

초음파에 의해 제조된 저분자 λ -carrageenan의 특성

김상무 · 박성민* · 최현미* · 이근태*
강릉대학교 해양생명공학부, *부경대학교 식품공학과

Properties of Lower Molecular Weight of λ -Carrageenan Manufactured by Ultrasound

Sang-Moo KIM*, Seong-Min PARK, Hyeyon-Mee CHOI and Keun-Tae LEE

Faculty of marine Bioscience and Technology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea
*Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Carrageenan are sulfated polymers containing galactose and anhydrogalactose units, and is used for its gelling, thickening, stabilizing, emulsifying, and suspending properties. However, carrageenan is limited to use beyond 0.03% as food additives because of its high degree of gelling and viscosity with low solubility. The use of ultrasound significantly reduced the viscosity of λ -carrageenan solutions. The optimal parameters of ultrasound for reduction of carrageenan molecular weight were temperature, 10°C; ultrasound intensity, 114.7 W/cm²; carrageenan concentration, 2%; treatment time, 10 min. The molecular weights of control, ultrasound peak 1, and peak 2 were approximately 250,000, 184,000, and 67,000 daltons, respectively. The lower molecular weight of λ -carrageenan showed the higher solubility, the lower alcohol precipitation ratio and the lower emulsifying capacity. Browning degree of both control and lower molecular λ -carrageenans was not significantly different.

Key words: λ -carrageenan, low-molecular-weight, viscosity, solubility, emulsionfying capacity alcohol precipitation ratio, browning degree

서 론

해조 다당류로는 갈조류 유래의 alginic acid, laminarin, mannosamin, fucoidan 등이 있고, 홍조류 유래의 agar, carrageenan, porphyran 등이 알려져 있다. 이들 다당류는 사람의 소화기관에 존재하고 있는 소화효소에 의한 소화율이 매우 낮아 영양가는 그리 높지 않은 것으로 평가되나, 장의 활동을 원활하게 하고, 식염 및 종금속의 배출, 콜레스테롤의 혈관 내의 침착 방지 등의 효과가 매우 높다는 사실이 밝혀져 있고, 최근에는 해조류의 당류 성분에 항암 작용이 있다는 사실도 보고되고 있다 (Do et al., 1997). Carrageenan은 여러 가지 다양한 홍조류로부터 추출되는, 황을 함유하고 있는 다당류의 복잡한 family의 총칭이다. 황산기를 함유하고 있는 다당류는 항바이러스 활성 (Deig et al., 1974; Hatch et al., 1979)을 가지고 있으며, Ueno et al., 1987, Nakashima et al., 1987a, b, Baba et al., 1988, Neushul, 1988, De Clerq et al. 등도 marine macroalgae로부터 추출한 함황다당류가 *in vitro*에서 human immunodeficiency virus (HIV)의 복제를 억제하였다고 보고하였다. 또한 이외에도 항종양활성 (Parish et al., 1987; Coombe et al., 1987, Parish and Snowden, 1988), 항궤양활성 (Stancioff and Renn, 1975), 항혈전활성 (Kindness et al., 1979; Efimov et al., 1983)이 있다는 연구보고가 있으나 아직까지 상업적으로 활용할 수 있는 연구결과는 보고된 바 없다. 또한 carrageenan은 턱월한 식이섬유 (dietary fiber)의 하나로 건강 증진 물질로서의 중요성이 부각되고 있는 물질의 하나이기 때문에 저분자 carrageenan을 제조함으로서 식이섬유나 음료 등에의 응용이 확대된다면 국민 건강적인 차원에서도 크나큰 보탬이 될 것이며, 상온수나 저온수에서도 잘 풀리는 carrageenan이 제조되므로 아이스크림의 안정제나 필름코팅제 등 여러 산업에서의 소재로서의 사용을 보다 더 확대

할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 초음파의 가장 큰 특성중의 하나인 중합체 분해 (polymer degradation) 성질을 이용하여 저분자 carrageenan을 제조하여 그 특성을 살펴 보았다.

