

蛋白質 沈澱劑의 處理 및 水洗에 의한 寒天의 精製

李鎬碩 · 李 哲 · 梁漢結

高麗大學校 食品工學科

A Study on the Purification by Protein Precipitants and Washing of Agar

Ho Suck Lee, Chul Rhee and Han Chul Yang

Department of Food Technology, Korea University, Seoul

Abstract

In this study, an effective method for purifying of crude agar was attempted, and at the same time, the effect of crude protein and ash contained in impurified agar on the gel strength of the agar were investigated. In order to reduce the content of protein of crude agar, the agar extract was treated with a protein precipitant such as trichloroacetic acid(TCA) or perchloric acid(PCA), whereas washing with deionized water was applied to decrease the ash content of agar extract. Among the protein precipitants used in the experiment PCA reduced the crude proteins of crude agar most efficiently; addition of 0.01% PCA resulted in the reduction of crude protein content by 3%, and the gel strength of agar thereby increased from 220g/cm² to 402g/cm². High ash content of crude agar was removed by means of washing treatment and it decreased from 8.7% to 2.7%, leading to the gel strength of 530g/cm².

緒 論

寒天은 紅藻類의 細胞壁成分인 粘質의 複合多糖類를 抽出하여 乾燥한 製品으로서 一種의 膠質物質이며,⁽¹⁻³⁾ 溫度에 따라 sol과 gel의 狀態로 變化하는 特異한 性質을 가지고 있으므로 食品 및 微生物의 固体培地 등으로 널리 利用되고 있다.

우리나라에서 製造되는 食品用 寒天과 外國의 食品用 寒天과는 그다지 큰 差異를 보이지 않으나 試藥用 寒天의 경우는 뚜렷한 差異를 보이고 있다. 特히 不充分한 精製로 인한 낮은 gel強度는 時急히 改善되어야 할 問題點으로 남아 있는데 이는 從來의 寒天 精製操作이 단지 凍結 融解過程의 反復에 局限되었기 때문이라 생각된다. 따라서, 本實驗은 國內에서 生産된 質이 낮은 食品用 寒天을 利用하여 寒天의 質의 向上을 도모하고자 蛋白質, 灰分의 除去工程을 단계적으로 行하였다. 그리고 寒天의 品質을 向上시키고 나아가 各 단계에서의 最適條件을 조사하여 寒天精製에 관한 기초 자료를 얻고자 外國의 精製寒天과 本實驗을 통하여 製造된 精製寒天의 物理化學의 性狀을 比較 檢討하였다.

材料 및 方法

材料

本實驗에 試料로 使用한 寒天은 市販되는 食用寒天을 購入하여 利用하였으며 精製寒天으로는 日本産 純正一版 粉末寒天을 使用하였다.

試料로 使用한 寒天和 標準品으로 使用한 日本産 寒天의 一般成分, gel強度 및 SO₄의 組成은 Table 1. 과 같다.

除蛋白質試料의 調製

市販寒天 2% 溶液을 調製한 후, 三氯化醋酸(Trichloroacetic acid(TCA))와 過塩素酸(Perchloric acid(PCA))를 各各 0.005%, 0.01%, 0.02%, 0.04%, 0.06%, 0.08% 添加하여 中和한 후 通風乾燥(30℃, 10±0.5hr)하여 試料로 使用하였다.

灰分除去 試料의 調製

市販寒天 2% 溶液을 調製한 후 이를 冷却하여 形成된 gel을 잘게 잘라 4, 8, 12, 16時間을 純水에 浸漬

Table 1. The Physico-chemical Characteristics of Junsei Agar and Crude Agar

	Junsei Agar	Crude Agar
Crude Protein(%)	1.0	4.0
Ash (%)	1.1	8.7
Lipid	-	-
Gel Stength(g/cm ³)	690	220
SO ₂ (%)	0.9	2.9
Colloid Substances(%)	97.9	87.3

