

우뭇가사리로부터 한천의 추출 및 정제

도 정 룡
한국식품개발연구원

Extraction and Purification of Agar from *Gelidium amansii*

Jeong-Ryong Do

Korea Food Research Institute, 46-1 Baekhyun Bundang, Kyunggi-Do 463-420, Korea

The effect of different treatments on the quality and yield of purified agar produced from *Gelidium amansii* has been studied, and the extraction condition of agar produced from *G. amansii* has been examined.

The contents of ash, sulfate in agar produced from *G. amansii* collected from different places were 2.63~2.92 % and 1.38~1.78%, respectively. Yields and gel strength of agar produced from *G. amansii* collected from different places were 31.6~46.8% and 496~887 g/cm², respectively. It was effective to extract agar at 120°C for 2~3hrs.

Agar was purified by D.W. washing, EDTA washing, chitosan treatment, CPC treatment, PEG treatment, ethanol precipitation, acetone precipitation and propanol precipitation. The mineral contents of agar produced from *Gelidium amansii* were Na (2934ppm), Ca (2472ppm), Mg (2259ppm), K (2527ppm), P 1(81.1ppm), Fe (66.4ppm), Al (71.7ppm), Zn (29.7ppm) and Pb (ND: not detected), respectively.

Key words : purified agar, *gelidium amansii*, gel strength, mineral

서 론

식품공업, 의약, 미생물 배지 그리고 화장품 등의 다양한 용도를 가진 한천은 홍조류에 함유되어 있는 점질성 복합다당류이다. 국내에서 생산되는 한천원조는 수율과 품질에 있어서 매우 우수하며, 국내의 한천 생산량은 전 세계 생산량의 약10%인 500톤에 달한다(농림부, 1996). 그중 60~70%는 일본 등지로 수출하고 있고, 나머지 30~40%는 식품 가공용으로 국내에서 소비되고 있다. 수출되는 한천의 대부분은 단순가공 처리한 제품들이고 고품질의 의약품, 미생물 배지 그리고 연구용 한천은 거의 모두 수입에 의존하고 있는 실정이다. 한천에 관한 국내의 연구로는 한천원조의 성분 변화, 전처리 조건 그리고 한천의 성분 조성에 대한 연구가 대부분이며, 한천 제품의 품질을 고급화하기 위한 연구는 매우 부족한 상황이다(Park, 1969; Park et al., 1985; Yoon and Park, 1984; Lee et al., 1985). 따라서 본 연구에서는 국내 연안의 여러 지역에서 생산되는 한천원료의 수율, 추출조건 그리고 이화학적 특성을 조사하였으며, 국내산 우뭇가사리로부터 추출한 한천을 여러 가지 방법으로 정제하고 정제된 한천의 수율 및 이화학적 특성을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

실험에 사용한 한천원료는 1996년 2월에 남해안의 다대포, 송도, 광안리, 대변 그리고 일광에서 채취한 우뭇가사리(*Gelidium amansii*)와 자갈치 시장에서 구입한 제주도 및 울릉도산 우뭇가사리를 연구실로 운반하여 이물질을 제거하고 열풍건조기로 건조한 후 밀봉하여 보관하면서 사용하였다.

2. 실험방법

한천의 수율은 시료에 40배량의 증류수를 넣고 120°C에서 일정시간 가압추출하고 감압여과 장치로 여과하여 얻은 여과액을 겔화한 후 동결 해동하여 탈수하고 건조하여 수율을 구하였다. 위의 방법으로 얻은 한천중의 황산염 함량은 Dodgson and Price (1962)의 방법에 따라 측정하였고, 회분함량은 건식회화법으로 측정하였다(AOAC, 1990). 그리고, 한천의 겔강도는 한천 농도가 1.5%가 되도록 한천겔을 제조하여 Texture analyser (stable micro systems)로 3회 측정하여 평균값을 구하였다.

한천의 정제과정 중에서 증류수에 의한 수세 처리 과정은 분말한천에 40배량(V/W)의 증류수를 넣고 하루동안 교반하여 저온에서 수용성 성분을 제거하였다. 그리고, 탈수 후 건조한 시료를 증류수 수세 시료로하였고, 탈수 후 아세톤을 첨가하여 아세톤 가용성 성분과 잔존하는 수분을 제거하고 건조한 시료를 수세 및 아세톤 탈

수 시료로 하였다.

EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid salt) 수세 처리에 의한 정제 과정은 분말한천에 0.02M EDTA용액을 40배량 (V/W) 넣고 하루동안 교반하여 저온에서 가용성 성분을 제거 하였다. 그리고, 증류수로 EDTA를 수세하고 여과 건조한 시료를 EDTA수세 시료로 하였다.

키토산 처리에 의한 한천 정제 과정은 2% 한천용액 500 ml에 1% 키토산용액 100 ml를 첨가하고 70~90°C에서 20분간 교반한 후, 70°C에서 하룻밤 방치하고, 여과 또는 원심분리하여 침전물을 제거하고 상층액을 취한다. 상층액을 상온에서 결화하고 동결 해동하여 탈수 및 잔존 키토산을 제거하고 제조한 시료를 키토산 처리 시료로 하였다.

PEG (polyethyleneglycol) 처리에 의한 한천 정제 과정은 4% 한천용액 500 ml에 PEG 100 g을 첨가하고 10분간 70~90°C에서 교반한 후, 상온에 1시간 정도 방치하면 침전물이 생성된다. 상층액을 경사법으로 최대한 제거하고 침전물에 아세톤을 가하여 여과하는 조작을 반복하여 PEG를 제거 하고 건조한 시료를 PEG처리 시료로 하였다.

CPC (cetylpyridinium chloride) 처리에 의한 한천 정제 과정은 2% 한천용액 500 ml에 CPC 3g을 10 ml의 증류수에 녹여 첨가하고 70~90°C에서 20분간 교반한 후, 70°C에서 하룻밤 방치하고, 여과 또는 원심분리하여 침전물을 제거하고 상층액을 취한다. 상층액에 아세톤을 가하여 침전시키고 여과하는 조작을 반복하여 잔존하는 CPC를 제거하고 건조한 시료를 CPC 처리 시료로 하였다.

에탄올 침전 처리에 의한 한천 정제 과정은 2% 한천용액 500 ml에 포화식염수 1 ml와 에탄올 1.5리터를 교반하면서 첨가하여 침전물을 생성시켰다. 여과에 의하여 침전물을 회수하고 건조한 시료를 에탄올 침전처리 시료로 하였다. 아세톤과 프로판올 침전처리 시료도 에탄올 처리와 동일한 방법으로 처리 하였다.

결과 및 고찰

1. 한천의 추출조건과 이화학적 특성

한천의 제조공정은 원조의 전처리 (세정, 표백), 추출, 여과, 탈수 (응고절단, 동결, 해동, 탈수한 한천겔의 수세, 원심탈수), 건조, 분쇄 그리고 포장의 여러 가지 과정을 거치게 된다. 위의 제조과정 가운데 추출공정은 한천의 수율 및 물성에 가장 큰 영향을 미치므로 추출온도와 시간에 따른 수율을 살펴보았다. 제주산 우뭇가사리를 원료로 하여 100°C에서 1, 2, 3, 4 그리고 5시간 추출했을 때 16.9, 22.8, 31.1, 32.2 그리고 33.1%의 수율을 나타내었고,

120°C에서 1, 2, 3 그리고 4시간 추출했을 때의 수율은 36.4, 42.1, 43.3 그리고 43.6%이었다 (Table 1). 한천수율을 살펴본 위의 결과로부터 추출시간이 길고 추출온도가 높을수록 수율이 증가하는 것을 알수 있었으며, 100°C에서 추출하는 것 보다 120°C에서 추출하는 것이 수율면에서는 월등히 좋은 것으로 나타났으며, 우뭇가사리를 원료로 한천질을 추출 하고자 할 때에는 120°C에서 2~3시간 추출하는 것이 좋았다.