재료 및 방법

1. 재료 및 저분자 λ -carrageenan의 제조

본 연구에 사용한 λ -carrageenan은 Sigma Product (Sigma, USA)로부터 구입하였고 Sonicator (Misonix, NY, USA)로 초음파를 발생시켜 λ -carrageenan의 분자량을 감소시킨 다음 Fraction Collector (Bio-Rad, Model 2110, CA, USA)로 획분을 모은 다음 206 nm에서 O.D를 측정하여 peak를 분리한 후 최고 흡광도 50% 이상을 나타내는 획분만 모아 진공농축한 후 동결건조하여 사용하였다.

2. λ -carrageenan의 전기영동

전기영동은 Albano 와 Paulo (1983)의 방법에 준하여 polyacrylamide gel 전기영동을 행하였다. 즉, 약 100 µg의 시료를 6~10%의 polyacrylamide gel 농도로 하여 900 mM Tris/900 mM boric acid/24 mM EDTA (pH 8.3) buffer로 100V, 약 45분 정도 전기영동시켰다. 전개후 0.1% alcian blue 8GX/acetic acid로 염색후 1% acetic acid로 탈색하였으며, 사용된 표준품은 dextran sulfate (M.W., 500,000과 10,000), chondroitin A (M.W., 47,000) 및 chondroitin B (M.W., 20,000)이었다.

3. λ -Carrageenan 용액의 겉보기 점도

각 농도별로 초음파 처리된 λ -carrageenan 용액과 분자량 별로

획분을 받아 동결건조한 저분자 λ -carrageenan 용액의 겉보기 점도는 원추평판형 (Cone and plate) 회전점도계 (Brookfield DV-II+C/P, USA)를 사용하여 측정하였다. 즉, 0.1% carrageenan 용액 2 mL를 사용하여 25°C에서 회전속도를 3.75 sec⁻¹에서 750 sec⁻¹까지 바꾸어 가면서 측정하였다.

4. 가용한계 농도 및 알콜 침전도

가용한계 농도를 측정하기 위하여 50 mL beaker에 중류수 10 mL를 넣어 Control λ -carrageenan 및 저분자 λ -carrageenan P-1 (Peak1:with sonicated carrageenan)과 P-2 (Peak2:with sonicated carrageenan)를 각 농도별로 조제하여 용해시키고 25°C로 고정된 항온수조에서 30분 동안 방치한 후 beaker를 거꾸로 뒤집어서 carrageenan 용액이 beaker의 기벽을 타고 내리지 않은 최후의 농도를 가용한계 농도로 하였으며 알콜 침전도는 control λ -carrageenan은 2.5%로, 저분자 λ -carrageenan P-1 및 P-2는 3.0%로 용액을 조제하였다. 여기에 ethyl alcohol의 농도를 변화시키면서 침가하여 침전물을 원심분리한 다음 105 ± 5°C에서 2시간 건조하여 초기에 용해한 λ -carrageenan의 무게에 대해 침전된 λ -carrageenan의 건조무게비로서 침전도 (%)를 측정하였다.

5. 유화도 (Emulsion capacity) 측정

Control λ -carrageenan 및 저분자 λ -carrageenan P-1 및 P-2의 유화도를 Turbidmetric method에 따라 측정하였다. 즉 test tube에 λ -carrageenan 0.1g을 중류수 10 mL에 용해시킨 뒤 Vortex (Maximix II, type 37600 mixer)를 이용하여 교반시킨 후, 20°C에서 30분간 방치하였다. 이 용액에 oil 3.3 mL를 첨가하여 실온에서 30초 동안 균질화한 다음 유화시켰다. 이 유화액 0.2 mL에 0.1% SDS 용액 (0.1M NaCl, pH7.0) 49.8 mL를 첨가하여 교반시킨 뒤, 분광광도계를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 아래식에 의하여 유화도를 산출하였다.

