

# 평균분자량, 농도, 칼슘 및 마그네슘 이온이 동해안 다시마(*Saccharina japonicus*) Na-alginates의 소수성에 미치는 영향

임영선 · 유병진\*

강릉원주대학교 식품영양학과

## Effects of Average Molecular Weights, their Concentrations, Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup> on Hydrophobicity of Solution of Na-Alginates Prepared from Sea Tangle *Saccharina japonicus* Produced in East Coast of Korea

Yeong Seon Lim and Byung-Jin Yoo\*

Department of Food and Nutrition, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Gangwon 25457, Korea

We investigated the effects of Na-alginates's average molecular weight (AMW), their concentrations and divalent metal ions on hydrophobic interaction of solution of Na-alginates in sea tangle produced *Saccharina japonicus* in East Coast of Korea. As the AMWs of Na-alginates decreased, the formations rates of hydrophobic micro domains and pre-micelles between intermoleculars of Na-alginates were increased. The pre-micelles between Na-alginates chains fully were formed when their concentrations reached 0.2%. In the effects of Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup> on the hydrophobicity of Na-alginates solution, when the AMWs of Na-alginates were increased, the formation rates of hydrophobic micro domains produced by Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup> in alginates chains were increased. When Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup> concentrations that were needed to form gels of alginates solutions were insufficient, the formations of pre-micelle in alginates having large AMW were more incomplete than those of small AMW. In the increasing range from 0.01 to 0.1 mM in divalent metal ion concentration, the formation rate of pre-micelle in alginates solution added Ca<sup>++</sup> were more faster than that of Mg<sup>++</sup>.

Key words: Na-alginates, Pyrene, Hydrophobic microdomains, Pre-micelle, Ca<sup>++</sup> and Mg<sup>++</sup>

### 서론

Alginates는 현재 식품뿐만 아니라 의료, 화장품산업 등 폭 넓은 분야에서 단백질, 향산화제, 비타민, 생균제 등의 encapsules (Clark and Ross, 1987; Rousseau et al., 2004; Hansen et al., 2008; Kim and You, 2017), 약물을 봉입시킨 미립자코팅(Salib et al., 1978; Rak et al., 1984; Chowdary and Suresh, 1988) 및 지속성 정제의 matrix (Xi et al., 1981)로 이용되고 있다. 특히 저분자화된 Na-alginates는 주로 안정제, 농후제, 유화제와 같은 식품첨가물로 사용되고 있다(Kim and You, 2017). Alginates의 구조와 성질은 β-D-mannuronic acid (M)와 α-L-guluronic acid (G)가 α-1,4 또는 β-1,4결합으로 이루어진 해조 다당류의 일종으로, 주로 Na, K, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Ca, Na-Ca염 형태로 분자량, Ca함량, 입자형태(구형, 섬유상), 입자크기, M/G 비율 그

리고 M block, G block, MG혼성 block의 조성 등에 의해 다양한 물리·화학적 성질을 나타낸다. Alginates의 용해성은 산성용액에서는 불용성, 1가 금속이온 용액에서는 가용성 그리고 2가 이상의 금속이온 용액에서는 gel 형성능력을 가지고 있다(Nishide et al., 1988; Hideki et al., 1993). 또한 Na-alginates은 분자량에 따라 성질이 변하므로 분자량을 조절하는 연구가 진행되고 있다(Lim and You, 2005). Alginates는 분자 내의 guluronic acid의 carboxyl group에 2가 이상의 이온이 결합하여 ionotropic gels을 형성하는 데, 이러한 alginates의 gel화는 주로 2가 칼슘이온의 첨가로 guluronic acid의 G-block에 3차원적 egg-box 모양의 가교구조 형성에 의해 일어난다(Clark and Ross, 1987; Rousseau et al., 2004; Fuat et al., 2012).

Alginates의 친수성은 식품과 의약품에서 점도조절제, 효소 및 약물의 고정용 matrix, 생체조직 지지대 등의 소재로 이용할

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0542>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 51(5), 542-548, October 2018

