

## 열수처리와 투석이 alginates의 평균분자량의 측정에 미치는 영향

유병진\* · 임영선<sup>1</sup> · 류홍수<sup>2</sup>

강릉대학교 식품과학과, <sup>1</sup>강릉대학교 동해안해양생물자원연구센터

<sup>2</sup>부경대학교 식품생명공학부

## Effects of Hot Water Treatment and Dialysis on Measuring the Average Molecular Weight of Alginates

Byeong Jin YOU\*, Yeong Seon LIM<sup>1</sup> and Hong Soo RYU<sup>2</sup>

Department of Food Science, Kangnung National University, Gangnung 210-702, Korea

<sup>1</sup>East coastal Marine Bioresources Research Center (EMBRC), Kangnung National University,  
Gangnung 210-702, Korea

<sup>2</sup>Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

In preparing sodium alginates from sea tangle (*Laminaria japonica*) powder using the Mexican process, alkaline extraction, conversion to alginic acid and reversion to sodium alginates were used to increase purity. The effect of hot water treatment and dialysis on measuring the average molecular weight of sodium alginates were investigated. Intrinsic viscosity and average molecular weight of sodium alginates after dialysis were higher than those before dialysis. Average molecular weight of sodium alginates treated with hot water was higher than that without. Hot treatment has little effect on the ash content of sodium alginates. Ash content of sodium alginates before dialysis were 27-30%; those after dialysis were 10%. After dialysis, Na content was highest (89-91%), K was 11-12%, Ca was 1.9%, and Mg was 0.05%. Ash content of alginates had little effect on average molecular weight. SAV (slope of apparent viscosity) of alginates solution after dialysis showed higher values than before. SAV of the alginates with hot water treatment were higher than without treatment.

Key word: Alginates, Average molecular weight, Dialysis, Sea tangle, *Laminaria japonica*

### 서 론

Alginates는 갈조류의 세포벽을 구성하는 다당류로서  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  및  $Ba^{++}$ 에 의하여 겔을 형성하는 성질이 있으며 (Haug and Smidsrød, 1967) D-mannuronic acid와 L-guluronic acid가 1,4-glycosidic linkage를 통하여 선상으로 결합되어 있는 것으로 알려져 있다. 또한 alginates는 전체적으로 3 종류의 polymer segments 즉, D-mannuronic acid만으로 구성된 부분, L-guluronic acid만으로 구성된 부분 및 이 두가지 uronic acid가 상호교대로 구성된 3부분으로 이루어져 있다고 하였다 (Sime, 1990). 그리고 Haug et al. (1966, 1967)은 부분 산가수분해에 의하여, Penman and Sanderson (1972)이 양자핵자기공명 스펙트럼 (PMR)법으로 homopolymer segment와 heteropolymer의 조성비를 조사하였다.

Alginates의 분자량은 겔형성능 (Grant et al., 1973), 용액상태의 유체거동 (Sime, 1990), bile acid의 결합능 (You et al., 1997) 및 생리활성 (Kobayashi et al., 1997)에 영향을 주기 때문에 사용용도에 따라 분자량을 조절하여 생산하는 것이 산업적으로 매우 중요하다.

Alginate의 분자량을 측정하는 방법에 있어서 Turquoise and

Gloria (2000)은 light scattering을 측정함으로, Ci et al. (1999)는 high-performance size-exclusion chromatography를 이용하여, Nagasawa et al. (2000)와 Hien et al. (2000)은 gel permeation chromatography를 사용하였으며 Harding (1995)은 초원심분리를 이용하였다. Mancini et al. (1996)과 Chen et al. (1997)은 alginate 용액의 고유점도를 측정함으로 alginate의 분자량을 산출한 바 있는데, 산업적 측면에서 일반 alginate 생산공장에서는 alginate의 분자량을 측정하기 위하여 고가의 장비를 구입하려면 경제적 부담이 크고 비교적 시간에 많이 소요되므로 보다 측정하기 쉽고 경제적인 alginate용액의 고유점도를 측정하므로 분자량을 계산하는 방법을 택하는 것이 현실적이다. 그러나 고유점도를 측정하여 alginate분자량을 산출하는데 있어서 alginates의 정제도가 영향을 줄 것으로 예상된다.

