
碩士學位論文

乾燥감태 POLYPHENOL性物質의
抽出條件과 定量에 관한 研究

濟州大學校 大學院

食品工學科



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY
高景翊

1987年 月 日

乾燥상태 POLYPHENOL 性 物質의
抽出條件과 定量에 관한 研究

指導教授 姜 永 周

高 景 翊

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함

1987年 12月

高景翊의 工學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長

김 수 현

委 員

姜 永 周

委 員

송 대 진

濟州大學校 大學院

1987年 12月

ON THE EXTRACTION CONDITION AND QUANTITY OF POLYPHENOLS
IN A DRY BROWN ALGAE, *ECKLONIA CAVA*.

Kyung-IK, Ko
(Supervised by Professor Yeung-Joo, Kang)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF ENGINEERING

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1987

目 次

Summary	1
I . 緒 論	2
II . 材 料 및 方 法	4
1 . 實 驗 材 料	4
2 . 實 驗 方 法	4
III . 結 果 및 考 察	10
1 . 總 polyphenol 含量의 變化	10
2 . 相 對 polyphenol 含量의 變化	12
3 . 絕 對 polyphenol 含量의 變化	18
4 . Rv/fd 置의 算 定	20
要 約	22
參 考 文 獻	23

Summary

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.

I. 緒 論

海藻資源이 豊富한 濟州近海에서는 감태, 미역, 툇 등의 褐藻類가 多量採取되고 있는데 이들은 乾燥에 의하여 色이 褐色에서 黑褐色으로 變化하여 色澤이 深化되는 Polyphenol性 物質을 많이 含有하고 있다. 이 黑褐色 色素는 藻體의 Physodes 組織內에 多量으로 存在하고 있으며 海藻加工中 대부분 溶出되어 廢棄物로 버려지거나 輸出用 툇 染色用으로 利用되고 있다. 現在 濟州沿岸에서 採取되는 褐藻類中에서 非食用 海藻인 감태의 경우는 알긴산 소다 製造原料로 수년간 그 用途가 限定되어 왔으나 近來에 着色成分에 대한 需要가 急增하여 그 附加價値가 높은 資源으로 대두되고 있다.

이들 褐藻類의 着色成分에 관해서는 Kylin(1912)에 의하여 最初로 研究되어 褐藻類중의 fucosan(tannin類似物質)이며 phloroglucinol 反應을 나타내고 死後酸化되어 黑褐色 色素인 phycophaein으로 된다고 하였다. Mangenot(1930)는 이 物質을 phloroglucotanoid라 하였고 Takahasi(1931)에 의하여 風乾된 감태에서 alcohol抽出하여 fucosan 死後物質로 報告하였다. Shirahan(1942)은 *Cystophyllum hakodatense*에서, Noguchi(1943)는 *Sargassum ringgoldianum*에서 tannin類似物質의 存在를 確認하였으며 Suehiro와 Searashi(1948)는 몇 種의 褐藻類에서 熱水抽出物이 tannin特性을 나타낸다고 報告하였다. Ogino와 Taki(1957)는 *Sargassum ringgoldianum*에서, Haug와 Larsen(1958)은 *Ascophyllum nodosum*중에서 還元性 物質에 대하여 調査한 結果, tannin성 物質과 같은 呈色反應을 確認하였으며 hide powder. 發色試藥과의 反應에 의하여 phenol성 特性을 나타내고 hide powder와의 結合에 의하여 9% 정도에 이른다고 報告하였다. Craigie와 Mclachlan(1963)은 *Fucus vesiculosus*에서 빛, 알칼리도, 鹽度, 溫度, 產地, 種類 등에 따라서 着色物質의 量을, Mclachlan과 Craigie(1964)는 *Fucus vesiculosus*중의 黃色 phenol성 物質이 海藻類의 성장 沮害性 有無에 대하여 調査하였으며 Sieburth(1969), Sieburth와 Jensen(1969) 등은 沿岸 海藻類 細胞外 有機物 生成과 여지 크로마토그래피, 透析, sephadex 分劃에 의한 海藻 流出物의 Gelbstoff(humic material) 形成에 대하여 檢討하였다. 그 후 Ragan과 Craigie(1975)에 의하여 褐藻類의 着色物質은 polyphenol성 物質로 phloroglucinol(1,3,5-trihydroxy benzene)을 含有하는 誘導體 또는 polymer로 報告하여

이들의 抽出 및 定量에 대하여 자세한 研究가 이루어지기 시작하였다. 즉, 褐藻類 抽出物을 質量分析機, 核磁機共鳴分光機 및 化學的 方法등에 의하여 phloroglucinol을 基本으로 하는 oligomer 또는 polymer가 主種을 이루고, 이의 構造가 밝혀짐에 따라 海藻 polyphenol성 物質의 機能性에 대한 研究도 이루어져 Ragan 등(1979)은 polyphenol과 2가 金屬이온과의 킬레이션 反應을 調査하여 Sr^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Be^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} 등과 弱酸性 溶液에서 킬레이트를 形成한다는 事實을 알아내었다. 또한 Ragan 등(1980)은 *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* 중의 海藻 polyphenol이 海水天然 킬레이트劑로서 Zn^{2+} 의 除毒化에 關係함을 報告하였다. 한편 Ragan과 Jensen(1977, 1978, 1979), Ragan과 Craigie(1980), Ragan과 Glombitza(1986) 등이 褐藻類 polyphenol성 物質의 定量에 관한 研究에서 終前의 比色定量에 依存하던 方法을 修正하여 새로운 定量方法을 提示하였다. 즉, Vanillin-黃酸, Folin-Denis, Brentamine Fast Red 2G 鹽 등의 試藥을 使用한 總 polyphenol(total polyphenol)의 定量에는 植物性 tannin 類似物質의 比色反應에 基礎한 것으로써 海藻 polyphenol성 物質의 調査에는 未洽하다고 하였다. 그러므로 海藻抽出 polyphenol定量에는 上記方法에 의하여 相對 polyphenol(relative polyphenol) 값을 구하고 여기에 hide powder, haemoglobin등을 使用하여 polyphenol을 結合, 沈澱시킨 후 推算因子(Estimation factors, 以下 EFs)를 算出하여 絶對 polyphenol(absolute polyphenol)량을 決定해야 한다고 報告하였다. 이에 대한 이유로써 Vanillin-黃酸 方法에 따라 定量하였을 경우 ascorbic acid, sodium iodide, glucose, manitol, haemoglobin, acetone 등이 防害하며 Folin-Denis인 경우는 ascorbic acid, polypeptide, 界面活性劑, 尿素, diethyl ether 등이, Brentamine Fast Red 2G 鹽을 使用한 比色定量時에는 ascorbic acid, acetone, sodium iodide, 界面活性劑, haemoglobin, diethyl ether 등이 防害하여 測定값에 誤差를 만들며 resorcinol, gallic acid類似 polyphenol도 이들 試藥과 結合한다고 하였다. 한편 이 EFs값은 種類가 다른 褐藻類에 適用할 수는 없으나 이 定量方法은 褐藻類에 一般적으로 適用可能하다고 하였다.

이와 같이 海藻 polyphenol성 物質에 대하여 수많은 研究가 이루어지고 있으나 國內에서는 姜(1981), 姜과 康(1984)의 乾燥감태의 着色成分 및 미역의 polyphenol성 化合物에 관한 研究를 除外하고는 전혀 없는 실정이다.

