

건조감태 polyphenol성 물질의 추출조건과 정량에 관한 연구

강영주, 강동섭, *고경익
공과대학 식품공학과 *(주)현대화성

Study on the Extraction Condition and Quantity of Polyphenols in a Dry Brown Algae *Ecklonia Cava*

Yeung Joo Kang, Dong Sub Kang and *Kyung Ik Ko,

Dept. Food Sci. & Tech, Cheju National University.

**Hyun Dae Chemical Co. Ltd.*

A study was carried out on the extraction condition and quantity of polyphenols in a dry brown algae, *Ecklonia cava*. The extraction condition were investigated with temperature(25°C, 45°C, 65°C) and pH(4.0, 7.0, 8.0, 9.0).

Amounts of polyphenols extracted were compared with total, relative and absolute polyphenols by the methods of Folin-Denis, Vanillin-H₂SO₄, and Brentamine fast red 2G salt.

Total polyphenols showed higher content with the increase of extraction temperature and its amount was in the range of 9.6~22%(w/w).

In the amount of relative polyphenols, big differences were appeared with quantitative methods and extraction temperatures and the highest content was appeared at 45°C.

In the EFs(estimation factors) for determining the absolute polyphenols, Brentamine fast red 2G salt was considered as the most effective one among the three methods used.

In absolute polyphenols, extraction conditions of the temperature of 45°C and the pH of 4.0 gave the highest value.

The range of extractable polyphenol molecular weight was considered to have high relationship with extraction condition by the result of estimation from the binding capacity with hide powder and Rv/fd.

서 론

해조자원이 풍성한 제주근해에서는 감태, 미역, 툇 등의 갈조류가 다량채취되고 있는데 이들은 건조에 의하여 색이 갈색에서 흑갈색으로 변화하여 색택이 심화되는 polyphenol성 물질을 많이 함유하고 있다. 이 흑갈색 색소는 조체의 physodes조직내에 다량으로 존재하고 있으며 갈조가공중 대부분 용출되어 폐기물로 버려지거나 수출용 툇 염색용으로 이용되고 있다. 현재 제주연안에서 채취되는 갈조류중에서 비식용 해조인 감태의 경우는 알긴산 소다 제조원료로 수년간 그 용제가 한정되어 왔으나 근래에 착색성분에 대한 수요가 급증하여 그 부가가치가 높은 자원으로 대두되고 있다.

이들 갈조류의 착색성분에 관해서는 Noguchi(1943)가 *Sargassum ringgoldianum*에서 tannin유사물질의 존재를 확인하였다. Ogino와 Taki(1957)는 *Sargassum ringgoldianum*에서, Haug와 Larsen(1958)은 *Ascophyllium nodosum*중에서 환원성 물질에 대하여 조사한 결과, tannin성 물질과 같은 정색반응을 확인하였으며 hide powder, 발색시약과의 반응에 의하여 phenol성 특성을 나타내고 hide powder와의 결합에 의하여 9%정도에 이른다고 보고하였다. Sieburth와 Jensen등(1968)은 연안 갈조류 세포의 유기물 생성과 여지 크로마토그래피, 투석, sephadex 분획에 의한 해조 유출물의 Gelbstoff(humicmaterial)형성에 대하여 검토하였다. 그 후 Ragan과 Craigie(1975)에 의하여 갈조류의 착색물질은 polyphenol성 물질로 phloroglucinol(1, 3, 5-trihydroxy benzene)을 함유하는 유도체 또는 polymer로

보고 하여 이들의 추출 및 정량에 대하여 자세한 연구가 이루어지기 시작하였다. 즉, 갈조류 추출물을 질량분석기, 핵자기공명분광기 및 화학적 방법등에 의하여 phloroglucinol을 기본으로 하는 oligomer 또는 polymer가 주종을 이루고, 이의 구조가 밝혀짐에 따라 해조 polyphenol성 물질의 기능성에 대한 연구도 이루어져 Ragan등(1979)은 polyphenol과 2가 금속이온과의 킬레이션반응을 조사하여 Sr^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Be^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} 등과 약산성 용액에서 킬레이트를 형성한다는 사실을 알아내었다. 한편 Ragan과 Jensen(1977, 1978), Ragan과 Craigie(1980), Ragan과 Glombitza(1986) 등이 갈조류 polyphenol성 물질의 정량에 관한 연구에서 종전의 비색정량에 의존하던 방법을 수정하여 새로운 정량방법을 제시 하였다. 즉, Vanillin-황산, Folin-Denis, Brentamine fast red 2G염등이 시약을 사용한 총 polyphenol(total polyphenol)의 정량에는 식물성 tannin 유사물질의 비색반응에 기초한 것으로써 해조 polyphenol성 물질의 조사에는 미흡하다고 하였다.

