

# 미역의 Polyphenol性 化合物에 關한 研究

姜永周 · 康順善

Studies on the Polyphenols of the Brown Algae, *Undaria pinnatifida*

Kang Yeung-joo and Kang Soon-seon

## Summary

The polyphenols have been examined by fractionation, PC, TLC and UV spectrometry from extracts of the brown algae, *Undaria pinnatifida*.

The polyphenols were isolated and separated into large groups (mobile and immobile against solvents of PC) like plant tannin, some small spots and a distinctive compound with blue fluorescence under UV light. The alkali decomposition of the polyphenols eluted through polyamide column produced phloroglucinol.

## 緒 言

褐藻類는 海藻資源에서 重要하며 特히 어류중 生産量 및 食用性에서 미역은 重要한 位置를 占하고 있다. 미역의 化學的 成分組成에 對해서는 그 동안 蛋白質 및 아미노酸에 對하여 權등(1960), 및 李(1965)의 研究報告가 있으며 色素成分에 對하여 Lee(1969), 金등(1970) 및 姜(1977)이 있으며 無機成分에 對해서도 姜등(1977)의 研究報告가 있다.

그러나 褐藻類가 特異的으로 나타내는 滋味 및 褐色着色의 原因이 되는 Polyphenol性 物質에 關한 研究는 姜(1981)이 감태의 黑褐色 色素에 關한 研究報告가 있다. 이 Polyphenol性 物質에 關한 化學的 性狀은 아직 明確히 밝혀지지 않은 狀態이며 Craigie 등(1964)은 Catechin-type tannin으로, 그후 Glombitza 등 및 Reagan 등(1975)에 依하여 相當한 研究進展으

로 phloroglucinol을 母體로 하는 多數의 polymer임을 밝히고 있다.(藏多, 1979).

그러나 아직 미역에 對해서는 이들 polyphenol性 物質의 分離 및 化學的 性狀等에 對해서는 明確치 못하다. 따라서 著者는 이들 미역 polyphenol性 物質의 分離 및 paper chromatography, TLC等에 依한 分離에 따라 몇 가지 知見을 얻었기에 報告 하고자 한다.

## 材料 및 方法

### 1. 材 料

濟州 沿岸에서 自生하는 미역을 採集하여 葉體와 줄기로 나누고 葉體만 取하여 狹雜物을 除去하고 1~2 cm 크기로 細切한 後 供試하였다.

2. 方法

1) 抽出 및 分劃

生試料 50g (Wet basis)을 取하여 姜(1981)이 簡

태에서 얻은 結果를 參考하여 Fig.1 과 같이 抽出 및 分劃을 行하였다. 各 劃分에 對한 定量은 申桃(1968)의 方法에 따라 Vannillin-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 法으로 發色시키고 500 nm에서 O.D를 測定하여 抽出原液(劃分 I; Chloroform不溶分)에 對하여 %로 表示하였다.

