써 단백질을 안정화(Zagalsky *et al.*, 1990)하는 등 많은 생리적 기능을 가지고 있다.

카로테노이드를 가열처리하면 새로운 무색의 carotene으로 분해된다. 따라서 식품가공 과정에서 색소성분의 변화가 일어나면 영양학적 가치 뿐만 아니라 색상 및 풍미에 변화를 일으켜 상품가치를 떨어뜨리게 된다. 카로테노이드의 가열분해 생성물에 대한 다수의 연구가 수행되었다(Mulik and Erdman, 1963; Mader, 1964; Kjoson *et al.*, 1971; Schreier *et al.*, 1979; Ishiwatari, 1980; Onyewu *et al.*, 1982; Roshdy, 1986; Kanasawud and Crouzet,

이 연구는 1990년도 한국과학재단 연구비 지원에 의한 결과임. 과제번호: 901-1506-063-2

1990). 그러나 이들 연구의 대부분도 식품내 성분 변화에 대한 조사가 아니고 모델실험을 하였으며 주로 휘발성 화합물의 생성에 관한 실험이었다.

따라서 본 실험에서는 우렁쟁이 껍질로부터 추출한 색소성분의 용매에 대한 안정성, 가열에 대한 추출정도 및 안전성, 온도에 따른 저장안정성 등을 검토하여 색소성분의 고도 이용에 관한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

가열에 따른 색소함량의 변화

냉동고(-40℃)에 저장해 두었던 한산도산 채고 10.1~11.8cm(평균 11.0 cm), 폭 5.2~6.5cm(평균 5.9cm)인 우렁쟁이 껍질을 해동하여 일정한 크기(0.5×0.5cm)로 잘라 100g을 비이커에 넣고, 100℃ dry oven에서 0(대조구), 1, 2, 3 및 4시간 동안 가열한 후, 3배량의 acetone으로 색소성분을 3회 추출하고 이것을 물과 함께 분액조작하여 ether 층으로 색소를 전용하여, Na₂SO₄로 탈수한 후 감압농축하였다. 총카로테노이드 함량은 McBeth(1972) 방법에 따라 ether를 용매로 흡광계수 E_{1cm}^{1%}=2,400으로 하여 계산하였다.

저장온도 및 용매에 대한 안전성

우렁쟁이 껍질로부터 추출한 색소 20mg을 cap tube에 분취하여 benzene, hexane, acetone 및 ethanol 10ml에 각각 용해시켜 실온(15±2℃), 4℃ 및 -20℃의 암소에 0(대조구), 1, 2 및 4주간 저장하면서 silica gel G를 도포한 TLC상에서 ethylacetate:dichloromethane=1:4를 전개용매로 하여 분리된 각 band를 분획하여 ether로 용출하고 McBeth(1972)방법에 따라 ether를 용매로 흡광계수 E_{1cm}^{1%}=2,400으로 하여 계산하였다.

총 카로테노이드의 함량과 각 band의 조성비는 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$mg/100g = \frac{O.D.(\lambda_{max}) \times vol. \times 1000}{E_{1cm}^{1\%}(2,400) \times weight \text{ of sample}(g)}$$

$$Percentage = \frac{100 \times vol \times O.D.(\lambda_{max}) \text{ (for each band)}}{\sum [vol \times O.D.(\lambda_{max}) \text{ (each band)}]}$$

결 과

가열에 따른 색소함량의 변화

껍질 100g을 비이커에 넣고 100℃ dry oven에서 1, 2, 3 및 4시간 동안 가열한 후 추출한 색소의 함량변화를 Table 1에 나타내었다.

시료는 한산도산을 이용하였으며 1시간 가열 후 47.05mg/100g solid로 1.7% 감소하였고, 2시간 가열 후에는 46.43mg/100g solid로 3.0% 감소하였다. 그리고 4시간 가열 후에는 43.05mg/100g solid로 10% 감소하였다.

Table 1. Effects of heating time on the stability of acetone extractable carotenoids in ascidian tunic (mg/100g solid)

Heating time(hr) at 100℃				
0	1	2	3	4
47.87	47.05	46.43	45.28	43.05

저장온도 및 용매에 대한 안전성

우렁쟁이 껍질로부터 추출한 색소 20mg을 acetone, hexane, benzene 및 ethanol 10ml에 각각 용해시켜 cap tube에 넣고 밀봉한 후 실온(15±2℃), 4℃ 및 -20℃ 암소에 1, 2 및 4주간 저장하면서 색소의 안정성을 검토한 결과를 Table 2~5에 나타내었다. 각 band 확분별 성상은 전보(최 등, 1994)에 나타난 것과 같다.

