

우렁쉥이 껍질 유래 황산다당의 유동 특성

손병일* · 흥병일¹ · 안종웅²

*한국해양대학교 해양과학기술연구소, ¹부경대학교 식품공학과
²한국해양대학교 해양환경생명과학부

Flow Properties of Sulfated Polysaccharides in the Tunic of the Ascidian *Halocynthia roretzi*

Byoung-Yil SON*, Byeong-Il HONG¹ and Jong-Woong AHN²

*Research Institute of Marine Science and Technology, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

¹Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²Division of Marine Environment and Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

The flow properties of sulfated polysaccharides purified from the ascidian *Halocynthia roretzi* tunic were investigated. The sulfated polysaccharides produced aqueous solutions of low apparent viscosity with pseudoplastic flow behavior. The respective activation energies of TCA-treated and TCA-nontreated solutions were 2.2248×10^4 and 1.442×10^4 J/kg·mol at a 150 L/s shear rate. The viscosity of the sulfated polysaccharides solution was increased by the addition of sugar, while it was not changed by the addition of NaCl.

Key words: Flow properties, Sulfated polysaccharides, Shear rate, Ascidians, *Halocynthia roretzi*, tunic, Pseudoplastic flow behavior

서론

우렁쉥이 *Halocynthia roretzi* 껍질에 관한 연구는 Anno et al. (1974)의 구조분석에 관한 연구가 있으며, Albabo and Paulo (1983)는 척추동물의 연골에 존재하는 sulfated glycosaminoglycan과 유사한 많은 양의 sulfated glycan이 몇 종의 미색류에 존재함을 밝혔다. 일반적으로 널리 분포하고 있는 황산다당은 항암, 항혈액응고, 항돌연변이 효과, 연골세포와 활막세포 (synoviocyte)의 신진대사 자극효과 등 다양한 생리기능 (Li et al., 1988; Okutani and Morikawa, 1978; Okutani, 1982)을 나타내며, 최근 당질공학분야에서 다양한 당체의 생리활성연구가 진행되었다 (Helenius and Aebi, 2001; Rudd et al., 2001). 최근 국내에서는 생활 수준의 향상에 따른 식생활의 다양화로 인하여 건강식품 및 건강의약품의 수요가 증가하고 있다. 특히 건강음료 등 새로운 가공식품의 개발에 따라 수용성 건강음료의 수요가 급증하고 있다. 건강음료로의 가공 측면에서 황산다당의 물성학적 자료가 필요한 실정이나 우렁쉥이 껍질 유래 황산다당의 물성에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다.

본 연구는 우렁쉥이 황산다당의 고도이용을 위한 물성학적인 기초자료를 제시하고자 추출된 황산다당의 농도, 온도 및 첨가물에 따른 유동특성의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용된 시료는 2002년 6월에 통영 주변의 양식장

에서 채취한 3년된 우렁쉥이 *Halocynthia roretzi*로, 육과 껍질을 분리한 후 껍질을 수회 수세한 다음 열풍건조하여 100 mesh로 마쇄한 것을 동결고에 보관하면서 시료로 사용하였다. 황산다당류는 Anno et al. (1974)의 방법을 토대로하여, 건조된 우렁쉥이에서 색소를 추출하고 남은 잔사에서 추출하였는데, 먼저 효소처리에 의한 방법은 시료를 protease인 alkalase (Novo Co.), neutrase (주, 태평양화학), mixer-2000 (주, 태평양화학)으로 처리하였다. 즉, 일정량의 우렁쉥이 분말에 적당량의 증류수를 가하고 여기에 각각의 효소를 농도별로 첨가하여 shaking incubator에서 48시간 반응시켰다. 반응 후 원심분리(3000 g×15 min)하여 상등액을 취하고 TCA (trichloroacetic acid)를 첨가하여 10% TCA 용액으로 처리하였다. 원심분리(3000 g×15min)하여 침전물을 제거하고 상등액을 알콜 농도별로 ethyl alcohol을 첨가한 후 24시간 정도 -10℃에서 방치하여 조다당류 (crude sulfated polysaccharides)를 침전시켰다. 한편 고온, 고압처리에 의해 조다당류를 추출하기 위해 Autoclaver로 125℃ (pressure : 1.5 kg/cm²)에서 시간별로 처리하였다. 즉, 삼각플라스크에 일정량의 시료를 취하고 여기에 시료의 15배 정도의 물을 가해 삼각플라스크 입구부분을 알루미늄호일로 덮어 Autoclaver처리를 하고, 이후의 과정은 효소처리와 동일하게 하였다 (Fig. 1).

