

시차 펄스 벗김전압전류법을 이용한 Sodium Alginate의 미량분석 연구

姜大喙 · 尹英子*

숭실대학교 자연과학대학 화학과
(1999. 9. 28 접수)

Microanalytical Study of Sodium Alginate by Differential Pulse Stripping Voltammetry

Dae Joon Kang and Young Ja Yun*

Department of Chemistry, Coll. of Natural Science, Soong Sil University, Seoul 156-743, Korea
(Received September 28, 1999)

요 약. 본 실험에서는 고분자 상태의 Sodium Alginate를 시차펄스 전압전류법을 이용하여 최적의 분석조건을 조사 연구하였고, 먼저 고분자 상태인 Sodium Alginate를 순환전압전류법과 IR로 확인 작용기를 확인하였다. 수은방울크기(medium size), 수집시간(60초), 수집전위(-0.20V vs Ag/AgCl), 주사속도(100mV/sec), 지지 전해질(0.10M NaClO₄, pH 6.8)의 선택 등 최적의 분석조건을 정하였다. 그리고 고분자 상태인 Sodium Alginate와 고분자 상태의 Sodium Alginate를 100 °C 산조건하에서 가수분해하여 저분자화시켰을 때, 전류봉우리 높이 변화를 비교 분석하였다. 위와 같은 최적조건에서 Sodium Alginate를 정량분석해 본 결과 고분자 상태의 검정곡선은 0.50ppm으로부터 4.0ppm의 범위에서, 저분자일 때는 0.05ppm에서 0.24ppm의 범위에서 선형적이었다.

ABSTRACT. In this study, the optimum analytical condition of Differential Pulse Voltammetry for the polymeric Sodium Alginate was studied and its reduction functional groups were confirmed using Cyclic Voltammetry and IR spectroscopy. Optimum conditions were as followed; mercury drop size : medium size, accumulation time : 60sec, accumulation potential : -0.20V vs Ag/AgCl, scan rate : 100mV/sec, supporting electrolyte : 0.10M NaClO₄(pH 6.8). After polymeric Sodium Alginate was hydrolyzed at 100 °C in acidic condition, the current peaks of oligomer were compared with current peak of polymeric Sodium Alginate. In this optimum condition, calibration curve of polymer Sodium Alginate showed good linearity from 0.50ppm to 4.0ppm where as oligomeric Sodium Alginate showed good linearity from 0.05ppm to 0.24ppm.

서 론

Sodium Alginate는 optical isomer인 β -D-manuronate와 α -L-guluronate가 1,4 glucoside 결합으로 이루어진 Fig. 1과 같은 linear alternating copolymer구조^{1,4}를 갖고 있으며 주로 마역, 툯, 다시마같은 갈조류(brown algae)에서 추출⁵된다. 또한 Sodium Alginate는 친수성과 점성을 갖고 있기 때문에 이러한 성질을 이용하여 식품, 화장품의 첨가제, 인공혈관의 표면처리,

drug delivery system등에 많이 이용되며 체내 중금속과 콜레스테롤을 몸 밖으로 배출시키는 작용을 하는 것으로 알려지면서 기능성식품에 응용되고 있다.⁶ 최근 우리나라 식생활이 서구화되면서 심장계 질환의 발생이 증가추세에 있는 가운데 고섬유식이는 비만증을 포함한 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증 및 악성종양 등 만성퇴행성질환(성인병)의 예방과 치료에 도움이 된다고 발표되고 있다.⁵ 식용갈조류들에 많이 함유되어 있는 알긴산은 거대분자이지만 분자중에 함

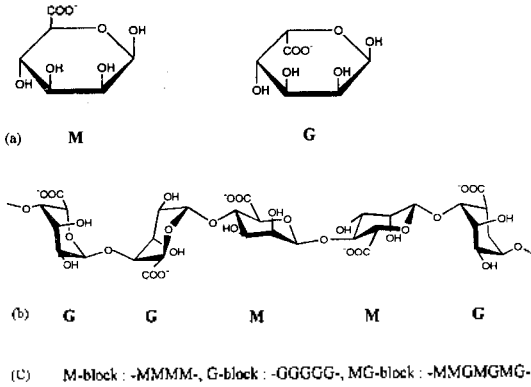


Fig. 1. Structure of alginate. (a) monomer of alginate (M: β -D-mannuronate, G: α -L-guluronate). (b) alginate chain (chair formation), and (c) symbolic representation of an alginate chain.