Hexane에 저장한 경우 실온, 4℃ 및 -20℃ 암소에서 각각 16.9mg, 16.3mg 및 19.3mg 이었고, benzene에서는 15.9mg, 16.7mg 및 19.1mg이었다. Hexane에서 상온저장시 1주 후에는 15.5%, 2주 후에는 33.5%, 4주 후에는 43.5%가 분해되었으나, -20℃ 저장시에는 1주, 2주 및 4주 후 각각 3.5%, 8.0% 및 29.5%가 분해되었다. Benzene에서 4℃ 저장시 1주 후에는 16.5%, 2주 후에는 23.0%, 3주 후에는 31.0%가 분해되었고, -20℃ 저장시에는 2주 후 17.5%가 분해되어 hexane보다 덜 안정하였다.

Hexane 및 benzene에 저장한 경우 가장 안정한 색소는 B7(alloxanthin)으로 모든 온도조건에서 분해가 적은 것으로 나타났다. 그 다음으로는 B10(halocynthiaxanthin) 이었고, B8(diatoxanthin)은 benzene에서는 안정하였으나 hexane에서는 불안정한 것으로 나타났다. B6(astaxanthin)의 경우 상온 및 4℃에서는 분해속도가 다른 carotenoids보다 빨랐으며 -20℃에서는 1~2주 사이에는 어느 정도 안

4. 우렁쉥이 껍질 추출물의 안정성

Table 2. The fractions and storage stability of carotenoids in hexane(%)

Fraction No.	Room temp.			4℃			-20℃			
	1 W. ^{*1}	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	
B1(0.9) ^{*2}	0.8	0.6	0.4	0.6	0.7	0.7	0.7	0.8	0.6	
B2(0.3)	1.4	1.1	0.8	1.0	1.3	1.3	1.4	1.4	1.2	
B3(1.2)	0.9	0.8	0.4	0.9	0.7	0.4	1.4	1.0	0.1	
B4(0.8)	0.6	0.5	0.5	0.6	0.5	0.3	0.8	0.7	0.4	
B5(10.8)	7.3	6.4	5.8	10.2	7.4	5.7	5.8	7.3	7.2	
B6(7.8)	3.7	3.4	3.3	3.2	3.0	3.0	5.6	6.6	3.5	
B7(31.3)	36.7	41.0	43.2	40.0	44.3	46.1	44.0	39.9	40.7	
B8(11.9)	9.5	10.1	10.8	8.0	9.4	10.7	12.1	12.3	12.0	
B9(11.6)	8.6	8.7	9.8	8.5	8.1	7.4	5.9	6.9	7.1	
B10(15.5)	17.3	18.4	19.0	20.9	20.0	19.8	18.6	17.8	22.3	
B11(5.7)	5.2	5.1	5.0	4.9	4.7	4.0	3.6	4.7	4.1	
B12(1.4)	1.4	1.1	0.8	1.0	1.3	1.3	1.4	1.4	1.2	
B13(0.8)	0.8	0.6	0.4	0.6	0.7	0.8	0.7	0.8	0.6	
Total(mg)	20.0	16.9	13.3	11.3	16.3	14.1	12.9	19.3	18.4	14.1

*1 W : Week

*2 The fraction number of thin layer chromatography on silica gel G of ascidian tunic extracts in a mobile phase of ethylacetate:dichloromethane=1:4.

B1, β -carotene; B2, lutein; B3, zeaxanthin; B4, pectenolone; B5, mytiloxanthinone; B6, astaxanthin; B7, alloxanthin; B8, diatoxanthin; B9, diadinochrome; B10, halocynthiaxanthin; B11, mytiloxanthin; B 12, fucoxanthin; B13, fucoxanthinol.