Alginates는 주로 식품산업, 의약품제조업, 도로인쇄공업, 화장품공업 및 제지공업 등 다양하게 사용되고 있는데 의약품으로 사용할 경우, 정제도를 높이기 위하여 다시마로부터 알칼리를 사용하여 alginates를 용해 추출하고  $CaCl_2$ 로서 alginates를 회수하고 HCl을 사용하여 alginic acid으로 전환 후  $Na_2CO_3$ 를 사용하여 다시 sodium salt 형태로 제조하는 Mexican Process의 방법으로 추출한다 (Chapman, 1980). 그러

\*Corresponding author: ybjin@kangnung.ac.kr

므로 본 연구는 다시마 분말로부터 alginates를 추출 제조할 때 순도를 높이기 위하여 alginate acid로 전환하여 sodium salt 형태의 alginates를 제조할 경우, 열수로 세척하는 조작과 투석하는 것이 alginates의 평균분자량의 측정에 미치는 영향을 조사하였으므로 보고한다.

## 재료 및 방법

### Alginates의 추출, 열수처리 및 건조

Alginates의 추출은 Chapman (1980)의 방법에 따라 Mexican Process를 이용하여 추출하였다. 즉, 다시마 (*Laminaria japonica*) 건조분말 (60 mesh)에 50배의 0.5% NaOH 용액으로 80°C 진탕 수조에서 일정시간 alginates를 추출하고 1 M CaCl<sub>2</sub> 용액을 가하여 침전시키고, 원심분리하여(2,000×g, 15분) 회수하였다. 여기에 1% percholic acid를 첨가하여 탈색 및 정제하고, 1 N HCl용액을 가하여 alginate acid로 전환시켰다. Alginate acid는 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액을 가하여 alginate acid를 완전히 녹인 후 용액의 3배되는 양의 메탄올을 가하여 sodium alginates를 탈수 침전시키고 원심분리하여 회수하였다. 열수처리하지 않은 alginates는 다시 메탄올로 2회 세척하여 건조하였고, 열수처리조작은 원심 분리된 alginates를 85°C의 증류수에 녹이고 다시 메탄올을 가하여 세척하는 과정을 2회 반복하였다.

추출된 alginates의 건조는 메탄올로 세척된 alginates를 stainless steel로 제작된 30°의 경사면에 얹어 놓고 25°C 풍속 2 m/sec의 공기로 풍건하였다. 그리고 alginates를 정제하기 위하여 풍건한 alginates는 다시 탈이온수에 녹이고 투석한 후 진공동결 건조하였다.

### Alginates용액의 투석

추출된 alginates를 탈이온수에 1% 되도록 녹이고, 이 용액을 투석막 (Sigma Co. D0655, mw cut off; 13,000)을 이용하여 투석하였고, 투석 외액은 투석내용물의 200배량의 탈이온수에 넣고 자석교반기 위에서 교반하면서 투석하였으며 최초 6시간 이후에 외액을 갈아주고 그 이후에는 12시간마다 갈아주었다.

### 점도측정 및 평균분자량 (MW, Average Molecular Weight) 계산

Alginates 용액의 점도와 MW 측정은 전보 (You and Lim, 2003)에 서술한 방법에 따라 측정 계산하였다. 즉, 고유점도는 Mark-Houwink (Mitchell and Ledward, 1986)식을 이용한 Mancini et al. (1996)이 제시한 식을 사용하여 MW를 계산하였다.

### Uronic acid량, 환원당, 수분, 회분 및 미량금속의 정량

Uronic acid와 환원당 함량은 전보 (You and Lim, 2003)에 서술한 방법에 의하여 정량하였다. 미량금속의 정량은 AOAC (1995)법에 따라 시료를 건식 회화하여 HCl과 HNO<sub>3</sub>로 용해시킨 후 원자분광광도계 (Perkin Elmer PK-300, U.S.A.)로 측정하였다.

중합도 (DP, degree of polymerization) 계산과 겔보기 점도, MW 및 DP의 상관관계

Alginates의 DP와 겔보기점도 변화 (SAV, slope of apparent viscosity), MW 및 DP의 상관관계는 전보 (You and Lim, 2003)의 방법으로 측정하고 나타내었다.

