

감마선과 유기산을 이용한 알긴산 용액의 저분자화에 대한 연구

조 민 · 김병용* · 임종환¹

경희대학교 식품공학과, ¹목포대학교 식품생물공학과

Degradation of Alginate Solution by Using γ -Irradiation and Organic Acid

Min Cho, Byung-Yong Kim* and Jong-Hwan Rhim¹

Department of Food Engineering, Kyung Hee University

¹Department of Food Bio-Engineering, Mokpo National University

Alginates were irradiated in an aqueous solution with Co⁶⁰ gamma rays in the dose ranges from 0 to 100 kGy, and investigated the relationship between the intrinsic viscosity ($[\eta]$) and the molecular weight (M_w) of alginates. The molecular weight of alginate was measured by gel permeation chromatography and the ranges from 1,894 to 135,174 Da were obtained. The molecular weight of alginate decreased markedly with increasing the degree of γ -ray dose rate. The intrinsic viscosity of alginate solution after γ -irradiation showed the ranges from 9.83 (g/g) to 602.69 (g/g), depending upon the γ -irradiation dose. The molecular weight of alginate dependence of the intrinsic viscosity of the alginate solution would be expressed by Mark-Houwink equation. With a linearization of molecular weight and the intrinsic viscosity of the alginate solution, Mark-Houwink equation could be expressed with constant variables and the real data fitted to the equation of $[\eta]=2.2 \times 10^{-6} M_w^{1.656}$ ($R^2=0.998$).

Key words: sodium alginate, irradiation, Mark-Houwink equation, intrinsic viscosity, molecular weight

서 론

알긴산은 α -L-guluronic acid와 β -D-mannuronic acid가 1,4 결합으로 구성된 물질로서, 미역이나 다시마 등의 갈조류에 함유되어 있다^(1,2). 이러한 알긴산은 고분자 다당류로 분자량, 결합순서와 방법에 따른 구조의 다양성에 따라 겔 형성능력, 점도 증진능력, 수분 흡수능력, 결합능력, 점착능력, 유희능력 및 필름 형성능력 등의 광범위한 특성을 가져 식품, 화장품, 제지 및 의약품 등 여러 분야의 산업적 응용에 검토되어 왔다^(3,4). 또한 최근에는 알긴산의 난소화성 특성을 부각시켜 식이 섬유로써 변비 치유, 비만 억제, 항암작용 및 인체 내 독성 발취 억제효과도 보고되었다⁽⁵⁾. 이와 같이 천연섬유질 다당류인 알긴산의 기능성이 밝혀지면서 알긴산을 식품, 화장품, 의료용 소재 등으로 이용하기 위한 연구가 진행되고 있다. 하지만 상온에서 용해 시간이 길고, 농도의 증가에는 고점도 특성을 보임에 따라 그 사용에 제한이 되고 있다. 이러한 단점들을 해결하기 위해 저분자 알긴산의 필요성이 제

기 되었고, 현재까지 생분해성, 가식성 필름으로서 저농도 알긴산이 수증기 투과율과 유연성 증대의 이점⁽⁶⁾, 저분자 알긴산이 cholesterol과 Cd의 체외 배출효과의 우수와 혈중 glucose 농도 저하의 효과⁽⁷⁾, 어육연제품에 있어서 어묵의 주요 부패균인 *Bacillus. sp.*의 증식을 억제할 수 있는 저장성의 증대⁽⁸⁾ 등 저분자 알긴산의 효용에 대한 연구가 계속해서 보고되고 있다.

현재까지 많이 사용되는 고분자의 분해방법으로는 가수분해와 화학적 분해 그리고 효소분해법 등이 있다. 가열가수분해의 방법을 통한 저분자의 알긴산의 점도, 평균분자량 및 분자구조의 변화는 가열에 의한 점도와 평균분자량 사이에 밀접한 상관관계를 나타내었고⁽⁷⁾, 인산을 이용하여 분해한 뒤 시간에 따른 수율과 분자량을 나타낸 화학적 가수분해 방법⁽⁹⁾은 효율성을 강조하였다. 그러나 이 모든 방법은 분해시간, pH, 화학약품이나 효소의 투여량 등 여러 가지 조건들을 함유하고 있어 균일한 분자량의 알긴산을 얻기는 힘들고 공정이 복잡하여 산업적 측면에서 이용하기에는 힘든 실정이다. 이에 좀더 간편하고 원하는 분자량을 얻을 수 있는 방법인 감마선 조사방법이 제시되었다. 감마선 방법은 전자선 발생 자체가 전원에 의해서 조절이 가능하여 공정제어, 신속·정확성, 에너지 효율성, 소비자 수용성 등의 측면에 장점이 있어 활발한 연구활동이 이루어지고 있다^(10,11). 보통 감마선