Table 3. The fractions and storage stability of carotenoids in benzene(%)

Fraction No.	Room temp.			4℃			-20℃			
	1 W.	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	
B1(0.9)*	0.7	0.6	0.4	0.4	0.5	0.9	0.6	0.4	0.7	
B2(0.3)	0.4	0.4	0.6	0.1	0.1	0.2	0.3	0.1	0.6	
B3(1.2)	0.6	0.5	0.3	0.1	0.4	0.6	0.2	0.5	0.3	
B4(0.8)	0.8	0.6	0.3	0.1	0.4	0.6	0.2	0.5	0.4	
B5(10.8)	9.5	8.8	3.2	4.4	5.6	7.2	6.2	6.1	6.8	
B6(7.8)	5.3	4.9	4.3	3.8	3.3	3.2	3.3	6.3	3.3	
B7(31.3)	36.7	37.2	40.0	39.7	39.7	40.0	41.3	40.5	43.6	
B8(11.9)	14.6	14.4	14.3	13.7	12.2	11.0	14.3	12.7	11.3	
B9(11.6)	6.5	7.6	8.1	9.3	9.1	8.5	7.1	8.4	8.2	
B10(15.5)	18.3	19.3	22.4	22.0	21.5	20.9	19.4	17.5	21.1	
B11(5.7)	4.3	4.2	5.0	4.5	4.5	4.9	3.2	4.7	3.9	
B12(1.4)	1.6	1.2	0.7	1.2	1.1	1.0	1.7	1.5	0.9	
B13(0.8)	0.9	0.7	0.4	0.7	0.6	0.6	1.0	0.9	0.5	
Total(mg)	20.0	15.9	12.4	11.8	16.7	15.4	13.8	19.1	16.5	14.6

*See the footnote in Table 2.

Table 4. The fractions and storage stability of carotenoids in acetone(%)

Fraction No.	Room temp.			4℃			-20℃			
	1 W.	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	
B1(0.9)*	0.4	0.4	0.8	0.4	0.4	0.2	0.5	0.4	1.2	
B2(0.3)	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.6	0.1	0.2	
B3(1.2)	1.0	0.6	0.4	0.5	0.5	0.4	0.8	1.0	0.4	
B4(0.8)	0.6	0.4	0.3	0.5	0.4	0.2	0.8	0.7	0.2	
B5(10.8)	6.3	5.5	5.0	3.8	4.3	5.9	7.1	7.3	2.6	
B6(7.8)	5.3	4.3	2.5	5.7	5.2	4.4	5.6	6.6	2.4	
B7(31.3)	39.3	40.5	41.1	41.1	41.1	41.8	35.4	36.9	43.5	
B8(11.9)	13.3	14.1	14.4	13.2	14.4	15.0	16.8	15.6	14.4	
B9(11.6)	8.2	7.8	7.2	8.8	8.5	6.7	7.1	7.1	9.1	
B10(15.5)	18.2	20.4	22.7	18.4	19.0	19.6	18.7	17.5	20.2	
B11(5.7)	4.9	4.4	4.2	4.8	4.6	4.4	4.2	4.3	4.0	
B12(1.4)	1.5	1.2	0.8	1.7	1.4	0.8	1.6	1.2	1.2	
B13(0.8)	0.8	0.7	0.5	0.9	0.7	0.5	0.9	0.7	0.7	
Total (mg)	20.0	16.5	13.1	12.7	18.5	16.3	14.9	19.3	18.4	16.5

* See the footnote in Table 2.

Table 5. The fractions and storage stability of carotenoids in ethanol(%)

Fraction No.	Room temp.			4℃			-20℃			
	1 W.	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	1 W.	2 W.	4 W.	
B1(0.9)*	0.8	0.7	0.6	0.8	0.3	0.3	0.7	0.7	0.6	
B2(0.3)	0.3	0.4	0.5	0.5	0.1	0.1	0.5	0.3	0.4	
B3(1.2)	1.7	0.6	0.4	0.5	0.3	0.2	1.2	0.3	0.1	
B4(0.8)	0.6	0.6	0.4	0.7	0.2	0.1	0.8	0.7	0.2	
B5(10.8)	8.6	7.3	5.2	5.9	4.1	4.8	8.3	7.4	5.2	
B6(7.8)	7.1	6.4	5.9	4.9	3.5	5.9	6.0	6.5	2.4	
B7(31.3)	33.7	34.4	35.8	42.5	41.7	43.3	38.1	36.4	44.1	
B8(11.9)	12.1	12.8	13.9	12.3	12.1	10.5	13.6	15.0	10.2	
B9(11.6)	9.5	8.6	7.1	7.7	7.4	6.8	7.4	6.7	6.6	
B10(15.5)	17.6	20.5	13.9	12.3	12.1	10.5	13.6	14.9	10.2	
B11(5.7)	5.9	6.0	6.0	3.9	4.4	4.3	3.9	4.5	4.3	
B12(1.4)	1.3	1.2	1.2	1.4	1.3	0.9	1.3	1.6	1.0	
B13(0.8)	0.7	0.7	0.7	0.8	0.7	0.5	0.7	0.9	0.6	
Total (mg)	20.0	15.8	12.3	11.3	16.9	16.7	12.2	19.5	18.2	14.9