유하는 COOH 등의 기능적 친화성¹²에 의하여 식이성 섬유질이 공통적으로 보이는 생리효과에 더하여 항혈청 콜레스테롤 증가 효과, 혈청중성지방 저하효과, 그 밖에 혈청지방 개선효과 등을 보이고 있지만, 이 거대분자를 보다 저분자화함으로써 기능기의 노출을 증가시키면 거대분자상태일 때보다 기능성을 증가시킬 수 있다고 보고된 바 있다.⁸ 지금까지 Sodium Alginate는 HPLC¹⁴, UV¹⁵, 적정법¹¹ 등으로 정량실험이 이루어졌고 NMR^{12,13}, electrophoresis¹⁴, GC¹⁵ 등으로 β -D-mannuronate와 α -L-guluronate의 조성결정 등 많은 연구들이 이루어졌다. 그리고 최근에는 voltammetry를 이용하여 중금속과 alginate의 착물현상연구¹⁶⁻¹⁸ 등이 진행되고 있다. 그러나 differential pulse voltammetry를 이용한 Sodium Alginate의 고분자와 저분자 상태의 정량분석에 대한 보고가 없었으며, 다른 분광분석법에 비해 훨씬 미량까지도 정량가능하므로 본 실험에서는 differential pulse voltammetry를 이용하여 Sodium Alginate의 미량분석의 최적조건을 조사하였다. 먼저, 고분자 상태인 Sodium Alginate에서 cyclic voltammetry와 IR로 환원작용기를 확인하였고 흡착시간, 흡착전위, 전위 주사 속도, pH의 영향, 온도의 영향, 지지전해질의 영향 등의 분석의 최적조건을 조사하였다. 또한 고분자 상태인 Sodium Alginate를 100 °C 산 조건하에서 가수분해하여 저분자화 시켰을 때 전류 봉우리의 높이 변화를 비교 분석하였다.

실험

기기 및 장치

본 실험에 사용한 전기화학 측정장치는 EG & G PAR Model 273 Galvanostat/Poten-tiostat, PAR Model 305 Stirrer가 부착된 PAR Model 303A Static Mercury Drop Electrode(SMDE)를 사용하였다. 사용한 Hanging Mercury Drop Electrode(HMDE) 무게는 2.5mg, 표면적은 $1.56 \times 10^{-2} \text{cm}^2$ (Medium Size)이었다. pH측정은 Orion사의 Expandable IonAnalyzer EA 940과 Combination pH Glass electrode를 사용하였다. 3차중류수는 Millipore Milli-Q plus, 시료를 일정량 취하기 위해 Rannin Micropipette(1~250 μL)을 사용하였다.

시약 및 시료

Sodium Alginate, Na_2CO_3 , HClO_4 는 Junsei Chemical Co., Ltd.의 특급시약, NaClO_3 는 Hayashi Pure Chemical Industries., Ltd., H_3BO_3 는 Yacury Pure Chemicals Co., Ltd. KNO_3 는 Samchun Pure Chemical Industries., Ltd.의 특급시약을 사용하였고 HCl 은 Duksan Pure Chemical Co., Ltd.의 1급시약을 사용하였다. 시료중에 녹아있는 산소를 제거하기 위해 분석용 질소(N_2)가스를 사용했고, 모든 반응용기 및 유리기구, stirbar 등은 Duksan Pure Chemical Co., Ltd.에서 구입한 Ultra Clean solution과 6.0M 질산에 24시간 이상 담근 후 사용하였다.

실험방법

순환전압전류법(Cyclic Voltammetry). 지지전해질 0.10M NaClO_4 10mL를 반응용기에 넣고 10분간 질소가스를 통과시켜 산소를 제거한 후 HMDE에 새로운 수은방울을 매달고 100mV/sec의 주사속도로 0.0V (E vs. Ag/AgCl)에서 음의방향으로 주사시키고 -0.50V (E vs. Ag/AgCl)에서 양의방향으로 주사하여 순환전압전류곡선을 얻는다.