그러므로 해조추출 polyphenol정량에는 상기방법에 의하여 상대 polyphenol(relative polyphenol)값을 구하고 여기에 hide powder, haemoglobin등을 사용하여 polyphenol을 결합, 침전시킨후 추산인자(Estimation factors, 이하 EFs)를 산출하여 절대 polyphenol(absolte polyphenol)량을 결정해야 한다고 보고하였다. 이에 대한 이유로써 Vanillin-황산 방법에 따라 정량하였을 경우 ascorbic acid, sodium iodide, glucose, manitol, haemoglobin, acetone 등이 방해하여 Folin-

건조감태 polyphenol성 물질의 추출조건과 정량에 관한 연구

Denis인 경우는 ascorbic acid, polypeptide, 계면활성제, 요소, diethyl ether 등이, Brentamine Fast Red 2G 염을 사용한 비색 정량시에는 ascorbic acid, sodium iodide, glucose, manitol, haemoglobin, aceton 등이 방해하여 측정값에 오차를 만들며 resorcinol, gallic acid 유사 polyphenol도 이들 시약과 결합한다고 하였다. 한편 이 EFs값은 종류가 다른 갈조류에 적용할 수는 없으나 이 정량방법은 갈조류에 일반적으로 적용가능하다고 하였다.

이와 같이 해조 polyphenol성 물질에 대하여 수많은 연구가 이루어지고 있으나 국내에서는 강(1981), 강과 강(1984)의 건조감태의 착색성분 및 미역의 polyphenol성 화합물에 관한 연구를 제외하고는 전혀 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 부가가치가 높은 해조 착색성분의 식품용 착색제로의 이용을 위한 기초자료를 얻기 위하여 감태를 시료로 하여 polyphenol성 물질의 추출 조건 및 정량법에 관하여 실험하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용한 시료는 1987년 6월 북제주군 종달리 해안에서 성숙한 감태(*Ecklonia cava*)를 채취하여 협잡물을 제거한 후 수세하고 풍건시켜 조체중 앞부분을 약 1×1cm로 절단하여 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

총 polyphenol의 정량

① 시료의 전처리 : 시료 약 5g을 정평하여 삼각플라스크에 넣고 증류수로 2회 세척한 다음 60% acetone을 pH4.0, 7.0, 8.0, 9.0으로 하고 이 용액 100ml로 25°C, 45°C, 65°C에서 각각 30분간 2회 세척하였으며 추출물을 여과한 다음, 35°C에서 30분간 감압증발시킨 후 chloroform으로 2회 세척하고 잔류 chloroform을 다시 감압하에서 제거하고 증류수를 가하여 250ml로 정용한 용액을 총 polyphenol 측정용 시료로 하였으며 표준물질은 강(1981)의 방법에 따라 제조하였다.

② Folin-Denis 시약을 사용한 총 polyphenol의 정량 : 中林(1968)의 방법에 따라, Folin-Denis발색시약을 만들고 이 시약 5ml를 전처리된 추출물 5ml에 가하여 혼합한 후 30분간 정치시켜 10% 탄산나트륨 5ml를 가하였다. 이를 다시 혼합시킨 후 실온에서 1시간 동안 방치시켜 700nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선에 따라 계산하였다.

③ Vanillin-황산시약을 사용한 총 polyphenol의 정량 : 中林(1968)의 방법에 따라 Vanillin 1g을 70% 황산(v/v)에 용해시켜 100ml로 하여 시약으로 사용하였다. 이 시약 6ml를 전처리된 추출물 3ml에 뷰렛을 사용하여 10~15초간 적하하고 실온에 15분간 정치한 다음, 500nm에서 흡광도를 측정하고 검량선에 따라 계산하였다.

④ Brentamine Fast Red 2G 염 시약을 사용한 총 polyphenol의 정량 : Sieburth와 Jensen(1969)의 방법에 따라 Brentamine Fast Red 2G 염(Imperial Chemical Industries Limited, England) 100mg을 증류수 100ml에 용해하여 여과지로 여과한 다음 시약으로 사용하였다. 이 시약 1ml에 전처리된 추출액 2

ml를 가하여 30분간 정치한 다음 445nm에서 흡광도를 측정하였다.

상대 polyphenol의 정량

① 표준물질 : Ragan과 Jensen(1977)의 방법에 따라 phloroglucinol(시약특급, Riedel-de Haën Ag Seelze-Hannover)을 표준물질로 하여 Folin-Denis, Vaillin-황산, Brentamine Fast Red 2G 염 시약을 사용하여 700, 500, 445nm에서 검량선에 의해 polyphenol을 계산하였다.

② 시료의 전처리 : Ragan과 Jensen(1977)의 방법에 따라 시료 5g을 증류수로 2회 세척한 다음 60% acetone을 pH 4.0, 7.0, 8.0, 9.0으로 맞추고 이 용액 100ml로 25°C, 45°C, 65°C에서 각각 30분간 2회 추출하였으며 여기에 석유-ether를 가하여 polyphenol을 침전시키고 -15°C에서 12시간 정치한 후 감압하에서 용매를 제거하고 감압여과를 하였다(Whatman GF/C, ϕ 3.7cm). 여기에 증류수를 가하여 200ml로 정용하여 Folin-Denis, Vanillin-황산, Brentamine Fast Red 2G 염 시약을 사용하여 700, 500, 445nm에서 각각 정량하였다.