점도의 측정

황산다당의 유동특성을 조사하기 위하여 시료용액을 원추평판형 회전점도계 (BROOKFIELD DV-II+C/P, sample volume 2 mL)를 사용하였다. 농도에 따른 황산다당 용액의 유동 특성은 전단 속도를 0에서 800 1/s까지 증가시키면서

*Corresponding author: hard64@hanmail.net

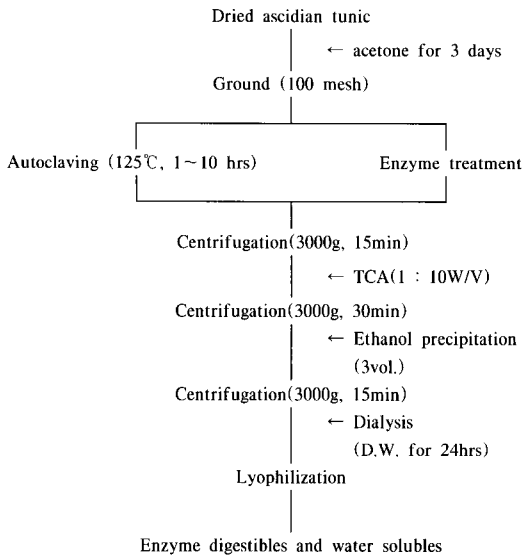


Fig. 1. Preparation of enzyme digestibles and water solubles from the ascidian tunic.

겔보기 점도 및 전단응력을 20°C에서 농도 (5%, 10%, 15%, 20%)별로 각각 측정하였다. 황산다당의 유동 특성값은 아래의 power law model을 이용하여 계산하였다 (Rao, 1982).

$$\tau = k \gamma^n$$

τ : 전단응력 (Shear stress, Pa)

γ : 전단속도 (Shear rate, 1/s)

k: 점조도 지수 (Consistency index, Pa/Sⁿ)

n: 유동지수 (Flow behavior index)

온도에 따른 점도 변화는 황산다당 용액 (10%)을 온도별 (10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C)로 전단속도 증가에 따른 점도를 측정하였다. 온도 변화에 따른 활성화 에너지 값의 변화는 Rao and Anantheswaran (1982)에 따라 Arrhenius model을 이용하여 계산하였다.

$$\eta_{app} = \eta_{\infty} \exp(E_a / RT)$$

η_{app} : 겔보기 점도 (Apparent viscosity, Pa.S)

η_{∞} : 무한 겔보기 점도 (Infinity apparent viscosity, Pa.S)

E_a : 유동활성화 에너지 (Activation energy of flow, J/kg.mol)

R: 기체상수 (Gas constant, J/kg mol k)

T: 절대온도 (Absolute temperature, k)

설탕과 소금을 첨가에 따른 겔보기 점도의 변화는 5% 황산다당 용액에 일정량의 설탕과 소금을 각각 첨가하여 설탕농도(5-40%) 및 소금농도(5-20%)에 따른 겔보기 점도를 측정하였다.

결과 및 고찰

황산다당 용액의 유동특성

추출된 황산다당의 수율은 약 9%이며 Autoclave로 추출한 황산다당은 추출과정에 따라 trichloroacetic acid (TCA)로 제단