*Corresponding author : Byung-Yong Kim, Department of Food Engineering, Kyung Hee University, Yongin 449-701, Korea
 Tel: 82-31-201-2627
 Fax: 82-31-202-0540
 E-mail: bykim@khu.ac.kr

은 살균처리를 위해서 사용된다. 하지만 근래에 감마선 조사를 통한 안전성이 높은 저분자 전분 제조의 연구보고⁽¹⁰⁾와 알긴산에 감마선을 처리한 분해물이 식품첨가물로서 사용 가능하다는 연구보고⁽¹¹⁾ 등과 같이 식품의 가공 기술로서의 사용이 늘고 있다. 그러나 현재까지 저분자 알긴산 제조에는 분자량 조절이 어렵고, 수율이 낮으며, 환경문제를 일으키는 등의 단점을 가진 화학적 분해 및 효소 분해법이 주로 사용되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 이러한 문제점을 보완하기 위해 방사선 조사법을 이용한 알긴산의 분해에 따른 특성을 파악, 분해법에 대한 정확성을 검증하고 효율성을 높이는 목적을 두었으며, 유기산 첨가에 따른 알긴산의 분자량 변화와 비교하여 두 가지 방법에 대한 효율성을 비교하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 알긴산은 알긴산염(Alginic acid, sodium salt, Aldrich Chemical Co.)을 사용하였다. 산에 의한 저분자화에 사용된 유기산은 citric acid(Aldrich Chemical Co.), formic acid(Showa Co., Japan), ascorbic acid(Dea Heung Pharm. Co., Korea)였으며, 대조군으로 HCl(Dukan Pure Chemical. Co., Korea)을 사용하였다.

감마선 조사

Alginic acid의 방사선 조사는 5%(w/w)의 용액을 한국원자력 연구소에 있는 감마선 조사시설(선원: Co-60, 10만 Ci)을 이용하여 실온에서 시간당 일정 선량률로 2~100 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였으며, 방사선을 조사한 시료는 동결 건조(SFDSF 12, Sam-Won Freezing Engineering Co., Korea)하여 30 mesh 이하로 분말화 시킨 후 실험에 사용하였다.

고유점도 측정

25 ± 1°C로 유지한 항온기에 capillary 점도계(Cannon Instrument Co. No. 300, USA)를 설치하고 방사선 조사를 거친 알긴산 용액(1~4%, w/w)을 일정 양 넣은 뒤 30분간 항온기에 방치한 후 비점도(specific viscosity, η_{sp})를 측정하였다⁽¹²⁾. 시료 용액의 비점도를 구한 다음 아래의 식으로부터 고유점도를 구하였다⁽¹³⁾.

$$\text{Relative viscosity } (\eta_{rel}): \eta_s/\eta_0$$

$$\text{Specific viscosity } (\eta_{sp}): (\eta_s - \eta_0)/\eta_0 = \eta_{rel} - 1$$

$$\text{Intrinsic viscosity } ([\eta]): \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_s - \eta_0}{C \cdot \eta_0}$$

where, η_s : viscosity of irradiated solution

η_0 : viscosity of H₂O

C: concentration (g/g)

분자량 측정

감마선 조사를 거친 알긴산 용액은 GPC(Gel Permeation Chromatography)를 통해 분자량(M_w)을 측정하였다. 시료는 용

매(0.1 N NaNO₃)에 녹여 0.3%로 하고 0.45 μ L syringe filter 에 filtration 후 주사하였다. GPC의 detector, flow rate, injection volume는 각각 RI750F, 1.0 mL/min, 100 μ L로 하였다. Column은 ultrahydrogel linear(6~13 μ m, 7.8×300 mm, Waters, USA)를 ultrahydrogel guard column을 연결하여 사용하였다. 분자량 표준 곡선은 PEG(Polyethylene glycol, Showa Chemicals, Inc., Japan)를 분자량 표준품으로 하여 나타내었다.