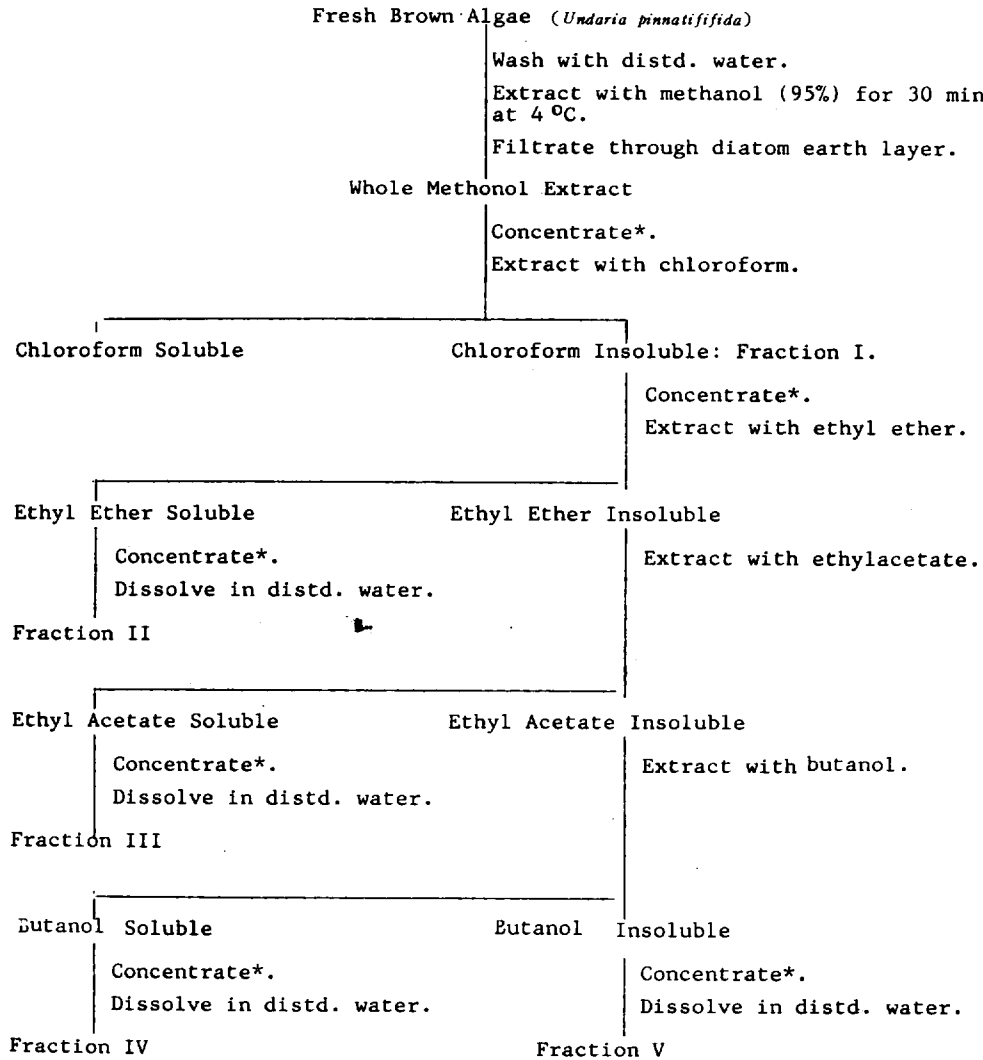


Fig. 1. The fractional procedure for polyphenols of brown algae, *Undaria pinnatifida*.

\* Concentrate under reduced pressure (72 cm Hg, 40-45 °C).

## 2) PC (Paper Chromatography)

各 劃分 (I, II, III, IV, V)에 대하여 PC를 行하였으며 PC는 Whatman #1 Paper(20 × 20 cm) 左側下段에 spotting 하고 上昇法에 따라 1次 2% 酢酸 (HOAc), 2次 butanol : acetic acid : water (BAW ; 4 : 1 : 2.2, v/v)을 展開溶媒로 하여 展開하였다. 展開된 芳紙는 室溫에서 風乾시켜 Ultra-Violet 燈을 使用하여 長波長에서 螢光物質을 確認한 後에 FeCl<sub>3</sub>와 K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> 各 1% 溶液을 等量 混合한 發色試藥을 分霧하여 發色시킨 後 蒸溜水로 2~3회 씻어 乾燥하여 發色部分을 確認하였으며 發色部位가 넓은 것은 그 中心을 取하여 R<sub>f</sub> 值을 計算하였다.

TLC는 Wakogel B-10을 吸着劑로 하여 TLC板을 만들고 劃分 (I; Chloroform insoluble)에 對하여 展開溶媒는 butanol : acetic acid : water (BAW ; 4 : 1 : 2.2, v/v)를 使用하여 展開한 後 PC에서와 같은 方法으로 Spot를 確認하였다. 標準品으로는 tannic acid, gallic acid, catechol 및 phloroglucinol 各 各 試藥特級을 使用하여 試料와 同時에 展開하여 R<sub>f</sub> 值을 比較하였다.

## 3) Alkali 分解

Table 1에서 chloroform不溶 劃分을 取하여 polyamide column(C-200, Wako, 2 × 20 cm)에 吸着시키고 0.05 N NaOH 溶液으로 溶出되는 部分을 취하여 濃 NaOH soln을 最終濃度 25% 되도록 加하여 100℃로 加熱하면서 2hr.동안 加水分解 시킨 後 中和시키고 濾過하여 濾液을 UV 領域에서 Spectrum (Varian Series 634, Spectrophotometer)과 TLC에 依하여 標準品 phloroglucinol과 比較하였다.