따라서 本 研究에서는 附加價値가 높은 海藻着色成分의 食品用 着色劑로의 利用을 위한 基礎資料를 얻기 위하여 감태를 試料로 하여 polyphenol성 物質의 抽出條件 및 定量法에 관하여 實驗하였다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗材料

實驗에 使用한 試料는 1987年 6月 北濟州郡 終達里 海岸에서 成熟한 苔
(*Ecklonia cava*)를 採取하여 挾雜物을 除去한 후 水洗하고 風乾시켜 藻體중 上 部分
을 약 1×1cm로 切斷하여 試料로 使用하였다.

2. 實驗方法

1) 標準物質의 製造

① 總 polyphenol用 標準物質

姜(1981)의 方法에 따라 試料로 使用한 苔 약 5g을 取하고 60% acetone으로
抽出하여 이 抽出液 200ml를 硅藻土로 濾過하고 濾過液을 減壓下(30°C, 35分)에서
acetone을 除去한 후 chloroform으로 2회 洗滌, 減壓下에서 chloroform을 除去한
다음 ethyl ether를 加하여 轉溶되는 色素를 모아 ethyl ether를 完全히 除去한 후
생긴 粉末을 標準物質로 使用, Folin-Denis, Vanillin-黃酸, Brentamine Fast
Red 2G 鹽 試藥을 使用하여 Fig. 1.2.3. 과 같이 700, 500, 445nm에서 檢量線을
作成하고 여기에서 總 polyphenol의 量을 計算하였다.

2) 總 polyphenol의 定量

① 試料의 前處理

試料 약 5g을 精秤하여 삼각플라스크에 넣고 蒸溜水로 2회 洗滌한 다음 60%
acetone을 pH 4.0, 7.0, 8.0, 9.0으로 하고 이 溶液 100ml로 25, 45, 65°C에서 각
각 30분간 2회 抽出하였으며 抽出物을 濾過한 다음, 35°C에서 30분간 減壓蒸發시
킨 후 chloroform으로 2회 洗滌하고 殘留 chloroform을 다시 減壓下에서 除去하고
蒸溜水를 加하여 250ml로 定溶한 溶液을 總 polyphenol 測定用 試料로 하였다.

② Folin-Denis 試藥을 使用한 總 polyphenol의 定量

中林(1968)의 方法에 따라, 텅그스텐산 소다 25g, 인 폴리브덴산 5g, 정 인산
12.5ml에 蒸溜水 188ml를 加하여, 2시간 還流加熱 시킨 다음 冷却하여 蒸溜水를

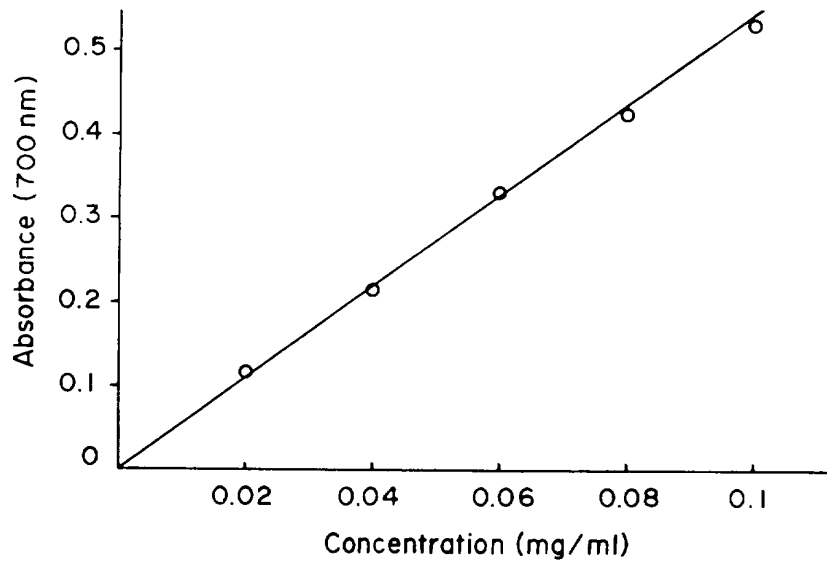


Fig. 1. Standard curve for the calculation of total polyphenol content by Folin-Denis' method.

* The procedure of preparation of standard material was described in text.

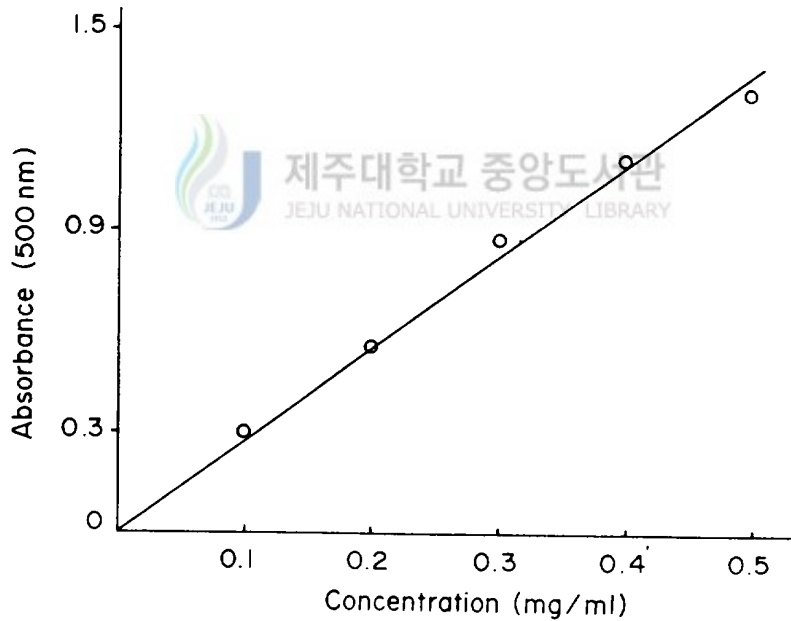


Fig. 2. Standard curve for the calculation of total polyphenol content by Vanillin-Sulfuric acid' method.

* The procedure of preparation of standard material was described in text.

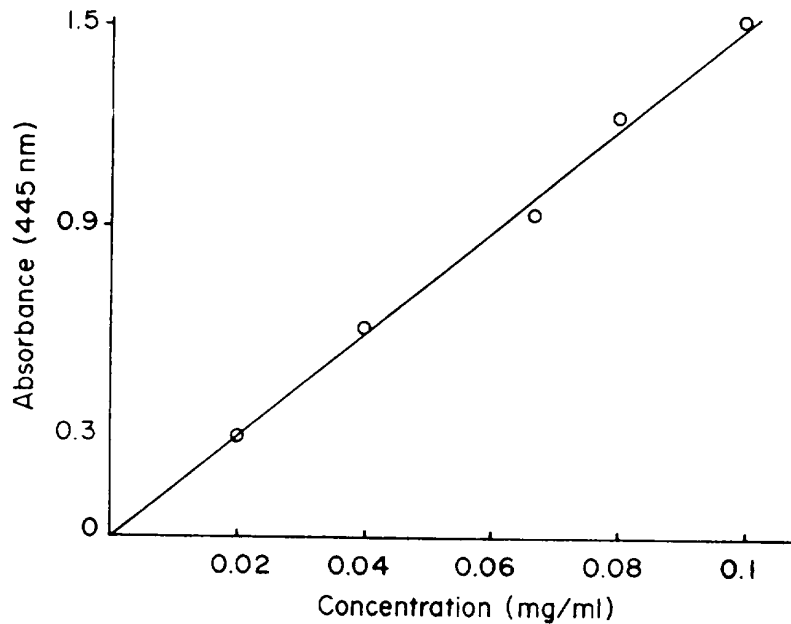


Fig. 3. Standard curve for the calculation of total polyphenol content by Brentamine Fast Red 2G Salt' method.

* The procedure of preparation of standard material was discribed in text.