③ hide powder, haemoglobin 처리후의 상대 polyphenol의 정량 : 전처리한 추출물 2.5ml에 hide powder 125mg을 가하여 polyphenol을 결합시킨 다음 2°C에서 3시간 정치시킨 후 감압여과(Whatman GF/C, ϕ 3.7cm)하여 hide powder와 polyphenol 결합물을 105°C에서 6시간 건조시킨 다음 칭량하고 425°C에서 12시간 회화시켰다. haemoglobin처리된 경우는 전처리된 추출물 20ml에 haemoglobin용액(10.00mg/ml) 2ml를 가하여 15분간 정치한 다음

원심분리(3000rpm, 10분)를 시키고 감압여과(Whatman GF/C, ϕ 3.7cm)하여 haemoglobin과 polyphenol 결합물을 105°C에서 건조하였으며 425°C에서 12시간 회화시켰다. hide powder, haemoglobin 처리후의 여액을 Folin-Denis, Vanillin-황산, Brentamin Fast Red 2G 염을 사용하였다.

절대 polyphenol의 정량 Ragan과 Jensen(1977)의 방법에 따라 hide powder 처리에 의한 방법으로 EFs를 산출하여 절대 polyphenol을 환산하였다.

① EFs의 산정

$$EFs = \frac{Wb - Wa}{Cr - Cf}$$

단, Wb : hide powder(또는 haemoglobin)와 polyphenol과의 결합총량(105°C 6시간 건조 후의 중량)

Wa : hide powder(또는 haemoglobin)의 첨가량

Cr : 상대 polyphenol 함량

Cf : hide powder(또는 haemoglobin) 처리 후의 여액의 상대 polyphenol 함량

② 절대 polyphenol함량의 산출 :

절대 polyphenol함량 = EFs × 상대 polyphenol 함량

Rv/fd치의 산출 Ragan과 Jensen(1978)의 방법에 따라 Vanillin-황산에 의하여 산출된 EFs와 Folin-Denis에 의한 EFs와의 역비로써 산정하였다.

결과 및 고찰

1. 총 polyphenol함량의 변화

Folin-Denis, Vanillin-황산, Brentamine Fast Red 2G 염 시약을 사용하여 추출조건에 따른 총 polyphenol 함량의 변화는 Fig. 1, 2, 3과 같다. 그림에서와 같이 65°C에서가 가

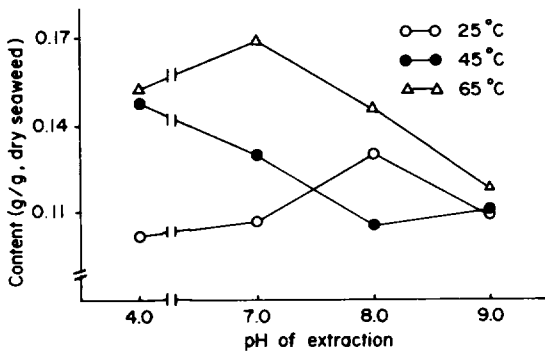


Fig. 1. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of total polyphenol measured by the method of Folin-Denis.

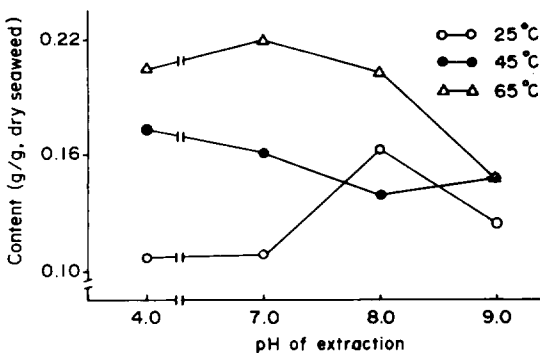


Fig. 2. Effects of temperature and pH extraction on the contents of total polyphenol measured by the method of Vanillin-Sulfuric acid.

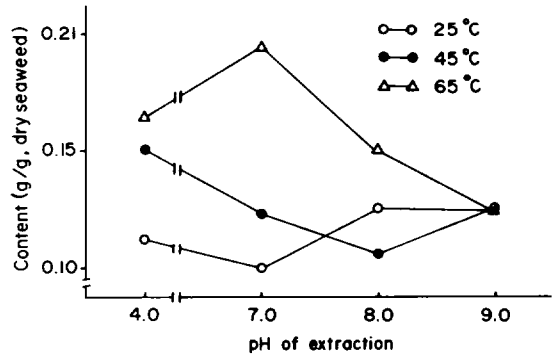


Fig. 3. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of total polyphenol measured by the method of Brentamine Fast Red 2G Salt.

°에서 추출한 것이 가장 낮았다. 그러나 pH가 높을 수록 온도 의존성이 낮아지는 것을 볼 수 있는데 pH 8.0에서는 25°C에서 추출한 것이 45°C에서 추출한 것보다 높게 나타나고 있다. 그리고 pH가 7.0이하로 내려갈수록 온도에 의한 영향이 뚜렷하며 특히 65°C, pH 7.0에서가 가장 많이 추출되었다. 한편, pH 9.0에서는 온도에 의한 영향을 거의 받고 있지 않아 대부분 비슷한 값을 나타내었으나 Folin-Denis법에서는 0.1~0.17, Vanillin-황산시약을 사용한 방법에서는 0.1~0.22, Brentamine Fast Red 2G 염을 이용한 측정에서는 0.096~0.2g/g(dry seaweed)으로 나타나 비색반응에 따라 상당한 차이를 나타내었다. 이에 대한 이유로써 Ragan과 Glombitza(1986)는 정량방해물질의 존재이외에 Folin-Denis시약인 경우는 phenol중 유리수산기의 산화성에 의존하고 Brentamine Fast Red 2G 염으로 정량할 때는 phenol성 반응물의 pH와 화학적 구조에 관계하며 Vanillin-황산인 경우는 1,3-

장 추출율이 높았으며 그 다음이 45°C이고, 25

또는 1,3,5-Oxy-치환 benzenoid 단위중의 유리 탄소고리와 반응하여 공유적으로 결합된 화합물을 생성하며, Folin-Denis, Brentamine 시약보다 더욱 특이하다고 보고하였다.