$$\text{Emulsion capacity (m}^2/\text{g}) = \frac{2.303 \times 2 \times A \times 250}{C \times 0.25 \times 10,000}$$

C : 유화를 형성하기 전의 단위 부피당 단백질의 무게 (g/mL)

0.25 : 유화에서 oil의 부피획분

A : 500 nm에서의 흡광도

10,000 : 환산계수 ($\text{cm}^2 \rightarrow \text{m}^2$)

250 : 희석배수

6. 갈변도 측정

0.1 M D-Glucose 및 L-Lysine 을 중류수에 녹여 10 mL로 정용한 혼합수용액을 pH 9로 조정한 후, 중류수를 첨가하여 최종부피가 12 mL되게 하였다. 여기에 Control λ -carrageenan 및 저분자 P-1, P-2 λ -carrageenan을 농도별로 첨가하였다. 이것을 100°C에서 80분간 가열하여 반응생성물을 얻은 다음 분광광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 측정된 값에 희석배수를 곱하여 갈변도로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 전기영동

초음파 처리전의 λ -carrageenan과 처리후의 peak (P-1, P-2)에 대한 전기영동을 행한 후 Rf값에 따른 분자량과의 관계를 조사하였고 이에 따른 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Control λ -carrageenan의 분자량은 약 250,000이었으며 초음파 처리에 따른 저분자화된 λ -carrageenan의 분자량은 P-1이 184,000, P-2가 67,000이었다. 이는 GPC에서 얻어진 분자량과 비슷한 결과를 나타내었다.

2. 점도

초음파 처리 전 · 후의 λ -carrageenan을 0.5% 용액으로 각각 제조한 다음 25°C에서 겉보기 점도를 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 초음파 처리후의 P-1과 P-2의 겉보기 점도는 초음파 처리 전 (Control)의 점도에 비해 급격히 감소되었다. Control λ -carrageenan은 45 sec⁻¹에서 48.7 cP 이었으나 P-1은 45 sec⁻¹에서 3.37 cP이었고 P-2는 45 sec⁻¹에서 1.84 cP이었다. 이는 초음파 처리에 의해서 λ -carrageenan의 분자량이 급격히 감소되고 이에 따라 겉보기 점도 또한 낮게 나타난 것으로 생각되어진다.

3. 가용한계 농도

초음파에 의하여 저분자화 된 λ -carrageenan의 peak별 가용한계농도를 측정한 결과는 Table 1과 같다. Control λ -carrageenan의 경우는 3%의 가용한계농도를 가졌으나 저분자 λ -carrageenan P-1 및 P-2는 각각 10%, 16%의 가용한계농도를 나타내었다. 이는

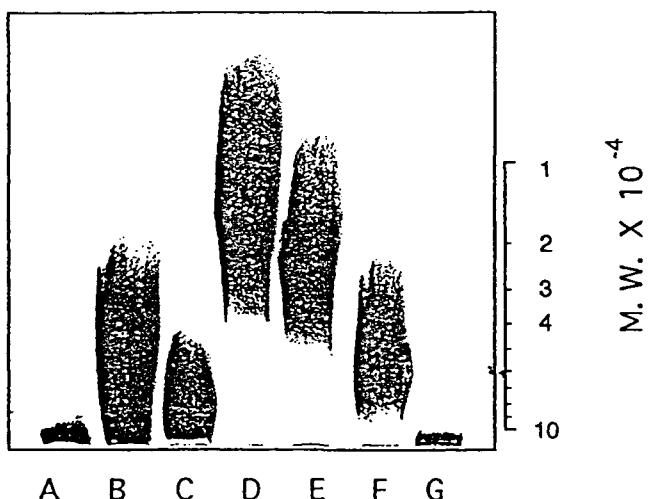


Fig. 1. Polyacrylamide gel electrophoretograms with sonicated carrageenan and without.