## 결과 및 고찰

열수처리와 투석이 alginates 용액 고유점도와 MW에 미치는 영향

Alginates를 정제하기 위하여 행한 열수처리와 투석이 alginates 용액의 고유점도와 MW에 미치는 영향을 알아보기 위하여 상대점도로부터 계산한 고유점도와 MW를 Table 1에 나타내었다. 열수 처리조작과 관계없이 추출시간이 길어짐에 따라 고유점도는 감소하였으며, 동일한 추출시간에서는 열수 처리한 alginates가 열수 처리하지 않은 것보다 고유점도가 1.4-2.2배 높게 나타났다. 동일한 추출시간에서는 투석 전보다 투석 후의 고유점도가 열수 처리하지 않은 alginates의 경우 0.8-1.7배, 열수 처리한 경우 1.3-2.5배 높았으며, 열수 처리 유무에 따라서는 열수 처리한 것이 처리하지 않은 것보다 1.1-4.1배 높게 나타났다. Smidsrød et al. (1973)에 의하면, 고유점도는 guluronic acid와 mannuronic acid의 결합 유연성에 많은 영향을 받으므로 guluronic acid의 함량이 높은 G block의 함량이 많으면 결합이 강하여 유연성이 낮아지는 반면, mannuronic acid의 함량이 높은 M block이 많으면 결합정도가 약하여 유연성이 높아진다고 하여 이들 함량이 고유점도와 높은 상관성이 있음을 설명하였다. 그러나 Matsumoto and Mashiko (1990)에 의하면, 고유점도는 alginates의 block 구조보다 분자량과 더 높은 상관성이 있으므로 고유점도를 측정하여 alginates의 분자량을 계산하는 것이 합리적이라고 보고하였다.

본 실험에서도 고유점도를 이용하여 평균분자량을 산출하였다 (Table 1). 고유점도의 결과와 마찬가지로 추출시간이 길어짐에 따라 분자량은 감소하였고, 동일한 추출시간에서 투석 후의 분자량이 투석 전보다 열수 처리하지 않은 alginates의 경우, 2.3-5.0배, 열수 처리한 경우, 1.4-4.6배 높게 나타났다. 열수 처리유무가 alginates 분자량의 크기에 미치는 영향 정도를 알아보기 위하여 투석 후 alginates의 분자량에 대한 투석 전 분자량의 백분율을 MW ratio로 나타내었다. 동일한 추출시간에서 열수 처리한 alginates의 MW ratio가 열수 처리하지 않은 것에 비하여 1.1-2.2배 높게 나타나 열수 처리에 의하여 메탄올에 침전되지 않은 저분자 alginates가 많이 제거되었음을 알 수 있었다. 이것은 열수 처리할 때 alginates가 열수에 충분히 용해되어 저분자 alginates가 고분자 alginates로부터 쉽게 분리되므로 메탄올 첨가에 의하여 고분자 alginates가 겔화될 때 저분자 alginates를 포집하는 양이 적어졌기 때문이다. 또한 추출시간이 길어짐에 따라 MW ratio가 감소하였다는 것은 저분자 alginates의 생성량이 증가하였다

Table 1. Molecular weight of sea tangle alginates prepared with various extracting and purifying conditions

	Extracting time (hr)	Dialysis	Intrinsic viscosity (dL/g)	MW <sup>1</sup> (dalton)	MW ratio <sup>2</sup> (%)
With hot water treatment	1.5	before	254.7	1.779×10 <sup>5</sup>	69.2
		after	490.9	2.571×10 <sup>5</sup>	
	6.0	before	156.0	1.107×10 <sup>5</sup>	56.7
		after	390.8	1.951×10 <sup>5</sup>	
	12.0	before	68.2	1.045×10 <sup>4</sup>	21.9
		after	86.5	4.774×10 <sup>4</sup>	
Without hot water treatment	1.5	before	121.9	7.229×10 <sup>4</sup>	44.3
		after	200.9	1.632×10 <sup>5</sup>	
	6.0	before	71.4	1.655×10 <sup>4</sup>	25.9
		after	95.1	6.391×10 <sup>4</sup>	
	12.0	before	47.5	7.075×10 <sup>3</sup>	19.9
		after	79.6	3.562×10 <sup>4</sup>	

\* All data were expressed as mean±SE with 5 replicatings.