Received 30 July 2018; Revised 27 August 2018; Accepted 8 October 2018

\*Corresponding author: Tel: +82. 33. 640. 2331 Fax: +82. 33. 640 2330

E-mail address: ybjin@gwnu.ac.kr

때 매우 중요한 성질로 알려져 있다(Sinduin et al., 1993; Leo et al., 2008; Ikuko et al., 2012). Alginates는 용매와 다른 성분과의 상호반응에 의하여 여러 성질을 나타내고, alginates는 guluronic acid와 mannuronic acid의 carboxyl group에 음이온을 내포하고 있는 고분자전해질이므로 단백질과 다당류에 존재하는 친수성 작용기인 hydroxy group (-OH), carboxyl group (-COOH), amino group (-NH<sub>2</sub>), keto group (-CO) 및 sulfone group (-SO<sub>3</sub>H) 등과 정전기적 상호작용을 하여 친수성을 나타낸다(Mansoor, 1995; Miguel et al., 2003). 또한 alginates의 친수성에 영향을 미치는 주요 요인은 용매와의 상호작용이고, alginates는 용매에서 용해될 때 수소결합으로 인해 micelle 구조를 형성하며(Zhao and Winnik, 1990), 고분자전해질인 다당류의 소수성 영역은 수용액상태에서 물과의 정전기적 인력에 의한 상호작용으로 반대전하를 띤 물질과 micelle 형성에 관여한다(Dubin et al., 1985). 이러한 Na-alginates의 소수성과 친수성에 영향을 미치는 요소는 Na-alginates의 물리화학적 성질에 직접적으로 작용하는 가장 중요한 요인 중의 하나로 알려져 있으므로(Leo et al., 2008; Ikuko et al., 2012), 조건에 따른

Na-alginates의 소수성을 측정하는 것은 매우 중요하다. 형광광도계는 높은 감도로 인해 수용성 고분자전해질복합체의 친수성 연구에 많이 이용되고 있으며, pyrene은 극성용매에서 형광 발광강도가 강하고, 용매의 극성 정도와 상관없이 384 nm의 여기상태에서만 안정적으로 존재하는 이량체에서 매우 특징적인 형광을 나타내므로, 고분자전해질복합체의 시스템 연구에서 소수성이 강한 pyrene의 단량체를 형광제로 많이 사용한다(Dubin et al., 1985; Zhao and Winnik, 1990; Mansoor, 1995; Miguel et al., 2003). Carboxyl group을 함유하고 있는 수용성 Na-alginates의 소수성은 분자 내 및 분자 간의 결합에 의해 형성된 소수성 영역과 직접적인 연관성이 크다. Na-alginates를 생체조직의 지지대, 창상피복체의 소재 등과 같은 의료용으로 사용할 경우, 수분이 다량 함유된 생체조직 내에서 수분에 대한 저항성을 나타내는 일정 정도의 소수성이 필요하다. 이러한 소수성에 영향을 미치는 인자를 연구하여 alginate gel 형성에 관여하는 소수성과 Na-alginates의 소수성을 나타내는 반응기구를 규명하고자 한다. 본 연구에서는 Na-alginates의 분자량, 농도 그리고 gel 형성에 관여하는 2가 금속이온인 Ca<sup>++</sup>과 Mg<sup>++</sup>이

