

접촉 글로우 방전 전기분해(CGDE)에 의한 후코이단의 저분자화

배정식* · 이정식* · 김영숙* · 심우종 · 이 호 · 천지연** · 박권필†

순천대학교 화학공학과
540-742 전남 순천시 매곡동 315
*(주)해림후코이단
537-801 전남 완도군 완도읍 가용리 1088-8
**순천대학교 식품공학과
540-742 전남 순천시 매곡동 315
(2008년 7월 16일 접수, 2008년 7월 19일 채택)

Depolymerization of Fucoïdan by Contact Glow Discharge Electrolysis(CGDE)

Jung Shik Bae*, Jung Shik Lee*, Young Suk Kim*, Woo Jong Sim, Ho Lee, Ji Yeon Chun** and Kwonpil Park†

Department of Chemical Engineering, Suncheon National University, 315, Maegok-dong, Suncheon, Jeonnam 540-742, Korea
*Haerim Fucoïdan Ltd, 1088-8 Gayong-ri Wando-eup, Wando-gun, Jeonnam 537-801, Korea

**Department of Food Engineering, Suncheon National University, 315, Maegok-dong, Suncheon, Jeonnam 540-742, Korea
(Received 16 July 2008; accepted 19 July 2008)

요 약

접촉 글로우방전 전기분해(CGDE)는 일반적인 전기분해와 다르게 높은 전압에서 전극과 전극을 둘러싼 전해질 사이에 글로우 방전에 의한 플라즈마가 형성돼 일어나는 전기분해다. 본 연구에서는 먼저 NaCl 용액에서 CGDE 거동을 파악하고 그리고 CGDE에 의한 후코이단의 저분자화에 대해 연구하였다. NaCl 전해질에서 CGDE 과정이 시작되면 전압 증가에 따라 글로우 방전이 활발하게 되고 그에 따라 전류밀도가 감소하고 온도가 내려갔다. 반응시간에 따른 후코이단의 분자량 변화로부터 저분자화반응은 1차 반응속도 식을 따름을 보였다. CGDE에 의해 후코이단의 분자량이 처음의 약 1/40로 감소하였으며, CGDE 저분자화 과정에서 황산기 함량과 fucos 함량의 감소가 없었다.

Abstract – Contact glow discharge electrolysis(CGDE) is an unconventional electrolysis where plasma is sustained by D.C. glow discharge between an electrode and the surface of electrolyte surrounding it at high voltage. In this study, the behavior of CGDE in NaCl solution and the depolymerization of fucoïdan by CGDE were investigated. After onset of CGDE, increase of voltage enhanced Glow discharge which resulted in low current density and low temperature in NaCl electrolyte. From the variation of molecular weight of fucoïdan with the reaction time, it was demonstrated that the degradation of fucoïdan followed a first-order rate law. Molecular weight of fucoïdan treated with CGDE was about 40 times lower compared to initial fucoïdan without content decrease of sulfate and fucos.

Key words: Fucoïdan, CGDE, Electrolysis, Depolymerization, Degradation

1. 서 론

후코이단은 laminaran과 alginic acid와 함께 갈조류를 형성하는 주요 다당으로 다시마와 미역에 3~5% 함유되어 있다. 후코이단은 합황(sulfated) 헤테로 다당으로 주로 L-fucose가 α -1,2 또는 α -1,3 결합으로 된 골격을 갖으면서 갈락토오스, 만노스, 자일로스, 글루쿠로닉 산등을 함유할 수 있다(Fig. 1). 후코이단에 대해 많은 연구가 되었음에도 불구하고 후코이단의 구조는 후코이단을 추출한 해조류의 종류에 따라 다르기 때문에 아직도 연구해야할 것이 많다. 후코이단은 음이온 전하를 띠는 고분자(polyanionic charge)성질과

관련된 것으로 알려진 여러 약물학적인 효과들이 보고되고 있다. 예를 들어 항혈액응고성(anticoagulant), 자살세포(apoptosis) 유도에 의한 항암효과, 항바이러스(항-HIV 포함), 항종양성, 항산화작용[1-5] 등이다. 후코이단의 해조류에서 추출은 일반적으로 에탄올에 의해 지방성분등을 제거 후 산처리, 열수 처리 등에 의해 이뤄지고[1, 6] 분리 정제과정은 원심분리, 한외여과, 투석, 크로마토그래프, 동결건조 등에 의한다[1, 7, 8].