加하여 1ℓ로 定溶하였다. 이 Folin-Denis發色試藥 5ml를 前處理된 推出物 5ml에 加하여 混合한 후 30분간 定置시켜 10% 탄산나트륨 5ml를 加하였다. 이를 다시 混合시킨 후 室溫에서 1시간 동안 放置시켜 700nm에서 吸光度를 測定하고 Fig.1의 標準曲線에 따라 計算하였다.

③ Vanillin-黃酸試藥을 사용한 總 polyphenol의 定量

中林(1968)의 方法에 따라 Vanillin 1g을 70% 黃酸(v/v)에 溶解시켜 100ml로 하여 試藥으로 使用하였다. 이 試藥 6ml를 前處理된 抽出物 3ml에 뷰렛을 使用하여 10~15초간 滴下하고 室溫에 15분간 定置한 다음, 500nm에서 吸光度를 測定하고 檢量線에 따라 計算하였다.

④ Brentamine Fast Red 2G 鹽 試藥을 사용한 總 polyphenol의 定量

Sieburth와 Jensen(1969)의 方法에 따라 Brentamine Fast Red 2G 鹽(Imperial Chemical Industries Limited, England) 100mg을 蒸溜水 100ml에 溶解하여 濾過紙로 濾過한 다음 試藥으로 使用하였다. 이 試藥 1ml에 前處理된 抽出液 2ml를 加하여

30분간 定置한 다음 445nm에서 吸光度를 測定하였다.

3) 相對 polyphenol의 定量

① 標準物質

Ragan과 Jensen(1977)의 方法에 따라 phloroglucinol(試藥特級, Riedel-de Haën Ag Seelze-Hannover)을 標準物質로 하여 Folin-Denis, Vanillin-黃酸, Brentamine Fast Red 2G 鹽 試藥을 使用하여 700, 500, 445nm에서 Fig. 4.5.6과 같이 檢量線을 作成하고 相對 polyphenol을 計算하였다.

② 試料의 前處理

Ragan과 Jensen(1977)의 方法에 따라 試料 5g을 蒸溜水로 2회 세척한 다음 60% acetone을 pH 4.0, 7.0, 8.0, 9.0으로 맞추고 이 溶液 100ml로 25, 45, 65°C에서 각각 30분간 2회 抽出하였으며 여기에 石油-ether를 加하여 polyphenol을 沈殿시키고 -15°C에서 12시간 定置한 후 減壓下에서 溶媒를 除去하고 減壓濾過를 하였다(Whatman GF/c, ϕ 3.7cm). 여기에 蒸溜水를 加하여 200ml로 定溶하여 Folin-Denis, Vanillin-黃酸, Brentamine Fast Red 2G 鹽 試藥을 使用하여 700, 500,

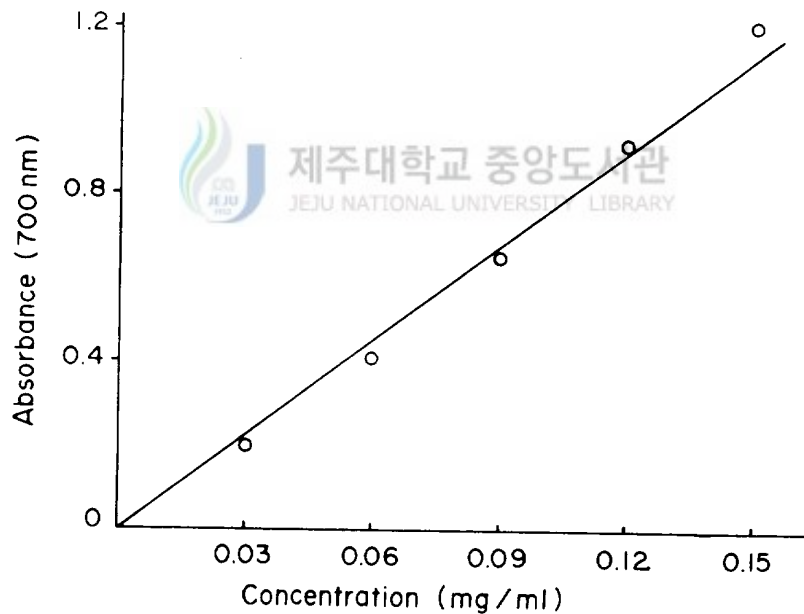


Fig. 4. Standard curve for the calculation of relative polyphenol content by Folin-Denis' method using phloroglucinol as standard material.

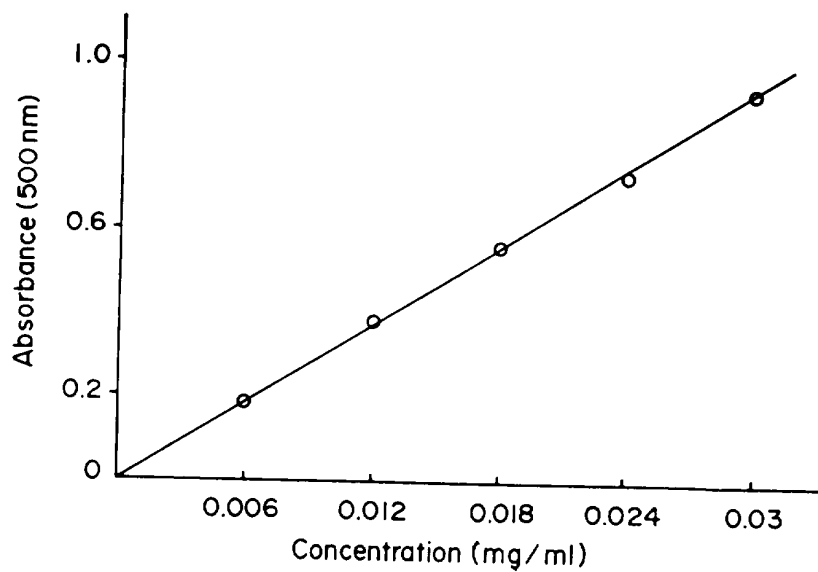


Fig. 5. Standard curve for the calculation of relative polyphenol content by Vanillin-Sulfuric acid' method using phloroglucinol as standard material.

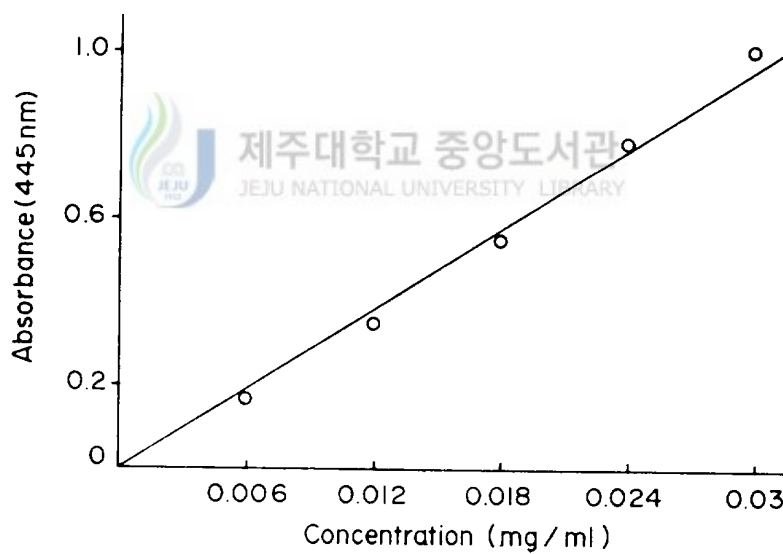


Fig. 6. Standard curve for the calculation of relative polyphenol content by Brentamine Fast Red 2G Salt' method using phloroglucinol as standard material.