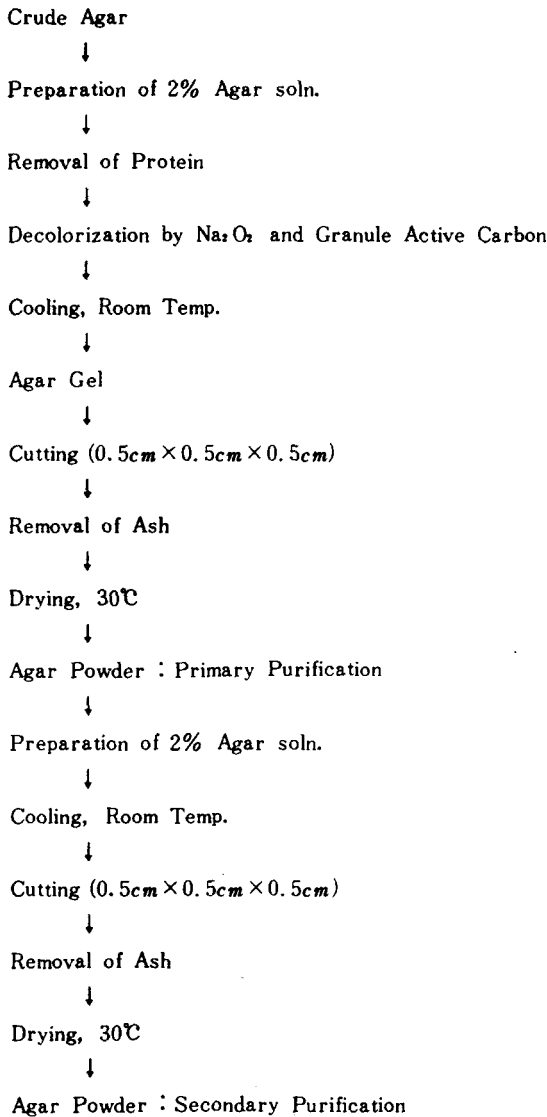


Fig. 1. Flow Chart for the Purification of Agar

하여 진탕한 후 건조하여 灰分除去 試料로 使用하였다.

精製寒天의 調製

Fig. 1 과 같이 調製하였다.

一般成分 分析 및 gel強度的 測定

一般成分은 常法⁽⁴⁾에 準하였고, gel強度的 測定은 日寒水式 Jelly強度計를 使用하여 gel의 強度를 測定하였다.

各 pH에서 gel強度的 測定

日本産 寒天을 3g씩 精稱한 후 各 溶液의 pH를 2~13까지 調整한 후 gel의 強度를 測定하였다.

全 SO₂量의 測定

Christian의 方法⁽⁵⁾에 準하여 測定하였다.

Gel化溫度 및 融解溫度의 測定

직경이 15mm인 시험관에 1.5%寒天溶液을 5ml씩 取한 후 40°C 水槽에서 1時間 放置한 다음 溫度를 0.5°C씩 下降하면서 시험관 내부의 寒天境界面이 水平으로 되어 傾斜지지 않을 때의 溫度를 gel化溫度로 하였다. 融解溫度는 上記한 것과 같이 寒天溶液을 넣은 후 20°C 恒溫器에서 1時間 放置하고 난 다음 gel의 中央에 작은 구슬(직경 1mm, 25mg)을 놓고 70°C의 水槽에서 溫度를 徐徐히 上昇시키면서 구슬이 시험관 밑바닥으로 떨어질때의 溫度를 gel融解溫度로 하였다.⁽⁶⁾

Agarpectin (AP) 및 Agarose (AG)의 調製

AG와 AP의 分離는 DMSO法⁽⁶⁾에 의하여 分離하였다.

結果 및 考察

pH에 의한 gel強度的 变化

寒天은 冷却하면 gel狀態로 되는데 gel強度는 寒天의 品質基準이 되고 있다.