미역 포자엽 중의 후코이단은 분자량이 약 200,000 Da 이상의 고분자여서 그 자체로는 용해도와 체내 흡수율이 낮다. 후코이단이 저분자화 되면 체내에서 후코이단의 흡수율이 현저히 증가하고, 앞서 얘기한 약리 효과를 증대시킬 수 있다[9]. 후코이단의 저분자화 방법은 다당을 저분자화할 때 일반적으로 사용하는 산분해, 라디칼분

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: parkkp@sunchon.ac.kr

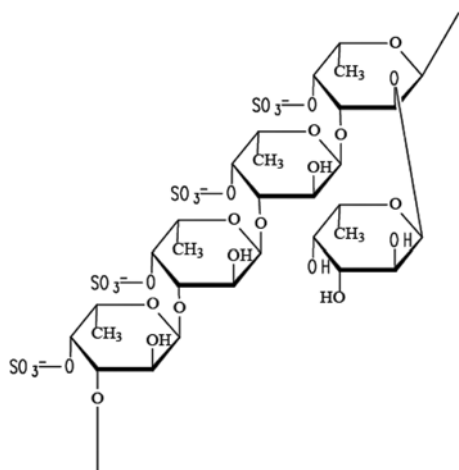
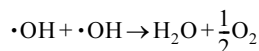


Fig. 1. Structure of Fucoidan.

해[9, 10], 효소에 의한 분해[11] 등 여러 방법이 있다.

후코이단은 보통 HCl 등 산을 사용해 화학적으로 추출하고 저분자화하는 방법이 많이 사용되었는데 황산기 함량 감소와 폐수처리 문제 등 개선해야할 점이 있어 최근에 친환경적인 방법으로 미생물을 사용하는 방법이 연구되고 있으나 이 또한 공정의 복잡성과 고비용 등이 문제가 되고 있다. 그래서 본 연구에서는 새로운 방법으로 전기분해에 의한 후코이단 저분자화를 시도하게 되었다.

전해질 액상에서 전기를 가하면 전기에너지에 의해 화학반응이 일어나는데 이를 일반적으로 전기분해(electrolysis)라 한다. 그런데 전압을 계속 상승시키면 일반적인 전기분해 단계를 넘어서면서 양극 주변이 기화하고 불꽃이 발생하는 현상이 일어난다. 이런 현상을 접촉 글로우방전 전기분해(Contact Glow Discharge Electrolysis, CGDE)라 한다. 높은 전기 에너지에 의해 양극과 접한 전해질이 깨지면서 반응성이 강한 라디칼 등을 형성해 일종의 플라즈마 상태가 된다. 양극 근처의 플라즈마 반응 영역에서 아래 반응에 의해서[12] 생성된 라디칼에 의해 고분자가 저분자로 분해될 수 있다.



CGDE 방법은 효율이 좋은 방법으로 Susanta 등[12]은 CGDE는 비파라데이 효과(nonfaradaic chemical effect)가 높다고 하였는데, 즉 파라데이 효과에 의해 얻을 수 있는 화학성분 값보다 2~8배 높은 효율을 갖는다고 보고하였다. 그러나 왜 이런 현상이 발생하는지는 규명이 안 되었다.

전기분해 효율이 좋은 CGDE를 이용해 Gao 등[13]은 염료의 저분자화 연구를 Tezuka 등[14]은 벤조익산 분해에 대한 연구를, Quanfang 등[15]은 2,4-dichlorophenol 분해에 대한 연구를 하였다. 생체고분자에 CGDE를 적용한 보고가 아직 없는 데 본 연구에서는 생체고분자인 후코이단의 저분자화에 CGDE를 적용한 연구를 수행하였다.

2. 실험

2-1. 후코이단 추출

분쇄후 건조시킨 완도산 미역 포자엽 25 g을 500 ml 증류수에 투입 후 100 °C에서 2시간 교반해 포자엽에서 다당을 추출하였다. 여과과정을 거쳐 포자엽 고형물을 제거하고 남은 여과액에는 알긴산과 후코이단 등 다당이 혼합되어 있어서 알긴산을 먼저 분리-제거하였다. 알긴산만 선택적으로 제거하는 방법은 여과액에 50 mM CaCl₂ 용액을 가해 겔화된 알긴산을 원심분리(Hanil, Mega 117R)로 제거하는 것이다. 알긴산을 제거하고 남은 여과액을 한외여과장치(Pall, SLP-3053)에서 탈염처리하고 이 용액을 후코이단 저분자화 원액으로 사용하였다.