A: without sonication

B: with sonicated carrageenan; peak 2

C: with sonicated carrageenan; peak 1

D: dextran sulfate (M.W.=500,000)

E: chondroitin 6-sulfate (M.W.=40,000)

F: dermatan sulfate (M.W.=19,000)

G: dextran sulfate (M.W.=10,000)

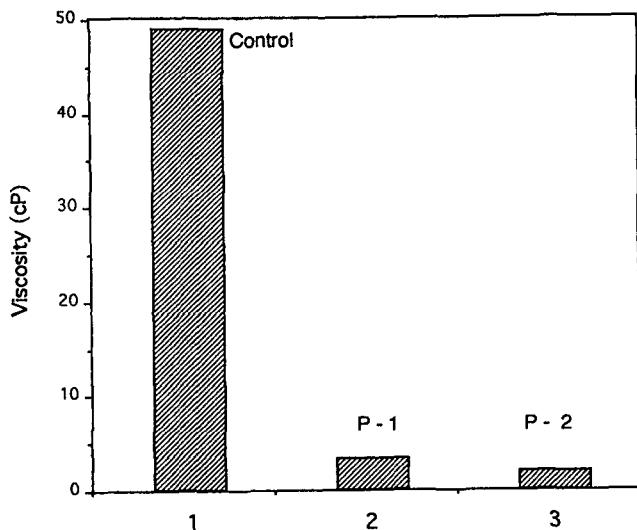


Fig. 2. Apparent viscosity of carrageenans treated by ultrasound at 0.5%, 25°C and 45 sec⁻¹.
 P-1 (Peak 1) : with sonicated carrageenan (M.W.: 184,000)
 P-2 (Peak 2) : with sonicated carrageenan (M.W.: 67,000)

Table 1. The solubility of λ -carrageenans treated by ultrasound

Concentration (%)	λ -carrageenan (Control)	Sonicated λ -carrageenan	
		p-1*	p-2*
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	-	+	+
5	-	+	+
6	-	+	+
7	-	+	+
8	-	+	+
9	-	+	+
10	-	+	+
11	-	-	+
12	-	-	+
13	-	-	+
14	-	-	+
15	-	-	+
16	-	-	+
17	-	-	-

*fraction of low-molecular λ -carrageenan obtained by ultrasound treatment

+ : soluble to water - : insoluble to water

식품에 λ -carrageenan을 이용할 경우 저분자화된 P-2의 경우는 상당히 많은 양을 첨가할 수 있다는 것을 나타낸다. Joo 등 (1995)에 의하면 시판 알긴산을 효소적으로 가수분해 하였을 경우 3.5~5배 정도 사용 농도가 높아졌다고 보고하였다. 본 실험에서도 이와 유사한 결과를 보였으며 초음파 처리에 의한 λ -carrageenan의 저분자화도 효소에 의한 저분자화 유사한 성질이 있는 것으로 생각된다.

4. 알콜침전도

Control λ -carrageenan과 저분자 λ -carrageenan의 알콜침전도를 비교한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 일반적으로 해조다당류는 알콜에 의하여 침전되며 이것으로 인하여 식품에 첨가하는데 있어서 단점으로 작용하고 있다 (Mizuno 등, 1983). Control λ -carrageenan의 경우 알콜 농도가 10% 일 때 5.68%가 침전되었고 30% 일 때 12.64%, 90%의 알콜농도에서는 73.3%가 침전되었다. 그러나 저분자화된 λ -carrageenan의 경우에는 저분자화가 진행될수록 알콜에 의한 침전반응이 감소되는 경향을 보여주었으며 P-2의 경우 90%의 알콜 농도에 있어서도 19.8% 만이 침전되었다. 주 등 (1995)에 의하면 알긴산을 효소적 가수분해 하였을 때 저분자화 된 알긴산의 경우 20%의 알콜 농도를 가지는 식품에도 침가 가능하다고 하였다. 본 실험에서는 알콜의 농도가 40%인 경우 초음파 처리하지 않은 λ -carrageenan에 비하여 침전되는 저분자화 된 λ -carrageenan의 양이 월등히 감소되는 경향으로 보아 상당량의 알콜이 첨가된 식품에도 사용 가능함을 알 수 있었다.