따라서 발색시약에 따른 함량의 변화가 정량방해물질, 각각의 발색시약과 phenolic 물질의 반응부위의 차등에 기인한 것으로 생각된다. Sieburth와 Jensen(1969), Sieburth(1969), Craigie와 Mclachlan(1963)은 *Ascophyllum nodosum*의 생시료에서 추출되는 총 polyphenol을 Brentamine 시약을 사용하여 조사하였는데 해수에서의 조건에서가 가장 많이 추출된다고 보고하였다. 본 연구에서는 25°C인 경우 pH 8.0에서가 가장 높은 값을 나타내어 생시료에서의 성질과 일정 온도에서 비슷한 경향을 나타내고, 온도가 높을수록 pH 4.0, 7.0에서 높은 값을 나타내었다. 한편, Katayama(Ragan과 Jensen, 1977)는 갑태의 polyphenol 함량을 월별로 조사하여 2.1~13.8% (dry seaweed)로 보고하였는데 본 연구에서 나타난 것과 상당한 차이를 나타내고 있다.

2. 상대 polyphenol함량의 변화

Ragan과 Jensen(1977)은 해조 polyphenol (총 polyphenol) 정량시 방해물질의 존재를 제시하였는데 본 연구에서 나타난 발색시약에 따라 추출한 상대 polyphenol량의 변화는 총 polyphenol의 성질과 전혀 다른 양상을 나타내었다. 즉, 상대 polyphenol은 온도에 따라 변화가 뚜렷하여 45°C, 25°C, 65°C 추출순으로 높게 나타났고 Fig. 4, 5, 6에서와 같이 65°C에서는 45°C에서 추출한 것의 절반 가량으로 Folin-Denis 시약에 의해서는 0.025~0.03, Vanillin-황산인 경우, 0.0078~0.0087, Brent-

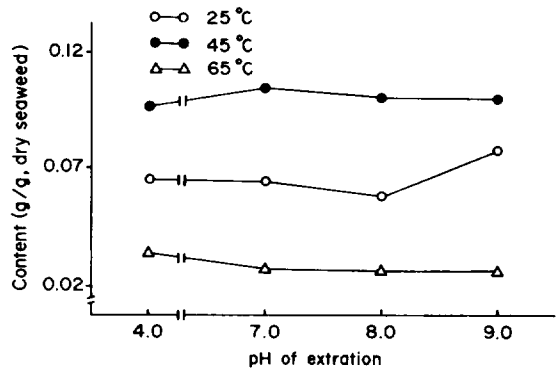


Fig. 4. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol measured by the method of Folin-Denis.

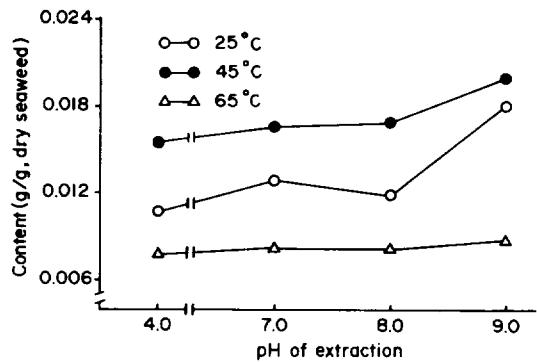


Fig. 5. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol measured by the method of Vanillin-Sulfuric acid.

amine염에 의해서는 0.038~0.042g/g(dry seaweed)밖에 추출되지 않았으며, 온도가 높을수록 pH의 영향을 거의 받지 않았다. 이는 해조 polyphenol이 해조단백과 결합된 상태로 존재하므로 고온에 의한 단백질의 변성에 기인한 것으로 생각된다. 한편 45°C 추출에서는 가장 높아 Folin-Denis법에서는 0.097~0.105, Vanillin-황산법인 경우는 0.0155~0.096g/g

건조감태 polyphenol성 물질의 추출조건과 정량에 관한 연구

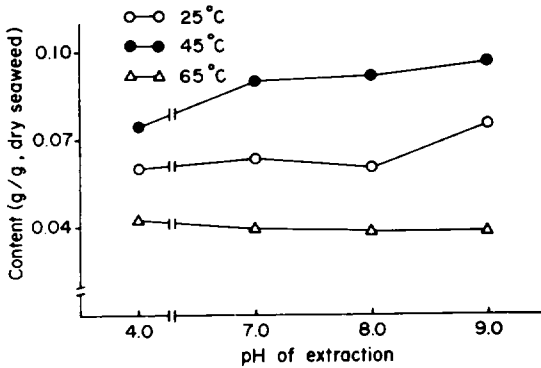


Fig. 6. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol measured by the method of Brentamine Fast Red 2G Salt.