<sup>1</sup>The MW indicates average molecular weight.

<sup>2</sup>The MW ratio expressed the percent ratio of MW before dialysis to MW after dialysis.

Table 2. Characteristics of sea tangle alginates prepared with various extracting and purifying conditions

	Extracting time (hr)	Dialysis	Ash <sup>1</sup> (%)	Uronic acid <sup>1</sup> (%)	DP <sup>2</sup>
With hot water treatment	1.5	before	26.9±0.1	72.3±0.8	916.3
		after	10.1±0.3	88.0±0.3	1,323.3
	6.0	before	27.6±0.4	71.0±0.2	570.3
		after	10.3±0.5	88.4±0.3	1,004.5
	12.0	before	28.7±0.6	70.2±0.6	53.8
		after	10.4±0.4	88.3±0.7	245.0
Without hot water treatment	1.5	before	28.0±0.2	71.0±0.2	372.3
		after	10.8±0.2	88.6±0.6	840.6
	6.0	before	28.5±0.4	69.6±0.3	85.2
		after	10.7±0.2	88.8±0.4	329.3
	12.0	before	29.9±0.1	69.1±0.4	36.4
		after	10.2±0.3	88.3±0.2	183.5

\* All data were expressed as mean±SE with 5 replicatings.

<sup>1</sup>Dry basis.

<sup>2</sup>The DP indicates degree of polymerization expressed as the ratio of reducing sugar content (%) to uronic acid content (%).

Table 3. Effects of hot water treatment and dialysis on the content of minerals composed of ash in sea tangle alginates extracted for 6 hrs from seatangle powder

	Dialysis	Sodium	Potassium	Calcium	Magnesium	Total <sup>1</sup>
Without hot water treatment	before	23.3±0.4 (81.8) <sup>2</sup>	3.5±0.2 (12.3)	1.3±0.2 (4.6)	0.1±0.0 (0.4)	28.5±0.4 (100.0)
	after	9.6±0.8 (89.7)	0.7±0.1 ( 6.5)	0.2±0.0 (1.9)	<0.05	10.7±0.2 (100.0)
With hot water treatment	before	23.1±0.3 (83.7)	3.0±0.2 (10.9)	1.1±0.1 (4.0)	0.1±0.0 (0.4)	27.6±0.4 (100.0)
	after	9.4±0.5 (91.3)	0.5±0.1 ( 4.9)	0.2±0.0 (1.9)	<0.05	10.3±0.5 (100.0)

<sup>1</sup>Total content indicates ash content.

<sup>2</sup>Numbers (%) of parenthesis were the ratio of each mineral content to total content.

는 것을 의미한다.

열수 처리와 투석이 alginates의 회분, uronic acid 함량 및 DP에 미치는 영향을 조사하여 Table 2에 나타내었다. 열수 처리유무와 추출시간에 관계없이 투석 전 alginates의 회분함

량은 27-30%, uronic acid 함량은 70-72%이었으나, 투석 후 회분함량은 10% 내외, uronic acid 함량은 88% 정도를 나타내어 투석에 의하여 저분자 alginates와 무기질이 63% 이상 제거되어 1.3배 가량 정제되었음을 알 수 있었다. Launey et al. (1986)

은 같은 크기의 분자에서도 음전하를 가진 다전하 분자가 액체상태에서 거대 이온 및 반대전하의 이온과 함께 존재하면 전기적 반발력으로 인해 다전하 분자의 사슬사이가 넓어져 alginates의 고유점도는 막대모양의 거대 분자에 비하여 높게 나타나며, Smidsrød (1970)는 높은 이온강도에서 alginates의 고유점도는 0.1 M HCl 용액에 존재할 때 형태인 alginic acid처럼 전하를 띠지 않을 경우 반대 전하에는 전혀 영향을 받지 않는다고 하여 alginates의 고유점도는 용액에 존재하는 이온들의 종류와 양에 따라 달라진다고 보고하였다.

