

## 과산화수소/초음파를 이용한 알지네이트의 저분자화

최수경 · 최유성<sup>\*,†</sup>

조선대학교 공과대학 생명화학공학과, \*조선이공대학 생명환경화학공과  
(2011년 3월 7일 접수, 2011년 5월 2일 수정, 2011년 5월 4일 채택)

### Depolymerization of Alginates by Hydrogen Peroxide/Ultrasonic Irradiation

Choi Su Kyoung and Choi Yoo Sung<sup>\*,†</sup>

Department of Chemical Engineering, Chosun University, Gwang-ju 501-759, Korea

\*Department of Bioenvironmental & Chemical Engineering,

Chosun College University of Science & Technology, Gwang-ju 501-744, Korea

(Received March 7, 2011; Revised May 2, 2011; Accepted May 4, 2011)

**초록:** 천연 알지네이트를 저분자화시키기 위해 과산화수소/초음파를 사용하였다. 이때 반응 온도 시간, 과산화수소 농도 그리고 초음파 조사 조건 등이 저분자화 생성물에 미치는 영향을 검토하였다. 생성된 저분자 알지네이트의 화학적 구조를 규명한 결과 주로 1,4-glycosidic bond가 끊어져서 저분자화가 진행되고 특정조건에서 생성물에 formate 그룹이 형성됨을 확인할 수 있었다. 생성물의 분자량은 MALS가 부착된 GPC를 사용하여 측정하였다. 2 wt%의 고분자 알지네이트 용액을 50 °C의 초음파 분위기에서 0.5시간 동안 반응시켰을 때 분자량이 450 kDa에서 15.9 kDa로 저하였다. 또한 분자량분포도는 상당히 좁고 반응 조건에 따라 큰 변화 없이 일정함(~2)을 확인할 수 있었다.

**Abstract:** A high molecular weight natural sodium alginate (HMWSAs) was depolymerized by hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) with ultrasonic irradiation. The effects of the reaction conditions such as reaction temperature, reaction time, hydrogen peroxide concentration and ultrasonic irradiation time on the molecular weights and the end groups of the depolymerized alginates were investigated. It was revealed that depolymerization occurred through the breakage of 1,4-glycosidic bonds of sodium alginate and the formation of formate groups on the main chain under certain conditions. The changes in molecular weight were monitored by GPC-MALS. The molecular weight of 2 wt% alginate solution decreased from 450 to 15.9 kDa for 0.5 hrs at 50 °C under an appropriate ultrasonic irradiation. The PDI(polydispersity index) s of the alginate depolymerized in this study were considerably narrow in comparison with those obtained from the other chemical degradation method. The PDIs were in the range of 1.5~2.5 in any reaction conditions employed in this study.

**Keywords:** hydrogen peroxide, ultrasound, oxidation, low molecular weight sodium alginate.

## 서 론

알지네이트는 1883년 Edward Stanford 그룹에<sup>1,2</sup> 의해서 처음 소개된 이래, 주로 갈조류에서 탄산수소나트륨 수용액을 사용하여 추출, 생산되고 있는 기능성 다당류이다. 알지네이트는  $\beta$ -D-mannuronate [M]와  $\alpha$ -L-guluronate [G]가 1-4 glycosidic 결합으로 이루어지는 hetero polysaccharide의 형태로 존재한다.<sup>3-6</sup> 알지네이트는 음식의 첨가물, 공업용 증점제, 그리고 바이오 분야까지 매우 폭 넓은 사용 범위를 가지고 있다. 하지만, 사용 분야에 따라 요구되는 특별한 물리적·화학적 성질이 있어서 실질적으로 사용되는 양은 매우 제한적이다. 또한, 기능성 다당류는 고분자량보다 저분자량일 때 관능기의 노출이 증가되면

서 기능성이 더욱 향상되는 것으로 알려져 있다.<sup>7-9</sup> 따라서, 기능성 다당류 고유의 기능이 발현되고, 특정 분야 사용을 위해서는 분자량이 적절하게 조절되어야만 한다. 이러한 여러 가지 문제점을 해결하고 분자량을 조절하기 위해 물리적, 화학적, 광학적 그리고 생물학적 방법을 통해 저분자화를 시키고 있다.<sup>10-15</sup> 하지만 이런 방법들은 저분자화 반응 시간이 길고 강한 산·염기용액을 사용해 환경오염을 유발시키거나 혹은 초기 투자 설비비용이 고가여서 경쟁력이 없는 등 여러 가지 문제점이 있다.<sup>14-16</sup>

이런 단점을 보완하고자 근래에는  $H_2O_2$ ,  $NaNO_2$  그리고  $O_3$ 와 같은 산화제를 사용하여 다당류를 저분자화시키는 일에 많은 연구 결과가 보고되고 있다.<sup>17-20</sup> 산화제를 사용한 저분자화 방법은 산화제가 열이나 개시제(initiator)와 같은 외부적인 요인에 의해 다량의 라디칼을 생성하고 생성된 라디칼이 당(saccharide)의 결합을 분해시켜 저분자화시키는 방