2-2. 전기분해

본 실험에서 사용한 전기분해장치는 일반적인 전기분해장치와 같이 두 전극과 전해질로 구성된 기본 구조로 되어 있다. 전해조는 폴리프로필렌 500 ml에 두 전극과 온도계를 고정시키고 발생가스가 유출될 수 있는 판이 끼여있는 실리콘마개로 구성하였다. 직경이 50 μm인 백금 선을 양극으로 하고 면적 10×30 mm 백금 망을 음극으로 사용하였다. 전해질은 NaCl, HCl을 사용해 후코이단을 투입한 경우와 투입하지 않은 두 경우에 대해 실험하였고 마그네틱 바에 의해 교반하였다. 두 전극을 직류 전력공급기(C.L.S, power supply)에 연결하고 전압을 변화시키면서(10~160 V) 전류를 측정하였다.

2-3. 분석

후코이단의 분자량은 GPC(Gel Permeation Chromatograph, Waters)로 측정하였다. 컬럼은 Phenomenex 13 biosep-sec-s 2000, 3000 (300×7.80 mm)을 사용하였고, 유동상은 0.1 M NaNO₃, 유속은 1.0 ml/min 하고 검량곡선은 Pulluran 으로부터 얻었다. 4 M CF₃COOH (TFA)로 후코이단을 용해시켜 HPLC(WATERS, Column; Dionex carboxypac PA1 (4×250) Dionex, Flow rate: 0.4 ml/min)로 Fucose, Galactose, Mannose 등 당 함량을 측정하였다. 황산기 함량은 Dodgson 방법[16]에 의해 측정하였는데 간단히 정리하면 다음과 같다. 2.0 M TFA로 후코이단 시료를 가수분해 시킨 후 여기에 0.04 M BaCl₂·2H₂O 용액을 가해 BaSO₄ 침전이 형성되면 UV(SIMADZU UV-1650PC)로 360 nm에서 흡광도를 측정해 SO₄²⁻ 함량을 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. NaCl용액에서 CGDE

CGDE의 일반적인 거동을 검토하기 위해 후코이단을 넣지 않은 NaCl 전해질 용액에서 실험하였다. 전압이 낮은 영역에서는 일반적인 전기분해와 같이 전압이 증가함에 따라 전류가 증가하는 거동을 보이다가 전압이 50 V 정도에 도달했을 때 Fig. 2처럼 불꽃이 발생하면서 전류가 감소하기 시작했다. Glow 방전이 시작되면서 전압이 증가하면 불꽃은 더 커지고 양극주변은 더 많은 기포와 불꽃에 의해 액체전해질이 전극에 접촉하는 것이 어렵게 되었다. 이 전압 부근에서는 전압이 증가할수록 기포와 불꽃이 커져 전극까지 이온 전달이 잘 안되는 즉 농도분극이 증가해 전류가 감소하는 현상이 나타난 것이다. NaCl 0.5 M의 경우에는 110 V에서 120 V까지는



Fig. 2. Photograph of glow discharge in CGDE apparatus.

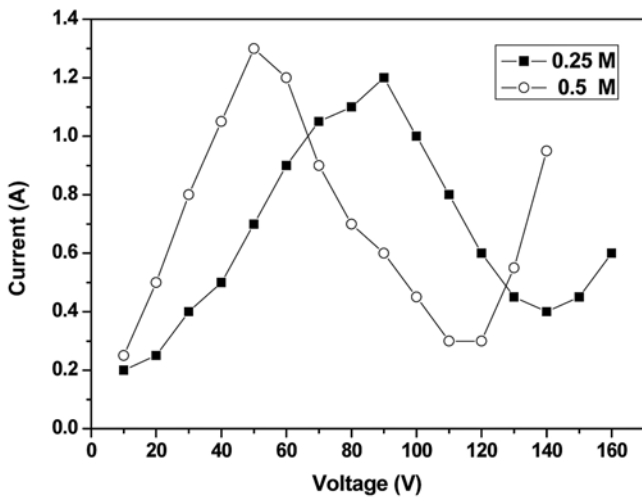


Fig. 3. Polarization curves of contact Glow discharge electrolysis in NaCl solution.