Table 1. Yields of agar according to extraction temperature and time

Extraction Time (hrs)	Extraction Temperature	
	100°C	120°C
1	16.9	36.4
2	22.8	42.1
3	31.1	43.3
4	32.2	43.6
5	33.1	-

한천의 수율 및 품질은 추출 조건 뿐만 아니라 한천원료의 산지와 생산시기에 따른 영향이 큰 것으로 알려져 있다 (Yoon and Park, 1984). 따라서 남해안의 다대포, 송도, 광안리, 대변 그리고 일광에서 채취한 우뭇가사리와 제주도 및 울릉도산 우뭇가사리를 구입하여 한천질을 추출하고 이화학적 특성을 살펴보았다. 동일한 조건 (120°C, 4시간)에서 추출한 한천의 수율은 31.6~46.8%로 산지에 따른 수율의 차이가 매우 컸고, 울릉도산 및 제주도산 우뭇가사리의 수율이 46.8% 및 43.6%로 매우 좋았다. 겔강도는 496~887 g/cm²로 산지에 따른 차가 매우 컸고, 동해안 (대변, 일광)산 우뭇가사리에서 추출한 한천의 겔강도가 887 및 854 g/cm²로 매우 강하였다. 추출한 한천 중의 회분함량은 2.63~2.92%로 산지에 따른 차이는 크지 않았고, 한천의 품질에 중요한 영향을 미치는 황산기의 함량은 1.38~1.78%로 울릉도산 우뭇가사리에서 추출한 한천이 가장 낮았다 (Table. 2).

Park et al. (1985)은 염산, 황산, 수산을 농도별로 처리하여 참우뭇가사리로 부터 한천을 추출하고 (100°C, 1시간), 추출한 한천의 수율과 물성을 조사한 결과, 0.007N 염산추출시 수율이 38.7%로 가장 높았고, 0.005N 염산추출시 겔강도가 511 g/cm²로 가장 높았고, 회분함량과 황산기 함량이 가장 낮았다고 보고하였다. Matsushashi (1977)는 0.1N 염산으로 전처리한 원조 (우뭇가사리속)로 추출하면 수율이 높고, 겔강도도 좋은 한천을 제조할 수 있다고 하였다. 본 연구에서도 한천의 수율과 품질을 개선하고자 우뭇가사리를 0.1N 염산으로 10°C에서 30, 60,

Table 2. The physicochemical characteristics of agar extracted from *Gellidium amansii* collected at various places

Collection Place	Yield (%)	Gel strength (g/cm ²)	Ash (%)	Sulfate (%)
Dadaepo	38.4	565	2.63	1.45
Songdo	31.6	635	2.77	1.77
Ganganri	36.0	496	2.75	1.71
Daepyeun	34.3	854	2.66	1.78
Ilgwang	33.0	887	2.92	1.68
Chejudo	43.6	592	2.79	1.56
Ulreungdo	46.8	595	2.88	1.38

* Extraction condition : 120°C for 4hrs

Table 3. The physicochemical characteristics of agar extracted from *Gellidium amansii* pretreated 0.1N HCl

Collection Place	Yield (%)	Gel strength (g/cm ²)	Ash (%)	Sulfate (%)
0	43.3	592	3.22	1.89
30	43.3	585	3.06	1.83
60	41.9	480	3.18	1.69
90	40.3	471	2.89	1.64
120	39.7	295	2.41	1.56

*Extraction condition : 120°C for 3hrs

Acid pretreatment : 10°C with 0.1N HCl

Table 4. The physicochemical characteristics of purified agar

Samples	Sulfate (%)	Ash (%)	Gel strength (g/cm ²)	Yield (%)
Agar from <i>Gellidium amansii</i>	2.20	2.42	618	100.0
After D.W. washing	1.66	1.65	650	94.1
After D.W. washing, acetone dehydration	1.28	1.62	895	89.0
After 1×repeated EDTA washing	1.26	1.93	530	77.1
After 2×repeated EDTA washing	1.20	1.84	524	73.1
After 3×repeated EDTA washing	1.11	1.82	527	71.9
After Chitosan treatment	0.87	1.22	755	62.3
After PEG treatment	0.94	1.34	645	55.6
After CPC treatment	1.32	1.78	1180	56.7
After Ethanol precipitation	1.22	2.10	637	96.0
After Acetone precipitation	1.15	1.80	635	94.5
After n-Propanol precipitation	1.34	1.94	720	92.1

90 그리고 120분간 전처리하여 한천을 제조하고 수율, 겔강도, 회분 그리고 황산기 함량을 측정하였다. 그 결과 염산으로 전처리하여 추출 (120°C, 3시간)하는 경우에는 전처리하지 않은 시료에 비하여 오히려 수율이 감소되었고, 겔강도도 처리시간이 길어질수록 비례하여 감소하였다. 그 이유는 전처리 단계에서 한천질의 부분가수분해가 일어났기 때문으로 생각된다. 그러나 회분 및 황산기 함량은 감소하는 것으로 나타났다 (Table 3).