Alginates의 반대전하인 양전하를 구성하는 것은 금속이온이므로, 회분 중의 금속함량이 alginates 용액의 점도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 회분에 내포된 금속함량을 측정하여 Table 3에 나타내었다. 열수 처리유무와 관계없이 투석 전의 경우, 회분 함량은 27-30%이었으며 그 중 Na이 81-84%로 가장 많은 양을 차지하였으며, 그 다음이 K (11-12%), Ca (1%), Mg (0.4%) 순이었다. 투석 후에는 모든 금속양은 10% 내외로 감소하였으나 조성은 투석 전과 같은 경향을 나타내었다. 그리고 본 연구에서 alginates의 고유점도를 측정하여 MW을

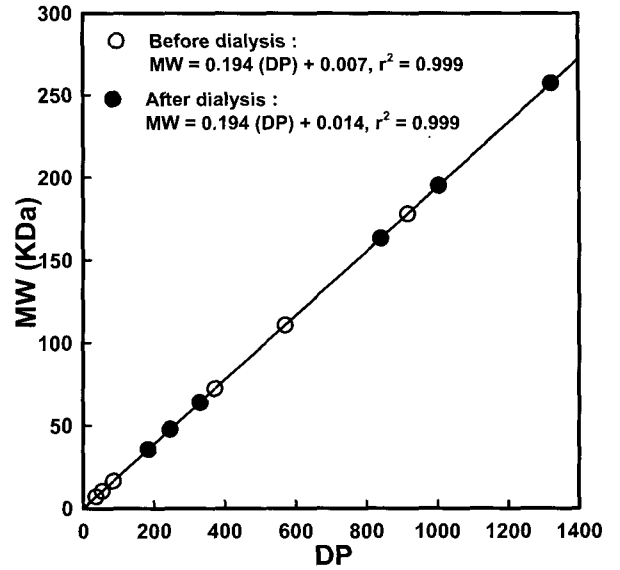


Fig. 1. Relationship between of DP and MW in sea tangle alginates prepared by purifying conditions.