시차펄스전압전류법(Differential Pulse Voltammetry). 지지전해질 0.10M NaClO_4 10 mL를 반응용기에 넣고 10분간 질소가스를 통과시켜 산소를 제거한 후 HMDE에 새로운 수은방울을 매달고 수집전위 -0.20V (E vs. Ag/AgCl)에서 1분간 수집하고 교반을 멈춘상태에서 15초간 평형을 유지한다. Scan rate는 100mV/sec로 주사하여 시차펄스 전압전류곡선을 얻

는다. 시료를 micropipette으로 일정량 취해 반응용기 속에 주입하고 1분간 질소가스를 주입한 뒤 수은방울을 다시 매다는 절차부터 되풀이해서 시차펄스 전압전류곡선을 얻는다.

Sodium Alginate의 가수분해법. 100°C, HCl 1.0 × 10⁻³ M 산조건하에서 0.01% Sodium Alginate를 넣고 10분에서 3시간까지 가수분해하였다.

결과 및 고찰

순환전압전류곡선. Fig. 2는 0.10M NaClO₄(pH 6.8) 지지전해질에서의 순환전압전류곡선이다. a는 지지전해질의 순환전압전류곡선이고 b, c는 각각 Sodium Alginate 0.99ppm, 2.9ppm 농도에서의 환원봉우리이다. Sodium Alginate의 농도가 증가할수록 환원봉우리 높이도 증가하였고 산화봉우리는 나타나지 않으므로 비가역적인 산화환원반응임을 알수 있었다.

Sodium Alginate의 벗김봉우리에 대한 지지전해질의 pH의 영향. Sodium Alginate 0.99ppm 농도에서 0.10M NaClO₄ 지지전해질의 pH를 2.7에서 pH9.2 까지 변화시키면서 봉우리 높이가 변화를 보였다. Fig. 3에서 보듯이 Sodium Alginate 봉우리 높이는 pH2.7에서 가장 낮았고 pH6.8에서 가장 높았고, pH가 높아질수록 봉우리 위치가 이동하는 결과를 얻었다. 따라서 pH6.8을 택하여 전 실험과정에 사용하였다.

Sodium Alginate의 벗김봉우리에 대한 지지전해질의 변화. Sodium Alginate의 벗김봉우리에 대한 지지

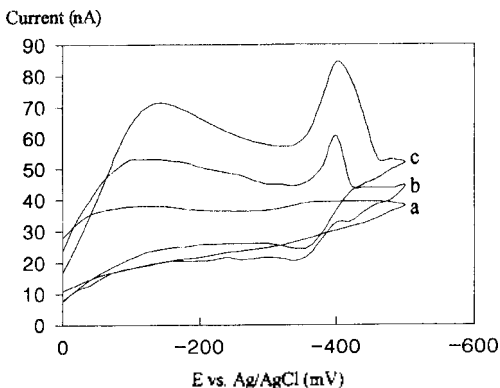


Fig. 2. Cyclic voltammograms of sodium alginate: a. 0.10M NaClO₄ at pH 6.8, b. sodium alginate 0.99ppm in 0.1M NaClO₄ at pH 6.8, and c. sodium alginate 2.9ppm in 0.1M NaClO₄ at pH 6.8.

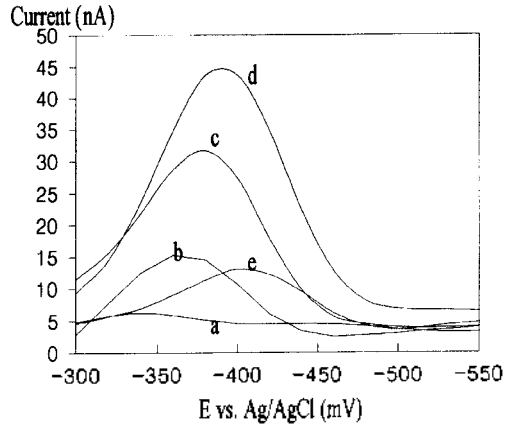


Fig. 3. Effect of supporting electrolyte pH on the peak current of sodium alginate 4.0ppm in 0.10M NaClO₄: (a) at pH 2.7, (b) at pH 4.1, (c) at pH 5.8, (d) at pH 6.8 and (e) at pH 9.2.