2. 한천의 정제

한천 정제의 의미는 한천 구성성분 이외의 불순물을 제거하는 것으로 볼 수 있으며 넓은 의미로는 한천의 주 구성성분인 아گار오스의 분리정제도 포함된다.

제주산 우뭇가사리에서 추출한 한천을 사용하여 증류수 처리, 증류수 처리후 아세톤 탈수, EDTA 처리, 에탄올 침전 처리, 아세톤 침전 처리 그리고 프로판올 침전 처리 등의 다양한 방법으로 한천을 정제하였으며, 정제 한천의 황산기, 회분 함량 및 한천의 주요한 특성인 겔강도를 측정하였다 (Table 4).

증류수를 사용하여 한천을 정제한 결과 불순물로 함유

된 황산기와 회분을 상당히 제거할 수 있었다. 증류수 처리는 한천분말에 40배량의 증류수를 넣고 하룻밤 동안 교반후 탈수건조하였으며 황산기함량은 2.20에서 1.66%로 회분함량은 2.42에서 1.65%로 감소하였고, 겔강도도 증가하였다. 특히 수세후에 아세톤으로 탈수한 경우에는 황산기 및 회분함량이 더욱 감소되었을 뿐만아니라 겔강도가 618에서 895 g/cm²로 증가된 것으로 보아 높은 겔강도의 한천을 제조하고자 할 때 매우 좋은 방법이라 생각된다. 정제후의 수율도 89.0%로 다른 방법에 비하여 높았다.

EDTA (ethylenediaminetetraacetate) 처리시에는 황산기 및 회분함량이 상당히 감소되었으나 겔강도는 감소한 것으로 나타났으며, 수율은 3회 처리시 71.9%였다. 증류수 처리 및 EDTA 처리 방법은 한천을 용해시키지 않고 간단하게 처리할수 있다는 것이 매우 큰 장점이다.

키토산 처리에 의한 정제의 원리는 키토산과 아가로펙틴이 반응하여 불용성 성분으로 침전되고 아가로스는 용액중에 남아있는 성질을 이용하는 것으로 (Allan et al., 1971) 황산기와 회분의 제거 효과가 가장 좋았다.

PEG (polyethyleneglycol) 처리에 의한 한천 정제는 한천용액에 PEG를 첨가하여 한천용액중의 아가로펙틴을 용해도 차로 침전시켜 제거하는 방법으로 (Polson, 1965) 상업적인 아가로즈 생산에 적용되고 있다. 실험 결과, 황산기와 회분의 제거효과는 상당히 좋았으나, 수율이 55.6%로 매우 낮았다. 그리고 아가로펙틴을 침전시키기 위하여 많은 양의 PEG가 소요되었다.

CPC (cetylpyridinium chloride) 처리에 의한 한천 정제는 산성다당류인 아가로펙틴과 반응하여 침전되고 중성인 아가로즈와는 반응하지 않는 CPC의 성질을 이용하여

한천을 정제하는 방법으로 (Hjerten, 1962) 황산기와 회분의 함량이 감소하였고, 겔강도가 618에서 1180 g/cm²로 증가하여 겔강도가 높은 아가로즈를 제조하고자 할 때 매우 좋은 방법이다.