445nm에서 각각 定量하였다.

③ hide powder, haemoglobin 處理後의 相對 polyphenol의 定量

前處理한 抽出物 25ml에 hide powder 125mg을 加하여 polyphenol을 結合시킨 다음 2°C에서 3시간 定置시킨 후 減壓濾過(Whatman GF/c, ϕ 3.7cm)하여 hide powder와 polyphenol 結合物을 105°C에서 6시간 乾燥시킨 다음 秤量하고 425°C에서 12시간 회화시켰다. haemoglobin處理의 경우는 前處理된 抽出物 20ml에 haemoglobin溶液(10.00mg/ml) 2ml를 加하여 15분간 定置한 다음 遠心分離(3000rpm, 10분)를 시키고 減壓濾過(Whatman GF/c, ϕ 3.7cm)하여 haemoglobin과 polyphenol結合物을 105°C에서 乾燥하였으며 425°C에서 12시간 회화시켰다. hide powder, haemoglobin處理후의 濾液을 Folin-Denis, Vanillin-黃酸, Brentamine Fast Red 2G 鹽을 使用하여 定量하였다.

4) 絶對 polyphenol의 定量

Ragan과 Jensen(1977)의 方法에 따라 hide powder 處理에 의한 方法으로 EFs를 算出하여 絶對 polyphenol을 換算하였다.

① EFs의 算定

$$EFs = \frac{W_b - W_a}{C_r - C_f}$$

但, W_b : hide powder(또는 haemoglobin)와 polyphenol과의 結合總量(105°C 6시간 乾燥후의 重量)

W_a : hide powder(또는 haemoglobin)의 添加量

C_r : 相對 polyphenol 含量

C_f : hide powder(또는 haemoglobin) 處理후 濾液의 相對 polyphenol 含量

② 絶對 polyphenol含量的 算出

絶對 polyphenol含量 = EFs \times 相對 polyphenol 含量

5) Rv/fd置의 算定

Ragan과 Jensen(1978)의 方法에 따라 Vanillin-黃酸에 의하여 算出된 EFs와 Folin-Denis에 의한 EFs와의 逆比로써 算定하였다.

Ⅲ. 結果 및 考察

1. 總 polyphenol含量的 變化

Folin-Denis, Vanillin-黃酸, Brentamine Fast Red 2G 鹽 試藥을 使用하여 抽出條件에 따른 總 polyphenol 含量的 變化는 Fig.7.8.9와 같다. 그림에서와 같이 65°C에서가 가장 抽出率이 높았으며 그 다음이 45°C이고, 25°C에서 抽出한 것이 가장 낮았다. 그러나 pH가 높을 수록 溫度 依存性이 낮아지는 것을 볼 수 있는데 pH 8.0에서는 25°C에서 抽出한것이 45°C에서 抽出한 것보다 높게 나타나고 있다. 그리고 pH가 7.0이하로 내려갈수록 溫度에 의한 影響이 뚜렷하며 특히 65°C, pH 7.0에서가 가장 많이 抽出되었다. 한편, pH 9.0에서는 溫度에 의한 影響을 거의 받고 있지 않아 대부분 비슷한 값을 나타내었으나 Folin-Denis法에서는 0.1~0.17, Vanillin-黃酸試藥을 使用한 方法에서는 0.1~0.22, Brentamine Fast Red 2G 鹽을 利用한 測定에는 0.096~0.2g/g(dry seaweed)으로 나타나 比色反應에 따라 상당한 差異를 나타내었다. 이에 대한 이유로서 Ragan과 Glombitza(1986)는 定量防

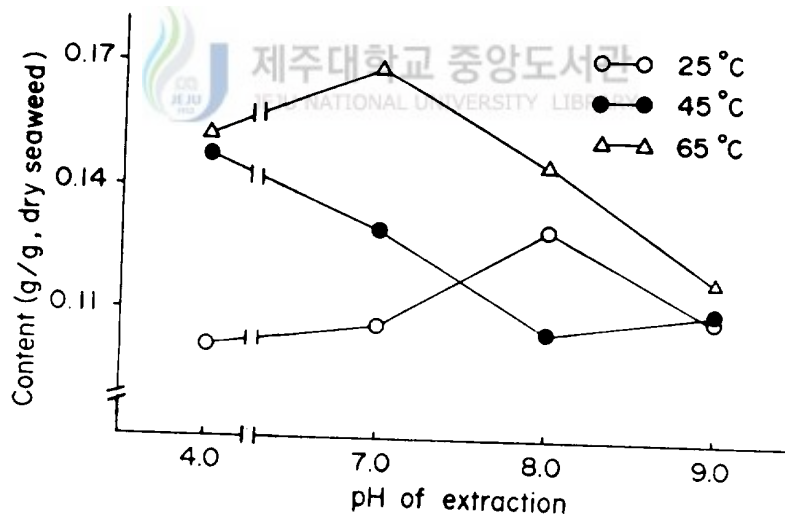


Fig. 7. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of total polyphenol measured by the method of Folin-Denis.

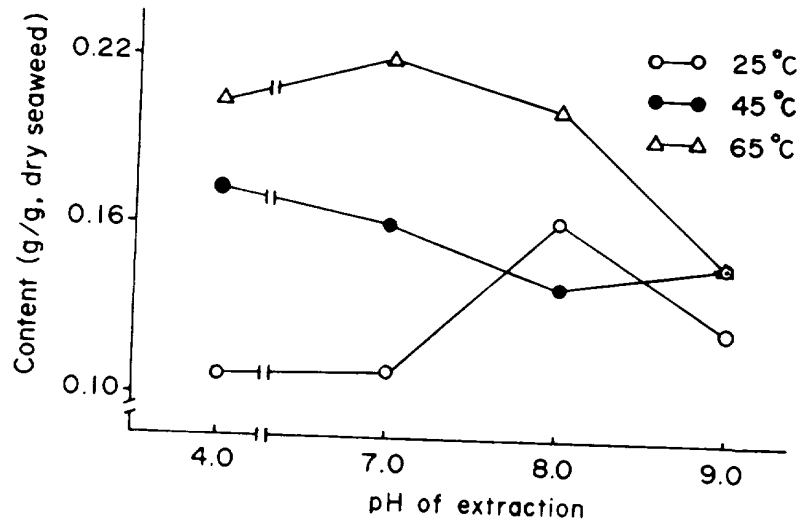


Fig. 8. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of total polyphenol measured by the method of Vanillin-Sulfuric acid.

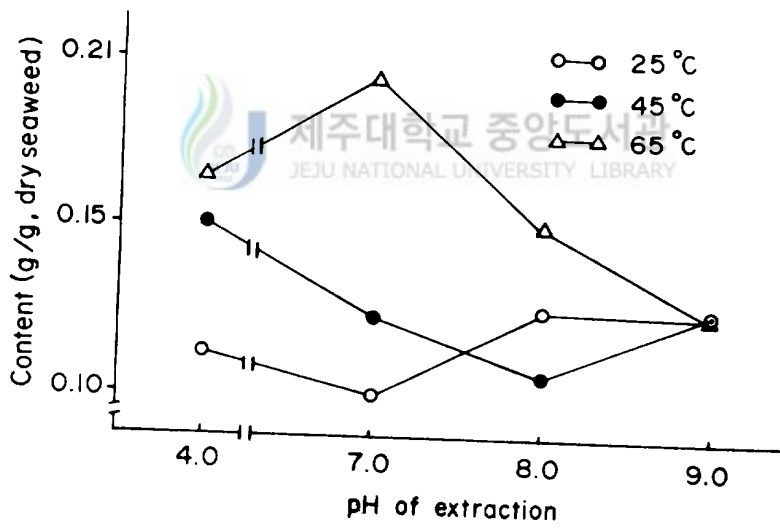


Fig. 9. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of total polyphenol measured by the method of Brentamine Fast Red 2G Salt.