(dry seaweed)으로 나타났다. 그리고 Vanillin-황산법인 경우에는 다른 정색반응에 비하여 훨씬 적은 함량이 나타나고 있는데 Ragan과 Glombitza(1986)는 Vaillin-황산법에 의해서는 상대적으로 polyphenol이 많은 추출물에서 비색수율이 매우 낮다고 보고하여 본 실험에서도 같은 결과로 나타났다.

hide powder 처리후의 상대 polyphenol 함량의 변화 Table 1은 hide powder 1mg에 결합한 polyphenol량을 나타낸 것이다. 표에서와 같이 45°C에서 추출한 것이 가장 많이 결합

하고, 25°C, 65°C순으로 나타났는데 이는 추출 polyphenol함량이 많을수록 결합이 많이 됨을 알 수 있다. 해조추출물에 hide powder를 결합시킨 다음 여과한 후 Folin-Denis시약을 사용하여 여액의 상대 polyphenol량의 변화를 조사한 결과, Fig. 7에서와 같이 hide powder와의 결합은 pH 4.0, 7.0에서 추출한 polyphenol과 잘 되는 현상을 나타내었다. 즉 저온으로 갈수록 pH 8.0, 9.0에서 추출한 것은

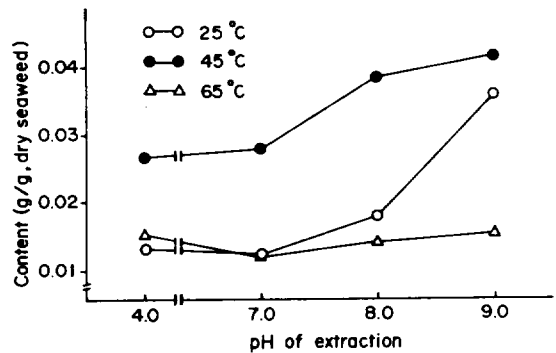


Fig. 7. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treating hide powder measured by Folin-Denis method.

결합력이 pH 4.0, 7.0에서 추출한 것 보다 약하여 여액중의 상대 polyphenol함량이 25°C에서는 0.018~0.035, 45°C에서는 0.038~0.04

Table 1. Amount of polyphenol binded by hide powder.
(polyphenol, mg/hide powder, mg)

Temp. °C	pH			
	4.0	7.0	8.0	9.0
25	0.088	0.0912	0.0752	0.0936
45	0.1904	0.1104	0.1312	0.1176
65	0.0752	0.0704	0.0584	0.0624

로 높았고 65°C에서는 저온에 비하여 완만하여 hide powder 처리에 의한 변화가 거의 없었다. Ragan과 Glombitza(1986)는 비색정량시 고 분자량의 polyphenol은 보통 저 분자량의 polyphenol보다 강하게 hide powder(또는 haemoglobin)와 결합하여 여과를 용이하게 하고 여액중에 저 분자량의 polyphenol을 다량 존재하게 한다고 보고하여 본 연구에서의 온도 및 pH에 따른 결합력의 차이가 분자량의 크기에 기인한 것으로 생각된다. 즉 저온, 저 pH에서 추출한 polyphenol에는 고 분자량의 polyphenol이 많아 여액에는 hide powder와 결합이 약한 저분자량의 polyphenol이 존재하여 여액중에 높은 함량을 나타내었다.

Fig. 8에서와 같이 Vanillin-황산시약을 사용하여 여액의 농도변화를 조사한 결과도 Folin-Denis법과 비슷하여 온도, pH에 민감한 반응을 나타내었다. Brentamine Fast Red 2G염을 사용하여 hide powder와 polyphenol과의

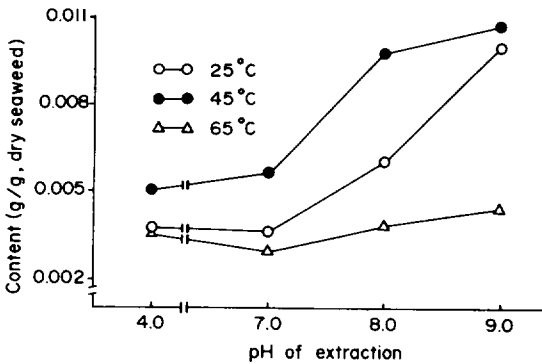


Fig. 8. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treating hide powder measured by Vanillin-Sulfuric acid' method.

결합후 여액의 함량변화를 Fig. 9에 나타내었는데 Fig. 7, 8와 비슷한 결과를 나타내어 25°C, pH 8.0, 9.0에서는 여액의 polyphenol 함량이 0.02~0.03, 45°C에서는 가장 높아 0.031~0.04, 65°C에서는 0.015~0.017g/g(dry seaweed)으로 가장 적게 나타났다.