## 結果 및 考察

## 1. 抽出 및 劃分

미역의 polyphenol 化合物에 對한 劃分은 姜(1981) 및 Ogino와 Taki(1957)의 結果에 準하여 Fig. 1과

Table 1. The ratio of polyphenols fractionated from methanol extracts of brown algae, *Undaria pinnatifida*.

No. of fraction*	O.D. at 500nm	%
I	0.847	100
II	0.020	2.3
III	0.151	17.8
IV	0.163	19.2
V	0.560	66.1

\* I : Chloroform insoluble, II : Ether soluble, III : Ethyl acetate soluble, IV : Butanol soluble, V : Butanol insoluble.

같이 하였다. 감태에 對한 結果를 보면 가장 좋은 抽出溶媒는 물로 나타나고 있으나(姜, 1981) 水溶性 糖類 및 無機鹽類의 混入을 피하기 위하여 methanol로 抽出하였으며 그 다음 chloroform에 依하여 chlorophyll 및 carotenoid 等 色素와 脂肪成分을 除去하고 polyphenol 化合物이라고 생각되는 Chloroform 不溶分 劃分을 얻었으며 이 劃分을 各 溶媒에 對한 可溶性에 따라 劃分 II, III, IV, V로 나누었다. 各 劃分에 對한 定量結果는 Table. 1과 같다.

結論으로 methanol 抽出分中 chloroform 可溶成分을 除한 것 中 거의 2/3가 butanol 不溶成分으로 構成된 것을 알 수 있다. 그러나 이들 polyphenol 成分의 各各이 正確히 밝혀지지 않은 이상 이 定量方法 즉, 植物性 tannin 定量에 利用하는 이 方法이 海藻 polyphenol 化合物의 定量에 利用될 수 있는지는 앞으로 좀더 檢討가 있어야 할 것이다.

## 2. PC

各 劃分에 對한 PC와 그에 따른 R<sub>f</sub> 值은 各各 Fig. 2와 Table. 2와 같다. 劃分 I (Chloroform Insoluble)에 있어서는 中央上段部에 R<sub>f1</sub> 0.69, R<sub>f2</sub> 0.48인 螢光物質과 R<sub>f1</sub> 0.87, R<sub>f2</sub> 0.38인 物質이 明確하게 分離된 反面 右側上段과 左側部分에는 分離가 明確하지 않는 物質이 存在하였다.