따라서, 各 pH에서 gel強度를 測定하고 gel 強度가 가장 높은 때의 pH를 調査한 結果는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 pH2와 13에서는 gel이 전

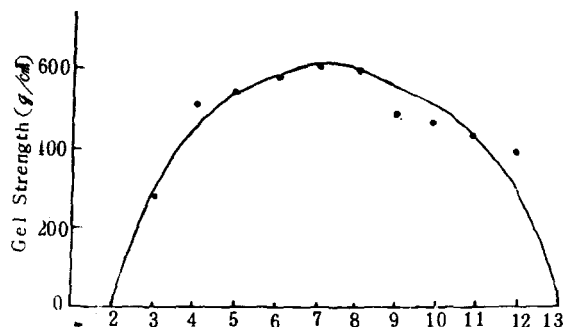


Fig. 2. The Effect of pH on Gel Strength

혀 形成되지 않았는데 Metsuhashi⁽¹⁾와 Kojima, Funaki⁽²⁾의 報告에 의하면 寒天抽出時 酸이나 알칼리 濃度가 높게 되면 이들의 作用에 의하여 寒天이 加水分解되어 gel을 形成하지 않는다고 하였다. 따라서 各 pH에서 gel強度를 調査한 結果, 中性 附近이 가장 높게 나타났으므로 모든 試料 調製時 gel強度를 고려하여 pH를 中性부근으로 調整하여 試料를 調製하였다.

除蛋白과 gel強度와의 關係

除蛋白의 方法은 一般적으로 陽이온 처리법⁽⁴⁾ 및 陰

이온을 가진 酸의 처리법⁽⁸⁻¹¹⁾ 등이 있다. 따라서 本實驗에서는 가장 一般적으로 使用되고 있는 TCA와 PCA를 使用하여 除蛋白을 行하였는데 이때 粗蛋白質의 含量과 gel強度와의 關係는 Fig. 3과 4와 같다. TCA 및 PCA의 添加量을 높일수록 除蛋白 效果는 增加하나 gel強度는 TCA처리 0.02% 濃度일때 最高值를 나타내었다가 添加量을 增加시킴에 따라 gel強度가 完만하게 低下하는 傾向이었고, PCA처리 0.01% 濃度일때 最高值를 나타내었다가 添加量을 增加시킴에 따라 gel強度는 급격히 低下하는 傾向을 나타내었다.이

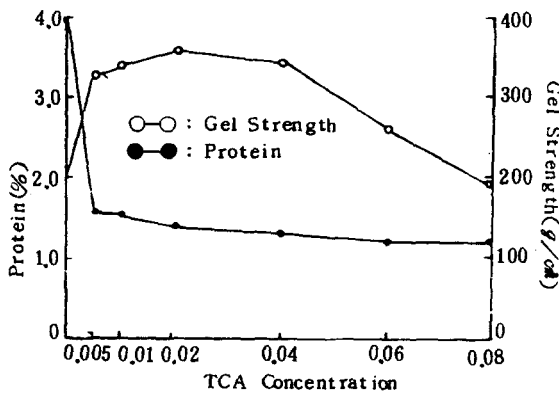


Fig. 3. The Effect of TCA Concentration on Gel Strength and Removal of Protein

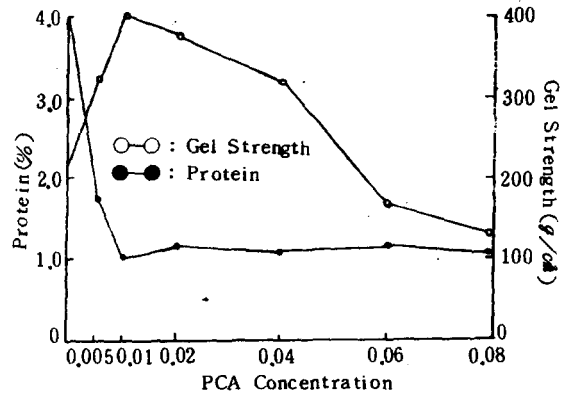


Fig. 4. The Effect of Perchloric acid Concentration on Gel Strength and Removal of Protein