전압 증가에도 전류변화가 없는 Kellogg region[12]이 나타나고, 120 V 이상에서는 다시 전압 증가에 따라 전류가 증가하는 완전 글로우 방전(full glow discharge) 영역을 보였다[Fig. 3]. 그리고 0.25 M과 0.5 M 전해질의 I-V 곡선을 비교하면 농도가 높으면 글로우 방전이 더 낮은 전압에서 시작되고 글로우 방전 시작점에서의 전류 값이 더 높음을 보이고 있다. 이것은 글로우 방전이 전압의 영향만 아니라 전해질 농도에도 영향을 받음을 보인 것이다.

Fig. 4는 CGDE의 물질 전달영향을 알아보기 위해 교반 속도를 변화시키면서 I-V를 측정 한 것이다. 전해질은 NaCl 0.5 M로 하고 상온에서 수행한 결과 교반 속도가 증가함에 따라 전류가 증가함을 보이고 있다. 이것은 결국 전극 표면에 전해질이 접촉해 라디칼이나 이온 등 플라즈마 상태가 되는 데 교반에 의해 전극과 전해질의 접촉빈도를 증가시킨 결과다. 전기화학적으로 보면 CGDE 반응은 높은 전압에서 이뤄지므로 반응물이 전극에 접촉하자마자 반응이 완결되고, 그래서 물질전달 속도가 전체반응 속도를 좌우하는 율속 단계(reaction rate determining step)라고 할 수 있다. 결국 글로우 방전 이후에 같은 전압에서 교반 속도를 증가시키면 한계전류밀도(limiting current density)를 증가시키는 것이 된다. 그리고 같은 교

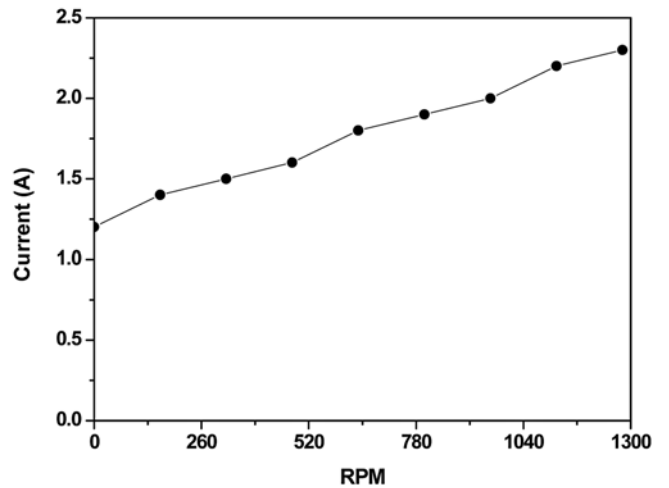


Fig. 4. The effect of agitation on current at constant voltage of 70 V in NaCl solution.

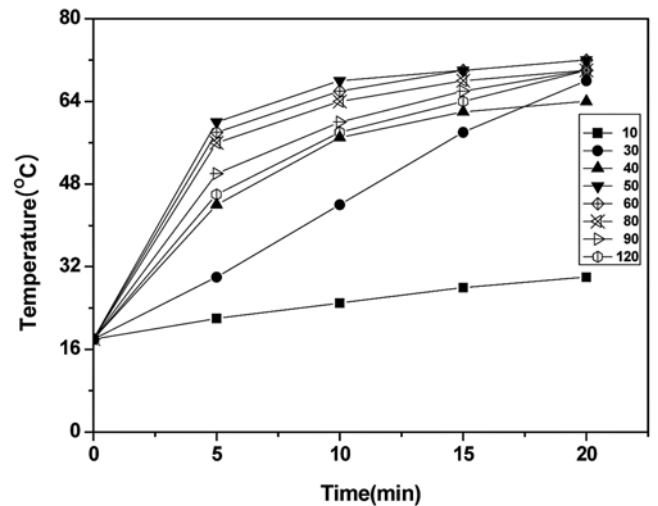


Fig. 5. Temperature variation with CGDE voltage variation in 0.5 M NaCl solution.

반 속도에서 글로우 방전 시작점과 Kellogg region 사이의 전압에서는 전압을 증가시키면 물질 전달이 오히려 어려워져 전류가 감소한 현상을 보인 것이다. 즉 전압 증가에 의해 한계전류밀도가 감소한 특이한 현상이 나타난 것이다.