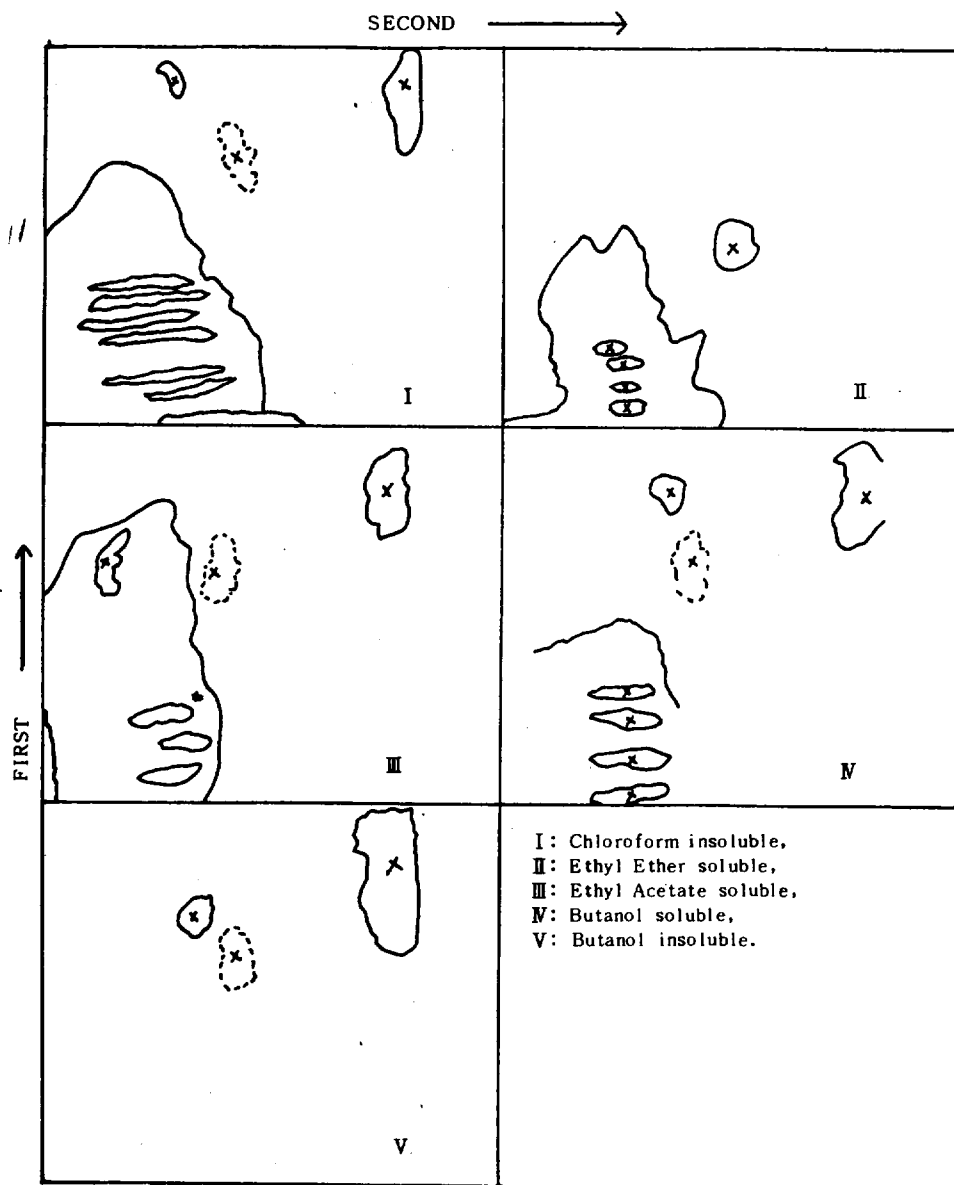


Fig. 2. Two dimensional paper chromatograms of polyphenols fractionated from brown algae, *Undaria pinnatifida* (solvent key: 1st - 2% acetic acid, 2nd - BAW; butanol : acetic acid : water = 4 : 1 : 2.2, v/v). — : spots by color reagent, ---- : spots under UV light.

Ether 可溶性인 劃分 II인 경우에는 中央에  $R_{f1}$  0.46,  $R_{f2}$  0.59인 物質과 中央下段에 한개의 큰 集團을 이루면서 몇개의 뚜렷치 않은 分離를 나타내고 있다. 다음 ethylacetate 可溶性인 劃分 III은  $R_{f1}$  0.60,  $R_{f2}$  0.42인 靑色螢光物質이 中央部分에 存在하고 또한 右側上段에 한 集團과 左側部分에 큰 集團을 이루는 物質이 存在하며 이 集團중 上段에 比較的 잘 分離된  $R_{f1}$  0.64,  $R_{f2}$  0.17인 物質이 나타났다.

buthanol 可溶性인 劃分 IV는 中央部에  $R_{f1}$  0.64,  $R_{f2}$  0.50인 螢光物質, 右側上段에 한 集團, 中央上段에  $R_{f1}$  0.83,  $R_{f2}$  0.45인 分離된 物質이 存在하며 左側下段에 큰 分離가 確實치 않은 集團이 存在하는 것으로 나타났으며 마지막 劃分 V인 buthanol 不溶性 部分은  $R_{f1}$  0.57,  $R_{f2}$  0.49인 螢光物質과 右側上段에 한 集團과  $R_{f1}$  0.68,  $R_{f2}$  0.39인 物質이 中央上段에 나타나고 있다.

Table 2. Rf values of major spots separated by two dimensional PC from polyphenols of brown algae, *Undaria pinnatifida*.