백 처리한 것과 TCA처리 하지 않은 것으로 구분하였는데 TCA를 처리하지 않은 이유는 TCA로 인해 pH가 저하되어 색소를 흡착시킬 때 색소파괴의 가능성이 있기 때문이다. 황산다당을 농도별로 조제하여 (5%, 10%, 15%, 20%) 전단속도 증가에 따른 겔보기 점도 변화는 Fig. 2와 3에 각각 나타내었다. 두 시료 모두 농도가 증가함에 따라 겔보기 점도가 증가하였고 또한 전단속도가 증가함에 따라 겔보기점도는 감소하는 경향을 보였다. 전단속도가 100 1/s일 때 시료농도가 5%에서 20%로 증가함에 따라 TCA처리구의 겔보기점도는 0.007에서 0.049 Pa·s로 증가하였고, TCA무처리구는 0.014에서 0.081로 증가하였다. 즉, 시료 모두 농도의 증가에 따라 겔보기점도가 급격히 증가하였고, 동일한 농도에서 TCA무처리구가 TCA처리구에 비해 상당히 높았다. 점도에 영향을 미치는 것은 구성물질의 분자구조나 분자량인데 (Albabo et al., 1983), 분자량 40,000 정도인 TCA무처리구 (Hong et al., 2001)가 점도가 높은 것은 단백질이 상당량 존재하기 때문으로 생각된다.

전단속도의 변화에 따른 전단응력의 변화는 Fig. 4과 5에 각각 나타내었다. 전반적으로 전단속도가 증가함에 따라 전단

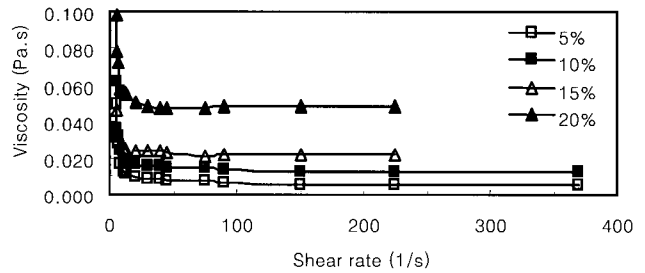


Fig. 2. Flow curves of water soluble solution from ascidian tunic treated with TCA.

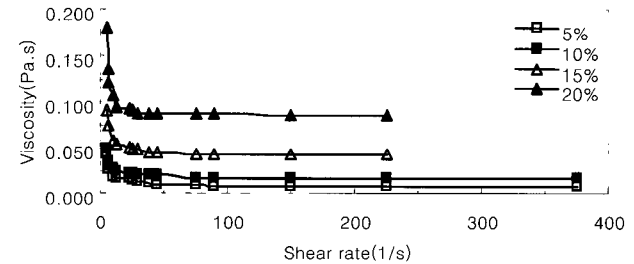


Fig. 3. Flow curves of water soluble solution from ascidian tunic not treated with TCA.

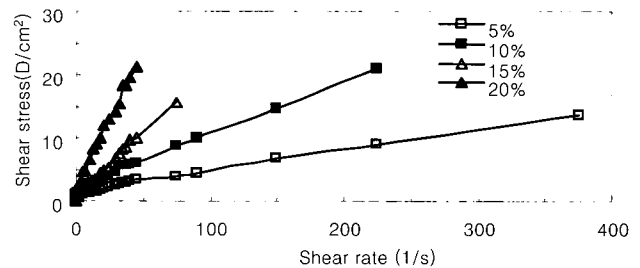


Fig. 4. Shear stress-shear rate curves of water soluble solution from ascidian tunic treated with TCA.

응력은 비직선적으로 증가하여 대부분 시료가 비뉴턴 유동 특성을 나타내었다. TCA처리구와 무처리구에 있어서 저농도인 5% 경우 TCA무처리구는 뉴턴성 유체 특성에 가까웠으나 처리구는 비유턴 유동 특성으로 나타났다. 전단속도에 따른 전단응력값을 이용해 power law식에 따라 구한 황산다당의 유동 특성 값은 Table 1과 같다. TCA처리 및 무처리구 모두 유동지수값 (n)이 1이하로 의가소성을 나타내었고, 점조도지수 (k)는 두 시료 모두 농도가 증가할수록 증가하는 같은 경향(Anno et al., 1974)을 보여 시료농도에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다. 그리고 상관계수는 전시료에서 모두 0.99이상을 나타내었다.