전해질의 영향을 살펴보기위해 0.10M NaClO₄, 0.10 M KNO₃, 0.10M HClO₄, 0.10M H₃BO₃를 각각 택하고 Sodium Alginate 2.4ppm 농도에서 시차펄스 전압전류법으로 실험한 결과 0.10M NaClO₄에서 가장 재현성이 좋았고 가장 높은 봉우리 전류값을 나타내었다(Table 1) 따라서 0.10M NaClO₄를 지지전해질로 택하여 전 실험과정에 사용하였다.

Scan Rate 변화. Fig. 4에서 scan rate를 10mV에서 300mV까지 변화시킬 때 Sodium Alginate의 벗김봉우리높이도 역시 지수함수적으로 증가함을 알 수 있었다. Fig. 4에서 scan rate는 Sodium Alginate의 벗김봉우리높이에 현저하게 영향을 끼쳤고 scan rate가 200 mV보다 커지면 완전한 봉우리 모양을 관찰할 수 없었다. 따라서 본 실험에서는 실험결과의 재현성 및 분석시간과 분리능을 감안하여 medium size의 수은방울 크기, 100mV의 scan rate를 택하여 전 실험과정에 사용하였다.

수집 전위의 변화. Fig. 5는 0.10M NaClO₄ pH6.8의 지지전해질을 사용하여 Sodium Alginate 2.9ppm 농도에서의 벗김봉우리 전류값에 대한 수집 전위의

Table 1. Effect of supporting electrolyte on the peak current of sodium alginate 2.4ppm.

| | 0.10M NaClO ₄ | 0.10M KNO ₃ | 0.10M HClO ₄ | 0.10M H ₃ BO ₃ |
|--------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| Currents(nA) | 20 | 11 | 13 | 10 |

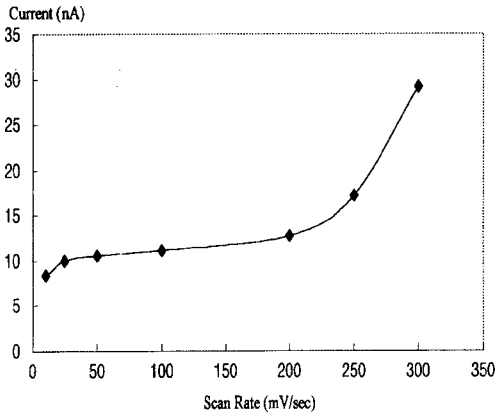


Fig. 4. Effect of scan rate on the peak current of sodium alginate 2.9ppm in 0.10M NaClO₄.

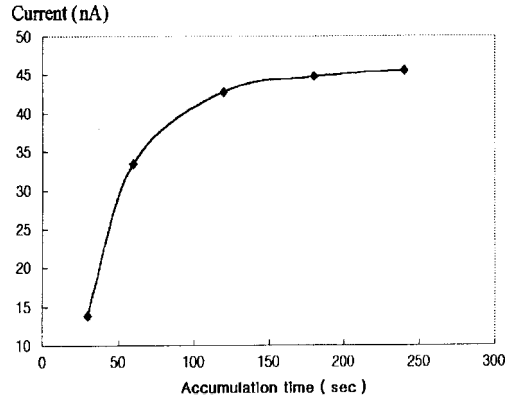


Fig. 6. Effect of accumulation time on the peak current of sodium alginate 2.9ppm in 0.10M NaClO₄.

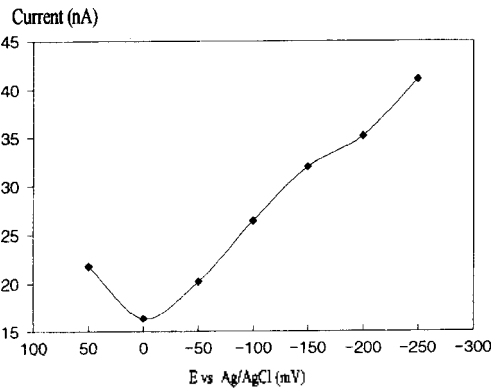


Fig. 5. Effect of accumulation potential on the peak current of sodium alginate 2.9ppm in 0.10M NaClO₄.