害物質의 存在이외에 Folin-Denis試藥인 경우는 phenol中 遊離水酸基의 酸化性에 依存하고 Brentamine Fast Red 2G 鹽으로 定量할 때는 phenol성 反應物의 pH와 化學的 構造에 關係하며 Vanillin-黃酸인 경우는 1,3-또는 1,3,5-Oxy-置還 benzenoid 單位중의 遊離 炭素고리와 反應하여 共有的으로 結合된 化合物을 生成하며, Folin-Denis, Brentamine試藥보다 더욱 特異하다고 報告하였다. 따라서 發色試藥에 따른 含量의 變化가 定量防害物質, 각각의 發色試藥과 phenol성 物質의 反應部位의 差등에 起因한 것으로 생각된다. Sieburth와 Jensen(1969), Sieburth(1969), Craigie와 McLachlan(1963)은 *Ascophyllum nodosum*의 生試料에서 流出되는 總 polyphenol을 Brentamine 試藥을 使用하여 調査하였는데 海水에서의 條件에서 가 가장 많이 流出된다고 報告하였다. 本 研究에서는 25°C인 경우 pH 8.0에서가 가장 높은 값을 나타내어 生試料에서의 性質과 일정 溫度에서 비슷한 傾向을 나타내고, 溫度가 높을 수록 pH 4.0, 7.0에서 높은 값을 나타내었다. 한편, Katayama (Ragan과 Jensen, 1977)는 감태의 polyphenol 含量을 月別로 調査하여 2.1~13.8% (dry seaweed)로 報告하였는데 本 研究에서 나타난 것과 상당한 差異를 나타내고 있다.

2. 相對 polyphenol含量的 變化

Ragan과 Jensen(1977)은 海藻 polyphenol(總 polyphenol) 定量時 防害物質의 存在을 提示하였는데 本 研究에서 나타난 發色試藥에 따라 抽出한 相對 polyphenol 量的 變化는 總 polyphenol의 性質과 전혀 다른 樣相을 나타내었다. 즉, 相對 polyphenol은 溫度에 따른 變化가 뚜렷하여 45, 25, 65°C 抽出順으로 높게 나타났고 Fig.10, 11, 12에서와 같이 65°C에서는 45°C에서 抽出한 것의 절반 가량으로 Folin-Denis 試藥에 의해서는 0.025~0.03, Vanillin-黃酸인 경우, 0.0078~0.0087, Brentamine鹽에 의해서는 0.038~0.042 g/g dry seaweed) 밖에 抽出되지 않았으며, 溫度가 높을 수록 pH의 影響을 거의 받지 않았다. 이는 海藻 polyphenol이 海藻蛋白과 結合된 상태로 存在하므로 高溫에 의한 蛋白質의 變性에 起因한 것으로 생각된다. 한편 45°C 抽出에서는 가장 높아 Folin-Denis法에서는 0.097~0.105, Vanillin-黃酸方法인 경우는 0.0155~0.02, Brentamine 鹽 試藥에 의해서는 0.074~0.096 g/g(dry seaweed)으로 나타났다. 그리고 Vanillin-黃酸法인 경우에는 다른 呈色反應에 比하여 훨씬 적은 含量이 나타나고 있는데 Ragan과 Glombitza

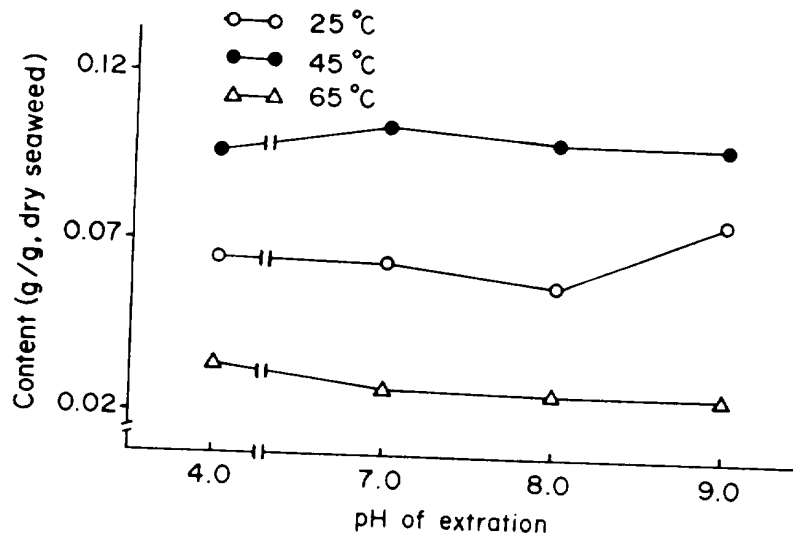


Fig. 10. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol measured by the method of Folin-Denis.

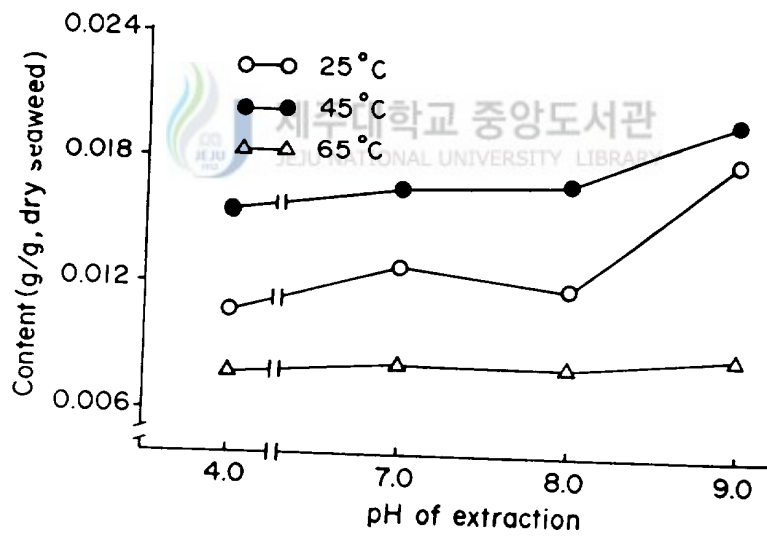


Fig. 11. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol measured by the method of Vanillin-Sulfuric acid.

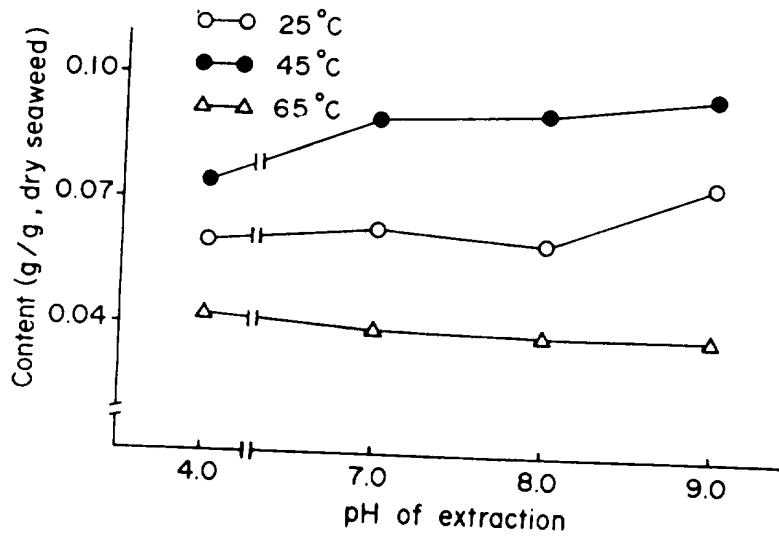


Fig. 12. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol measured by the method of Brentamine Fast Red 2G Salt.