Mark-Houwink 식

감마선 조사에 의한 알긴산의 저분자화 정도는 polymer의 분자량(M_w)과 고유점도($[\eta]$)와의 관계를 나타낸 Mark-Houwink 식을 이용하였다⁽¹²⁾.

$$[\eta] = KM_w^a$$

여기서 $[\eta]$ 는 고유점도이고, K, a는 고유점도와 분자량의 관계에서 결정되는 상수값이다.

유기산 첨가에 따른 분자량 변화

Citric acid로 pH 2~4 용액을 제조한 후, 각 pH 용액별로 5%(w/w)의 알긴산 용액을 만들어 이를 pH별 시험 용액으로 하고, citric acid를 이용하여 pH 2 알긴산 용액을 만든 다음, 40~90°C의 온도 범위에서 교반 후 상온에서 냉각 후 온도별 알긴산 시험 용액을 제조하였다. 그리고 유기산의 종류(formic acid, ascorbic acid)를 달리하여 pH 2의 조건에서 유기산 종류별 시험용액을 만들고, 대조군으로 HCl을 사용하였다. 제조된 시험 용액들은 위의 분자량 측정법에 따라 각 조건에 따른 알긴산의 분자량을 측정하였다.

결과 및 고찰

방사선량에 따른 고유점도의 변화

감마선 조사량에 따른 알긴산의 고유점도($[\eta]$)는 상대점도(η_{rel})와 비점도(η_{sp})를 거쳐 산출할 수 있었다. 감마선 조사량에 따른 $\log(\eta_{sp}/C)$ 값을 확인함으로써 조사량에 따라 고유점도가 감소함을 예측할 수 있었고, 100 kGy의 감마선이 조사된 알긴산 시료를 제외하고 모든 시료의 $\log(\eta_{sp}/C)$ 값이 높은 정확성($R^2=0.964\sim0.999$)을 보였다(Fig. 1). 감마선 조사 후의 시료 용액의 고유점도와 분자량 측정 결과는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에서 보여지듯이 감마선이 2 kGy 조사되었을 때 고유점도가 500(g/g)이었고, 10 kGy 조사되었을 때 200(g/g)으로, 10 kGy 이하에서는 급격히 감소하였으며, 10 kGy 이상의 감마선량에서는 완만히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 감마선 조사량의 증가에 따른 고유점도의 감소는 전분을 이용한 연구⁽¹⁰⁾와 후추 가루를 이용한 연구 보고⁽¹¹⁾와 같은 경향을 나타내었다. 또한 이 같은 방사선 조사선량과 점도와의 관계를 이용하여 농산물의 방사선 검지에 대한 연구결과 보고가 진행되고 있다⁽¹⁷⁾.

방사선량에 따른 분자량의 변화

감마선 조사량에 따른 알긴산의 분자량 변화를 측정하기 위해 GPC를 이용하여 분자량을 측정하였다. 알긴산의 분자량 측정은 PEG를 표준품으로 하여 표준 곡선을 나타내고

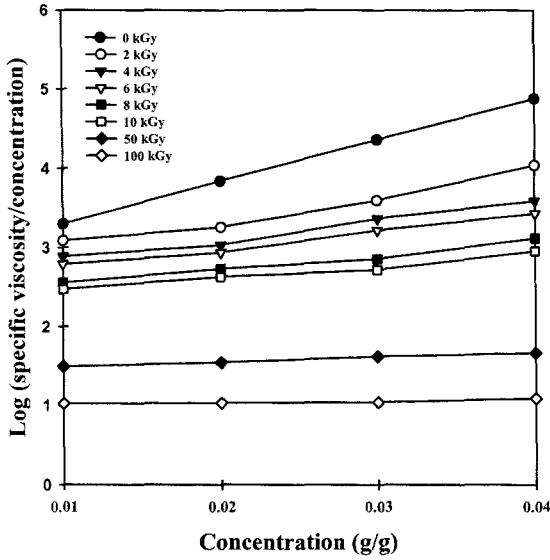


Fig. 1. Changes in reduced viscosity of alginate solution γ -irradiated at different doses.