Table 2 The Effect of TCA Concentration on Gel Strength and Removal of Protein

	Control	TCA Concentration					
		0.005%	0.01%	0.02%	0.04%	0.06%	0.08%
Crude Protein (%)	4.0	1.6	1.6	1.4	1.3	1.2	1.2
Ash (%)	8.7	4.5	4.5	4.8	4.7	4.9	5.6
Colloid Substances (%)	87.3	93.9	93.9	94.0	94.0	93.9	93.2
Gel Strength (g/cm ²)	220	326	340	357	342	261	197
SO ₃ (%)	2.9	1.8	1.4	2.1	2.2	1.2	1.5
Gelation Temp. (°C)	54.0	34.0	34.3	33.2	33.4	33.5	33.3
Gel Melting Temp. (°C)	75.0	81.3	79.5	79.8	76.2	74.2	78.2

Table 3. The Effect of PCA Concentration on Gel Strength and Removal of Protein

	Control	PCA Concentration					
		0.005%	0.01%	0.02%	0.04%	0.06%	0.08%
Crude Protein (%)	4.0	1.7	1.0	1.2	1.1	1.2	1.1
Ash (%)	8.7	5.2	4.7	5.3	6.8	7.0	7.5
Colloid Substances (%)	87.3	93.1	94.3	93.5	92.1	91.8	91.4
Gel Strength (g/cm ²)	220	321	402	374	320	169	122
SO ₃ (%)	2.9	1.6	1.1	0.9	0.3	0.5	0.7
Gelation Temp. (°C)	54.0	33.6	33.5	33.5	34.5	34.8	33.3
Gel Melting Temp. (°C)	75.0	84.0	76.8	83.9	81.1	80.4	80.5

때 gel強度는 PCA, TCA의 경우 各各 402, 357g/cm²로 原料寒天에 비해 1.8, 1.6倍 增加하였다. TCA 및 PCA의 添加量을 높임에 따라 gel強度가 低下하는 것은 酸加水分解에 기인하는 것으로 생각된다. TCA 및 PCA 처리에 의한 寒天의 物理化学的 性狀의 變化는 Table 2와 3과 같다.

粗蛋白質의 含量은 酸(TCA 및 PCA)의 濃度를 높임에 따라 계속해서 減少하였다.

SO₃含量은 TCA 및 PCA 처리구 모두 무처리구에 비해 뚜렷한 차이를 찾아볼 수 없었다.

gel化溫度는 무처리구에서는 54.0℃였으나 TCA 경우 33.3~34.3℃, PCA 경우 33.3~34.8℃였으며, gel融解溫度는 무처리구는 75.0℃, TCA 경우 74.2~81.3℃, P PCA 경우는 76.8~84.0℃의 범위였다.

일반적으로 보아 gel化溫度 및 gel融解溫度는 酸 처리에 의해 不規則한 變化를 나타내었다.

이상의 結果를 綜合해 보면 TCA나 PCA처리가 寒天의 物理化学的 性狀에 큰 變化를 주지 않는 범위내에서 除蛋白의 効果와 gel強度의 增加등을 考慮해 볼 때 TCA 및 PCA처리는 相當히 効果的이라 생각되며 또 TCA보다는 少量으로 除蛋白이 可能한 PCA처리가 더욱 効果的이라 생각된다.

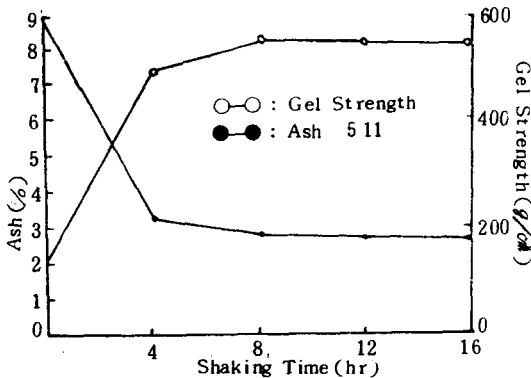


Fig. 5. The Effect of Shaking Time on Gel Strength and Removal of Ash

灰分과 gel強度와의 關係

寒天의 灰分含量과 gel強度와의 關係는 Fig. 5와 같고 세정시간에 따른 物理化学的 性狀의 變化는 Table 4와 같다.