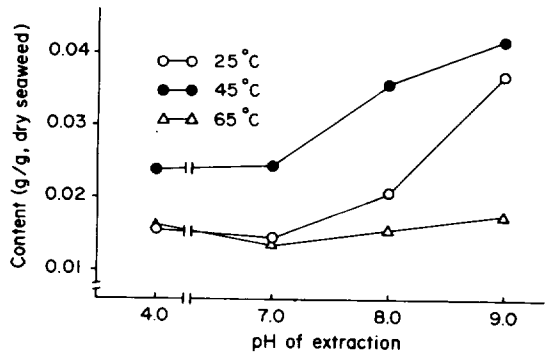


Fig. 9. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treating hide powder measured by Brentamine Fast Red 2G Salt' method.

haemoglobin 처리후의 상대 polyphenol 함량의 변화 온도, pH별 추출조건에 따라 추출한 해조 추출물에 haemoglobin을 결합시켜 침전시킨 후 함량의 변화를 Folin-Denis법에 의하여 조사하여 Fig. 10에 표시하였다. 그림에서와 같이 다른 발색시약과는 특이하게 25°C 군에서는 가장 높은 값을 나타내고 있으며 65°C, pH 7.0이하, 25°C, 45°C 온도처리에서는 pH 7.0, 8.0에서 가장 함량이 높게 나타났으나 pH 9.0에서는 거의 비슷하게 나타나고 있다. Ragan과 Jensen(1977)은 haemoglobin 처리시 다음과 같은 사실을 제시하였는데 즉, haemoglobin은 과량의 tannin에 의하여 완전히

건조감태 polyphenol성 물질의 추출조건과 정량에 관한 연구

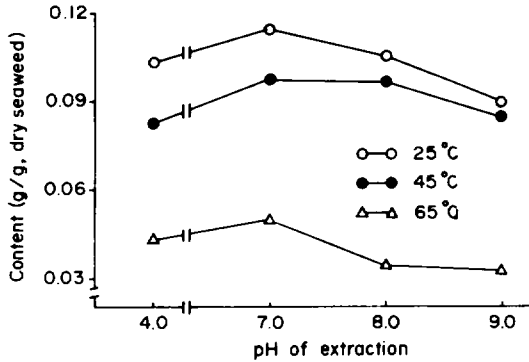


Fig. 10. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treating haemoglobin measured by Folin-Denis' method.

침전되고 침전하지 않은 haemoglobin은 3가지의 비색정량시 심각하게 방해를 일으켜 저분자량의 polyphenol 존재시 비색정량에 어려움을 준다고 보고하였다. 따라서, 25°C, 45°C에서의 함량변화가 침전하지 않은 haemoglobin에 의해서 방해가 일어난 것으로 생각된다. Vanillin-황산법(Fig. 11)에 의해서 haemoglobin 처리후의 여액의 상대 polyphenol함량의 변화는 pH, 온도가 낮을수록 haemoglobin과의 결합이 많아 hide powder 처리한 것과 비슷한 현상을 나타내었으나 hide powder 처리한 것보다 pH증가에 따라 그리 급격하게 결합력이 떨어지진 않았다. 그러나, 65°C인 경우에는, hide powder 처리에서는 다소 변화가 있었는데 비하여 haemoglobin처리한 것은 거의 pH에 따른 변화가 없었으며 Fig. 12에서와 같이 Brentamine시약의 경우도 비슷한 양상을 나타내었으나 25°C, pH 9.0의 처리가 45°C의 처리보다 조금 높은 값을 나타내었다.

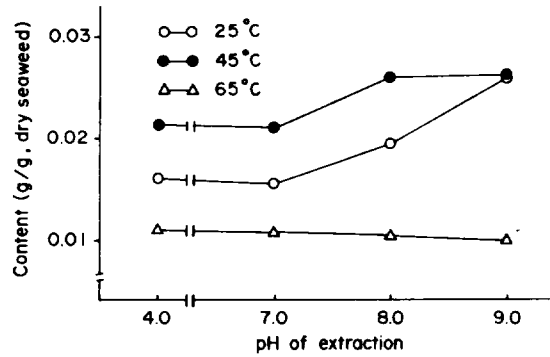


Fig. 11. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treating haemoglobin measured by Vanillin-Sulfuric acid method.

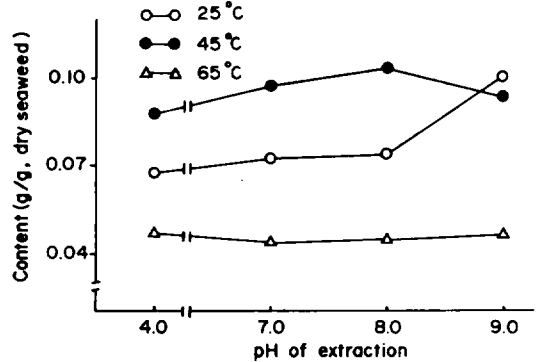


Fig. 12. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treating haemoglobin measured by Brentamine Fast Red 2G salt' method.