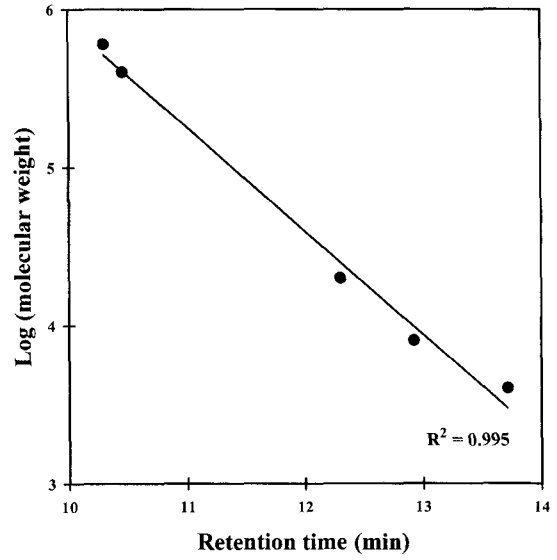


Fig. 3. Universal calibration curve of the GPC chromatogram.

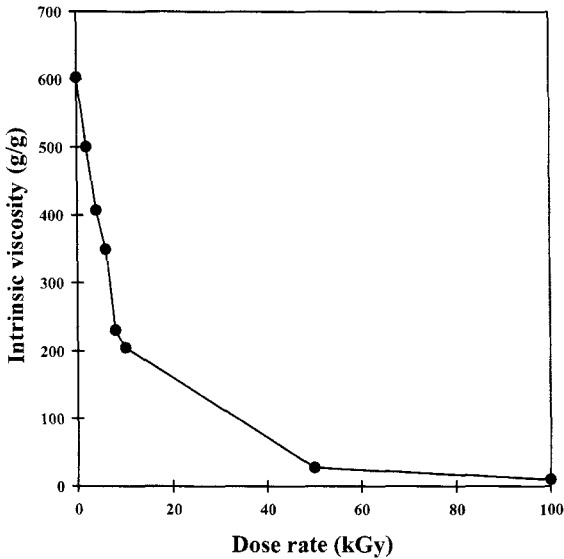


Fig. 2. Changes in intrinsic viscosity of alginate solution γ -irradiated at different doses.

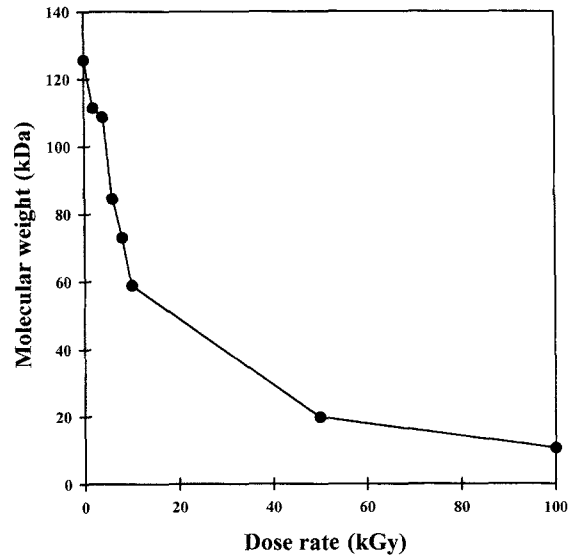


Fig. 4. Changes in molecular weight of alginate solution γ -irradiated at different doses.