5. 유화능

λ -carrageenan의 유화능을 탁도법에 의하여 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 초음파 처리하지 않은 λ -carrageenan의 경우 유화능은 38.7 m²/g 이었으나 초음파 처리후 저분자화 된 λ -carrageenan의 경우는 6.03~6.36 m²/g 으로 유화능이 크게 감소되는 경향을 나타내었다. 따라서 초음파 처리하였을 경우에는 control에 비하여 유화제로서의 이용가능성이 낮은 것으로 나타났다. λ -carrageenan의 유화능에 대한 연구 보고가 거의 없었기 때문에 이에 대한 정확한 고찰은 부족하므로 이에 대한 연구가 요구된다.

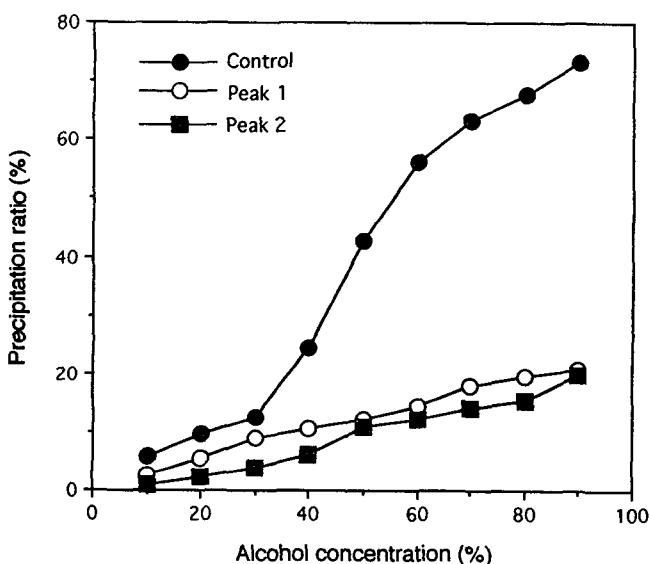


Fig. 3. The precipitation ratio of carrageenans treated by ultrasound at different alcohol concentration.

6. 갈변도

D-glucose와 L-Lysine · HCl을 Maillard 반응이 가장 잘 일어나는 pH 9에서 가열하여 나타나는 갈변도를 Table 3에 나타내었다. D-glucose와 L-Lysine · HCl 만을 반응시켰을 때의 갈변도가 1.934 인데 반하여, λ -carrageenan 및 저분자화 된 P-1, P-2 λ -carrageenan의 갈변도가 전반적으로 낮게 나타나는 것으로 보아 λ -carrageenan이 Maillard 반응에 의한 갈변을 억제시킨다고 볼 수 있으나, 정확한 반응기작은 알려진 바가 없다. 그리고 갈변 억제 효과는 λ -carrageenan의 첨가 농도에 비례되어 나타나지는 않았으나, λ -carrageenan은 용액량의 0.1% 첨가시에 그리고 저분자화된 P-1, P-2 λ -carrageenan은 각각 0.1%, 0.05% 첨가시 가장 좋은 것으로 나타났다. Petriella 등 (1988)은 D-glucose와 L-Lysine 용액의 갈변 반응에 있어서 LiCl, NaCl, KCl, CsCl 등의 염용액이 갈변도에 영향을 미치며, LiCl은 갈변을 촉진시킨다고 하였다. 또한 일반적으로 사파나 배 쥬스 등에서 phenol oxidase에 의해 생기는 효소적 갈변 반응의 경우 황화수소 화합물, 즉 cysteine 등의 함황 아미노산, ascorbic acid, 4-hexylresorcinol, malto-dextrin, carrageenan 등의 황산 다행류가 o-guinone과의 반응으로 무색의 안정한 화합물을 형성하여 갈변을 억제한다는 사실이 밝혀지고 있다 (Tong et al., 1991; Monsalve-Gonzalez et al., 1995; Montgomery, 1983; Xu et al., 1993).