NaCl 0.5 M 전해질 용액에서 가한 전압에 따른 온도변화를 측정 한 결과를 Fig. 5에 나타냈다. 글로우방전이 시작되는 50 V 까지는 전압이 상승함에 따라 온도가 상승하였다. 그러나 50 V 보다 높은 전압에서는 전압 증가에 따라 온도가 감소하는 현상을 보이고 있다. 이때는 전압이 증가하면 전류가 감소하기 때문에 열로 전환되는 전류 값도 작게 되기 때문이다. 그러나 글로우 방전 전후의 같은 전류를 나타내는 전압의 온도를 비교하면 예를 들어 30 V와 80 V에서 전류는 0.7 A로 동일한데 10분 후의 온도는 각각 약 40°C와 64°C로 많은 차이가 있다. 즉 글로우 방전 후의 전압에서는 전류가 불꽃을 일으키는 방전에 사용돼 온도를 상승시키는 효과가 컸기 때문이다.

3-2. CGDE에 의한 Fucoidan 저분자화

후코이단을 5.0 wt% 함유한 HCl 0.25 M 수용액에 70 V 전압을 40 분간 가해 후코이단을 저분자화시킨 후 GPC 분석결과가 Fig. 6에

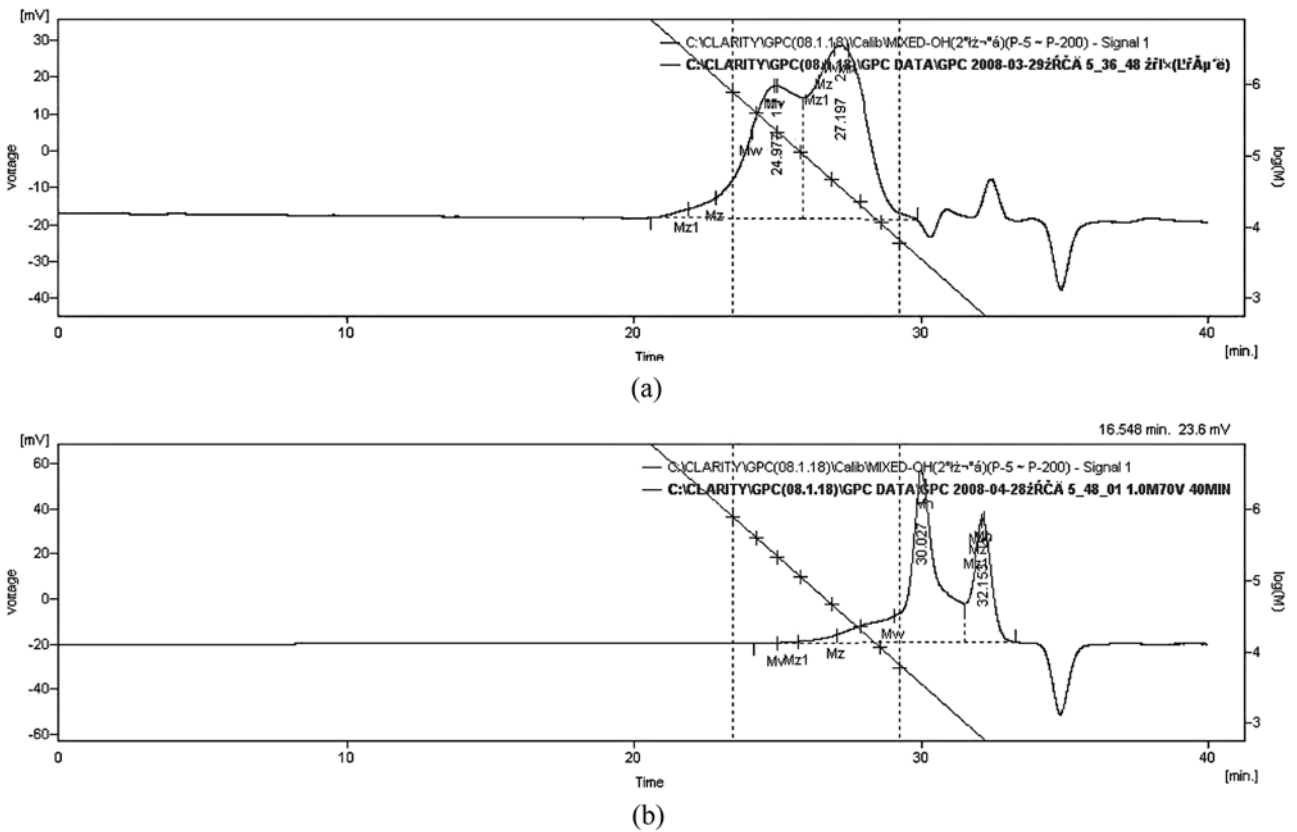


Fig. 6. GPC graph of fucoidan (a) before electrolysis (b) after electrolysis.

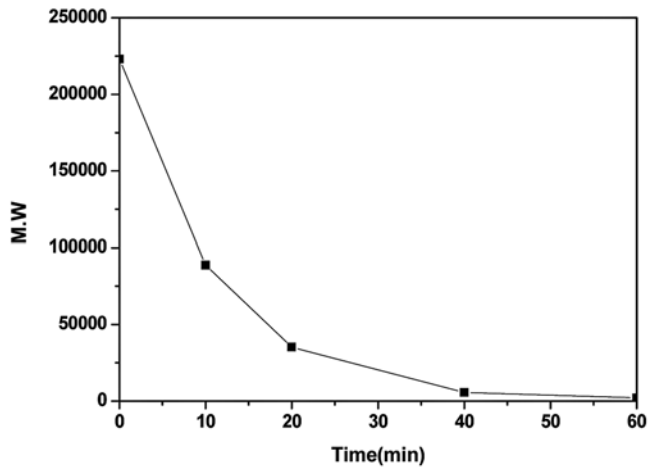


Fig. 7. Variation of Fucoidan M. W. with electrolysis time in 0.5 M HCl solution at 70 V.