(Fig. 3) 분자량을 산출하였다. 방사선을 조사함에 따라 생성되는 반응의 종류는 중합(polymerization), 가교(bridge building), 분해(degradation)등이 있다⁽¹⁴⁾. 알긴산의 경우, 중합도(polymerization degree)가 감소한다는 보고⁽¹⁵⁾와 방사선이 조사될 때 sodium alginate가 분해 되는 과정이 보고⁽¹⁶⁾된 바 있다. 감마선 조사량과 알긴산의 분자량의 변화는 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 2 kGy 조사시에 알긴산의 분자량은 111,000 Da, 10 kGy 조사시에는 58,000 Da으로 10 kGy 이하의 조사량에서는 분자량이 급격히 감소하고, 10 kGy 이상의 조사량부터는 서서히 감소함을 보여주어 감마선 조사량에 따른 알긴산의 고유점도의 변화와 같은 경향을 보여주었다. 알긴산의 분자량이 감마선 조사량의 증가에 따라 감소하는 본 실험의 결과는 Toru와 Setsuko 등⁽¹⁷⁾의 방사선을 이용한 후추

의 연구결과와 유사점을 보였다.

고유점도와 분자량의 상관관계

알긴산의 분자량과 고유점도와의 관계를 나타낸 Mark-Houwink 식에 대한 연구는 가열에 따른 분해 방법⁽¹⁹⁾, 초음파에 따른 분해 방법⁽²⁰⁾, 산에 의한 분해 방법⁽²¹⁾ 등이 보고되어 있다. 이들의 결과는 반응 상수(K)는 $5.075 \times 10^{-2} \sim 2.0 \times 10^{-5}$, 반응 차수(a)는 0.716~1.0으로 비교적 넓은 편차를 보였는데, 이는 알긴산 시료의 차이 및 알긴산을 저분자화 하는 방법과 분석조건 즉 용매, 온도 등에 따라 상이한 결과가 나왔다고 판단된다.

감마선 조사 후, 알긴산의 분자량과 고유점도의 변화는 Fig. 6에 직선화시켜 나타내었으며, 분자량이 증가함에 따라 고유점도는 감소하여, 키토산을 이용한 Rong와 Min 등⁽¹⁸⁾의 연구

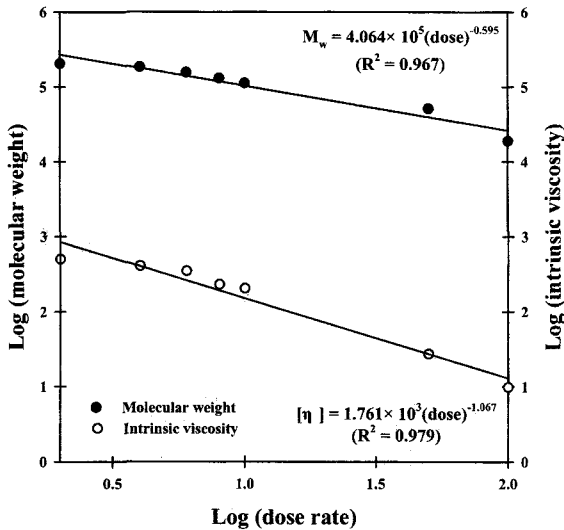


Fig. 5. Changes in intrinsic viscosity and molecular weight due to the dose rate of γ -irradiation.

결과와 유사한 경향을 보였다. 또 분자량과 고유점도의 관계 뿐 아니라 감마선 조사량과 고유점도의 관계 및 감마선 조사량과 분자량의 관계가 실험 결과를 통해 일정한 관계가 존재함을 알 수 있었고, 각 factor(분자량, 고유점도, 감마선 조사량)의 관계식을 산출할 수 있었다. Fig. 5 및 6에서 보는 바와 같이, 각 factor들 간의 관계는 대단히 높은 정확성 ($R^2 = 0.967\sim 0.998$)을 나타내었다.