절대 polyphenol 함량의 변화 이상에서와 같이 총 polyphenol과 상대 polyphenol과는 상당한 성질의 차이를 나타내고 있는데 이것

이 추출시 용매처리차에 기인한 것인지 아니면 다른 원인에서 오는 것인지에 대하여는 자세한 연구가 있어야 할 것으로 생각되며, 그러나 Ragan과 Jensen(1977, 1978), Ragan과 Glombitza(1986)는 이에 대한 원인으로 정량 방해물질의 존재, 발색시약에 따른 polyphenol과의 반응부위의 차를 확인하여 상대 polyphenol을 절대 polyphenol로 환산하는 EFs를 조사하였다. 즉, *Fucus vesiculosus*에서 해조 polyphenol을 추출하여 hide powder, haemoglobin을 처리하고 EFs를 산출하였는데, 전체적인 EFs는 고분자량의 polyphloroglucinol과 저분자량의 phloroglucinol 사이에 존재하여 Folin-Denis법인 경우 phloroglucinol에 관련되어 1.0~2.2(Ragan과 Craigie, 1975), Brentamine Fast Red 2G 염의 EFs는 type 2 non-dialysable polyphloroglucinol로 1.0 부근, Vanillin

-황산 EFs는 phloroglucinol로 관련되어 1.0~16.0(Ragan과 Jensen, 1978)으로 보고하고 있다. 이와 같이 EFs가 서로 다른 이유는 비색반응에서의 차이, hide powder, haemoglobin과의 결합성의 차이, 추출 polyphenol의 성질등으로 보고 있다. 본 연구에서는 Folin-Denis법에서 0.46~1.38, Brentamine Fast Red 2G 염의 EFs는 0.51~1.14, Vanillin-황산인 경우는 2.97~5.56으로 나타났으며 발색시약과 추출조건에 따른 EFs 및 절대 polyphenol 함량은 table 2와 같다. 표에서와 같이 발색시약에 따른 EFs는 Vanillin-황산인 경우가 가장 높았는데, 이는 비색수율이 가장 낮은 원인에 의한 것으로 생각되고 Brentamine Fast Red 2G 염을 사용한 EFs가 가장 변동폭이 적어 안전한 값을 나타내었다. 한편 절대 polyphenol 함량은 추출 온도에 따라 현재

Table 2. Effects of temperature and pH of extraction on the EFs, absolute polyphenol content by the colorimetric method.

Temp. °C	pH	Folin-Denis method		Vanillin-H ₂ SO ₄ method		Brentamine Fast Red 2G Salt method	
		EFs	Absolute polyphenol cont. (%)	EFs	Absolute polyphenol cont. (%)	EFs	Absolute polyphenol cont. (%)
25	4.0	0.58	3.79	3.84	4.08	0.59	3.45
	7.0	0.57	3.67	2.97	3.81	0.55	3.51
	8.0	0.69	4.00	3.90	4.61	0.57	3.44
	9.0	0.76	5.90	3.44	6.25	0.74	5.55
45	4.0	0.87	8.41	5.45	8.45	1.14	8.45
	7.0	0.46	4.83	3.04	5.05	0.51	4.57
	8.0	0.79	7.93	5.56	9.40	0.71	6.50
	9.0	0.70	7.00	3.81	7.62	0.65	6.26
65	4.0	1.16	3.84	5.25	4.10	0.85	3.57
	7.0	1.17	3.26	4.02	3.30	0.83	3.24
	8.0	1.23	3.15	4.11	3.33	0.78	2.97
	9.0	1.38	3.57	4.34	3.78	0.88	3.38

진조감태 polyphenol성 물질의 추출조건과 정량에 관한 연구

한 차이를 나타내고 있어 45°C에서가 가장 높았으나 상대 polyphenol과는 달리 25°C, 65°C에서의 함량은 대부분 비슷하였고 pH 9.0에서는 65°C에 비하여 25°C 처리가 훨씬 높아 5.55~5.9%로 나타났다. 그리고 발색시약의 차에 따른 함량의 변화는 저온, 고온의 경우는 거의 없었으나 가장 많이 추출되는 45°C 처리에서는 조금씩의 차가 있었고, 또 pH에 따른 변화가 심하여 pH 7.0에서는 거의 절반인 4.59~5.05%밖에 추출되지 않았다.

Rv/fd치의 산정 추출 polyphenol성 물질의 분자량 변화를 조사하기 위하여 Rv/fd를 산정하여 table 3에 표시하였다. Ragan과 Jensen (1978)은 Rv/fd값이 낮을수록 분자량이 높은 polyphenol(polyphloroglucinol)의 존재를 확인하였는데 본 연구에서는 65°C에서가 0.22~0.317로 가장 높아 저 분자량의 polyphenol이

존재함을 알 수 있었고, 45°C에서는 pH 4.0, 9.0, 65°C에서는 pH가 높을 수록 저분자량의 polyphenol이 추출되었음을 알 수 있었다. 이는 hide powder, haemoglobin처리후 여액의 polyphenol함량변화에서도 비슷한 결과를 나타내었다. 즉, Rv/fd의 변화는 온도에 의한 영향을 많이 받아 65°C에서는 polyphenol과 결합한 해조단백의 변성에 기인한 저 분자량의 polyphenol이 추출된 것으로 생각되고, 25°C, 45°C에서는 pH의 영향을 많이 받았다. 한편 Ragan과 Jensen(1977)은 Nova Scotian *Fucus vesiculosus* 에서의 Rv/fd를 조사하여 0.125, Norwegian *Fucus vesiculosus* 에서는 0.157로 보고하였는데 본 연구에서는 이 보다 높은 값을 나타내었다.

Table 3. Effects of temperature and pH of polyphenol extraction on the value of Rv/fd.