에탄올, 아세톤 그리고 프로판올 침전 처리에 의한 한천 정제 과정은 유기용매에 의하여 고분자의 성분은 침전되고 유기용매에 가용성인 저분자의 성분은 침전되지 않는 성질을 이용하여 고분자의 한천성분을 정제하고자 하였다. 황산기와 회분함량이 감소되고 겔강도는 증가되었으며, 에탄올, 아세톤 그리고 프로판올 중에 아세톤에 의한 정제 효과가 가장 좋았다. 키토산 또는 PEG에 의한 방법보다는 회분 및 황산기의 제거효과가 낮았지만 수율이 92.1~96.0%로 매우 높았다. 水口純 (1970)은 한천용액에 아세톤을 첨가하여 수용성 및 지용성 불순물을 전이시키고 한천물질은 자연냉각하여 겔화하는 방법으로 정제 한 미생물 배양 성적이 좋은 정제 한천을 제조하였다.

한천의 구성성분은 아가로즈와 아가로펙틴의 혼합물로, 아가로즈는 Agarobiose가 반복하여 직쇄상으로 결합되어 있으며, Agarobiose는 β -D-galactose + 3, 6-anhydro-L-galactose의 구성성분으로 되어있는 것으로 알려져있다 (Araki and Aria, 1957). 아가로펙틴은 β -D-galactose + 3, 6-anhydro-L-galactose에 황산기, uronic acid, pyruvic acid, 그리고 무기질 등이 결합되어 있다 (林과 岡崎, 1970). 한천에 함유되어있는 무기질은 여러 가지 방법으로 정제 한 한천에서 그 함량이 감소되었다 (Table 5). 우뭇가사리에서 추출한 한천에는 나트륨, 칼슘, 마그네슘 그리고 칼륨이 다량 함유되어 있었으며, 인, 철, 알루미늄, 아연 그리고 납은 100ppm이하로 미량이었다. 나트륨을 제거하는데는 CPC처리, 칼슘의 제거는 EDTA처리, 칼륨, 인,

Table 5. The content of mineral in agar purified with various methods

Samples	(Unit : ppm)								
	Na	Ca	Mg	K	P	Fe	Al	Zn	Pb
Agar from Gellidium amansii	2934	2472	2259	2527	81.1	66.4	71.7	29.7	ND
After D.W. washing	678	1778	1598	438	17.6	8.8	13.4	10.9	ND
After D.W. washing, acetone dehydration	413	1157	842	321	32.1	19.6	42.8	17.5	1.5
After 1×repeated EDTA washing	2291	93	31	341	6.5	44.4	109.6	11.0	ND
After 2×repeated EDTA washing	2401	101	23	335	7.3	25.2	79.3	3.5	ND
After 3× repeated EDTA washing	2691	83	23	607	7.4	29.7	86.6	2.4	ND
After Chitosan treatment	250	84	24	2	1.7	ND	17.4	1.1	ND
After PEG treatment	161	459	161	7	3.7	6.4	18.3	9.2	ND
After CPC treatment	145	125	22	13	5.1	ND	8.9	7.3	ND
After Ethanol precipitation	1295	958	448	169	19.9	45.4	52.9	31.8	0.6
After Acetone precipitation	1101	1139	700	199	24.3	23.3	58.0	7.1	0.6
After n-Propanol precipitation	1444	1063	634	138	14.6	24.0	49.0	18.2	1.2

* ND : Not detected

철 그리고 아연의 제거는 키토산 처리시에 가장 효과가 좋았다.

요 약

국내 연안산 우뭇가사리로부터 한천의 수율, 추출조건 그리고 이화학적 특성을 조사하였으며, 한천을 여러 가지 방법으로 정제하고 정제한 한천의 수율, 황산기, 회분 그리고 무기질 함량을 측정하였다.

우뭇가사리로부터 한천을 제조 할 때에는 120℃에서 2~3시간 추출하는 것이 좋았다. 여러지역에서 채취한 우뭇가사리로부터 추출한 한천의 수율은 31.6~46.8%로 산지에 따른 수율의 차이가 매우 컸고, 울릉도산 및 제주도산 우뭇가사리의 수율이 46.8% 및 43.6%로 좋았다. 겔강도는 496~887 g/cm²로 산지에 따른 차가 매우 컸고, 동해안의 대변 및 일광산 우뭇가사리에서 추출한 한천의 겔강도가 887 및 854 g/cm²로 매우 강하였다. 추출한 한천중의 회분함량은 2.63~2.92%였고, 황산기의 함량은 1.38~1.78%였다. 염산으로 전처리하여 추출하면 전처리하지 않은 시료에 비하여 오히려 수율이 감소되었고, 겔강도도 처리시간이 길어질수록 비례하여 감소하였다.

증류수로 한천을 수세한 후에 아세톤으로 탈수하면 황산기 및 회분함량이 감소될 뿐만아니라 겔강도도 618에서 895 g/cm²로 증가되었다.

EDTA처리법은 한천을 용해시키지 않고 간단하게 처리하여 황산기 및 회분함량을 감소시킬 수 있었다.

키토산 처리에 의한 정제법은 황산기와 회분의 제거 효과가 가장 좋았다.

PEG처리에 의한 한천 정제법은 황산기와 회분의 제거 효과는 상당히 좋았으나, 수율이 55.6%로 매우 낮았다.

CPC처리에 의한 정제 한천은 황산기와 회분의 함량이 감소하였고, 겔강도가 618에서 1180 g/cm²으로 가장 많이 증가하였다.

에탄올, 아세톤 그리고 프로판올 침전법으로 정제한 한천은 황산기와 회분함량이 감소하고 겔강도는 증가되었으며, 아세톤에 의한 정제 효과가 가장 좋았다.

우뭇가사리에서 추출한 한천에는 나트륨, 칼슘, 마그네슘 그리고 칼륨이 다량 함유되어 있었으며, 인, 철, 알루미늄, 아연 그리고 납은 100ppm이하로 미량이었다. 나트륨을 제거하는데는 CPC처리, 칼슘의 제거는 EDTA처리, 칼륨, 인, 철 그리고 아연의 제거는 키토산 처리시에 가장 효과가 좋았다.

본 연구는 농림기술관리센타의 연구비 지원으로 수행된 결과의 일부이며, 이에 심심한 감사를 표한다.

참 고 문 헌

Allan G.G., P.G. Johnson, Y. Lay and K.V. Sarkanen. 1971. Marine polymers; Part 1. A new procedure for the fractionation of agar. *Carbohyd. Res.*, 17, 234~236.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. K. Helrich, ed. Association of Official Analytical Chemists, Virginia, U.S.A.

Araki C. and K. Aria. 1957. Studies on the chemical constitution of agar-agar. XX. Isolation of a tetrasaccharide by enzymatic hydrolysis of agar-agar. *Bulletin of the chemical society of Japan*, 30 (3), 287~293.

Dodgson, K.S. and R.G. Price. 1962. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochem. J.*, 84, 106~110.

Hjerten S. 1962. A new method for preparation of agarose for gel electrophoresis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 62, 445~449.

Lee H.S., C. Rhee and H.C. Yang. 1985. A study on the purification by protein precipitants and washing of agar. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17 (5), 340~344 (in Korean).

Matsushashi, T. 1977. Acid pretreatment of agarophytes provides improvement in agar extraction. *J. Food Sci.*, 42 (5), 1396~1400.

Park Y. H. 1969. Seasonal variation of total nitrogen content in the seaweed, *Gelidium amansii* Lamouroux. *Bull. Korean Fish. Soc.* 2 (1), 83~86 (in Korean).

Park Y.Y., C. Rhee and H.C. Yang. 1985. Effect of acid treatment on extractability and properties of agar. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17 (5), 319~325 (in Korean).

Polson A. 1965. Fractionation of mixtures of agarose and agaropectin. *British patent* 1006259.

Scott J.E. 1965. Fractionation by Precipitation with Quaternary Ammonium Salts. *Methods Carbohydr. Chem.*, 5, 38~44.

Yoon H.S. and Y.H. Park. 1984. Studies on the composition of agarose and agaropectin in agar-agar. *Bull. Korean Fish. Soc.* 24 (2), 27~33 (in Korean).

농림부. 1996. 농림수산물통계연보, 대한민국 농림부.

水口純. 1970. 精製寒天の製造方法. 日本國特許廳, 昭45~54 32.

林金雄, 岡崎 夫. 1970. 寒天ハンドブック. 光琳書院, 248~249.

1996년 12월 5일 접수
1997년 5월 7일 수리