Fraction <sup>a</sup>	Rf values		Color of spot	
	1st <sup>b</sup>	2nd <sup>c</sup>	UV-light	Color reagent
I - a	0.65	0.48	blue fluorescence	no color
- b	0.87	0.38	no color	deep blue
II - a	0.46	0.59	no color	deep blue
- b	0.22	0.33	"	"
- c	0.17	0.33	"	"
- d	0.11	0.33	"	"
- e	0.05	0.32	"	"
III - a	0.60	0.45	blue fluorescence	no color
- b	0.64	0.17	no color	deep blue
IV - a	0.64	0.50	blue fluorescence	no color
- b	0.83	0.45	no color	deep blue
V - a	0.57	0.49	blue fluorescence	no color
- b	0.68	0.39	no color	deep blue

a : Legend is the same as shown in Fig. 2.

b, c : Solvent key is the same as shown in Fig. 2.

이와 같은 PC의 結果에 따르면 미역의 polyphenol 性 化合物은 먼저 사용된 展開溶媒에 對하여 移動性이 커서 右側上段部에 나타나는 한 集團과 移動性이 比較的 弱하여 左側下段에 나타나는 큰 集團 및 螢光物質과 中央上段部에 分離되는 物質로 크게 나눌 수 있을 것 같다. 이 중에서 UV에서 螢光을 나타내는 物質은 ether 에는 不溶性인 것을 알 수 있으며 各 劃分에 나

타나는 Rf 值에 약간씩의 差異는 있으나 同一物質인 것으로 推定되며 左側下段部에 나타나는 移動性이 적은 큰 集團은 buthanol 不溶分에는 包含되지 않는 것을 알 수 있다.

Reagan 등(1976)에 따르면 褐藻類에 나타나는 polyphenol 性 化合物은 phloroglucinol 을 母體로 하는 polymer 임을 밝히고 있으며 褐藻類 種類에 따라 이들

의 結合形式은 各各 다른 것으로 밝히고 있다.

따라서 미역에서 比較的 移動性이 큰 右側上段의 集團은 比較的 小規模 또는 極性인 큰 形態의 結合形態를 取하는 化合物의 集團으로 생각되며 左側下段部는 比較的 큰 polymer 로 推定된다. 그리고 中林等(1968)에 따르면 陸上植物의 tannin 또는 polyphenol 性 化合物의 PC分離에서 chlorogenic acid 系 化合物은 中央部分에 나타나며 紫外線에 依하여 靑紫色 螢光을 나타낸다고 報告하고 있다. 따라서 미역에서 分離되는 靑色 螢光物도 이 類似物質이 아닌가 생각된다.

### 3. Alkali 分解

Chloroform 不溶分(II)을 取하여 polyamide column에 吸着시키고 0.05N NaOH 溶液으로 溶出하였을 때 뚜렷한 分離는 이루어지지 않았으나 赤褐色으로 溶出되는 部分과 polyamide에 吸着되어 溶出되지 않은 黃褐色 部分으로 나누어 졌으며 이 吸着된 部分은 alkali 濃度를 增加시켜도 溶出되지 않았다. 分II와 polyamide column 流出分을 alkali 分解한 것에