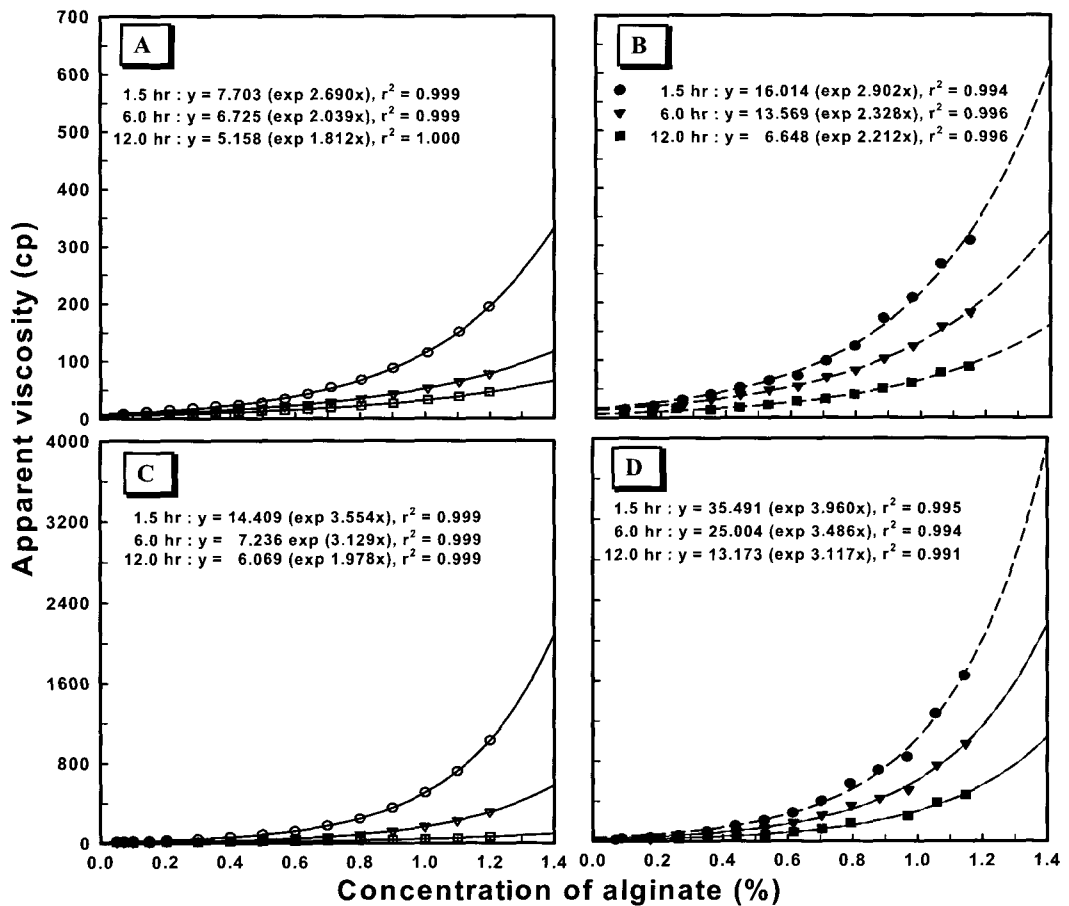


Fig. 2. Changes of apparent viscosity in sea tangle alginates prepared with various purifying conditions. A, without hot water treatment, before dialysis; B, without hot water treatment, after dialysis; C, with hot water treatment, before dialysis; D, with hot water treatment, after dialysis

계산하는 것은 금속으로 구성된 회분함량에 영향을 받을 것으로 예측되었기 때문에 영향받는 정도를 알아보기 위하여 측정할 때 이온의 량에는 영향을 받지 않는 DP와 금속의 양에 영향을 받을 가능성이 있는 고유점도로부터 계산한 MW의 상관성을 투석 전과 후로 나누어 각각 비교하였다 (Fig. 1). 그 결과 회분함량이 높은 투석 전의 MW와 DP의 상관관계식은  $MW=0.194(DP)+0.007$ 이었고 투석 후의 경우,  $MW=0.194(DP)+0.014$ 를 나타내어 투석 전의 상관식과 후의 상관식이 거의 같음을 보여주었다. 이러한 결과를 미루어보면 alginates 용액의 고유점도는 금속의 함량에는 거의 영향을 받지 않는다는 것을 알 수 있다.

#### 투석과 열수처리가 겔보기점도에 미치는 영향

투석이 alginates 용액의 겔보기점도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 농도에 따른 투석 전·후의 겔보기점도 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 열수 처리에 관계없이 같은 추출시간에서 투석 후의 SAV는 투석전보다 높게 나타났고, 투석 유무에 관계없이 열수 처리한 alginates 용액의 SAV는 열수 처리하지 않은 용액보다 큰 것으로 나타났으며, 그 중 열수처리하고 투석한 alginates 용액의 SAV가 가장 높은 값을 보였다. 이와 같은 결과는 열수 처리조작과 투석에 의해서 비교적 분자량이 작아 침전하기 어려운 alginates 분자들이 제거되어 비교적 큰 분자의 alginates만이 남아있었기 때문으로 생각된다. 특히 투석 전에는  $Ca^{++}$ 에 의해 겔화되어 작은 입자를 형성하고 있던 alginates가 투석에 의해  $Ca^{++}$  이온이 제거됨으로 인해 겔이 파괴되어 입자형태에서 사슬형태로 바뀌어 alginates 분자사슬이 비교적 자유롭게 운동할 수 있기 때문에 SAV가 높게 나타난 것으로 생각된다.