유기산 첨가에 따른 알긴산의 분자량

기존의 산에 의한 알긴산의 저분자화의 단점인 탈염과정과 강산의 잔존 여부를 보완하기 위해 유기산에 의한 알긴산의 분자량 변화를 살펴보았다(Table 1). 우선 citric acid를 이용한 pH 별 알긴산의 분자량 변화를 보면, pH 3 이하에서 무처리 알긴산의 분자량보다 높은 수치의 결과 나왔고, pH 4에서는 64,636 Da으로서 감마선 조사량 8~10 kGy의 저분자 효과 있는 것으로 나타났다. Citric acid를 사용한 pH 2 조건하에서 온도의 저분자 효과는 40°C에서 교반 했을 경우 205,797 Da, 60°C에서 164,196 Da, 90°C에서 30,491 Da의 분자량 결과를 보임으로서, 일정 온도 이상으로 가열 했을 경우에 저분자화 효과가 있음을 알 수 있었다. 낮은 온도에서의 분자량 증가는 일반적인 gum류의 특성인 일정 온도에서 가열한 후 냉각 시, 분자가 응집되어 gel화 되어 분자량이 증가하는 것으로 판단된다⁽²²⁾. 유기산 종류(ascorbic acid, formic acid)를 달리한 알긴산의 분자량 변화를 살펴보면, ascorbic acid가 98,784 Da으로 저분자 효과가 가장 컸으며, 이는 방사선 조사량 4~6 kGy의 효과를 보이는 것으로 나타

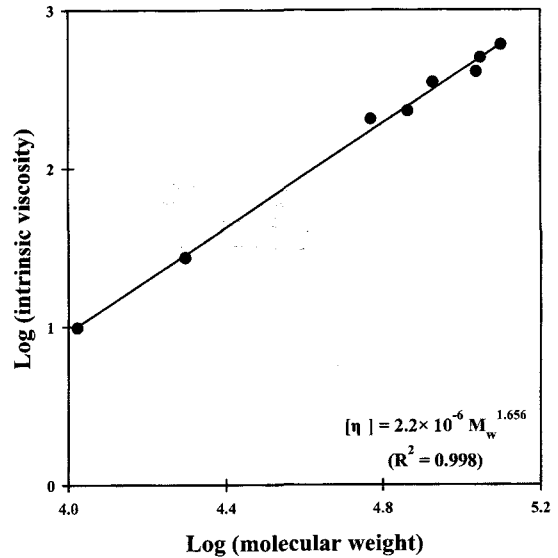


Fig. 6. Effects of molecular weight on the intrinsic viscosity of γ -irradiation alginate.

났다. 대조군으로 사용한 HCl은 저분자 효과가 저조하였으며, 앞선 pH 별 효과와 같이 citric acid는 분자량이 커지는 결과가 나왔다. Formic acid는 교반 과정 중 알긴산이 침전되는 현상을 보여 분자량을 측정할 수 없었다. 유기산 첨가에 따른 알긴산의 물리적, 화학적 특성에 관한 연구는 현재 사용중인 산가수분해 방법을 보완할 수 있는 것이라 사료되며, 앞으로 많은 연구 결과를 필요로 하는 부분이라고 판단 된다.

요 약

알긴산의 저분자화를 목적으로 선량을 달리한 감마선 처리와 유기산의 pH, 온도 그리고 산의 종류를 달리하여 실험을 실시하였다. 우선 5%(w/w)의 알긴산 수용액의 2~100 kGy 감마선 처리는 약 125,000 Da~10,500 Da 범위의 분자량을 보였고, 고유점도는 약 600~10(g/g)의 값을 나타내게 했다. 분자량과 고유점도 모두 10 kGy의 선량까지는 급격히 감소하고 10~100 kGy까지는 비교적 완만히 감소됨을 보아 10 kGy까지의 감마선 조사가 알긴산의 급격한 분해를 일으키는 것으로 나타났다. 분자량과 고유점도의 관계식인 Mark-Houwink 식은 감마선 조사를 통해 $[\eta] = 2.2 \times 10^{-6} M_w^{1.656}$ ($R^2 = 0.998$)으로 유도할 수 있었다. 유기산에 의한 알긴산의 분자량의 변화는 일정 pH와 일정 온도에서 방사선 조사량의 저분자화 효과와 비교를 할 수 있는 효과가 있는 것으로 나타났다으며, 유기산 종류에 따른 분자량 변화는 ascorbic acid

Table 1. Effects of molecular weight of alginate according to different pH, temperature, organic acid

	pH			Temperature			Organic acid		
	pH 2	pH 3	pH 4	40°C	60°C	90°C	HCl	Ascorbic acid	Citric acid
Molecular weight (Dalton)	193,658	139,620	64,636	205,797	164,196	30,491	138,212	98,784	183,558