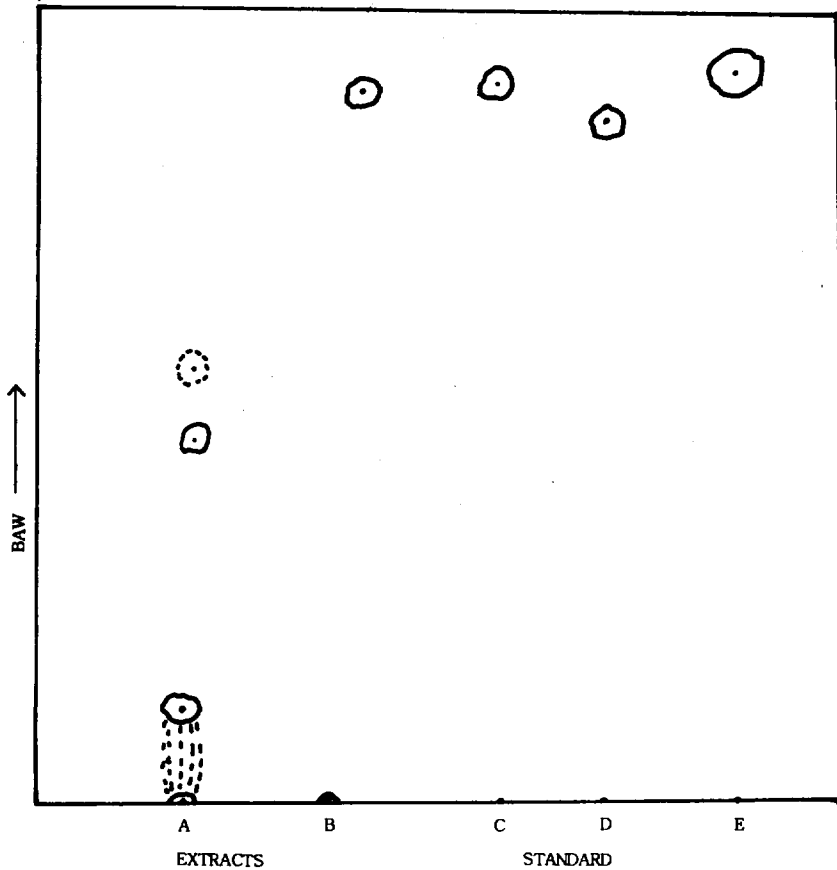


Fig. 3. Thin layer chromatograms of standards and polyphenols extracted from brown algae, *Undaria pinnatifida* (BAW; butanol:acetic acid:water = 4:1:2.2, v/v).  
 Extracts: A-ether insoluble fraction, B-alkali decomposition of polyphenols eluted from polyamide column.  
 Standard: C-phloroglucin, D-gallic acid, E-catechol.

對한 TLC의 結果는 Fig.3과 같다. 이에 의하면 Rf 値가 0.57을 나타내는 螢光物質과 Rf 値 0.12 및 0.46을 비롯하여 原點部附近이 分離되지 않는 物質이 얻어졌다. 그리고 alkali 分解物은 比較的 순수하게 標準物

質인 phloroglucinol과 거의 類似한 Rf 値를 나타내는 物質이 分離되었다. 이들 全 抽出物, polyamide column 溶出分 및 이 溶出分의 alkali 分解物에 對한 UV-Spectrum은 Fig.4와 같다. 이에 따르면 全 抽

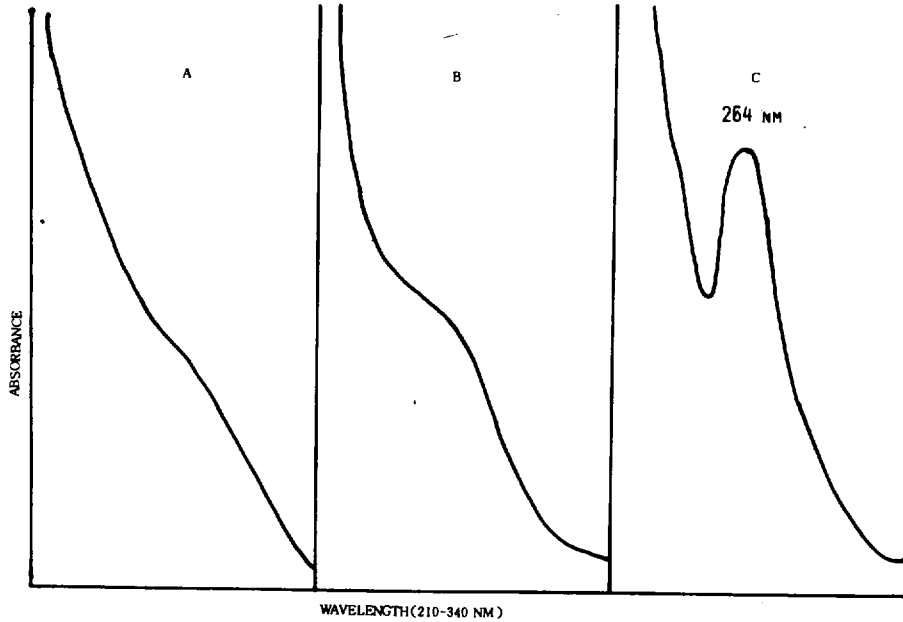


Fig. 4. Absorption spectra of polyphenols extracted from brown algae, *Undaria pinnatifida*.  
 A : chloroform insoluble (fraction I).  
 B : solution eluted fraction I (A) with 0.05 N NaOH through polyamide column.  
 C : solution obtained from a alkali decomposition of B solution.