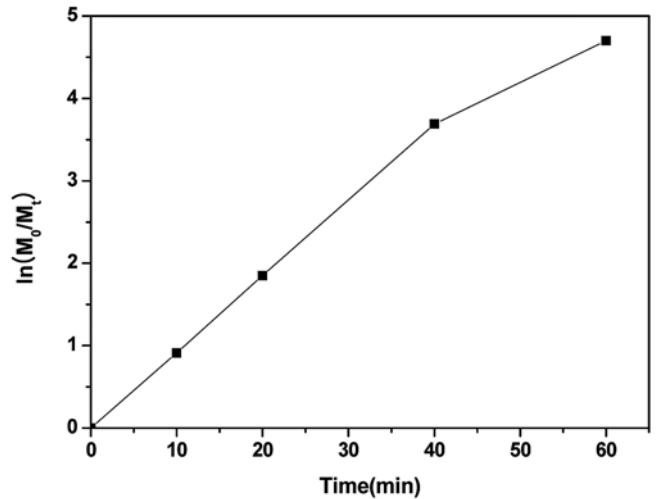


Fig. 8. Plot of regression analysis for the first-order reaction in 0.5 M HCl solution at 70 V.

있다. 전기분해 전 분자량은 453,377, 42,236에 각각 44.0%, 46.0%로 분포하였는데 전기분해 후에도 분자량 분포가 두 부분으로 나뉘어 있다. 40분 전기분해 공정을 거쳐 분자량이 약 1/40로 감소해 다른 저분자화 방법에 비해 효과적임을 보였다.

후코이단을 5.0 wt% 함유한 HCl 0.25 M 수용액에 70 V 전압을 가해 후코이단을 저분자화시킨 후 반응시간에 따른 분자량 변화를 측정된 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 시간이 경과함에 따라 초기에는 분자량감소가 급격하다가 후반에는 감소속도가 완만한 경향을 보이고 있다. 이 분해 반응이 1차 반응(first-order reaction)이라면 다음 식 (1)을 따른다.

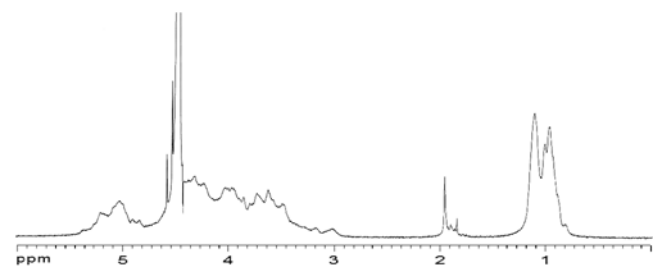


Fig. 9. NMR analysis data of fucoidan after electrolysis in 0.5 M HCl solution at 70 V for 40 min.