Temp. °C	pH	Vanillin reaction (1/EF)	Folin-Denis reaction (1/EF)	Rv/fd
25	4.0	0.260	1.724	0.151
	7.0	0.337	1.754	0.191
	8.0	0.256	1.449	0.177
	9.0	0.291	1.316	0.221
45	4.0	0.183	1.149	0.160
	7.0	0.329	2.174	0.151
	8.0	0.180	1.266	0.142
	9.0	0.262	1.429	0.183
65	4.0	0.190	0.862	0.220
	7.0	0.249	0.855	0.291
	8.0	0.243	0.813	0.299
	9.0	0.230	0.725	0.317

요 약

갈조류 중 건조 감태(*Ecklonia Cava*)의 polyphenol성 물질의 추출조건 및 정량에 관하여 온도(25°C, 45°C, 65°C) 및 pH(4.0, 7.0, 8.0, 9.0)에 따라 추출하고, 이들 polyphenol량을 Folin-Denis, Vanillin-황산, 그리고 Brentamine Fast Red 2G염의 방법에 따라 총, 상대, 절대 polyphenol로 비교 검토하였다.

총 polyphenol에서는 추출온도가 높아 질수록 높은 함량을 나타내었고, 전체적으로 9.6~22%(w/w)에 달하였다.

상대 polyphenol에서는 정량방법과 추출온도에 따라 큰 차이를 나타내었는데, 45°C에서는 가장 높은 함량을 나타내었다.

절대 polyphenol을 계산하기 위한 EFs(추산인자)에서는 Brentamine Fast Red 2G 염을 사용한 방법이, 사용된 3가지 방법중에서 가장 유용한 것으로 간주되었다.

절대 polyphenol에서는 45°C, pH4.0에서 추출한 조건이 가장 높은 값을 나타내었다.

추출 polyphenol의 분자량 범위는, hide powder와의 결합력과 Rv/fd값으로 부터 추정된 결과, 추출조건에 깊은 관계가 있는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Craigie, J. S. and J. Mclachlan, 1963. Excretion of coloured ultravioletabsorbing substances by marine algae. Can. J. Bot., 42 : 23~33.

Haug, A. and B. Larsen, 1958. Phenolic compounds in brown algae. I. The presence of reducing compounds in *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Acta Chem. Scand., 12(4) : 650~657.

강영주, 1981. 해조류 갈색의 식용화에 관한 연구. 건조감태 착색성분의 추출과 이용에 대하여. 제주대학 논문집, 12 : 199~203.

강영주 · 강순선, 1984. 미역의 polyphenol성 화합물에 관한 연구. 제주대학교 논문집, 18 : 139~146.

中林敏郎, 1968. 果實およびの葉類のタンニン成分. 日食工誌, 15 : 73.

中林敏郎, 1969. 食品の變色とその化學. 光林書院, 64~115.

Noguchi, E., 1943. Utilization of *Sargassum ringgoldianum* for tanning liquor. Bull. Japan Soc. Fish., 12 : 52~53.

Ogino, C. and Y. Taki, 1957. Studies on the tannin of brown algal, *Sargassum ringgoldianum* Harv. J. Tokyo Univ. of Fisheries, 43 : 1~5.

Ragan, M. A. and A. Jensen, 1977. Quantitative studies on brown algal phenols. I. Estimation of absolute polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. and *Fucus vesiculosus* (L.). J. exp. mar. Biol. Ecol., 30 : 209~221.

Ragan, M. A. and A. Jensen, 1978. Quantitative studies on brown algal phenols. II. Seasonal variation in polyphenol content of *Ascophyllum*

건조감태 polyphenol성 물질의 추출조건과 정량에 관한 연구

- nodosum* (L.) Le Jol. and *Fucus vesiculosus* (L.). J. exp. mar. Biol. Ecol., 34 : 245~258.
- Ragan, M. A. and S. Craigie, 1980. Quantitative studies on brown algal phenols. IV. Ultraviolet spectrophotometry of extracted polyphenols and implications for measuring dissolved organic matter in sea water. J. exp. mar. Biol. Ecol., 46 : 231~239.
- Ragan, M. A. and J. S. Craigie, 1975. Physodes and the phenolic compounds of brown algae. Isolation and characterization of phloroglucinol polymers from *Fucus vesiculosus* (L.). Can. J. Biochem., 54 : 66~73.
- Ragan, M. A., O. Smidsrød and B. Larsen, 1979. Chelation of divalent metal ions by brown algal polyphenols. Mar. Chem., 7 : 265~271.
- Ragan, M. A. and K. W. Glombitza, 1986. progress in phycological research. Biopress Ltd., 4 : 130~241.
- Sieburth, J. Mcn., 1969. Studies on algal substances in the sea. III. The production of extracellular organic matter by littoral marine algae. J. exp. mar. Biol. Ecol., 2 : 174~189.
- Sieburth, J. Mcn. and A. Jensen, 1968. Studies on algal substances in the sea. I. Gelbstoff(humic material) in terrestrial and marine waters. J. exp. mar. Biol. Ecol., 2 : 174~189.
- Sieburth, J. Mcn. and A. Jensen, 1969. Studies on algal substances in the sea. II. The formation of Gelbstoff(humic material) by exudates of phaeophyta. J. exp. mar. Biol. Ecol., 3 : 275~289.