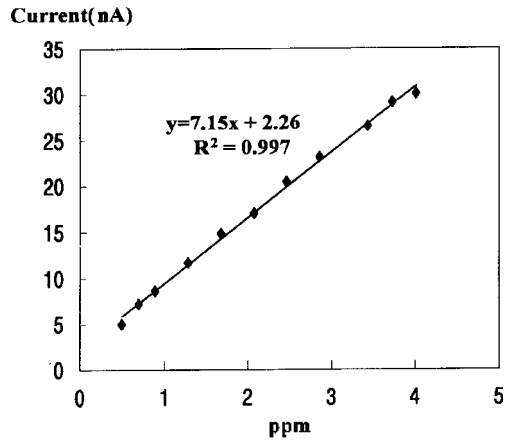


Fig. 7. Calibration curve for the differential pulse stripping voltammetric determination of polymeric sodium alginate in 0.10M NaClO₄. Accumulation time: 60 sec, scan rate: 100 mV/sec, accumulation potential: -0.20V.

의존성을 나타낸 것이다. 이 실험에서 수집전위를 50 mV에서 -250mV까지 변화시켰을 때 봉우리 높이는 감소하다가 증가하였다. 재현성을 감안해서 본 실험에서는 가장 적합한 수집전위를 -200mV로 택하여 전 실험과정에 사용하였다.

수집시간의 변화. Fig. 6은 Sodium Alginate 2.9ppm의 벗김봉우리 전류값을 수집시간 30초에서 240초까지 변화시키면서 수집시간의 영향을 살펴본 결과 120초까지는 봉우리 전류값이 증가함을 알 수 있었으며 120초 이상에서는 거의 일정한 전류값을 나타내었다. 따라서 본 실험에서는 분석시간을 감안하여 수집시간을 60초로 정하여 실험하였다.

고분자 Sodium Alginate의 검정선. Fig. 7은 Sodium Alginate를 0.50ppm에서부터 4.0ppm 농도까지 변화시켜 0.10M NaClO₄ pH6.8 지지전해질 속에서 시차

펄스전압전류법으로 Sodium Alginate의 농도에 대한 봉우리 전류값으로 검정선을 얻은 결과이며, 농도대 전류값이 비례하는 것을 알 수 있었다. 이 때 기기 조건은 앞의 실험에서 구한 최적조건을 따라 실험하였다.

저분자 Sodium Alginate의 검정선. Fig. 8은 고분자 상태의 Sodium Alginate를 100 °C 산조건하에서 가수분해시켜 저분자 상태의 Sodium Alginate를 얻고 0.10M NaClO₄ 지지전해질 속에서 시차펄스 음극 벗김 전압전류법으로 0.05ppm에서부터 0.24ppm 농도까지 변화시키며 봉우리 전류값을 구한 결과이며, 농도대 전류값이 비례되는 만족한 결과를 보였다. 이

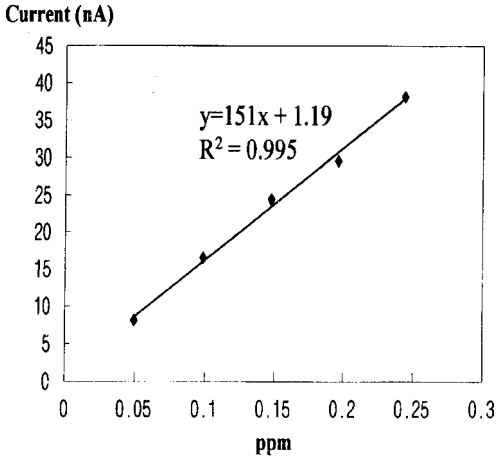


Fig. 8. Calibration curve for the differential pulse stripping voltammetric determination of oligomeric sodium alginate in 0.10M NaClO₄. Accumulation time; 60 sec. scan rate: 100 mV/sec. accumulation potential; -0.20V.

때 기기조건은 앞의 실험에서 정해진 최적조건에 따라 실험하였다.

고분자 Sodium Alginate의 가수분해시간별 검정선.