(1986)는 Vanillin-黃酸法에 의해서는 相對的으로 polyphenol이 많은 抽出物에서 比色收率이 매우 낮다고 報告하여 本 實驗에서도 같은 結果로 나타났다.

1) hide powder 處理후의 相對 polyphenol含量的 變化

Table 1은 hide powder 1mg에 結合한 polyphenol量을 나타낸 것이다. 표에서와 같이 45°C에서 抽出한 것이 가장 많이 結合하고, 25°C, 65°C順으로 나타났는데 이는 抽出 polyphenol 含量이 많을수록 結合이 많이 됨을 알 수 있다. 海藻抽出物에 hide powder를 結合시킨 다음 濾過한 후 Folin-Denis試藥을 使用하여 濾液의 相對 polyphenol量的 變化를 調査한 結果, Fig.13에서와 같이 hide powder와의 結合

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

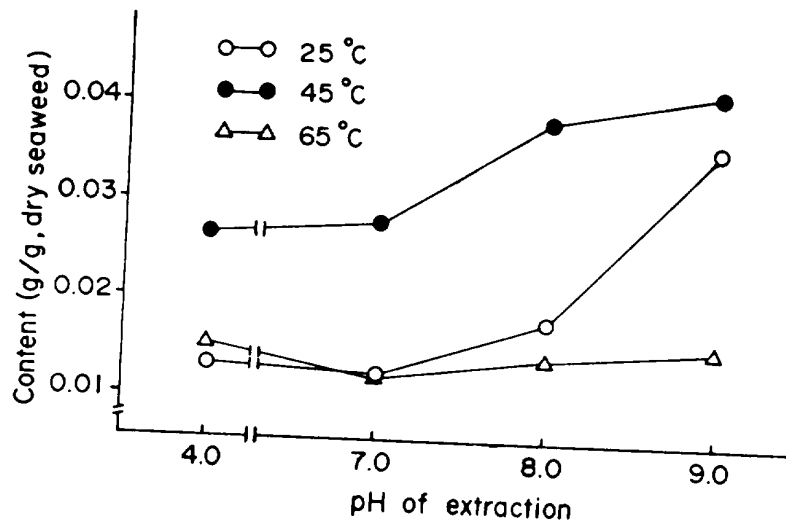


Fig. 13. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treated with hide powder measured by Folin-Denis' method.

은 pH 4.0, 7.0에서 抽出한 polyphenol과 잘 되는 現象을 나타내었다. 즉 低溫으로 갈수록 pH 8.0, 9.0에서 抽出한 것은 結合력이 pH 4.0, 7.0에서 抽出한 것보다 弱하여 濾液中의 相對 polyphenol含量이 25°C에서는 0.018~0.035, 45°C에서는 0.038~0.04로 높았고 65°C에서는 低溫에 비하여 緩慢하여 hide powder處理에 의한 變化가 거의 없었다. Ragan과 Glombitza(1986)는 比色定量時 高分子量의 polyphenol은 보통 低分子量의 polyphenol보다 强하게 hide powder(또는 haemoglobin)와 結合하여 濾過를 容易하게 하고 濾液中에 低分子量의 polyphenol을 多量 存在하게 한다고 報告하여 本 研究에서의 溫度 및 pH에 따른 結合력의 差異가 分子量의 크기에 起因한 것으로 생각된다. 즉, 低溫, 低 pH에서 抽出한 polyphenol에는 高分子量의 polyphenol이 많아 濾液에는 hide powder와 結合이 弱한 低分子量의 polyphenol이 存在하며 濾液中에 높은 含量을 나타내었다. Fig.14에서와 같이 Vanillin-黃酸試藥을 使用하여 濾液의 濃度變化를 調査한 結果도 Folin-Denis法과 비슷하여 溫度, pH에 敏感한 反應을 나타내었다. Brentamine Fast Red 2G 鹽을 使用하여 hide powder와 polyphenol과의 結合後 濾液의 含量變化를 Fig.15에 나타내었는데, Fig.13, 14와 비슷한 結果를 나타내어 25°C, pH 8.0, 9.0에서는 濾液의 polyphenol含量이 0.02~0.03, 45°C에서는 가장 높아 0.031

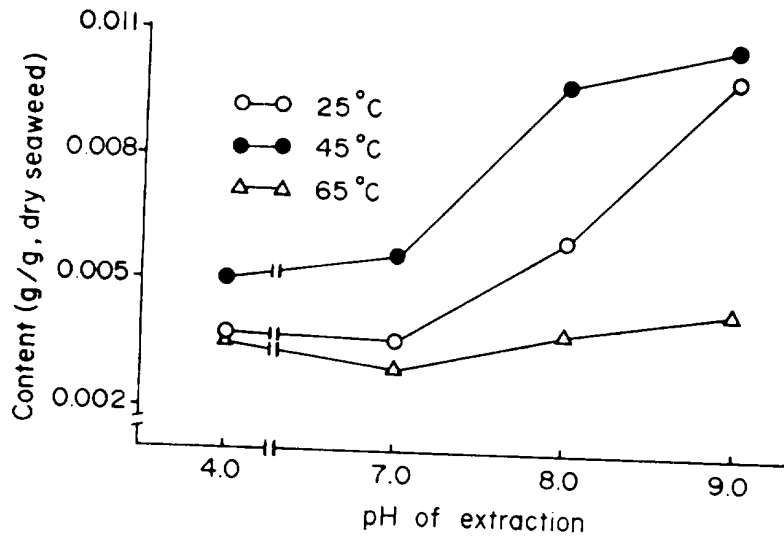


Fig. 14. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treated with hide powder measured by Vanillin-Sulfuric acid' method.

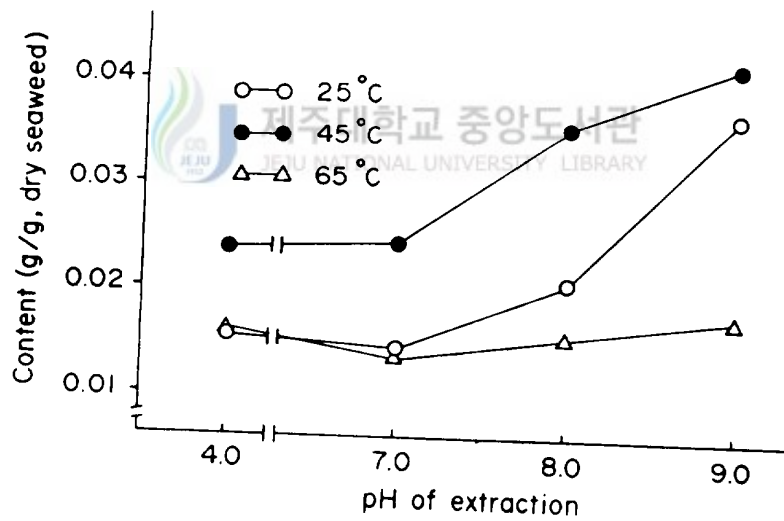


Fig. 15. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treated with hide powder measured by Brentamine Fast Red 2G Salt' method.

~0.04, 65°C에서는 0.015~0.017 g/g(dry seaweed)으로 가장 적게 나타났다.