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: usung12@naver.com

법이다. 특히 과산화수소의 경우 Gibbs 자유에너지가 음(-)의 값으로 자발적인 분해가 가능해 친환경적인 처리가 가능하다. 실제로 다당류를 산화시켜 저분자화한 사례를 보면 키틴(chitin)과 키토산(chitosan)의 경우, 기존의 화학적인 방법보다 매우 짧은 시간에 대량의 처리가 가능하였고 생성물의 회수율이 다른 방법에 비해서 월등하게 높았음을 보여주었다.<sup>20-23</sup> 이러한 저분자화 방법은 용액 상태에서 진행되어야 하는데 고분자 용액의 높은 점도와 고분자 사슬에 존재하는 많은 하이드록실 그룹(-OH) 때문에 사슬의 엉킴(entanglement) 현상이 발생해 효율적인 저분자화에 상당히 많은 제약이 따른다. 그러나 고분자 용액에 초음파를 조사시키면 고분자 사슬들의 운동성이 활발해져 사슬 사이 사이에 하이드록시 라디칼( $\cdot\text{OH}$ )이 쉽게 끼어 들어가 균일 반응에 큰 효과를 줄 수 있으며, 초음파 사용으로 반응 도중 발생하는 작은 공기 방울들이 깨지면서 사슬들의 저분자화를 촉진시키는 동공 효과(cavitation effect)를 기대할 수 있다.<sup>24</sup>

따라서 본 연구에서는 알지네이트가 가지고 있는 고유의 생리적인 기능은 그대로 유지 향상시키고 짧은 시간에 분자량을 저하시켜 공정효율을 개선시키며 친환경적인 방법으로 저분자화를 시도하여 그 특성을 검토하였다.

## 실 험

**시약.** 본 연구에서 사용한 고분자 알지네이트(high molecular weight sodium alginate,  $M_w$ : 446400)는 Junsei사의 제품을 사용하였으며 저분자화시키는데 사용한 과산화수소(hydrogen peroxide, 30 wt%)는 삼척화학 제품을 특별한 처리 없이 사용하였고 ethanol은 동양화학의 제품을 정제 없이 사용하였다. GPC-MALS(gel permeation chromatography multi angle light scattering)의 이동상 용매는 Aldrich사의  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 로 buffer solution(pH=7)을 제조하여 감압 여과장치(division of millipore, waters)와 필터(FH-0.45  $\mu\text{m}$ , Waters)를 이용하여 여과 후 초음파 발생 장치로 2시간 동안 탈기(degassing)하여 사용하였다. IR 분석과 NMR 분석은 Aldrich사의 potassium bromide(KBr pellet)와 deuterium oxide( $\text{D}_2\text{O}$  solution)를 사용하였다.

**저분자화 반응.** 저분자화 반응은 기계적 교반 장치가 부착된 2 L 용량의 반응기에 고분자 알지네이트와 증류수를 넣고 완전히 녹인 후 과산화수소를 넣어 실행한다. 고분자 알지네이트 용액의 최종 농도는 2 wt%, 반응 온도는 30~50 °C, 과산화수소의 농도는 1~15 wt% 그리고 반응 시간은 0.5~3.0 시간으로 변화시키면서 저분자 알지네이트를 제조하였다. 초음파의 on-off time은 20초 간격을 두고 amplitude는 30%로 고정시킨다. 초음파 사용에 의한 국부적인 가열을 막기 위해 기계적 교반장치의 교반 속도는 380~400 rpm을 항상 유지시킨다. 반응온도는  $\pm 2$  °C 오차범위 안에서 circulator를 사용하여 조절하였다. 저분자화 반응이 완료된 저분자 알지네이트는 한 차례 여과 후 dropping funnel을 사용하여 에탄올에 침전시킨다. 원심분리기를 사용하여 회수된 알지네이트는 에탄올로 2회 세척 후 회수된 생성물에 잔류하는 과산화수소를 제거하기 위해 다시 증류수 300 mL에 녹인다. 완전히 녹은 용액은 회전 증발기를 이용하여 50 °C 이하에서 감압하여 용매를 제거하고 24시간 동안 감압 건조하여 최종 생성물을 얻는다. 생성물의 회수율은 70%이며 냉동 보관하였다.

### 저분자 알지네이트의 특성.

**저분자 알지네이트의 구조분석:** FTIR(NICOLET 6700 : Thermo Scientific)과 FT NMR(JNM-LA300 : JEOL, INOVA 500 : Varian)을 이용하여 제조된 저분자 알지네이트의 화학적 구조를 분석하고 저분자화 반응 메커니즘을 유추하였다.

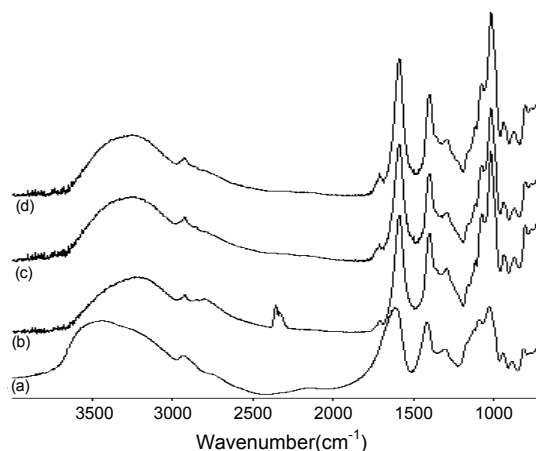
**저분자 알지네이트의 점도 측정:** 제조된 저분자 알지네이트는 탈이온수(ionized water)를 사용하여 0.5 g/dL 농도로 용액을 만들고 0.45  $\mu\text{m}$  syringe filter를 사용하여 여과 후, Ubbelohde 점도계(525 01/0b : SCOTT)를 이용하여 35 °C 항온조에서 측정하였다.

**저분자 알지네이트의 분자량 측정:** 저분자 알지네이트의 분자량 및 다분산도(PDI : polydispersity index)는 겔투과크로마토그래피(GPC : gel permeation chromatography, Waters)를 사용하여 측정하였다. GPC의 이동상 용매는 0.2 M  $\text{NaNO}_3$ , 0.1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 의 buffer solution(pH 7)을, 고정상은 PLaquagel-OH 컬럼(7.8 mm $\times$ 30 cm) 두 개를 연결하여 사용하였고 용출 속도는 용매펌프(M515, Waters)를 이용하여 1.0 mL/min으로 하였다. 이때 이동상과 알지네이트 용액은 0.45  $\mu\text{m}$  필터를 이용하여 여과한 후 사용하였다. 용출 피크들은 light scattering(DAWN EOS)검출기와 동일한 파장을 사용한 굴절률(RI: Refractive index, Optilab DSP, Wyatt) 측정기로 측정하였고, ASTRA 소프트웨어를 이용하여 측정된 데이터를 처리하였다.

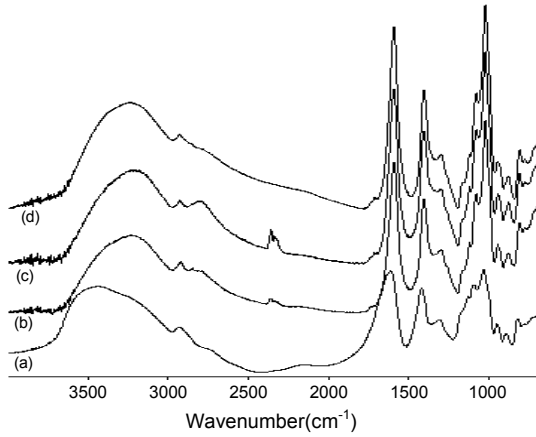
## 결과 및 토론

### 저분자 알지네이트의 구조분석.

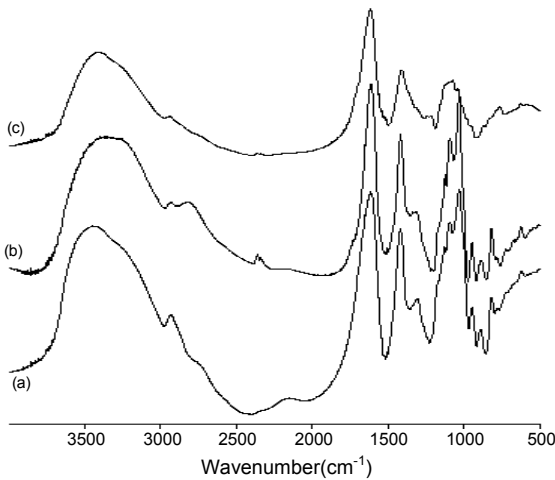
FTIR: 여러 가지 조건에서 제조된 저분자 알지네이트의 구조적 특성을 확인하기 위해 FTIR로 스펙트럼을 얻었으며 이를 다음과 같이 분석하였다. 과산화수소의 농도를 달리하여 제조한 저분자 알지네이트의 FTIR 스펙트럼은 Figure 1에 나타내었다. 카르복실산의 수산기(OH) ( $3444\text{ cm}^{-1}$ ), CH 신축진동( $2927\text{ cm}^{-1}$ ), C=O 신축진동( $1612\text{ cm}^{-1}$ ), C-O 신축진동( $1415\text{ cm}^{-1}$ ) 피크들은 과산화수소의 농도가 증가함에 따라 별다른 변화를 보이지 않았다. 특히,  $1176\sim 1088\text{ cm}^{-1}$ 에서 보이는 1,4-glycosidic bond 피크들의 흡광정도가 고분자 알지네이트의 흡광도와 유사하게 나타나는 것은 저분자화 반응에서 생성된



**Figure 1.** FTIR spectra of HMWSA (a); LMWSAs treated with 2 wt%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (b); 6 wt%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (c); 15 wt%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (d). (2 wt% in reactant concentration; at 50 °C for 30 min with ultrasound).

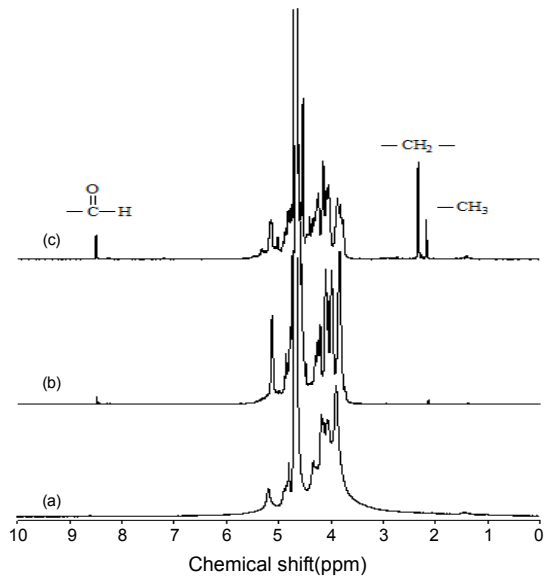


**Figure 2.** FTIR spectra of HMWSA (a); LMWSAs treated at 30 (b); 40 (c); 50 °C (d). (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 30 min with ultrasound).



**Figure 3.** FTIR spectra of HMWSA (a); LMWSAs treated for 0.5 hr (b); 3.0 hr (c). (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 50 °C with ultrasound).

생성물의 구조가 알지네이트의 구성단위를 변화시키지 않음을 의미한다. 다만 1750 cm<sup>-1</sup>(C=O)에서 관찰되는 새로운 피크는 알지네이트가 저분자화 반응 중 생성된 carboxylic acid 그룹의 카보닐 신축진동에 의한 것으로 사료된다. 이는 산·기수분해 방법으로 저분자 알지네이트를 제조한 Kim 그룹,<sup>25</sup> Sakugawa 그룹의<sup>26</sup> 분석 결과와도 일치한다. Figure 2는 반응 온도를 변화시키면서 얻어진 저분자 알지네이트의 IR 스펙트럼이다. 반응 온도 50 °C까지는 온도의 변화에 따른 알지네이트의 구조에 변화가 생기지 않았음을 확인할 수 있다. 또한 같은 조건에서 3시간 동안 반응시킨 후 얻어진 저분자 알지네이트의 경우 1,4-glycosidic bond의 흡수피크인 1176~1088 cm<sup>-1</sup>에서 피크들의 intensity가 0.5시간 동안 반응시켜 얻은 저분자 알지네이트에 비해 현저히 감소됨을 보여준다(Figure 3). 이는 저분자화 시 단당(mono-saccharide) 단위를 연결하는 1,4-glycosidic bond가 도입된 반응조건으로 인하여 끊어짐을 확인시켜주는 것이며 다른 방법으로 저분자화를 시도한 문헌들에서도 이와 유사한 저분자화 메커니즘으로 진행됨을



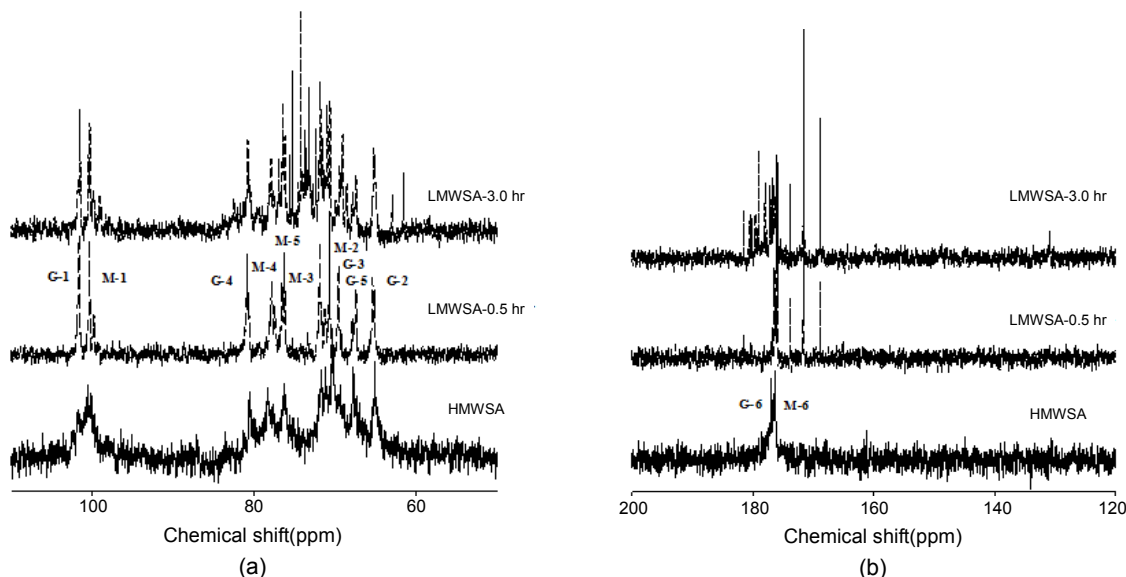
**Figure 4.** <sup>1</sup>H NMR Spectra of HMWSA (a); LMWSAs treated for 0.5 hr (b); 3.0 hr (c). (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 50 °C with ultrasound).

보고하고 있다.<sup>18,25-29</sup>

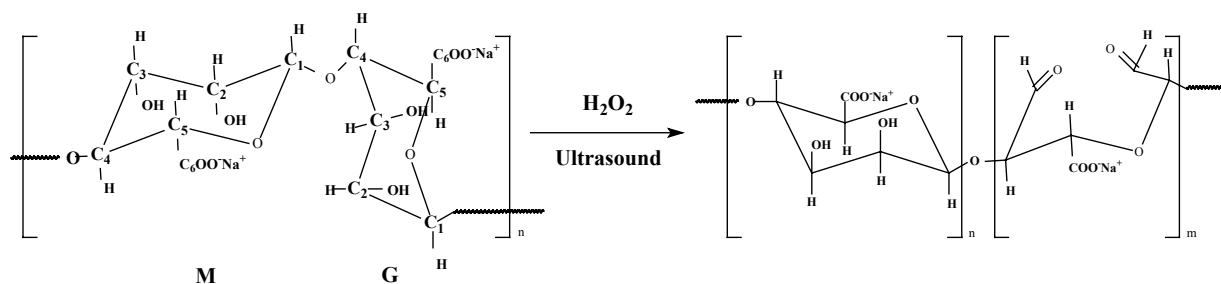
**FT NMR:** Figures 4, 5는 각각 알지네이트의 <sup>1</sup>H NMR과 <sup>13</sup>C NMR 스펙트럼이다. FT NMR을 사용하여 과산화수소와 초음파를 이용한 저분자화가 알지네이트 분자구조에 미치는 영향을 확인하였다. <sup>1</sup>H NMR을 통해 반응시간의 영향을 확인한 결과 반응 시간이 증가하면서 8.4~8.6 ppm 사이에서 보이는 피크의 intensity가 증가함을 확인할 수 있었다. 이는 Scheme 1에서 나타낸 것과 같이 저분자화 시 pyranose ring 내의 C2-C3 bond가 끊어지고, 그 영향으로 저분자사슬 말단에 생성된 알데히드로 사료되며 여러 문헌에서 제시하고 있는 당의 분해 메커니즘과 일치하는 결과를 보여주었다.<sup>25-31</sup> 2.1 ppm과 2.3 ppm에서 보여주는 피크들은 저분자화 반응도중 CH<sub>3</sub>-, -CH<sub>2</sub>-가 생성되고 이들이 알지네이트 주사슬에 존재하는 것이다. 이는 Gomez 그룹의<sup>30</sup> 분석 결과와 상당 부분 일치한다. 또한, <sup>13</sup>C NMR에서 반응 시간이 증가함에 따라 160~180 ppm 부근에서 새로운 많은 피크가 생성됨을 확인할 수 있는데 이는 1,4-glycosidic bond가 끊어지면서 말단 그룹에 형성된 formate로 사료된다.<sup>30</sup> 특히, 3시간 반응 시 130 ppm부근에서 보여주는 피크는 저분자화 시 생성된 double bond에 의한 것으로 이는 Nagasawa 그룹의<sup>31</sup> 분석 보고와 유사한 결과이다. 이와 같은 다당류의 저분자화에 따른 말단그룹의 화학구조 변화는 키토산의 저분자화에서도 보이는데 고분자 키토산의 저분자화가 진행됨에 따라 carboxyl 그룹의 함량 증가와 formic acid의 생성에 대해서 보고된 바 있다.<sup>32</sup>

**저분자 알지네이트의 분자량.**

**과산화수소 농도의 영향:** 과산화수소의 농도가 생성물에 미치는 영향을 알아보기 위해 과산화수소의 농도를 변화시키면서 반응시킨 결과를 Tables 1, 2 그리고 Figure 6에 나타내었다. 분자량은 초기 450에서 15.9 kDa까지 줄어들었고, 과산화수소 농도가 3 wt%까지는 급속도로 저하되던 분자량은 3 wt% 이상에서는 거의 일정함을 보인다. 이는 과산화수소로부터 생성되는 하이드록실 라디칼(·OH)의 수가 증가하다가 3 wt% 이상에서는 오히려 라디칼끼리의 커플링 결합이 발생



**Figure 5.** <sup>13</sup>C NMR spectra of alginates in C1–C5 region (a); C6 region (b). G–i and M–i are the different carbon number of guluronate and mannuronate units in sodium alginate (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 50 °C with ultrasound).



**Scheme 1.** Oxidation of sodium alginate. M: mannuronate unit, G: guluronate unit.

**Table 1. Molecular Weight and Viscosity of Low Molecular Weight Sodium Alginate Obtained Using Ultrasound in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Sample	No.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (wt%)	Temp. (°C)	Time (hr)	<i>M<sub>w</sub></i>	<i>M<sub>n</sub></i>	PDI	$\eta^a$	Yield (%)
HMWSA <sup>b</sup>					450200	228500	1.97	6.44	
A	1	1	50	0.5	100600	45500	2.20	2.68	52
	2	2	50	0.5	73600	32900	2.23	2.20	64
	3	3	50	0.5	15900	9300	1.70	0.75	71
	4	4	50	0.5	33500	15600	2.13	1.30	76
	5	9	50	0.5	38000	17500	2.17	1.42	68
	6	15	50	0.5	33900	15800	2.14	1.31	53
B	1	3	30	0.5	96400	43500	2.21	2.61	82
	2	3	40	0.5	28900	13900	2.08	1.17	77
C	1	3	50	0.25	101300	45800	2.20	2.69	83
	2	3	50	1.0	13000	6400	2.02	0.64	60
	3	3	50	1.5	6000	6600	2.28	0.33	52
	4	3	50	2	2500	1100	2.25	0.14	51
	5	3	50	2.5	2800	1500	1.86	0.10	44
	6	3	50	3	2400	1000	2.35	0.07	41

<sup>a</sup>Inherent viscosity of the solution was measured at a concentration of 0.5 g/dL in distilled water at 35 °C. <sup>b</sup>HMWSA; High molecular weight sodium alginate.

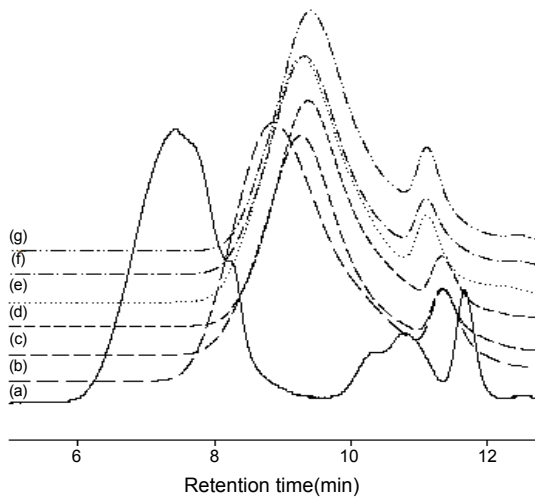
하여 저분자화 반응이 효율적으로 진행되지 못한 것으로 사료된다. 또한 PDI 값은 과산화수소의 농도와 상관없이 약 2 정도로 상당히 일정한 값을 보여주는데 이는 고분자 사슬의 random scission에서 얻어질

수 있는 값이다. 이는 Nakagawa 등의<sup>33</sup> 연구 결과와 유사하며 이러한 결과는 다당류의 저분자화 방법 중 과산화수소를 이용한 저분자 공정에서 나타나는 특징인데 키토산의 저분자와 관련된 논문, 특허 등에서

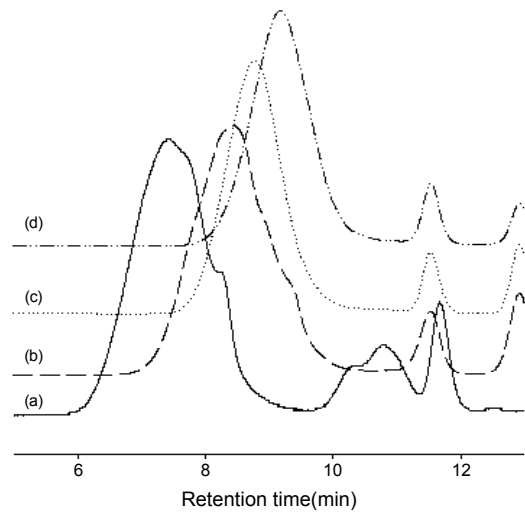
**Table 2. Molecular Weight and Viscosity of Low Molecular Weight Sodium Alginate Obtained Using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Sample	No.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (wt%)	Temp. (°C)	Time (hr)	M <sub>w</sub>	M <sub>n</sub>	PDI	$\eta^a$	Yield (%)
HMWSA <sup>b</sup>					450200	228500	1.97	6.44	
A	1	1	50	0.5	116300	53100	2.18	2.93	64
	2	2	50	0.5	113700	51900	2.19	2.89	78
	3	3	50	0.5	100000	45300	2.20	2.67	84
	4	4	50	0.5	109300	49700	2.19	2.82	86
	5	9	50	0.5	80500	36100	2.23	2.33	73
	6	15	50	0.5	106800	48500	2.20	2.78	68
B	1	3	30	0.5	137300	63400	2.16	3.24	85
	2	3	40	0.5	129000	59300	2.17	3.12	81
C	1	3	50	0.25	120200	55000	2.18	2.99	90
	2	3	50	1.0	88900	40000	2.22	2.48	82
	3	3	50	1.5	72500	32400	2.23	2.18	76
	4	3	50	2	48300	21700	2.22	1.67	71
	5	3	50	2.5	44900	20300	2.21	1.59	68
	6	3	50	3	32100	15100	2.12	1.26	58

<sup>a</sup>Inherent viscosity of the solution was measured at a concentration of 0.5 g/dL in distilled water at 35 °C. <sup>b</sup>HMWSA ; High Molecular Weight Sodium Alginate.



**Figure 6.** GPC profile of HMWSA(a); LMWSAs treated with 1 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (b); 2 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (c); 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (d); 6 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (e); 9 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (f); 15 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (g). (2 wt% in reactant concentration and at 50 °C for 30 min with ultrasound).



**Figure 7.** GPC profile of HMWSA(a); LMWSAs treated at 30 °C (b); 40 °C (c); 50 °C (d). (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 30 min with ultrasound).

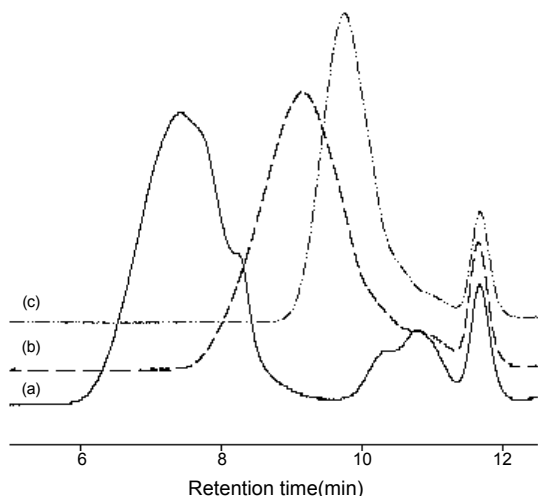
과산화수소 사용 시 PDI 값이 매우 적은 키토산을 얻을 수 있다는 보고도 있다.<sup>34</sup>

**반응 온도의 영향:** 반응 온도가 생성물에 미치는 영향을 알아보기 위해 반응온도를 30, 40 그리고 50 °C로 변화시키면서 반응시킨 결과를 Tables 1, 2 그리고 Figure 7에 나타내었다. 분자량은 30 °C에서 96.4 kDa, 40 °C에서 28.9 kDa 그리고 50 °C에서 15.9 kDa을 보였다. 반응 온도 40 °C 이상에서부터 분자량이 크게 저하되는데 이는 40 °C 이상에서부터 과산화수소로부터 하이드록시 라디칼이 충분히 생성되었기 때문으로 사료된다. 실제 과산화수소를 사용하여 다당류를 저분자화시킨 다른 문헌에서, 과산화수소가 분해되어 하이드록시 라디칼이 생성되는 만족할만한 조건은 50 °C 이상이라고 보고되어진 점도 이 결과를 뒷받침 하는 좋은 사례이다.<sup>22,31</sup>

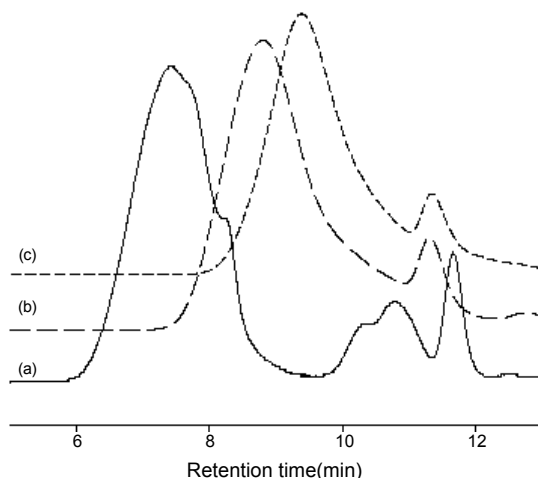
**반응 시간의 영향:** 반응 시간이 생성물에 미치는 영향을 알아보기

위해 반응 시간을 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 그리고 3.0시간으로 변화시키면서 반응시킨 결과를 Tables 1, 2 그리고 Figure 8에 나타내었다. 반응 전 450 kDa의 고분자 알지네이트의 분자량이 반응 시작 0.5 시간만에 15.9 kDa으로 급속도로 저분자화가 진행되었고, 3시간만에 2.4 kDa 정도까지 진행됨을 확인할 수 있었다. 하지만, 2시간만에 2.5 kDa까지 저하된 점을 미루어보아 2시간 이상의 반응은 공정 효율적인 측면에서는 무의미한 것으로 사료된다.

**초음파 조사의 효과:** 초음파가 저분자 반응에 미치는 영향을 알아보기 위해, 다른 모든 반응 조건을 일정하게 하고 초음파 사용 유무에 따른 분자량의 변화를 관찰하였다(Figure 9). 초음파를 사용한 경우 초음파를 사용하지 않은 경우보다 분자량 및 점도의 저하속도가 확연하게 빨라짐을 확인할 수 있었다. 이는 앞서 설명한 초음파에 의한 동공 효과와 시슬의 운동성에 영향을 미쳐 시슬 사이 사이에 과산화수소로부



**Figure 8.** GPC profile of HMWSA(a); LMWSAs treated for 0.5 hr(b); 3.0 hr(c). (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 50 °C with ultrasound).

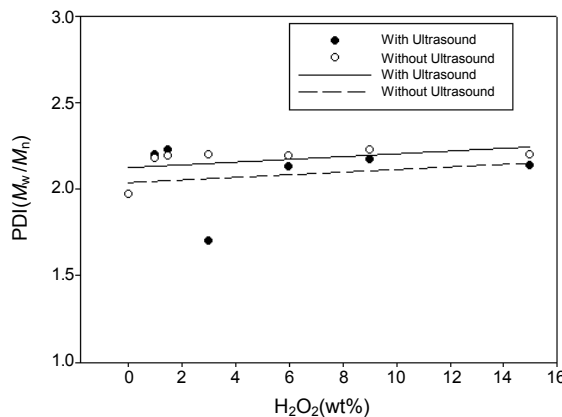


**Figure 9.** GPC profile of HMWSA(a); LMWSAs treated without ultrasound(b); with ultrasound(c). (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 50 °C for 30 min).

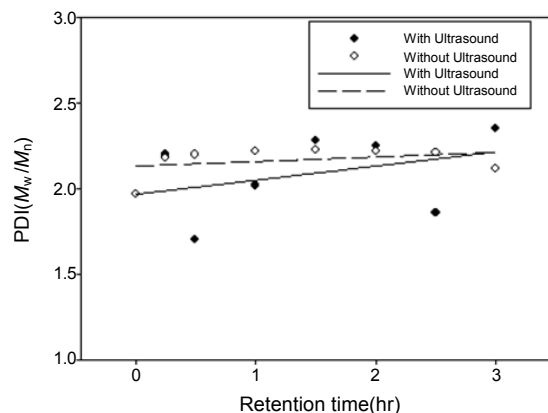
터 생성된 하이드록시 라디칼이 쉽게 들어가 저분자화 반응속도가 빨라진 것이다. 일반적으로 초음파를 사용할 경우 그렇지 않은 경우에 비해 분자량 다분산도가 작아지는 결과를 보인다고 알려져 있지만,<sup>29</sup> 본 실험에서는 이러한 결과를 확인할 수 없었다(Figures 10, 11). 이는 함께 사용되어진 과산화수소의 영향으로 사료되는데 Kim 등은<sup>35</sup> 과산화수소만 사용하여 키토산을 저분자화시켰을 경우에도 상당히 좁은 분자량 분포(PDI=2~3)를 보임을 보고하기도 하였다. 즉, 과산화수소/초음파를 이용한 알지네이트의 저분자화에 미치는 초음파의 효과는 분자량 분포보다는 분자량 저하에 영향을 주며 또한, 분자량 저하 측면에서 보면 초음파 사용이 과산화수소만 사용하였을 때 보다 더욱 효과적이었다.

### 결론

기능성 다당류인 고분자 알지네이트를 과산화수소와 초음파를 이용해 저분자화시켜 얻은 저분자 알지네이트를 FTIR과 FT NMR을 통해



**Figure 10.** Effect of ultrasound on polydispersity index of LMWSAs (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 50 °C for 30 min).



**Figure 11.** Effect of ultrasound on polydispersity index of LMWSAs (2 wt% in reactant concentration and 3 wt% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at 50 °C for 30 min).

구조 분석하고 multi angle lighter scattering이 부착된 GPC를 통해 얻은 결론은 다음과 같다. 과산화수소 농도, 반응 온도 그리고 반응 시간의 변화에 따른 화학구조의 변화를 확인한 결과 알지네이트 단위의 화학구조는 반응 전 후 특이하게 변화된 부분은 관찰되지 않았다. 저분자화 과정은 1,4-glycosidic bond가 끊어지면서 사슬이 짧아지는 것을 확인할 수 있었고 <sup>13</sup>C NMR의 결과 말단 그룹 일부분에 formate가 형성됨을 알 수 있었다. 과산화수소의 농도가 3 wt% 이상에서는 분자량의 변화가 더 이상 농도의존성을 보이지 않았다. 반응 온도의 변화에 따른 분자량의 변화를 보면 30 °C에서 96.4 kDa, 40 °C에서 28.9 kDa 그리고 50 °C에서 15.9 kDa를 보였다. 반응 시간에 따른 생성물의 분자량은 2시간만에 2.5 kDa까지 저하되고, 그 후에는 거의 변화가 없었다. 초음파의 사용은 알지네이트 사슬절단에 구조단위의 변화 없이 확실한 시너지 효과를 보여주며 좁은 PDI분포를 보여 주었다.

**감사의 글:** 이 논문은 2007년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2007-511-D00119).

## 참 고 문 헌

1. H. Grasdalen, B. Larsen, and O. Smidsrød, *Carbohydr. Res.*, **89**, 179 (1981).
2. E. Nishide, H. Anzai, and N. Uchida, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 1215 (1987).
3. E. Nishide, Y. Kinoshita, H. Anzai, and N. Uchida, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1619 (1988).
4. E. Nishide, A. Hiroshi, and U. Naoyuki, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 1215 (1987).
5. M. Fujihara and T. Nagumo, *J. Chromatogr.*, **465**, 386 (1989).
6. K. Noda and K. Takada, *Bull. J. Soc. Sci. Fish*, **49**, 1591 (1983).
7. S. Koyanagi, N. Tanigawa, H. Nakagawa, S. Soeda, and H. Shimeno, *Biochem. Pharmacol.*, **65**, 173 (2003).
8. T. Nishino, H. Kiyohara, H. Yamada, and H. Nagumo, *Phytochem.*, **30**, 535 (1991).
9. D. J. Schaeffer and V. S. Krylov, *Environ. Safety*, **45**, 208 (2000).
10. J. D. Floros and H. Liang, *Food Technology*, **79**, 84 (1994).
11. D. B. Choi, B. Y. Ryu, Y. L. Piao, S. K. Choi, B. W. Jo, W. S. Shin, and H. Cho, *J. Ind. Eng. Chem.*, **2**, 182 (2008).
12. S. Aiba, *Carbohydr. Res.*, **265**, 323 (1994).
13. W. S. Choi, K. J. Ahn, D. W. Lee, M. W. Byun, and H. J. Park, *Polym. Degrad. Stab.*, **3**, 533 (2002).
14. L. B. Lu, P. Zhang, Y. Cao, Q. Lin, S. J. Pang, and H. Wang, *J. Appl. Polym. Sci.*, **113**, 3585 (2009).
15. A. Haug, B. Larsen, and O. Smidsrød, *Acta Chemica Scandinavica*, **21**, 691 (1967).
16. S. Y. Ahn, *Ph.D. Thesis*, Ewha Woman University (2002).
17. R. J. Nordtveit, K. M. Varum, and O. Smidsrød, *Carbohydr. Polym.*, **4**, 253 (1994).
18. Z. Yang, J. P. Li, and H. S. Guan, *Carbohydr. Polym.*, **58**, 115 (2004).
19. L. B. Chang, M. C. Tai, and F. Cheng, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 4845 (2001).
20. S. Tanioka, Y. Matsul, I. Icie, T. Tanigawa, Y. Tanaka, H. Shibata, Y. Sawa, and Y. Kono, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 20014 (1996).
21. F. Tian, Y. Liu, K. Hu, and B. Zhao, *Carbohydr. Polym.*, **57**, 31 (2004).
22. A. J. Aliste, F. F. Vieira, and N. L. Del-Masto, *Radiat. Phys. Chem.*, **57**, 305, (2000).
23. Z. H. Qun, M. W. Shi, F. H. Jin, H. Z. Li, and C. G. Ying, *Carbohydr. Polym.*, **68**, 761 (2007).
24. S. M. Kim and Zayas, *J. Food Sci.*, **56**, 926 (1991).
25. Y. Y. Kim and Y. J. Cho, *J. Korea Fish. Soc.*, **4**, 325 (2010).
26. K. Sakugawa, A. Ikeda, A. Takemura, and H. Ono, *J. Appl. Polym. Sci.*, **93**, 1372 (2004).
27. G. G. Allan and M. Peyron, *Carbohydr. Res.*, **277**, 257 (1995).
28. D. W. Lee, W. S. Choi, M. W. Byun, H. J. Park, Y. M. Yu, and C. M. Lee, *J. Agric. Food Chem.*, **16**, 4819 (2003).
29. J. M. Wasikiewicz, F. Yoshii, N. Nagasawa, R. A. Wach, and H. Mitom, *Radiat. Phys. Chem.*, **73**, 287 (2005).
30. C. G. Gomez, M. Rinaudo, and M. A. Villar, *Carbohydr. Polym.*, **67**, 296 (2007).
31. N. Nagasawa, H. Mitomo, F. Yoshii, and T. Kume, *Polym. Degrad. Stab.*, **69**, 279 (2000).
32. C. Q. Qin, Y. M. Du, and L. Xiao, *Polym. Degrad. Stab.*, **76**, 211 (2002).
33. S. Nakagawa and H. Okuda, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **43**, 917 (1996).
34. M. J. Kim, *Ph.D. Thesis*, Ewha Woman University (2001).
35. H. J. Kim, *Master Thesis*, Ewha Woman University (2002).