* See the footnote in Table 2.

4. 우렁쟁이 껍질 추출물의 안정성

정하였으나 benzene보다는 hexane 저장시 분해속도가 빠른 것으로 나타났다. B2(lutein), B7(alloxanthin), B10(halocynthiaxanthin) 등은 두 용매 모두에 안정하였다.

Acetone에서는 16.5mg, 18.5mg 및 19.3mg, ethanol에서는 15.8mg, 16.9mg 및 19.5mg으로 각각 나타났다. Acetone 상온저장시 1주 후 17.5%, 2주 후 34.5%, 4주 후에는 36.5%가 분해되었고, 4℃ 저장시에는 각각 7.5%, 18.5% 및 25.2%가 분해되었다. Ethanol의 경우 상온에서 1주 후 21.0%, 2주 후 38.5%, 4주 후 43.5%가 분해되었으며, 4℃에서는 각각 15.0%, 16.5% 및 39.0%가 분해되었다. 따라서 ethanol 저장시 온도가 높을수록 분해속도가 빨랐다. 그러나 -20℃ 저장시에는 저장기간에 따른 분해정도가 비슷한 것으로 나타났다.

Acetone 및 ethanol의 경우 B1(β -carotene)과 B3(zeaxanthin)은 ethanol에는 어느 정도 안정하였으나 acetone에는 불안정하였다. B6(astaxanthin), B8(diatoxanthin), B10(halocynthiaxanthin)은 온도가 낮을수록 저장 안정성이 증가하였고, B12(fucoaxanthin)과 B13(fucoaxanthinol)은 두 용매에 다소 안정하였다.

고 찰

Yamaguchi *et al.*(1987)은 동결건조한 krill을 이산화탄소 압력 250kg/cm², 80℃에서 6시간 동안 초임계추출(SC-CO₂), 질소압력 250 kg/cm², 80℃에서 6시간 동안 질소고압추출 및 공기중 80℃에서 6시간 동안 추출한 경우 색소의 약 50%가 분해되어 고온, 장시간일수록 carotenoids의 분해는 증가한다고 하였다. Miki *et al.*(1983)에 의하면 krill meal 함유 carotenoids의 안정성을 검토한 바 100℃, 3시간 가열했을 때 54.2%가 감소하였으나 30분 가열했을 때는 거의 변화가 없었다고 하였다.

우렁쟁이 껍질을 100℃에서 4시간 가열한 결과 10.0%가 감소하여 훨씬 안정한 것으로 나타났다. 이는 우렁쟁이 껍질이 tunicin이라는 특수한 조직으로 되어 있어 가열에 대한 안정성을 가지는 것으로 생각되어진다.

또한 Miki *et al.*(1983)은 krill로부터 astaxanthin, astaxanthin monoester 및 astaxanthin diester을 분리하여 용매에 따른 안정성을 검토하였는데 극성 용매에서는 불안정하며 비극성 용매에서는 대체로 안정하다고 하였으며, 사용하는 용매의 순도 즉 매우 적은 양이지만 과산화물이나 다른 불순물이 존재하는 경우 이것이 안정화에 영향을 미친다고 하

였다. 뿐만 아니라 -80℃에서는 1년간을 저장하더라도 거의 분해되지 않는다고 하여 저장온도가 분해정도에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 생각된다.