Fig. 9는 고분자상태의 Sodium Alginate를 100 °C 산 조건하에서 각각 10분, 1시간, 2시간, 3시간까지

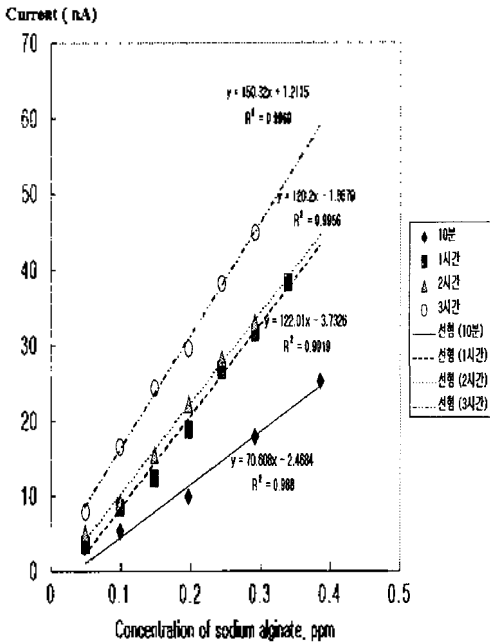


Fig. 9. Calibration curve for the hydrolysis time of polymeric sodium alginate 0.05-0.38ppm in 0.10M NaClO₄.

가수분해시켜 저분자 상태의 Sodium Alginate를 얻고 0.05ppm에서부터 0.39ppm 농도까지 변화시키며 0.10M NaClO₄ 지지 전해질 속에서 시차펄스 음극 벗김 전압전류법으로 봉우리 전류값을 구한 결과 이다. 농도대 전류값이 산조전하에서 가수분해시간에 따라 비례되는 결과를 얻었고, 3시간 가수분해시 가장 높은 봉우리 전류값을 얻었다. 이때 기기조건은 앞의 실험에서 정해진 최적조건에 따라 실험하였다.

결론

1. 순환전압전류법실험에 의해 Sodium Alginate의 산화·환원반응은 비가역 반응임을 확인하였다.
2. Sodium Alginate정량에서 scan rate 100mV/sec, 수집전위 -0.20V, 수집시간 60초, 지지전해 질 0.1M NaClO₄, 지지전해질의 pH6.8 일 때 가장 좋은 감도를 나타내었다.
3. Sodium Alginate의 detection limit는 polymer일 때 0.50ppm이고 가수분해 후 저분자일 때 0.05ppm 까지 검출할 수 있었다.

참고문헌

1. Lecompte, M. F.; Clavilier, J. J. *Electroanal. Chem.* **1984**, *164*, 345.
2. Stephen, A. M.; *Food Polysaccharides and Their Applications*; Stephen, A. M., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995; pp245-286.
3. Honghe, Z. *Carbohydr. Res.* **1997**, *302*, 97.
4. Penman, A.; Sanderson, G. R. *Carbohydr. Res.* **1972**, *25*, 273.
5. Suzuki, T.; Nakai, K. *Nippon Suisan Gakkaishi.* **1993**, *59*(3), 545.
6. Lee, D. S. *Improved Funtionality Alginate Edible Brown Algae Low Molecularization*; Pukyong National University: 1997.
7. Rourke, T. J. *J. Food science* **1993**, *58*(5), 973.
8. Cheetham, W. H. *J. Chromatogr.* **1983**, *264*, 137.
9. Haug, A.; Larsen, B. *Acta Chem. Scand.* **1962**, *16*, 1908.
10. Cameron, M. C.; Ross, A. G. *J. Soc. Chem. Ind.* **1948**, *67*, 161.
11. Hans, G.; Bjorn, L. *Carbohydr. Res.* **1981**, *89*, 179.
12. Alain, H.; Claude, G. *Carbohydr. Res.* **1996**, *289*, 11.
13. Eric, F.; Bohumil, V. *Appl. Biochem. Biotech.* **1997**, *67*, 215.
14. Arne, H.; Bjorn, L. *Acta Chem. Scand.* **1967**, *21*, 691.

15. Esteban, M.; Diaz-Cruz, J. M. *Makromol. Chem. Macromol. Symp.* **1992**, 59, 297.
 16. Manzini, G. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1984**, 12, 443.
 17. Joseph, W. *Talanta* **1991**, 38(1), 81.
 18. Reisenhofer, E. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **1984**, 12, 455.
 19. Arne, H. *Acta Chem. Scand* **1961**, 15, 950.
 20. Francisco, G. L. *Can. J. Chem.* **1997**, 75, 585.
 21. Rourke, T. J. *J. Food Science* **1993**, 58, 973.
 22. David, K. *Cyclic Voltammetry*; David, K., Ed.; VCH Publisher, Inc.: New York, 1994.
-