灰分의 含量은 反復해서 洗滌함에 따라 현저하게 감소하여 原料寒天 8.7%에 비해 세척 4時間후에는 약 2.6倍 減少한 반면 gel強度는 洗滌함에 따라 계속해서 增加하여 洗滌 8時間후에는 544g/cm²로서 最高 値를 나타내었다가 그후 서서히 減少하는 傾向을 나타내었다. 이와 같은 現狀은 gel形成에 妨害因子로 存在하는 金屬이온들이 除去됨에 따라 灰分의 含量은 減少되고 相對的으로 gel強度는 急激히 增加된 것으로 생각된다.

本 實驗에서 洗滌함에 따라 gel強度가 增加하는 또 다른 要因은 粗蛋白質과 SO₃의 含量變化를 들 수 있다. 즉 粗蛋白質은 原料寒天에 비해 洗滌 4時間후에는 약 0.9%, SO₃는 0.2%로 減少하였다.

Agarose (AG) 및 Agarpectin (AP)의 分離 및 精製寒天의 物理化学的 性狀

AG와 AP를 構成된 寒天은 AG와 AP의 比率에 따라서 物理化学的 性狀이 變하는데 本 實驗에서는 DM SO法으로, 原料로 쓰인 食品用 寒天, 本 實驗을 통해 製造된 一次, 二次 精製寒天和 日本産 寒天의 AG 와 AP를 分離하여 그 性狀을 比較調査하였는데 그 結果는 Table 5와 같다. Table 5에서 보는 바와 같이 AP의 含量은 原料寒天에 가장 많아 18.2%, 一次精製寒天은 13.0%, 二次精製寒天은 6.8%였으나 日本産寒天은 AG의 含量이 높은 반면 AP은 2.9%로 그 含量이 매우 낮다는 것을 알 수 있다. 寒天의 AG와 AP의 含量은 곧 이들의 品質에 직접적인 關係가 있기 때문에 一次, 二次精製 寒天의 AP이 13.0%, 6.8%로 높다는 것은 차후 檢討해야 할 문제라고 생각된다. 또, AP의 含量을 낮춰야 하는 主要因은 gel強度와 밀접한 關係가 있는 灰分과 SO₃의 대부분이 AP에 存在한다는 事實을 들 수 있다. 즉, AP의 含量이 낮은 寒天은 gel強度에

Table 4. The Effect of Shaking Time on Gel Strength and Removal of Ash

	Control	4h	8h	12h	16h
Crude Protein(%)	4.0	0.9	1.0	0.9	1.1
Ash(%)	8.7	3.3	2.8	2.7	2.7
Colloid Substances(%)	87.3	95.8	96.2	96.4	96.2
Gel Strength(g/cm ²)	220	490	544	5	5
SO ₃ (%)	2.9	0.2	0.4	0.2	0.3
Gelation Temp. (°C)	54.0	35.1	34.7	34.9	34.0
Gel Melting Temp. (°C)	75.0	81.3	77.0	77.9	76.0

Table 5. The Contents of Agarose (AG) and Agaropectin (AP) in Junsei Agar, Crude Agar, Primary Purified Agar and Secondary Purified Agar

	Junsei	Agar	Crude	Agar	Primary Purified Agar		Secondary Purified Agar	
	AG	AP	AG	AP	AG	AP	AG	AP
Content (%)	97.1	2.9	81.8	18.2	87.0	13.0	93.2	6.8
Ash (%)	0.5	11.5	1.6	11.0	0.9	10.6	0.7	11.0
SO ₂ (%)	0.1	5.1	0.4	1.2	0.1	1.9	0.1	1.7