본 실험의 결과로 미루어 볼 때 용매의 종류에 따른 영향은 적은 것으로 생각된다. 따라서 색소성분의 분해는 용매 종류보다는 저장온도에 더 영향을 받는 것으로 나타났다. 또한 우렁쟁이 껍질 추출물 속에는 소량이지만 cholesteryl ester와 glycerides가 함유되어 있어 이들에 의해 상온에서는 carotenoids의 산화가 빨라진 것으로 여겨진다. 앞으로 우렁쟁이 껍질 색소를 이용하여 어류의 체색개선제로 이용할 경우 이 점을 참고하여 껍질로부터 색소를 추출하지 않는 상태에서는 문제가 적지만 색소 추출물은 가능한 저온저장하는 것이 필수적이라 여겨진다.

요 약

우렁쟁이 껍질 및 색소 추출물의 열에 대한 안정성 및 저장 안정성을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 가열시간에 따른 함량변화는 적었으며, 100℃에서 4시간 가열하였을 때 약10%가 분해되는 것으로 나타났다.

2. 용매에 대한 안정성은 함량이 많은 alloxanthin, halocynthiaxanthin 등이 가장 높았고, astaxanthin은 hexane에 저장할 때도 저장 안정성이 낮았다.

3. -20℃ 저장시 가장 안정하여 용매에 의한 영향보다는 온도에 따른 영향이 더 크게 나타나 색소 추출물을 이용할 때는 저온저장이 필수적인 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- Goodwin, T.W. 1986. Metabolism, nutrition, and function of carotenoids. *Ann. Rev. Nutr.*, 65, 273~297.
- Ishiwatari, M. 1980. Thermal reactions of β -carotene. Part I. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2, 153~167.
- Kanasawud, P. and J.C. Crouzet. 1990. Mechanism of formation volatile compounds by thermal degradation of carotenoids in aqueous medium. 2. Lycopene degradation. *J. Agric. Food Chem.*,

- 38, 1238~1242.
- Kjoson, H., S. Liaaen-Jensen and C.R. Enzell. 1971. Mass spectrometric studies of carotenoids. Part 4. In-chain elimination reactions. *Acta Chem. Scand.*, 25(1), 85.
- Mader, I. 1964. Thermal degradation β -carotene. *Science*, 144, 533~534.
- MecBeth, T.W. 1972. Carotenoids from nudibranches. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41B, 55~68.
- Miki, W., N. Toriu, Y. Kondo, M. Murakami, K. Yamaguchi, S. Konosu, M. Satake and T. Fujita. 1983. The stability of carotenoid pigments in the Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 49, 1417~1420.
- Mulik, J.D. and J.G. Erdman. 1963. Genesis of hydrocarbons of low molecular weight in organic-rich aquatic systems. *Science*, 141, 806.
- Onyewu, P.N., H. Daun and C.T. Ho. 1982. Formation two nonpolar thermal degradation products of β -carotene. *J. Agric. Food Chem.*, 30, 1147~1151.
- Roshdy, T.H. and H. Daun. 1990. Use of GC-MS technique for identification of oxygenated volatile thermal degradation products of canthaxanthin. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1391~1396.
- Schreir, P., F. Drawert and S. Bhiwaparker. 1979. Volatile decomposition compounds formed by thermal degradation of β -carotene, *Chem. Microbiol. Technol. Lebensm.*, 6(3), 90~95.
- Spinelli, J., L. Lehman and D. Wieg. 1974. Composition, processing, and utilization of red crab (*Pleuroncodes planipes*) as an aquacultural feed ingredient. *J. Fish. Res. Board Can.*, 31, 1025~1029.
- Spinelli, J. and C. Mahnken. 1978. Carotenoid deposition in pen-reared salmonids fed diets containing oil extracts of red crab (*Pleuroncodes planipes*). *Aquaculture*, 18, 213~223.
- Yamaguchi, K., T. Mori, M. Murakami, S. Konosu, T. Kajiyama and H. Yamamoto. 1987. Thermal decomposition of krill carotenoids with special reference to supercritical carbon dioxide extraction. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, 2281.
- Zagalsky, P.F., E.E. Eliopoulos and J.B. Findley. 1990. The architecture of invertebrate carotenoproteins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 97B, 1~18.
- 최병대·강석중·최영준·염말구·이강호. 1994. 우렁쉥이 성분의 이용에 관한 연구. 3. 우렁쉥이 껍질의 색소성분. *한수지*, 27(4), 344~350.

1993년 11월 20일 접수

1994년 5월 7일 수리