2) haemoglobin 處理후의 相對 polyphenol 含量的 變化

溫度, pH別 抽出條件에 따라 抽出한 海藻 抽出物에 haemoglobin을 結合시켜 沈澱시킨 후 含量的 變化를 Folin-Denis法에 의하여 調査하여 Fig.16에 表示하였다. 그림에서와 같이 다른 發色試藥과는 特異하게 25°C群에서 가장 높은 값을 나타내고 있으며, 65°C, pH 7.0이하, 25°C, 45°C 溫度處理에서는 pH 7.0, 8.0에서 가장 含量이 높게 나타났으나 pH 9.0에서는 거의 비슷하게 나타나고 있다. Ragan과 Jensen(1977)은 haemoglobin 處理時 다음과 같은 事實을 提示하였는데 즉, haemoglobin은 과량의 tannin에 의하여 完全히 沈澱되고 沈澱하지 않은 haemoglobin은 3가지의 比色定量時 深刻하게 妨害를 일으켜 低 分子量의 polyphenol 存在時 比色定量에 어려움을 준다고 報告하였다. 따라서, 25°C, 45°C에서의 含量變化가 沈澱하지 않은 haemoglobin에 의해서 妨害가 일어난 것으로 생각된다. Vanillin-黃酸法에 의해서 haemoglobin處理후의 濾液의 相對 polyphenol含量的 變化는 pH, 溫度가 낮을 수록 haemoglobin과의 結合이 많아 hide powder 處理한 것과 비

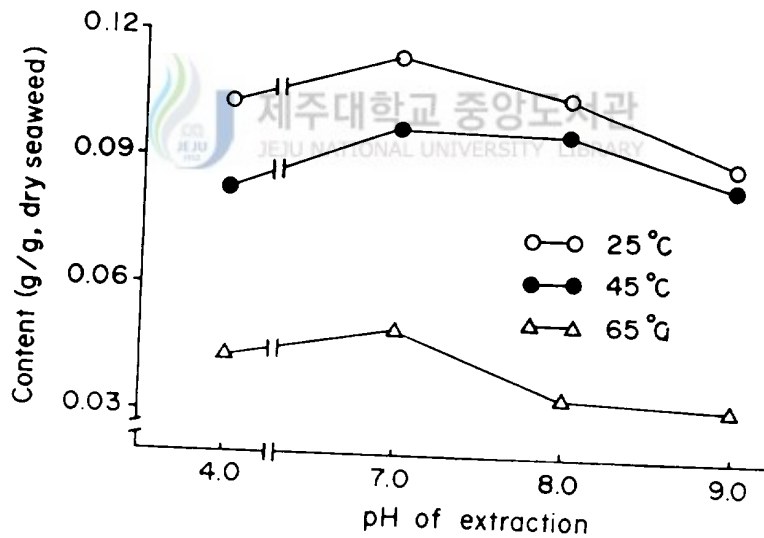


Fig. 16. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treated with haemoglobin measured by Folin-Denis' method.

슷한 現象을 나타내었으나 hide powder 處理한 것보다 pH 增加에 따라 그리 急激하게 結合力이 떨어지진 않았다. 그러나 65°C인 경우는, hide powder處理에서는 다소 變化가 있었는데 비하여 haemoglobin處理한 것은 거의 pH에 따른 變化가 없었으며 Fig.18에서와 같이 Brentamine試藥의 경우도 비슷한 樣相을 나타내었으나 25°C, pH 9.0의 處理가 45°C의 處理보다 조금 높은 값을 나타내었다.

3. 絶對 polyphenol含量的 變化

이상에서와 같이 總 polyphenol과 相對 polyphenol과는 상당한 性質의 差異를 나타내고 있는데 이것이 抽出時 溶媒處理差에 起因한 것인지 아니면 다른 原因에서 오는 것인지에 대하여는 자세한 研究가 있어야 할 것으로 생각되며, 그러나 Ragan과 Jensen(1977, 1978), Ragan과 Glombitza(1986)는 이에 대한 原因으로 定量防害物質의 存在, 發色試藥에 따른 polyphenol과의 反應部位의 差를 確認하여 相對 polyphenol을 絶對 polyphenol로 換算하는 EFs를 調査하였다. 즉, *Fucus vesiculosus*에서 海藻 polyphenol을 抽出하여 hide powder, haemoglobin을 處理하고 EFs를 算出하였는데, 전체적인 EFs는 高 分子量의 polyphloroglucinol과 低 분

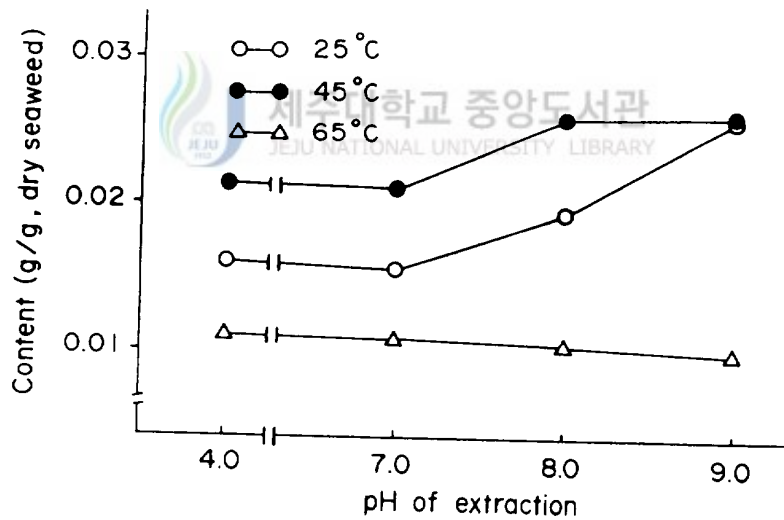


Fig. 17. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treated with haemoglobin measured by Vanillin-Sulfuric acid method.

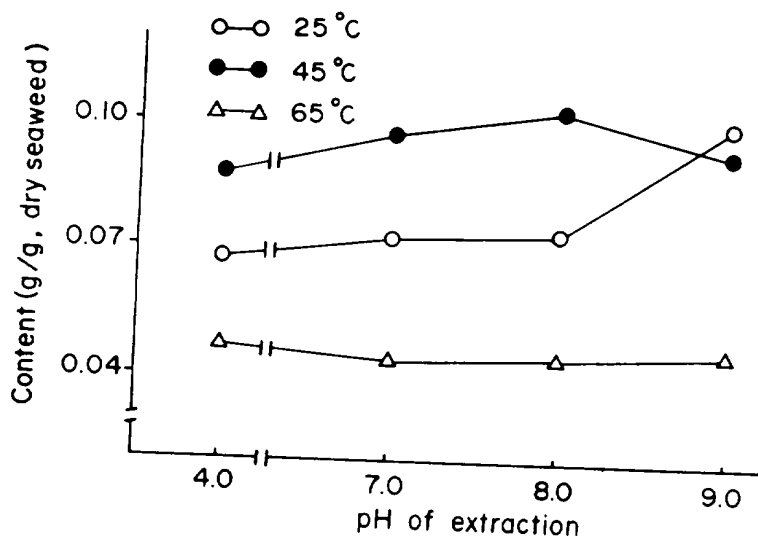


Fig. 18. Effects of temperature and pH of extraction on the contents of relative polyphenol in the solution filtered after treated with haemoglobin measured by Brentamine Fast Red 2G Salt' method.