요 약

초음파를 이용하여 저분자 λ -carrageenan을 제조한 다음 그 특성을 조사한 결과 가용한계농도에 있어서는 대조구 λ -carrageenan은 3%에서 가용한계농도를 나타내었고, 초음파 처리에 의해 저분자화가 많이 될수록 가용한계농도는 더 높게 나타났다. 알콜 침전도는 대조구에 비해 초음파 처리구가 낮게 나타났다. 유화능은 대조구에 비하여 처리구가 낮게 나타났으며, 분자량이 낮을

Table 2. The emulsifying activity of λ -carrageenan treated by ultrasound

	λ -carrageenan (Control)	Sonicated λ -carrageenan p-1*	p-2*
Emulsifying activity (m^2/g)	38.73	6.36	6.03

*fraction of sonicated λ -carrageenan by GPC

Table 3. Browning degree of λ -carrageenan treated by ultrasound

Concentration (%)	Browning degree ¹⁾		
	λ -carrageenan (Control)	Sonicated λ -carrageenan p-1 ²⁾	p-2 ²⁾
0.05	1.758	1.842	1.628
0.10	1.644	1.796	1.904
0.20	1.894	1.922	1.828
0.30	1.772	1.954	1.918
0.40	1.786	1.896	1.862

¹⁾reference (D-glucose+L-lysine · HCl) was 1.934

²⁾fractions of sonicated λ -carrageenan by GPC

수록 유화능은 낮게 나타났다. 점도는 예상하였던 대로 초음파 처리에 의해 저분자화된 λ -carrageenan (P-1, P-2)이 대조구에 비해 낮았으며, 초음파 처리가 많이 될수록 점도는 낮게 나타났다. λ -carrageenan이 갈변반응에 대하여 크지는 않으나 어느 정도 갈변 억제효과를 가지고 있는 것으로 나타났으며, 저분자화가 많이 될수록 갈변억제효과는 전반적으로 떨어지는 것으로 나타났다. 전기영동을 이용하여 λ -carrageenan 및 저분자화된 λ -carrageenan의 분자량을 조사한 결과 대조구 λ -carrageenan의 분자량은 약 250,000이었으며 초음파 처리에 따른 저분자화 된 λ -carrageenan의 분자량은 각각 184,000 (P-1) 및 67,000 (P-2)정도 이었으며, GPC 결과도 이와 비슷하였다.

사 사

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (971-0608-058-2) 지원 사업에 위하여 수행되었기에 지원해 준 한국과학재단에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Baba M, R. Snoeck, R. Pauwels and E. De Clercq. 1988. Sulfated polysaccharides are potent and selective inhibitors of various enveloped viruses, including herpes simplex virus, cytomegalovirus, vesicular stomatitis virus and human immunodeficiency virus. *Antimicob. Agents Chemother.*, 31, 1742~1745.
- Coombe, D.R., C.R. Parish, I.A. Ramshaw and J.M. Snowden. 1987. Analysis of the inhibition of tumour metastasis by sulfated polysaccharides. *Int. J. Cancer.* 39, 82~88.
- De Clerq, E.D.A., M. Ito, S. Shigata and M. Baba. 1988. Therapeutic and prophylactic application of sulfated polysaccharides against AIDS, European Patent Application No. 0 293 826.
- Deig, E.F., D.W. Ehresmann, M.T. Hatch and D.J. Riedlinger. 1974. Inhibition of herpes virus replication by marine algal extracts. *Antimicrb. Agents Chemother.*, 6, 524~525.
- Do, J.R., Y.J. Nam, J.H. Park and J.H. Jo. 1997. Studies on Chemical Composition of Red Algae. *J. Korean Fish. Soc.*, 30 (3) 428~431.
- Efimov, V.S., A.I. Usov, T.S. Ol'skaya, A. Balunis and M.Y. Roskin. Y. 1983. Comparative study of anticoagulant activity of sulfated polysaccharides obtained from red sea algae. *Farmkol. Toksikol.*, 46 (3), 61~67.
- Hatch, M.T., D.W. Ehresmann and E.F. Deig. 1979. Chemical characterization and therapeutic evaluation of anti-herpesvirus polysaccharides from species of Dumontiaceae. In *Marine Algae in Pharmaceutical Science* (H. A. Hoppe, T. Levring and Y. Tanaka eds.), de Gruyter, New York, pp. 344~363.
- Joo, D.S., J.S. Lee, S.Y. Cho, S.J. Shin and E.H. Lee. 1995. Changes in Functional Properties of Alginic Acid by Enzymatic Degradation. *Korean J. Sci. Technol.*, 27 (1), 86~91.
- Kindness, G., W.F. Long and F.B. Williamson. 1979. Enhancement of antithrombin III activity by carrageenans. *Thromb. Res.*, 15 (1/2), 49~60.
- Kim, J.H., J.B. Hudson, A.M. Huang, K. Bannister, J.H. Choi, T.J. Towers, Y.K. Hong and R.E. Dewreede. 1997. Biological activities