Table 1. Variation of fucoïdan properties with contact glow discharge electrolysis

Sample	Voltage(V)	Concentration(M)	CGDE Time (min)	Sulfate(%)	Fucos(%)	M.W.(Da)
1	10	0.25	20	25.2	46.1	164,600:(36.0%) 24,789:(45.5%) 1,494:(18.5%)
2	50	0.25	20	24.9	46.2	113,368:(50.6%) 13,546:(31.8%) 5,905:(17.6%)
3	70	0.25	30	25.8	46.0	10,872:(70.9%) 631:(29.1%)
4	70	0.5	40	25.7	46.5	7,616:(70.9%) 634:(29.1%)
Before CGDE	-	-	-	25.5	46.0	453,377:(44.0%) 42,236:(56.0%)

$$\ln(C_0/C_t) = kt \quad (1)$$

여기서 C_0 는 초기 농도를 C_t 는 t 시간 후의 농도를 는 속도상수를 나타낸다. 식 (1)에서 농도를 분자량으로 대체해 나타내면 식 (2)과 같다.

$$\ln(M_0/M_t) = kt \quad (2)$$

여기서 M_0 는 초기 분자량을 M_t 는 t 시간 후의 분자량을 나타낸다. Fig. 8에 나타난 것처럼 전기분해에 의한 후코이단의 저분자화는 식 (2)에 잘 맞음을 보여 1차 반응에 따른다고 할 수 있다. 지금까지 CGDE에 의한 여러 물질(염료, 벤조익산, 페놀)의 분해반응[13-15]은 모두 1차 반응 속도식을 따른다고 보고되었다. 즉 CGDE에 물질분해 반응차수는 분해 또는 저분자화 되는 물질의 구조나 특성에 의하는 것보다 CGDE에 의해 발생하는 라디칼에 의한 것이라고 할 수 있다.

그리고 전기분해 후 후코이단의 NMR 분석결과 4 ppm 부근이 황산기 피크인데 후코이단의 주요 기능을 보이는 황산기가 그대로 있음을 보였다(Fig. 9). 다른 후코이단 저분자화 공정에서는 황산기 함량 감소가 큰 문제였으나 본 전기분해에 의한 후코이단 저분자화 공정에서는 황산기 함량과 Fucos 함량이 Table 1에 보인 것처럼 전기분해 전과 같았다. CGDE에 의해 발생한 라디칼은 Fucos에 붙은 말단기의 황산기를 공격하지 않고 후코이단의 주 사슬을 끊어 분자량을 감소시킴으로써 저분자화되면서도 후코이단의 기본 구조와 효능을 그대로 유지할 수 있음을 보였다.

4. 결 론

NaCl 전해질과 후코이단이 함유된 HCl 전해질에서 각각 CGDE 실험한 결과를 다음과 같이 정리할 수 있다.

전해질 농도가 높으면 Glow 방전이 더 낮은 전압에서 시작되고 글로우 방전 시작점에서의 전류 값이 더 높음을 보였다. Glow 방전이 시작되면 물질전달이 율속단계가 되어 교반 속도 증가에 의해 전류 값이 증가하였으며 이 전압 범위에서는 전압 증가에 의해 불꽃이 강해지면서 전류는 감소하고 따라서 온도도 감소하였다.

후코이단의 CGDE에 의한 저분자화 속도는 1차 반응속도식을 따랐으며 0.5 M에서 40분간 전기분해 했을 때 분자량이 처음 값의 약 1/40인 5,576 Da로 감소하였다. 전기분해 후에 황산기와 Fucos 함량은 감소하지 않고 전기분해 전과 같았다.

참고문헌

- Tatiana, N. Z., Nataliya, M. S., Irina, B. P., Vladimir, V. I., Andrey, S. S., Elena, V. S. and Lyudmila, A. E., "A New Procedure for the Separation of Water-soluble Polysaccharides from Brown Seaweeds," *Carbohydrate Research*, **322**, 32-39(1999).
- Fortun, A., Khalil, A., Gagne, D., Douziech, N., Kuntz, C. and Dupuis, G., "Monocytes Influence the Fate of T Cells Challenged With Oxidised Low Density Lipoproteins Towards Apoptosis or MHC-restricted Proliferation," *Atherosclerosis*, **156**, 11-21(2001).
- Collis, S., Fisher, A. M., Tapon-Brethaudiere, J., Boisson, C., Durand, P. and Jozefonvicz, J., "Anticoagulant Properties of a Fucoïdan Fraction," *Thrombosis Research*, **64**(2), 143-154(1991).
- Mauray, S., Raucourt, E., Talbot, J., Jozefonvicz, M. and Fischer, A., "Mechanism of Factor IXa Inhibition by Antithrombin in the Presence of Unfractionated and Low Molecular Weight Heparins and Fucoïdan," *Biochimica et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, **1387**(1-2), 184-194(1998).
- Saito, A., Yoneda, M., Yokohama, S., Okada, M., Haneda, M. and Nakamura, K., "Fucoïdan Prevents Concanavalin A-Induced Liver Injury Through Induction of Endogenous IL-10 in Mice," *Hepatology Research*, **35**(3), 190-198(2006).
- Nora, M. A. P., Carlos, A. P., Elsa, B. D., Maria, L. F. and Carlos, A. S., "Fucoïdins from the Brown Seaweed *Adenocystis Utricularis*: Extraction Methods, Antiviral Activity and Structural Studies," *Carbohydrate Research*, **338**, 153-165(2003).
- Kariya, Y., Mulloy, B., Imai, K., Tominaga, A., Kaneko, T., Asari, A., Suzuki, K., Masuda, H. and Kyogashima, M., "Isolation and Partial Characterization of Fucan Sulfates from the Body Wall of Sea Cucumber *Stichopus Japonicus* and Their Ability to Inhibit Osteoclastogenesis," *Carbohydrate Research*, **339**, 1339-136(2004).
- Lionel, C., Alain, F., Sylvia, C. and Jacqueline R., "Improvement Purification of Sulfated Oligofucan by Ion-exchange Displacement Centrifugal Partition Chromatography," *J. of Chromatography A*, **869**, 353-361(2000).
- Alain, N., Frederic C., Catherine, B.-V., Patrick, D. and Jacqueline, J., "Anticoagulant Low Molecular Weight Fucans Produced by Radical Process and ion Exchange Chromatography of High Molecular Weight Fucans Extracted from the Brown Seaweed *Ascophyllum Nodosum*," *Carbohydrate Research*, **289**, 201-208

- (1996).
10. Lionel, C., Alain, F., Frederic, C., Nelly, K., Corinne, S., Anne-Marie, F. and Catherine, B., "Further Data on the Structure of Brown Seaweed Fucans: Relationships with Anticoagulant Activity," *Carbohydrate Research*, **319**, 154-165(1999).
 11. Regis, D., Olivier, B., Jacqueline, J. and Nicole, G., "Degradation of Algal(Ascophyllum nodosum) Fucoidan by an Enzymatic Activity Contained in Digestive Glands of the Marine Mollusc Pecten Maximus," *Carbohydrate Research*, **322**, 291-297(1999).
 12. Susanta K. Sengupta, Rajeshwar S. and Ashok K. Srivastava, "A Study on the Origin of Nonfaradaic Behavior of Anodic Contact Glow Discharge Electrolysis," *J. Electrochem. Soc.*, **145**(7), 2209-2213(1998).
 13. Gao, J., Wang, X., Hu, Z., Deng, H., Hou, J., Lu, X. and Kang, J., "Plasma Degradation of Dyes in Water Contact Glow Discharge Electrolysis," *Water Research*, **37**, 267-272(2003).
 14. Tezuka, M. and Iwasaki, M., "Liquid-phase Reaction Induced by Gaseous Plasma Decomposition of Benzoic Acids in Aqueous Solution," *Plasmas & Ions*, **1**, 23-26(1999).
 15. Lu, Q., Yu, J. and Gao, J., "Degradation of 2,4-dichlorophenol by Using Glow Discharge Electrolysis," *J. of Hazardous Materials*, **B136**, 526-531(2006).
 16. Dodgson, K. S., "Determination of Inorganic Sulphate in Studies on the Enzymic and Non-enzymic Hydrolysis of Carbohydrate and Other Sulphate Esters," *Biochem. J.* **78**, 312(1961).