## 사 사

본 연구는 한국과학재단지정 강릉대학교 2003년도 동해안 해양생물자원연구센터의 지원에 의한 것입니다. 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Chapter 44, pp. 3.
- Chapman, D.J. 1980. Algin and alginates. In: Seaweeds and their Uses, Chapman, V.J. ed. Chapman and Hall, New York, pp. 194-225.
- Chen, S.L., An.I. Yeh and S.B. Wu. 1997. Effects of particle radius, fluid viscosity and relative velocity on the surface heat transfer coefficient of spherical particles at low Reynolds numbers. *J. Food Eng.*, 31, 473-484.
- Ci, S.X., T.H. Huynh, L.W. Louie, A. Yang, B.J. Beals, N. Ron, W.G. Tsang, P. Soon-Shiong and N.P. Desai. 1999. Molecular mass distribution of sodium alginate by high-performance size-exclusion chromatography. *J. Chromatogr. A*, 864, 119-210.
- Grant, G.T., E.R. Morris, D.A. Rees, P.J.C. Smith and D. Thom. 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: egg box model. *FEBS Lett.* 32, 195-198.
- Harding, S.E. 1995. Some recent developments in the size and shape analysis of industrial polysaccharides in solution using sedimentation analysis in the analytical ultracentrifuge. *Carbohydr. Polymers*, 28, 227-237.
- Haug, A., B. Larsen and O. Smidsrød. 1966. A study of the constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis. *Acta Chem. Scand.*, 20, 183-190.
- Haug, A., B. Larsen and O. Smidsrød. 1967. Studies on the sequence of the uronic acid residues in alginic acid. *Acta Chem. Scand.*, 21, 691-704.
- Hien, N.Q., N. Nagasawa, L.X. Tham, F. Yoshii, V.H. Dang, H. Mitomo, K. Makuuchi and T. Kume. 2000. Growth-promotion of plants with depolymerized alginates by irradiation. *Rad. Phys. Chem.*, 59, 97-101.
- Kobayashi, N., Y. Kanazawa, S. Yamabe, K. Iwata, M. Nishizawa, T. Yamagishi, O. Nishikaze and K. Tsuji. 1997. Effects of depolymerized sodium alginate on serum total cholesterol in healthy women with a high cholesterol intake. *J. Home Econom. Japan*, 48, 255-230.
- Launey, B., J.L. Doublier and G. Cuvelier. 1986. Floe properties of aqueous solutions and dispersions of polysaccharides. In: Functional Properties of Food Macromolecules. Mitchell, J.R. and D.A. Ledward., eds. Elsevier, London, pp.1-78.
- Mancini, M., M. Moresi and F. Sappino. 1996. Rheological behaviour of aqueous dispersions of algal sodium alginates. *J. Food Eng.*, 28, 283-295.
- Matsumoto, T. and K. Mashiko. 1990. Viscoelastic properties of alginate aqueous solutions in the presence of salts. *Biopolymers*, 29, 1707-1713.
- Mitchell, J.R. and D.A. Ledward. 1986. Functional Properties of Food Macromolecules. Elsevier Applied Science Pub., London, pp. 1-78.
- Nagasawa N., H. Mitomo, F. Yoshii and T. Kume. 2000. Radition-induced degradation of sodium alginate. *Polymer Degrad. Stab.*, 69, 279-285
- Penman, A. and G.R. Senderson. 1972. A method for the determination of uronic acid sequence in alginate. *Carbohydr. Res.*, 25, 273-282.
- Sime, W. J. 1990. Alginates. In: Food Gels, Harris, P. Elsevier, London, pp 53-78.

- Smidsrød, O. 1970. Solution properties of alginates. Carbohydr. Res., 359-372.
- Smidsrød, O., R.M. Glover and S.G. Whittington. 1973. The relative extension of alginates having different chemical composition. Carbohydr. Res., 27, 107-118.
- Turquois, T. and H. Gloria. 2000. Determination of the absolute molecular weight average and molecular weight distributions of alginates used as ice cream stabilizers by using multiangle laser light scattering measurements. J. Agric. Food Chem., 48, 5455-5458.
- You, B.J. and Y.S. Lim. 2003. Effects of extracting and drying method on physical properties of alginates from sea tangle, *Laminaria japonica*. J. Kor. Fish. Soc., 36, 340-345. (in Korean)
- You, B.J., Y.S. Im, I.H. Jeong and K.H. Lee. 1997. Effect of extraction conditions on bile acids binding capacity *in vitro* of alginate extracted from seatangle (*Laminaria* spp.) J. Kor. Fish. Soc., 30, 31-38. (in Korean)

---

2003년 10월 6일 접수

2004년 1월 12일 수리