PB-7

동결조건이 다시마 알긴산의 분자량 분리에 미치는 영향

임영선 · 유병진 · 박영범[1]
강릉대학교 식품과학과 · [1]강원전문대학 식품가공제과제빵과

서론

알긴산은 2종류의 구성당인 β-D-mannuronic acid와 α-L-guluronic acid가 1,4-glycosidic linkage로 구성된 분자량이 1,000 kDa 이상의 고분자다당류로, 미역이나 다시마 등의 갈조류에 다량 함유되어 있으며, 최근에는 알긴산의 난소화성을 부각시켜 식이섬유로써 정장 및 변비치유, 비만억제, 혈압상승억제, 혈중콜레스테롤저하, 소화관점막보호, 장내유해미생물증식억제, 유해물질체외배출 및 항종양성 등이 보고되어 있다. 이런 알긴산의 생리적 효과는 분자량과 uronic acid의 조성에 의하여 영향을 받는 것으로 알려져 있어 알긴산의 uronic acid의 조성에 관하여는 많은 연구가 이루어져 있으나, 알긴산의 분자량이이 생리적 효과에 미치는 영향을 조사한 연구는 미미한 실정이다. 알긴산의 분자량과 uronic acid 조성은 해조의 종류, 연령, 조직형태 및 추출방법 등에 따라 상이함을 보이는 데, 특히 알긴산의 분자량은 추출조건에 큰 영향을 받으므로 제조공정 중 분자량을 조절하는 것은 알긴산 공업에 있어 매우 중요하다. 알긴산의 분자량을 측정하는 방법에는 여러 가지가 있다. Light scattering, high-performance size-exclusion chromatography 및 gel permeation chromatography를 이용하는 방법은 고가의 장비를 갖추는 것이 필수적이므로 중소기업에서 이러한 방법을 채택하기에는 한계가 있다. 그리고 고유점도를 측정하여 분자량을 계산하는 방법은 고유점도에 영향을 주는 유리상태의 금속이온들이 다량 알긴산에 함유되어 있으므로, 정제과정을 통해 이 성분을 제거해야 하는 번거로움이 있다. 그러나 uronic acid의 환원력을 측정하여 분자중합도를 산출하고, 이것을 통하여 평균분자량을 측정하는 방법은 알긴산의 정제과정 없이 분자량을 간편하고 정확하게 측정할 수 있다고 보고되어 있어, 알긴산의 공업에서 제조공정 중 분자량 측정이 쉬워져 선택적 분자량의 생산이 가능할 것으로 기대된다.

본 연구에서는 특정분자량의 oligouronic acid를 대량생산할 목적으로 다시마 고분자알긴산을 가수분해한 후 동결조건에 따른 분자량 분포를 살펴보았다.

재료 및 방법

알긴산의 추출 및 건조

다시마로부터 알긴산은 Na_2CO_3 용액으로 60℃의 항온수조에서 6시간 동안 추출하여 methanol로 침전, 회수, 수세한 후, stainless steel로 제작된 30°의 경사면에 얹어놓고 25℃, 풍속 2 m/sec의 공기로 풍건 (수분함량 10% 이하)한 다음, 마쇄 (pore size, 500 ㎛ 이하)하여 진공상태로 보관하면서 실험에 사용하였다.

알긴산의 가수분해

건조한 알긴산은 탈이온수에 녹여 1% 용액으로 제조하고, 구연산으로 pH를 5.0으로 조절한 후, 80℃에서 1시간 동안 가수분해하였다.

알긴산의 분획, uronic acid 함량 및 평균분자량 측정

가수분해한 알긴산은 동결조건 (동결용기, 동결온도)에 따라 완전히 빙결한 후 전체용량의 1/10씩 각각 10 부분으로 분획하여 분액의 uronic acid 함량 (phenol-sulfuric acid법)과 평균분자량을 측정하였다.

분획 알긴산용액의 투석 및 미량금속 정량

95% 유의수준에서 평균분자량이 비슷한 분획 알긴산용액을 3부분으로 합한 후, 투석 (MW cutoff 12,000 Da) 전후에 따라 각 분액의 회분함량 (직접회화법), uronic acid 함량, 평균분자량 및 미량금속 (원자분광광도계)을 각각 측정하여 비교하였다.

결과 및 요약

본 실험에 사용한 다시마 알긴산은 AMW 990 kDa으로 하룻밤동안 완전히 동결한 후 해동속도에 따라 전체용량의 1/10씩 분획한 결과, uronic acid 함량이 0.4-2.1%로 나타나 전체함량에 각 분액의 uronic acid의 함량비율이 3.6-17.2%로 유의적 ($p<0.05$)으로 뚜렷한 차이를 보였으며, 이때 각 분액의 평균분자량도 180-1,490 kDa으로 뚜렷한 유의적 차이를 보여 동결에 의한 분자량 분리가 가능함을 나타내었다. 이는 같은 동결온도에서 입자의 분자량 크기에 따라 분자간의 전기적 반발력이 달라 빙결점의 상이함으로 인해 저분자 알긴산은 빙결되는 반면, 고분자 알긴산은 gel 상태로 농축되어 해동할 때 분자량이 높은 순으로 분획됨을 보여주고 있다. 동결용기에 따라서는 pack, tetrahedron보다 cylinder형이 공기와의 접촉면이 많아 해동속도가 가장 빠르고 분자량 분리의 유의성도 가장 높았으며, 동결온도에 따라서는 -20, -40, -70℃보다 -10℃가 분자량 분리의 유의성이 가장 높았다. 이는 고분자알긴산일수록 분자간의 전기적 반발력이 커져 동결온도가 높을수록 분자량 분리가 용이함을 나타내고 있다. 95% 유의수준에서 평균분자량이 비슷한 fraction No. 1-3 (fraction A), fraction No. 4-6 (fraction B) 및 fraction No. 7-10 (fraction C)을 합한 후 회분함량, uronic acid 함량 및 평균분자량을 분석한 결과, fraction No.가 적을수록 알긴산의 분자사슬길이는 긴 반면 갯수는 적어, uronic acid 함량이 높고, 회분함량이 낮았으며, 평균분자량은 각각 430 kDa, 220 kDa, 110 kDa으로 나타나 동결에 의해 분자량이 순차적으로 분리되었음을 보여주었다. 그리고, 투석 후 유리 금속이온의 제거로 상대적으로 uronic acid 함량은 투석 전보다 1.2-1.3배 정도 높아져 정제되었음을 나타내었고, 투석 시 분자량 12,000 Da 이하의 저분자 알긴산이 제거되어 평균분자량도 투석전보다 상대적으로 약 1.1-1.5배 높아졌다. 투석 후 Na가 알긴산의 전체회분의 대부분을 차지하는 것은 주로 uronic acid의 carboxyl group과 결합하기 때문이며, sodium alginate의 정제도가 86% 이상이었다.

참고문헌

Lim, Y.S. and B.J. You. 2005. Effects of hydrolysis time on the molecular weight distribution of alginates prepared from sea tangle, *Laminaria japonicus*. J. Fish. Sci. Technol., 8, 113-117.