출物과 polyamide column 溶出分에 對해서는 最大 吸收 peak가 存在하지 않으며 두 形態가 비슷한 傾向을 나타내었다. 그러나 alkali 分解物은 264 nm에서 吸收 peak를 나타내며 標準品인 phloroglucinol과 거의 一致하는 spectrum을 나타내었다. 따라서 TLC와 UV-spectrum의 結果에서 미역의 polyphenol 性 化合物中 相當 部分은 phloroglucinol을 母體로 하는 polymer임을 알 수 있다. 또한 이와 같은 사실은 Ragan과 Craigie(1976)가 *Fucus Vesiculosus*에 對하여 確認되었으며 Glombitza 등(1973)도 數種의 褐藻類에서 phloroglucinol polymer의 存在를 確認하고 있다.(藏多, 1979)

따라서 phloroglucinol은 미역 뿐만 아니라 褐藻類 polyphenol 性 物質의 主要 成分으로 생각되며 이 phloroglucinol의 polymer 形成方法 및 食用時 影響 등에 對해서 研究 뿐만 아니라 이 研究에서 밝혀지 못한 螢光物質에 對한 研究도 앞으로 必要한 것으로 생각된다.

### 摘 要

主要한 食用 海藻인 미역의 滋味와 褐色을 나타내는 Polyphenol 性 物質에 對한 分割, PC, TLC 및 Sp-

ectra에 관한 實驗에서 PC 및 TLC에 의하여 植物性 tannin과 비슷하게 移動性 物質과 不動性 物質로 크게 나누어 졌으며 移動性에는 特異적으로 紫外線

下에서 螢光을 나타내는 物質의 存在를 確認했으며 Polyacrylamide 溶出成分은 Phloroglucinol을 母体로 하는 Polymer 임이 確認되었다.

## 引用文獻

- 1) Craigie, J.S. and J. Mclachlan. 1963. Extraction of colored ultraviolet-absorbing substances by marine algae. Can. J. of Botany. 42, 23.
- 2) 金相愛·李康鎬·朴東根, 1970. 灰處理의 미역色素 安定化 效果. 韓水誌, 3, 120.
- 3) 權泰完·李泰寧, 1960. 미역中の 蛋白質 및 非蛋白質 成分中에서 아미노酸 定量에 對하여. 農化誌, 1, 55.
- 4) 李鉉琪, 1965. 미역의 아미노酸 및 비타민에 對한 營養學的 研究. 化學會誌, 9, 20.
- 5) Lee, Kang-Ho, 1969. Pigment stability of lavers during processing and storage. Bull. Korean Fish Soc., 2, 105.
- 6) 姜永周·宋大顯, 1977. 褐藻類의 成分組成에 對한 研究. 濟大論文集, 9, 147.
- 7) 姜永周, 褐藻類 色素의 食用化에 關한 研究. 濟大論文集 12, 1.
- 8) Ragan, M.A. and J.S. Craigie, 1975. Physodes and the phenolic compounds of brown algae. Can. J. Biochem. 54, 66.
- 9) 藏多一哉, 1979. 海藻의 抗生物質·海洋의 生化學資源 (日本水産學會編). 水産學シリーズ, 恒星社 厚生閣, p.80.
- 10) 中林敏郎, 1968. 果實および野菜類의 タンニン成分. 日食工誌, 15, 73.
- 11) 中林敏郎, 1969. 植物性 色素의 變色. 食品의 變色とその化學, 光琳書院, 64.
- 12) Ogino, C. and Y. Taki. 1957. Studies on the tannin of brown algal, *Sargassum ringgoldianum*, Harv. J. Tokyo Univ. of Fisheries, 43, 1.