온도 변화에 따른 점도의 변화

황산다당 용액의 온도의존성을 살펴보기 위해 전단속도는 150 1/s에서 온도를 10°C에서 50°C로 증가함에 따른 겔보기점도를 측정된 결과를 Fig. 6과 7에 각각 나타내었다. 전 시료에서 온도가 증가할수록 겔보기점도는 거의 직선적으로 감소하였다. Arrheius식을 이용하여 구한 활성화 에너지(E_a) 및 무한 겔보기점도 (η_∞)는 Table 2와 같다. 전단속도 150 1/s에서 두 시료의 활성화에너지는 TCA처리구가 2.2248×10^4 J/kg·mol, TCA무처리구가 1.4422×10^4 J/kg·mol 으로 TCA처리구의 온도의존성이 컸다. 이와 같은 낮은 활성화 에너지는 내부결

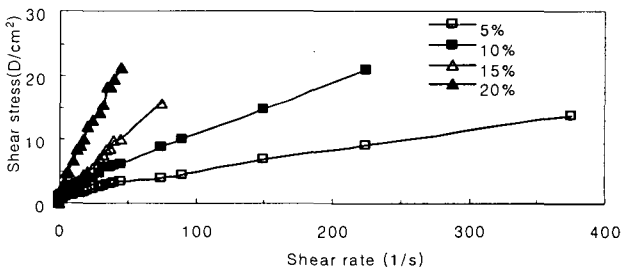


Fig. 5. Shear stress-shear rate curves of water soluble solution from ascidian tunic not treated with TCA.

Table 1. Power law constants on various concentrations at 20°C of water soluble solution obtained by autoclaving

	Conc.(%, w/v)	Ka^a (Pa. s)	n^b	r^c
Treated TCA ^d	5	0.2968	0,6360	0.9961
	10	0.3979	0,7240	0.9978
	15	0.3174	0,8006	0.9994
	20	0.7901	0,8676	0.9989
Non-TCA ^e	5	0.3960	0.6835	0.9976
	10	0.3688	0.8293	0.9993
	15	0.7937	0.8349	0.9987
	20	1.1886	0.9007	0.9997

^aConsistency index.
^bFlow behavior index.
^cCorrelation coefficient.
^dWater solubles treated with TCA.
^eWater solubles not treated with TCA.

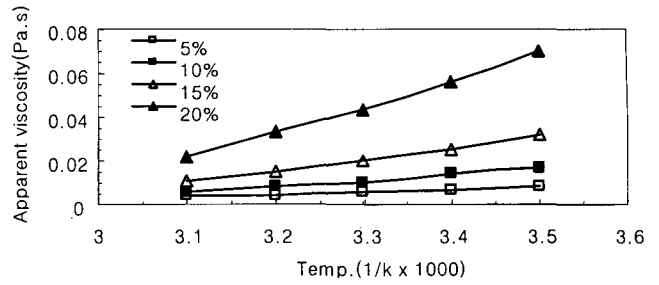


Fig. 6. Effect of temperature on the viscosity of water soluble solution from ascidian tunics treated with TCA.

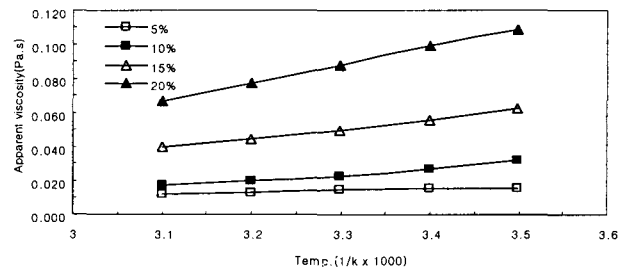


Fig. 7. Effect of temperature on the viscosity of water soluble solution from ascidian tunic not treated with TCA.

Table 2. Activation energies, infinity apparent viscosities, and determination coefficients of water soluble solution obtained by autoclaving

	Shear rate (1/s)	E_a^a (J/Kg.mol $\times 10^4$)	η_∞^b	r^c
Treated TCA ^d	30	2,0058	0,00364	0.9957
	90	2,1664	0,00416	0.9963
	150	2,2248	0,00106	0.9950
	225	1,6128	0,00939	0.9959
Non-TCA ^e	15	0,7475	1.41574	0.9955
	30	1,1195	0.24310	0.9958
	90	1,4422	0.04805	0.9986
	150	1,6002	0.02451	0.9960

^aActivation energy.
^bInfinity apparent viscosity.
^cCoefficient of determination.
^dWater solubles treated with TCA.
^eWater solubles not treated with TCA.

합력, 즉 유동에 따른 저항력이 적은 것을 의미하며, 따라서 유동에 대한 온도의존성이 그다지 크지 않음을 나타낸다. 따라서 가운데처리하여도 점도 감소는 그다지 크지 않음을 나타낸다. (Pyun et al., 1980) 또한 전단속도에 따른 활성화 에너지값은 큰 차이가 없었으나 전반적으로 TCA처리구가 높게 나타났다. 한편, 추출된 황산다당의 활용가능성을 검토하고자 첨가물에 따른 황산다당의 유동특성을 살펴보았다. 5% 황산다당 용액에 설탕과 소금을 첨가하였을 때의 점도변화는 Fig. 8에 나타내었다. 먼저 설탕의 경우는 5%, 10%, 20%, 40% 농도로 하였으며 소금은 5%, 10%, 15%, 20%로 하여 측정하였는데 이때 겔보기점도차이는 황산다당에 설탕과 소금자체의 점도

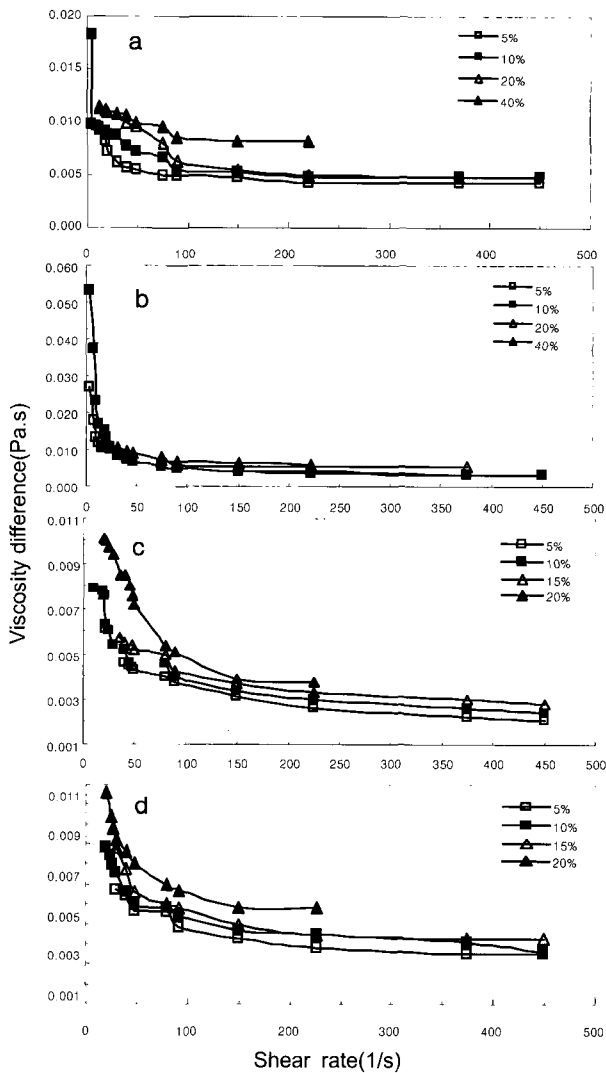


Fig. 8. Change in viscosity of different soluble solutions from the ascidian tunics.
 a: Sugar added water soluble solution treated with TCA.
 b: Sugar added water soluble solution not treated with TCA.
 c: NaCl added water soluble solution treated with TCA.
 d: NaCl added water soluble solution not treated with TCA.

를 뺀 값을 나타내었다. 설탕 첨가에 따라 TCA처리구 및 무처리구 모두 점도가 증가하였으며, 전단속도 100 1/s에서의 TCA처리구는 설탕첨가농도에 따른 영향이 비교적 확연하였으나 TCA무처리구의 경우는 크게 구분되지 않았다. 고분자 용액은 농도가 높을 경우 설탕첨가에 따라 수화가 저하되어 점도가 감소하는 반면에, 농도가 낮은 경우는 설탕첨가로 인해 분자간의 상호작용 증대로 점도가 증가하였다는 보고 (Elfak et al., 1977) 등에 미루어 5%의 설탕첨가에도 점도가 증가하는 것은 설탕이 분자간의 상호작용을 증가시킨 결과로 생각된다. 소금첨가에 따른 영향은 전체적으로 TCA처리구나 무처리구 모두 첨가효과가 거의 없었다. 이와같은 결과로 미루어 보아 우렁숭이 껍질을 이용한 건강음료 제조공정에서 온도와 소금

의 영향은 고려하지 않아도 될 것으로 사료된다. 다만 농도에 따른 약간의 변화만을 나타내었다.

사 사

이 논문은 한국학술진흥재단의 중점연구소 지원사업 (KRF-2006-005-J00502)에 의해 이루어졌으며 연구비지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Albabo, R.M. and A.S.M. Paulo. 1983. Presence of sulfated glycans in ascidian tunic and the body wall of a sea cucumber. *Biochim. Biophys. Acta*, 760, 192-196.

Anno, K., O. Kimiko and N. Seno. 1974. A chitin sulfate-like polysaccharide from the test of the tunicate *halocynthia roretzi*. *Biochim. Biophys. Acta*, 362, 215-219.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed., Assoc., of Official Analytical Chemists, Washington, DC., pp. 237.

Cushman, D.W. and H.S. Cheung. 1971. Spectrometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, 20, 1637-1648.

Elfak, A.N., G. Pass, G.O. Phillips and R.G. Morley. 1977. The viscosity of dilute solution of guar gum and locust bean gum with and without added sugars. *J. Sci. Food Agric.*, 28, 896.

Helenius, A. and M. Aebi. 2001. Interacellular functions of N-linked glycans. *Science*, 291, 2364-2369.

Lee, K.H., Kang, S.J., Choi, B.D., Choi, Y.J. and Youm, M.G. 1994b. Utilization of ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. 2. Optimum level of carotenoid extracts from ascidian tunic for the pigmentation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Bull. Kor. Fish. Soc.*, 27, 240-246.

Li, J.Z. and E. C.Y. Lian. 1988. Aggregation of human platelets by acidic mucopolysaccharide extracted from *Stichopus japonicus* Selenka. *Thrombosis Haemostasis*, 59, 435.

Lin, M.J.Y., E.S. Humbert. and F.W. Sosulki. 1974. Certain functional properties of sunflower meals. *J. Food Sci.*, 39, 368-371.

MecBeth, T.W. 1972. Carotenoids from nudibranches. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41B, 55-68.

Mori, H., H. Kamei, H. Nishide and K. Nisizawa. 1982. Sugar constituents of some sulfated polysaccharides from the sporophylls of wakame (*Undaria*

- pinnatifida*) and their biological activities. Proc. 10th Intern. Seaweed Symp., 10, 109.
- Nishino, T., G. Yokoyama, K. Dobashi, M. Fujihara, and T. Nagumo. 1989. Isolation, purification and chracterization of fucose-containing sulfated polysaccharides from the brown seaweed *Ecklonia kurome* and their blood-anticoagulant activities. Carbohydr. Res., 186, 119.
- Nishino, T. and T. Nagumo. 1987. Sugar constituents and blood-anti coagulant activities of fucose-containing sulfated polysaccharides in nine brown seaweed species. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 61, 361-367.
- Okutani, K. and N. Morikawa. 1978. Gel filtration and sugar constituent of the polysaccharide extracted from the internal shell of squid. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44, 369-372.
- Okutani, K. 1982. Further investigation of the antitumor activity of the squid internal shell. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 48, 421-424.
- Pyun, Y.R., Lee S.Y., Lee, S.K., You, J. H. and Kwon, Y.J. 1980. Studies on characteristics of red pepper pastes. Kor. J. Food Sci. Technol., 12, 18-22.
- Rao, M.A. and R.C. Anantheswaran. 1982. Rheology of fluids in food processing. Food Technol., 36, 116-126.
- Rudd, P.M., Elliott, P. Cresswell, I.A. Wilson and R. A. Dwek. 2001. Glycosylation and the immune system. Science, 291, 2370-2376.
- Ryu, B.H., Chi, B.H., Kim, D.S. and Ha, M.S. 1986. Desmutagenic effect of extracts obtained from seaweeds. Bull. Kor. Fish. Soc., 19, 502-508.

2007년 2월 28일 접수
2007년 4월 30일 수리