子量の phloroglucinol 사이에 存在하여 Folin-Denis法인 경우 phloroglucinol에 關聯되어 1.0~2.2(Ragan과 Craigie, 1976), Brentamine Fast Red 2G 鹽의 EFs는 type 2 non-dialysable polyphloroglucinol로 1.0 부근, Vanillin-黃酸 EFs는 phloroglucinol로 關聯되어 1.0~16.0(Ragan, 1976)으로 報告하고 있다. 이와 같이 EFs가 서로 다른 이유는 比色反應에서의 差異, hide powder, haemoglobin과의 結合性的 差異, 抽出 polyphenol의 性質 등으로 보고 있다. 本 研究에서는 Folin-Denis法에서가 0.46~1.38, Brentamine Fast Red 2G 鹽의 EFs는 0.51~1.14, Vanillin-黃酸인 경우는 2.97~5.56으로 나타났으며 發色試藥과 抽出條件에 따른 EFs 및 絶對 polyphenol含量은 Table 2와 같다. 표에서와 같이 發色試藥에 따른 EFs는 Vanillin-黃酸인 경우가 가장 높았는데, 이는 比色收率이 가장 낮은 原因에 의한 것으로 생각되고 Brentamine Fast Red 2G 鹽을 사용한 EFs가 가장 變動幅이 작아 安定한 값을 나타내었다. 한편 絶對 polyphenol 含量은 抽出 溫度에 따라 顯著的 差異를 나타내고 있어 45°C에서가 가장 높았으나 相對 polyphenol과 달리 25°C, 65°C에서의 含量은 대부분 비슷하였고 pH 9.0에서는 65°C에 비하여

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 poly-phenol cont.(%)	EFs	Absolute poly-phenol cont.(%)	EFs	Absolute poly-phenol cont.(%)
25	4.0	0.58	3.79	3.84	4.08	0.59	3.54
	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

25°C 處理가 훨씬 높아 5.55~5.9%로 나타났다. 그리고 發色試藥의 差에 따른 含量의 變化는 低溫, 高溫의 경우는 거의 없었으나 가장 많이 抽出되는 45°C 處理에서는 조금씩의 差가 있었고, 또 pH에 따른 變化가 심하여 pH 7.0에서는 거의 절반인 4.59~5.05% 밖에 抽出되지 않았다.

4. Rv/fd置의 算定

抽出 polyphenol성 物質의 分子量 變化를 調査하기 위하여 Rv/fd를 算定하여 Table 3에 表示하였다. Ragan과 Jensen(1978)은 Rv/fd값이 낮을 수록 分子量이 높은 polyphenol(polyphloroglucinol)의 存在를 確認하였는데 本 研究에서는 65°C에서가 0.22~0.317로 가장 높아 低 分子量의 polyphenol이 存在함을 알 수 있었고 45°C에서는 0.16~0.183, 25°C에서는 0.151~0.221로 나타나 高溫으로 갈 수록

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

Rv/fd값이 높았으며 25°C에서는 pH가 7.0, 9.0, 45°C에서는 pH 4.0, 9.0, 65°C에서는 pH가 높을 수록 低 分子量의 polyphenol이 抽出되었음을 알 수 있었다. 이는 hide powder, haemoglobin處理後 濾液의 polyphenol含量變化에서도 비슷한 結果를 나타내었다. 즉, Rv/fd의 變化는 溫度에 의한 影響을 많이 받아 65°C에서는 polyphenol과 結合한 海藻蛋白의 變性에 起因한 低 分子量의 polyphenol이 抽出된 것으로 생각되고, 25°C, 45°C에서는 pH의 影響을 많이 받았다. 한편 Ragan과 Jensen(1977)은 Nova Scotian *Fucus vesiculosus*에서의 Rv/fd를 調查하여 0.125, Norwegian *Fucus vesiculosus*에서는 0.157로 報告하였는데 本 研究에서는 이 보다 높은 값을 나타내었다.

要 約

褐藻類 중 乾燥감태(*Ecklonia cava*)의 polyphenol성 物質의 抽出條件 및 定量에 관하여 溫度(25°C, 45°C, 65°C) 및 pH(4.0, 7.0, 8.0, 9.0)에 따라 抽出하고, 이들 polyphenol量을 Folin-Denis, Vanillin-黃酸, 그리고 Brentamine Fast Red 2G 鹽의 方法에 따라 總, 相對, 絶對 polyphenol로 比較 檢討하였다.

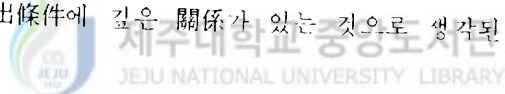
總 polyphenol에서는 抽出溫度가 높아 질수록 높은 含量을 나타내었고, 全體적으로 9.6~22%(w/w)에 達하였다.

相對 polyphenol에서는 定量方法과 抽出溫度에 따라 큰 差異를 나타내었는데, 45°C에서가 가장 높은 含量을 나타내었다.

絶對 polyphenol을 算出하기 위한 EFs(推算因子)에서는 Brentamine Fast Red 2G 鹽을 使用한 方法이, 使用된 3가지 方法중에서 가장 有用한 것으로 看做되었다.

絶對 polyphenol에서는 45°C, pH 4.0에서 抽出한 條件이 가장 높은 값을 나타내었다.

抽出 polyphenol의 分子量 範圍는, hide powder와의 結合力과 R_v 값으로 부터 推定한 結果, 抽出條件에 깊은 關係가 있는 것으로 생각된다.



參 考 文 獻

- Craigie, J. S. and J. Mclachlan. 1963. Excretion of coloured ultraviolet-absorbing substances by marine algae. *Can. J. Bot.*, 42: 23~33.
- Fogg, G. E., 1958. Extracellular products in pure cultures of a brown algae. *Nature*. London, 181: 789~790.
- Hangerman, A. E. and L. G. Butler. 1980. Condensed tannin purification and characterization of tannin-associated proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 28: 947~952.
- Hangerman, A. E. and L. G. Butler. 1980. Determination of protein in tannin-protein precipitates. *J. Agric. Food Chem.*, 28: 944~947.
- 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.
- 姜永周, 1981. 海藻類色素의 食用化에 관한 研究. 乾燥감태 着色成分의 抽出과 利用에 대하여. 濟州大學 論文集, 12: 199~203.
- 姜永周, 康順善, 1984. 미역의 polyphenol성 化合物에 관한 研究. 濟州大學 論文集, 18: 139~146.
- Kylin, H., 1912. Biologishe analyse des mearwassers. *K. fysior. Sällsk. Lund. Förh.* 11(5): 1~26.
- 中林敏郎, 1968. 果實および野菜類のタンニン成分. *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.
- Mclachlan, J. and J. S. Craigie. 1964. Algal inhibition by yellow ultraviolet absorbing substances from *Fucus vesiculosus*. *Can. J. Botany.*, 42(3): 287~292.
- 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 nodosum* (L.) Le Jol. and *Fucus vesiculosus* (L.). J. exp. mar. Biol. Ecol., 34: 245~258.
- Ragan, M. A. and J. 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., C. M. Ragan and A. Jensen. 1980. Natural chelators in sea water: Detoxification of Zn^{2+} by brown algal polyphenols. J. exp. mar. Biol. Ecol., 44: 261~267.
- 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.

謝 辭

本 研究를 遂行함에 있어서 처음부터 끝까지 指導하여 주신 姜永周 教授님, 그리고 校閱하여 주신 宋大鎭 教授님, 金在河 教授님, 金洙賢 教授님, 河礎桓 教授님께 깊이 感謝드리며 또한 줄곧 實驗을 도와 주신 食品工學科 康東燮 先生님께도 感謝를 드립니다. 그리고, 바쁜 與件속에서도 激勵을 아끼지 않으신 (株) 現代化 晟 宋連鳳 社長님을 비롯한 全 任職員 여러분께 感謝드리며 끝으로, 오늘이 있기 까지 뒷 바라지 해 주신 父母님과 兄弟들, 그리고 많은 勇氣를 북돋아준 아내에게 이 論文을 바칩니다.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY