

## 추출온도 및 pH가 김에서 추출한 Crude Porphyran의 화학특성에 미치는 영향

박진희 · 구재근\* · 도정룡 · 양차범\*\* · 우상규\*\*  
한국식품개발연구원, \*군산대학교 수산가공과, \*\*한양대학교 식품영양학과

### Effect of Extraction Temperature and pH on the Chemical Properties of Crude Porphyran Extracted from *Porphyra yezoensis*

Jin-Hee PARK, Jae-Geun KOO\*, Jung-Ryong DO, Cha-Bum YANG\*\* and Sang-Kyu WOO\*\*

Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Boondang-gu, Seongnam 463-420, Korea

\*Department of Sea-Food Science and Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-400, Korea

\*\*Department of Food and nutrition, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

The effect of extraction temperature (60~100°C) and pH (2.0~13.5) on the yield and chemical compositions of crude porphyran from *Porphyra yezoensis* was investigated. The yield and chemical compositions of crude porphyran were greatly affected by extraction pH and temperature. Yield was highest between pH 3~4 at all temperature ranges. Crude porphyran extracted in acidic conditions showed more sulfate and less protein content than extracted in neutral conditions, but molecular weights was decreased. Crude porphyran extracted in alkaline conditions showed low sulfate and high protein content. For high yield and low molecular weight, acidic condition, particularly pH 3~4, was effective. But in order to avoid molecular weight degradation, neutral conditions were effective.

**Key words :** *Porphyra yezoensis*, crude porpyran, extraction, pH, temperature

#### 서 론

김은 국내 총 해조류 생산 금액의 69.2% (1995년, 2,019 억원)를 차지하는 대표적인 식용해조류의 하나로서 양식 기술의 발달로 생산량도 증가하여 '91년 14만 5천톤, '95년 19만 3천톤이 생산된 것으로 보고되고 있다 (농림수산통계연보, 1996).

그러나 현재 국내에서 유통되고 있는 김 제품들은 건조김과 조미김 제품으로 극히 제한되어 있어 새로운 이용방안에 대한 연구가 필요하다.

Porphyran은 김 (*Porphyra spp.*), 서실 (*Laurentia pinatifida*), 김파래 (*Bangia fuscopurea*) 등에서 추출되는 황산기를 함유하는 산성다당을 총칭하는 것으로 (Percival and Mcdowell, 1967) 수용성 식이섬유소로서의 작용 이외에 실험동물에 정맥 또는 경구투여 했을때 항암효과가 있는 것으로 밝혀져 근래 주목받고 있는 기능성 소재이다 (Noda et al., 1989). Porphyran은 원료의 품종이나 채취시기, 생육환경 등에 따라 그 성분 조성의 차가 매우 큰 것으로 보고 (Rees and Conway, 1962) 되고 있고 또한 3,6-anhydro galactose, galactose 및 ester sulfate로 구성된 산성 galactan (Peat et al., 1961; Su and Hassid, 1962)이므로 추출용액의 pH와 온도에 따라 구성성분의 변화가 있을 것으로 예상되나 이에 대한 보고가 전무하다.

이에 본 실험에서는 국내산 양식김에 함유되어 있는 porphyran의 특성조사를 위해 우선 추출온도 및 pH가 crude porphyran의 화학적특성에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재 료

본 실험에 사용한 김 (*Porphyra yezoensis*)은 경기도 화성군 장안면의 서해안 연안에서 1994년 3월 18일 채취한 것으로, 채취 즉시 실험실로 운반하여 담수로 가볍게 수세하고 45°C에서 열풍건조 시켰다. Miller로 분쇄한 후 20 mesh체로 걸러 통과한 분말만을 데시케이터에 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

##### 김의 일반성분 분석

김의 일반성분은 AOAC法 (1990)에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조지 방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조회분은 550°C 건식회화법으로 분석하였다.

##### Crude porphyran의 추출

분쇄시료에 50배 (w/v)의 증류수를 가하고 묽은 HCl과 묽은 NaOH 용액으로 pH를 2.0~13.5로 조절한 뒤 각각

60~100°C의 수욕조상에서 3시간동안 교반하여 추출하였다. 추출액을 4겹의 여과포와 여지(Whatman No. 2)로 감압하에서 차례로 여과하고 여액에 3배량의 에탄올을 가해 하룻밤 정치시킨 후 원심분리(4,000 g×15 min.)하였다. 침전물을 소량의 증류수에 용해시키고 진공동결건조하여 crude porphyran을 얻었다.

**Crude porphyran의 화학 조성 분석**

총당 함량은 galactose를 standard로 사용하여 페놀-황산법(Dubois et al, 1956)으로 구하였고, 단백질 함량은 Lowry et al.(1951)에 따라 bovine serum albumin(Sigma Co.)을 standard로 하여 정량하였다. 황산기의 함량은 Dodgson et al.(1962)의 방법에 따라 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 표준 검량선을 작성하여 측정하였으며 3,6-anhydrogalactose의 함량은 Yaphe and Arsenault (1965)의 방법에 따라 측정하였다.

**Crude porphyran의 분자량 측정**

분자량은 시료를 HPLC용 증류수에 0.25% 농도로 녹여 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 Waters사(Milford, MA)의 HPLC 시스템으로 분석하였다. 컬럼은 YMC-Pack Diol-300 size exclusion column(YMC사, 300×8.0 mm ID.)을 사용하였으며 이동상은 HPLC용 증류수를 사용하였고 유속은 0.6ml/min.로 하였다. Detector는 refractive index detector를 사용하였다.

**결과 및 고찰**

**김의 일반성분**

본 실험에 사용한 김의 일반 성분 조성은 Table 1과 같이 당질 35.1%, 단백질 33.2%, 회분 30.9%로 Lee et al.(1987) 및 Cho et al.(1995)과 비교해 볼 때 단백질 및 탄수화물 함량은 낮고 회분 함량은 높았다.

**Table 1. Proximate composition of *Porphyra yezoensis* (dry basis)**

Component	Content (%)
Carbohydrate	35.1
Protein	33.2
Fat	0.8
Ash	30.9
NaCl	12.6

**Porphyran의 추출 조건**

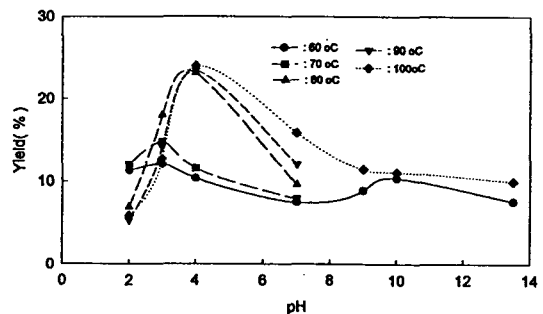
추출용매비와 추출시간을 각각 1 : 50과 3시간으로 일정하게 조절하고, 온도와 pH를 달리하면서 추출하였을

때 crude porphyran의 수율과 화학조성 및 분자량의 변화는 Fig. 1 및 Table 2~6과 같다.

수율은 Fig. 1과 같이 pH 2.0과 pH 2.5에서는 온도가 증가함에 따라 감소하고, pH 3.0에서는 80°C까지는 증가하다가 그 이상 고온에서는 오히려 감소하였다. 반면에 pH 4.0과 7.0에서는 온도 증가에 따라 수율도 증가하였다. 동일 온도에서 pH 변화에 따른 수율은 60~70°C에서는 pH 3.0에서 가장 높았고 80~120°C에서는 pH 4.0에서 가장 높았다. 이는 갈조류의 fucose함유 산성다당을 pH 1.5~5.5 영역에서 추출시 pH 2.5로 추출할 때 수율이 가장 높았고, pH 1.5의 낮은 pH에서도 추출온도가 증가할수록 수율이 증가하였다는 Nishide (1981)의 보고와는 다른 결과로 porphyran의 경우는 pH 3.0보다 낮은 영역에서 고온으로 추출하면 가수 분해되어 수율이 낮아지는 것으로 나타났다. 알칼리 영역의 경우 60°C에서는 pH10.0까지 수율이 완만히 증가하였으나 산성에서 보다 높지는 않았으며, 100°C에서는 pH가 높아질수록 수율도 낮아지는 것으로 나타났다. 이는 1,3결합으로 이루어진 다당류는 알칼리에 약하여 분해되기 쉽고, 황산기 등의 ester결합 또한 알칼리에 의해 떨어져 나가기 쉬우므로(Rees, 1961) 치환기를 가진 다당을 알칼리 용액으로 추출하는 것은 부적당하다는 기존의 보고와 일치하는 결과이다.

총당함량 (Table 2) 또한 수율과 같은 경향을 나타내어 pH 2.0~3.0의 강산성영역에서는 70°C에서 가장 높았고 그 이상의 온도에서는 감소하였으며 중성영역에서는 온도가 높을수록 증가하여 100°C에서 가장 높게 나타났다.

각 crude porphyran 중의 총당에 대한 3,6-anhydrogalactose의 비율은 Table 3과 같다. pH 2.0에서는 온도가 증가함에 따라 3,6-anhydrogalactose의 비율이 급격히 감소하였고 pH 3.0에서는 온도의 증가에 따라 완만한 감소



**Fig. 1. Effect of extraction temperature and pH on the yield of the crude porphyran extracted from *Porphyra yezoensis*.** Crude porphyran was extracted for 3hrs. in sample/solvent ratio of 1 : 50 (w/v).

**Table 2. Total sugar contents of crude porphyrans extracted from *Porpyra yezoensis* at various pH and temperatures**  
(dry basis)

Temp. (°C)	Sugar content (%)						
	pH2.0	3.0	4.0	7.0	9.0	10.0	13.5
60	60.8	52.4	47.5	40.4	44.4	32.3	37.9
70	80.7	79.5	69.0	47.5	-	-	-
80	53.8	78.7	73.8	45.4	-	-	-
90	50.1	75.0	70.3	43.6	-	-	-
100	45.9	63.8	70.1	58.6	72.9	48.1	34.7

Sample/solvent ratio, 1 : 50; Extraction time, 3hrs.

**Table 3. Changes in 3,6-anhydrogalactose/total sugar ratio of crude porphyrans extracted from *Porpyra yezoensis* at various pH and temperatures**  
(dry basis)

Temp. (°C)	3,6-anhydrogalactose/total sugar ratio (%)						
	pH2.0	3.0	4.0	7.0	9.0	10.0	13.5
60	17.7	22.7	20.6	10.6	10.6	17.0	28.2
70	16.6	17.4	18.7	15.2	-	-	-
80	15.3	15.4	15.6	13.9	-	-	-
90	7.5	15.3	16.4	17.7	-	-	-
100	5.0	14.4	16.8	17.7	11.7	17.5	17.6

Sample/solvent ratio, 1 : 50; Extraction time, 3hrs.

가 나타났는데 이는 3,6-anhydrogalactose가 산성 가열조건에서 비교적 쉽게 분해되는 당이기 때문이다 (Furneux et al., 1990). 따라서 강산성 추출 조건에서는 원래 김 조체 내에 존재하던 porphyran의 부분 분해에 의한 저분자화가 예상된다. 반면에 중성 추출시에는 오히려 온도 증가에 따라 3,6-anhydrogalactose의 비율이 증가하였다. 100°C 추출 조건에서 보면 중성 영역 및 알칼리 영역이 산성 영역에 비해 높음을 알 수 있다.

총당에 대한 황산기의 비율은 Table 4와 같다. 산성 및 중성 추출구에서는 뚜렷한 경향을 나타내지 않았으나 알칼리 추출구에서는 온도 증가에 따라 황산기의 비율이 감소하였다. 이는 알칼리 가열 처리시 porphyran내에서 ester sulfate형태로 존재하는 황산기의 일부가 제거되었기 때문으로 여겨진다 (Rees, 1961).

추출된 porphyran내의 단백질 함량을 보면 Table 5와 같이 앞의 수율이나 총당과는 반대 경향을 나타내었다. 즉, pH 2.0에서는 온도가 증가됨에 따라 증가한 반면에 pH 4.0 및 중성조건에서는 온도 증가에 따라 감소하였다. 특히 70°C, pH 3.0 추출구, 80°C, pH 3.0 추출구, 90°C, pH 4.0 추출구에서 단백질의 비율이 각각 2.1, 2.6, 3.0%로

**Table 4. Changes in sulfate/total sugar ratio of crude porphyrans extracted from *Porpyra yezoensis* at various pH and temperatures**  
(dry basis)

Temp. (°C)	Sulfate/total sugar ratio (%)						
	pH2.0	3.0	4.0	7.0	9.0	10.0	13.5
60	16.9	19.5	22.7	24.8	21.8	23.2	14.5
70	12.8	13.6	14.8	18.1	-	-	-
80	19.6	17.4	15.3	24.2	-	-	-
90	25.7	18.3	18.0	23.2	-	-	-
100	23.1	17.9	15.4	17.9	14.5	18.7	5.8

Sample/solvent ratio, 1 : 50; Extraction time, 3hrs.

**Table 5. Protein contents of crude porphyrans extracted from *Porpyra yezoensis* at various pH and temperatures**  
(dry basis)

Temp. (°C)	Protein content (%)						
	pH2.0	3.0	4.0	7.0	9.0	10.0	13.5
60	4.1	8.3	16.7	20.0	19.8	24.3	18.9
70	5.5	2.1	6.2	15.3	-	-	-
80	12.8	2.6	6.7	15.3	-	-	-
90	23.4	7.0	3.0	15.2	-	-	-
100	18.5	9.3	4.2	9.8	19.7	20.0	3.6

Sample/solvent ratio, 1 : 50; Extraction time, 3hrs.

낮은데 이는 Ryu and Lee (1977)의 김 단백질 추출시 pH 2~4부근에서 추출율이 낮다는 보고와 일치하며 crude porphyran내의 단백질의 함량은 김 단백질의 등전점 및 추출조건에 따른 단백질의 용해도와 밀접한 관계가 있을 것으로 여겨진다.

Porphyran획분의 분자량을 HPLC로 측정된 결과는 Table 6과 같다. 동일한 온도에서는 pH가 낮을 수록 그리고 동일한 pH에서는 온도가 높을수록 분자량이 작아짐을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 porphyran은 추출온도와 pH에 따라 그 조성비가 상당히 달라져서 산성영역에서 추출하면 중성영역에서 얻는 porphyran보다 수율 및 황산기 함량은 더 많고 단백질함량은 낮은 porphyran을 얻을 수 있으나 저분자화가 일어남을 볼 수 있었다. 알칼리 영역에서 추출하는 경우는 황산기가 떨어져 나가고 단백질의 혼입량이 많아지는 것으로 나타났다. 따라서 실험목적에 따라 porphyran의 추출조건이 달라져야 함을 알 수 있었다. 수율의 증가 및 저분자화를 위해서는 pH 3~4의 조건이, porphyran을 분자량의 변화없이 보다 자연적인 상태에 가까운 형태로 얻기 위해서는 중성 영역에서 추출하는 것이 적절할 것으로 사료된다.

**Table 6. Molecular weight of crude porphyrans extracted from *Porphyra yezoensis* at various pH and temperatures**

Temp. (°C)	pH	Molecular weight <sup>1</sup> (%) <sup>2</sup>		
60	2.0	47 (78)	14 (22)	-
	3.0	58 (87)	17 (8)	8 (5)
	4.0	72 (84)	14 (11)	6 (5)
	7.0	77 (57)	12 (30)	5 (13)
	9.0	79 (57)	26 (13)	6 (30)
	10.0	86 (49)	19 (23)	4 (28)
70	3.0	56 (89)	19 (11)	-
	4.0	60 (97)	11 (2)	-
	7.0	65 (87)	6 (13)	-
80	3.0	50 (91)	18 (4)	10 (5)
	4.0	64 (91)	9 (9)	-
	7.0	61 (67)	15 (16)	5 (17)
90	3.0	42 (88)	15 (8)	7 (4)
	4.0	54 (89)	25 (6)	8 (5)
	7.0	73 (72)	22 (12)	8 (16)
100	2.5	46 (63)	10 (29)	4 (8)
	3.0	45 (82)	12 (13)	5 (5)
	4.0	55 (82)	23 (6)	5 (11)
	7.0	72 (68)	38 (22)	5 (10)
	9.0	60 (85)	10 (15)	-
	10.0	72 (82)	11 (18)	-

<sup>1</sup>10KD <sup>2</sup>% Area of each peak.

## 요 약

추출용매비 및 추출시간을 각각 50배 (w/v), 3시간으로 일정하게 하고 추출온도 (60~100°C)와 pH (2.0~13.5)를 달리하면서 crude porphyrans를 제조하여 수율과 화학조성을 조사하였다. Crude porphyrans의 화학조성은 추출온도와 pH에 따라 크게 달라져서 산성영역에서 추출한 crude porphyrans는 중성영역에서 추출한 것에 비해 수율 및 황산기 함량은 더 많으면서 단백질을 더 적게 함유하나 분자량도 작아지는 것으로 나타났고, 알칼리 영역에서 추출하는 경우는 황산기가 떨어져 나가고 단백질의 혼입량이 많아지는 것으로 나타났다. 따라서 실험목적에 따라 추출조건이 달라져야 함을 알 수 있었는데 수율의 증가 및 저분자화를 위해서는 pH 3~4의 조건이, 그리고 시료내 존재하는 porphyrans를 분자량의 변화 없이 추출하기 위해서는 중성 영역에서 추출하는 것이 적절할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- A.O.A.C. 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th Edition, Edited by Kenneth elrich., Associaton of Official Analytical Chemists, Virginia, U.S.A.
- Cho, D.M., D.S. Kim, D.S. Lee, H.R. Kim and J.H. Pyeon. 1995. Trace componetes and functional saccharides in seaweed-1. Changes in proximate composition and trace elements according to the harvest season and places. *Bull. Korean Fish. Soc.* 28, 49~59 (in Korean).
- Dodgson, K.S. and R.G. Price. 1962. A note on the determination of the ester sulfate 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. Biochem.*, 28, 350~356.
- Furneux, 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.
- Lee, K.H., S.H. Song, I.H. Jeong. 1987. Quality changes of dried lavers during processing and storage 1. Quality evaluation of different grades of dried lavers and its changes during storage. *Bull. Korean Fish. Soc.* 20 (5), 408~418 (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, 265~275.
- Nishide, E., 1981. Extraction of fucose-containing polysaccharide from the brown alga *Kjellmaniella crassifolia*. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 47, 1233~1235 (in Japanese).
- Noda, H., H. Amano and K. Arashima. 1989. Antitumour activity of polysaccharides and lipids from marine algae. *Nippon suisangakkaishi*, 55, 1265~1271.
- Peat, S., J.R. Turvey and D.A. Rees. 1961. Carbohydrates of the red alga, *Porphyra umbilicalis*. *J. Chem. Soc.*, 1590~1595.
- Percival, E. and R.H. Mcdowell. 1967. *Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides*. Academic press, p.134
- Rees, D.A. and E. Conway. 1962. The structure and biosynthesis of porphyrans : A comparison of some samples. *Biochem. J.*, 84, 411~416
- Rees, D.A. 1961. Estimation of the relative amounts of isomeric sulfate esters in some sulphated polysaccharides. *J. Chem., Soc.*, 5168~5171.
- Ryu, H.S. and K.H. Lee. 1977. Studies on the extraction

of seaweed proteins.

1. Extraction of water soluble proteins. Bull. Korean Fish. Soc. 10 (3), 151~162 (in Korean).

Su, J.C. and W.Z. Hassid. 1962. Carbohydrates and nucleotides in the red alga *Porphyra perforata*. *Biochem.*, 1, 468~474.

Yaphe, W. and G.P. Arsenault. 1965. Improved resorcinol

reagent for the determination of fructose, and of 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides. *Anal. Biochem.*, 13, 143~148.

농림부. 1996. 농림수산통계연보

---

1997년 8월 22일 접수

1998년 1월 5일 수리