를 이용할 경우, 저분자화 효과가 우수한 결과가 나왔지만 유기산에 의한 알긴산의 저분자화 효과는 지속적인 보완연구가 이루어져야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 과기부와 목포시에서 지원한 지역협력연구(해조류 가공과 기능성 물질 개발 연구) 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

- Mori, B., Kusima, K., Iwasaki, T. and Omiya, H. Dietary fiber content of seaweed. *Nippon Nogeikagaku* 55: 787-791 (1981)
- Nishimune, T., Sumimoto, T., Yakusiji, T. and Kunita, N. Determination of total dietary fiber in Japanese foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74(2): 350-359 (1991)
- Kennedy, J.F., Griffiths, A.J. and Atkins, D.P. *Gums and Stabilizers for the Food Industry*, p. 422. Pergamon Press, Oxford, UK (1984)
- McNeely, W.H. and Pettitt, D.J.H. *Industrial Gums*, 2nd ed., p. 49. Academic Press, New York, USA (1973)
- Park, Y.H., Chang, D.S. and Kim, S.B. Utilization of Fisheries Resources, pp. 944-953. Hyung-Seol Pub., Seoul (1994)
- You, B.J. and Shim, J.M. Effects of processing conditions on physical properties of alginate film. *Korean J. Food Soc.* 32(5): 582-586 (1999)
- Kim, Y.Y. and Cho, Y.J. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. Changes in viscosity, average molecular weight and chemical structure of depolymerized alginate. *J. Korean Fish. Soc.* 33(4): 325-330 (2000)
- Chang, D.S., Cho, H.R., Lee, H.S., Park, M.Y. and Lim, S.M. Development of alginic acid hydrolysate as a natural food preservative for fish meat paste products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30(4): 823-826 (1998)
- Ikeda, A., Takemura, A. and Ono, H. Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis. *Carbohydr. Polym.* 42: 421-425 (2000)
- Kang, I.J., Byun, M.W., Yook, H.S., Bae, C.H., Lee, H.S., Kwon, J.H. and Chung, C.K. Production of modified starches by gamma irradiation. *Radiat. Phys. Chem.* 54: 425-430 (1999)
- Humphreys, E.R. and Howells, G.R. Degradation of sodium alginate by γ -irradiation and by oxidative-reductive depolymerization. *Carbohydr. Res.* 16: 65-69 (1970)
- Vega, M.P., Lima, E.L. and Pinto, J.C. In-line monitoring of average molecular weight in solution polymerizations using intrinsic viscosity measurements. *Polymer* 42: 3909-3914 (2001)
- Park, S.M. and Lee, K.T. Effects of pH and molecular weight on the intrinsic viscosity of carboxymethyl chitin. *J. Korean Fish. Soc.* 28(4): 487-491 (1995)
- Pyun, H.C. and Nho, Y.C. The utilization of radiation in polymer industries. *Polymer* 12(5): 389-397 (1988)
- Yang, J.S. and Lee, S.R. Effects of ionizing radiation on the extraction yield and viscosity of alginate. *Korean J. Food Sci. Technol.* 9(3): 194-198 (1977)
- Naotsugu, N., Hiroshi, M., Fumio, Y. and Tamikazu, K. Radiation-induced degradation of sodium alginate. *Polym. Degradat. Stab.* 69: 279-285 (2000)
- Toru, H. and Setsuko, T. Detection of irradiation peppers by viscosity measurement at extremely high pH. *Radiat. Phys. Chem.* 48(1): 101-104 (1996)
- Rong, H.C. and Min, L.T. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *Biol. Macromol.* 23: 135-141 (1998)
- Marco, M., Mauro, M. and Fabiana, S. Rheological behaviour of aqueous dispersions of algal sodium alginates. *J. Food Eng.* 28: 283-295 (1996)
- Gura, E., Huckel, M. and Muller, P.J. Specific degradation of hyaluronic acid and its rheological properties. *Polym. Degradat. Stab.* 59: 297-302 (1998)
- Olav, S. Solution properties of alginate. *Carbohydr. Res.* 13: 359-372 (1970)
- Alan, I. *Thickening and Gelling Agents for Food*, pp. 1-21. Chapman & Hall, UK (1997)

(2002년 9월 23일 접수; 2003년 1월 7일 채택)