- of seaweed extracts from British Columbia, Canada and Korea.
 1. Antiviral activity. *Can. J. Bot.*, 75, 1656~1660.
- Mizuno, H., T. Saito, N. Isio, N. Onda, K. Noda and K. Takada.
 1983. Mannuronic to guluronic acid ratios of alginic acids prepared from various brown seaweeds. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 49, 1591~1593.
- Monsalve-Gonzalez, A., V.G. Barbosa-Cánovas, A.J. McEvily and R. Iyengar. 1995. Inhibition of enzymatic browning in apple products by 4-hexylresorcinol. *Food Technol.*, 49, 110~118.
- Montgomery, M.W. 1983. Cysteine as an inhibitor of browning in pear juice concentrate. *J. Food Sci.*, 48, 951~952.
- Nakashima, H., Y. Kido, N. Kobayashi, Y. Motoki, M. Neushul. and Yamamoto, N. 1987a. Antiretroviral activity in a marine red alga., Reverse transcriptase inhibition by an aqueous extract of *Schizymenia pacifica*. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 113, 413~416.
- Nakashima, H., Kido, Y., Kobayashi, N., Motoki, Y., Neushul, M. and Yamamoto, N. 1987b. Purification and characterization of an avian myeloblastosis and human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor, sulfated polysaccharides extracted from sea algae. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1987, 1524~1528.
- Neushul, M. 1988. Method for the treatment of AIDS virus and retroviruses. U.S. patent No. 4, 783, 446.
- Parish, C.R. and J.M. Snowden. 1988. Sulphated polysaccharides having metastatic and/or anti-inflammatory activity. PCT Application No. WO 88/05301.
- Parish, C.R., D.R. Coombe, K.B. Jakobsen, F.A. Bennett and P.A. Underwood. 1987. Evidence that sulphated polysaccharides inhibit tumor metastasis by blocking tumor-cell-derived heparanases. *Int. J. Cancer.* 40, 511~518.
- Stancioff, D.J. and D.W. Renn. 1975. Physiological effects of carrageenan. In *Physiological Effects of Food Carbohydrates* (A. Jeanes and J. Hodge, eds), American Chemical Society, Washington, D. C. pp. 282~295.
- Tong, C.B.S. and K.B. Hicks. 1991. Sulfated polysaccharides inhibit browning of apple juice and diced apples. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1719~1722.
- Ueno, R., S. Kuno and A. Tabata. 1987. Treatment of disease caused by retroviruses. European Patent Application No. 0 240 098.
- Xu, Q., Y.-J. Chen, P.E. Nelson and L.-F. Chen. 1992. Inhibition of the browning reaction by malto-dextrin in freshly ground apples. *J. Texture studies*, 25, 407~419.

1999년 6월 28일 접수

1999년 9월 10일 수리