Table 6. The Physico-chemical Characteristics of Primary Purified Agar and Secondary Purified Agar

	Control	Primary Purified Agar	Secondary Purified Agar
Crude Protein (%)	4.0	1.1	1.0
Ash (%)	8.7	3.7	1.8
Lipid	—	—	—
Gel Strength (g/cm ²)	220	521	781
SO ₂ (%)	2.9	0.9	0.9
Colloid Substances (%)	87.3	95.1	97.2

妨害가 되는 灰分 및 SO₂의 含量이 적으므로 상대적으로 gel強度가 높다는 것을 推定할 수 있다.

原料寒天, 一次 및 二次精製寒天의 物理化学的 性状은 Table 6 과 같다. 粗蛋白質은 原料寒天 4.0%에 비해 一次精製寒天은 1.1%, 二次精製寒天은 1.0%로 減少하였고 SO₂含量은 原料寒天 2.9%에 비해 一次 및 二次精製寒天 모두 약 0.9%로 減少하였다. 灰分 역시 精製함에 따라 減少하는 傾向이었다. 한편, gel強度는 精製함으로써 521g/cm², 781g/cm²로서 原料寒天에 비해 훨씬 높다는 것을 알 수 있었다. 이처럼 gel強度가 增進된 것은 上記한 粗蛋白質, 灰分 및 SO₂含量이 減少하기 때문이라 생각되며, 精製함에 따라 gel強度가 현저히 增加되는 것은 寒天 精製의 기초자료로서 相當히 意義가 있다고 생각된다.

要 約

本 研究에서는 寒天의 粗蛋白質, 灰分の 除去方法 및 gel強度에 미치는 影響을 檢討하였다. 粗蛋白質 및 灰分の 除去方法으로서 Trichloroacetic acid(TCA) 와 Perchloric acid(PCA)의 添加處理 및 水浸法을 使用하였으며 그 結果는 다음과 같다.

粗蛋白質 除去工程에서 蛋白質 沈澱劑로는 PCA 가 TCA보다 더 効果的이었다. 0.01% PCA添加時 粗蛋白質 含量은 4.0%에서 1.0%로 減少하였고, gel強度는 原料寒天 220g/cm²에 대하여 402g/cm²로 增加하였다. 灰分除去工程을 12時間 水浸狀態로 進行之로서 灰分

이 8.7%에서 2.7%로 減少하였고 gel強度는 原料寒天 220g/cm²에 대해 530g/cm²로 增加하였다. 그러나 灰分含量의 變化가 3% 미만에서는 gel強度에 미치는 影響이 거의 없었다.

文 獻

1. Matsushashi, T. : *J. Food Sci.*, 42(5), 1396(1977)
2. 林金雄, 岡崎彰夫 : 寒天 handbook. 光琳書院, 東京, 日本 (1970)
3. Glicksman, M. : *Gum Technology in the Food Industry*, (Academic Press), 204 (1968)
4. A. O. A. C. : "Official Methods of Analysis", 13th ed., Washington, D. C. (1980)
5. Christian, G. D. : *A. Chemistry*, 3rd ed., Wiley, 131(1980)
6. 勝浦嘉久次, 布施恒明, 狩野和夫 : 日農化誌, 68(1), 205(1969)
7. Kojima, Y. and Funaki, K. : *Bull. Japan. Fish. Soc.*, 16(9), 405(1951)
8. 延世大 医大 生化学 教室 編纂 : 生化学, pp, 41(1976)
9. Kim, J. P. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, 6(1), 17(1974)
10. Park, Y. H., Pyeun, J. H., Oh, H. K. and Kang, Y. J. : *Bull. Korean Fish. Soc.*, 9(3), 151(1976)
11. Ryu, H. S. and Lee, K. H. : *Bull. Korean Fish. Soc.*, 10(3), 151(1977)

(1985년 5월 11일 접수)