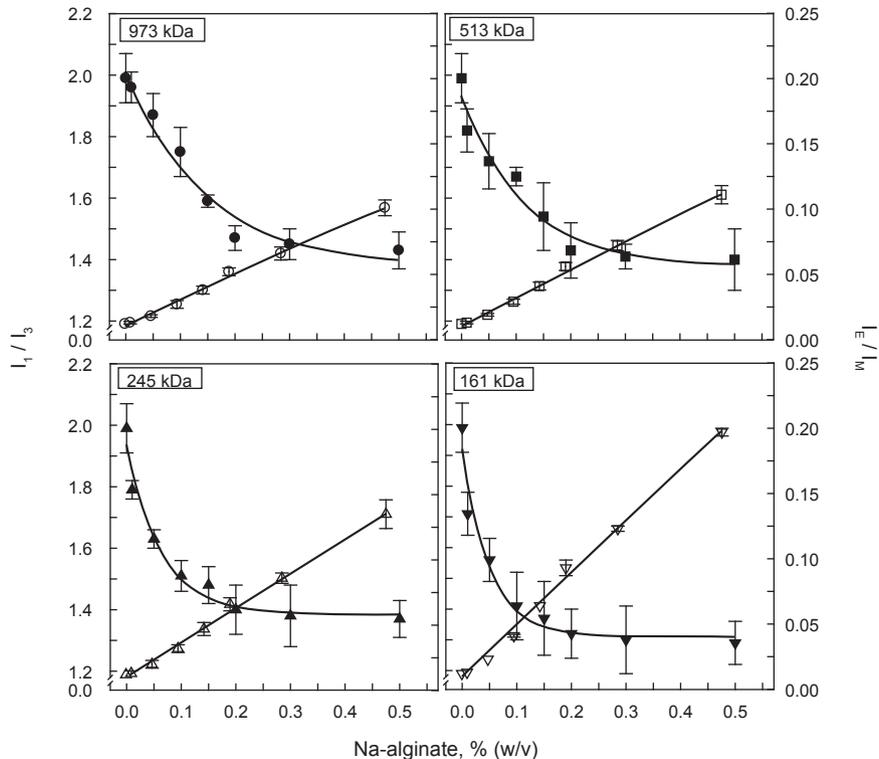


Fig. 1. Effects of sodium alginates concentrations on the  $I_1/I_3$  (● ■ ▲ ▼) and  $I_E/I_M$  (○ □ △ ▽) values in solutions of Na-alginates having different average molecular weights (AMWs). Correlation between  $I_1/I_3$  values and AMWs of Na-alginates: 973 kDa,  $y=0.635 \exp(-6.905x)+1.379$ ,  $r^2=0.971$ ; 513 kDa,  $y=0.558 \exp(-8.670x)+1.377$ ,  $r^2=0.957$ ; 245 kDa,  $y=0.551 \exp(-15.680x)+1.385$ ,  $r^2=0.972$ ; 161 kDa,  $y=0.609 \exp(-19.804x)+1.311$ ,  $r^2=0.960$ . Correlation between  $I_E/I_M$  values and AMWs of Na-alginates: 973 kDa,  $y=18.550 \exp(0.010x)-18.540$ ,  $r^2=0.995$ ; 513 kDa,  $y=19.110 \exp(0.011x)-19.100$ ,  $r^2=0.996$ ; 245 kDa,  $y=18.730 \exp(0.013x)-18.720$ ,  $r^2=0.996$ ; 161 kDa,  $y=26.960 \exp(0.014x)-26.960$ ,  $r^2=0.995$ .

온이 Na-alginates의 소수성 형성에 미치는 영향을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### Na-alginates의 추출, 저분자화 및 투석

강원도 강릉시 주문진에서 2014년 8월에 채취하여 건조한 다시마를 stainless mixer (SMX-4000DY, Shinli, Korea)로 분쇄하여 635  $\mu\text{m}$  이하의 다시마를 본 실험의 Na-alginates 제조용 시료로 사용하였다. Chapman (1980)의 방법을 수정한 You et al. (1997)의 방법에 따라 alginic acid의 전환 없이 다시마에서 직접 Na-alginates를 추출하였다. Lim and Yoo (2005)의 방법으로 저분자화한 Na-alginates는 MW cut off 500, 300, 100 및 50 kDa의 환외여과막(Amicon model UF membranes, Millipore Corp., USA)을 이용하여 순차적으로 분자량 크기에 따라 각각 분획하였다. 각각의 분액을 모아 MW cut off 1,200의 투석막(No. D7884, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA)을 이용하여 투석한 후, 진공동결 건조하여 각각의 평균분자량이 다른 Na-alginates을 제조하였다.

### Na-alginates의 평균분자량 측정

Na-alginates의 환원당 함량은 Somogy and Nelson (1952)법, uronic acid 함량은 phenol-sulfuric acid법(Meloan and Pomeranz, 1973)에 따라 측정하였다. Na-alginates의 중합도(DP, degree of polymerization)는 아래의 식에 따라 환원당 함량(mg/100 g)에 대한 uronic acid 함량(mg/100 g)의 비로 계산하였으며(Hirst et al., 1964), Na-alginates의 평균분자량(AMW, average molecular weight)은 You et al. (2004)이 제시한 식인  $\text{AMW}=0.194 (\text{DP})$ 로부터 구하였다.

### 시료의 형광 측정

시료의 형광 강도를 측정하기 위하여 평균분자량이 973, 513, 245 및 161 kDa인 Na-alginates를 0-0.5%되도록 물에 녹여 농도를 조절하고, 이 용액에 pyrene (No. 8264, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA)을 1  $\mu\text{M}$ 이 되도록 첨가하였다(Amiji and Park, 1994). 시료 용액의 형광 측정은 형광광도계(RF-5301 PC, Shimadzu Co., Japan)를 사용하여 Miguel et al. (2003)의 방법에 따라 pyrene의 excitation 파장은 334 nm, emission 파장은 373 nm ( $I_1$ ,  $I_M$ ), 384 nm ( $I_3$ ) 및 475 nm ( $I_E$ )로 하여 형광의 세기를 각각 측정하였다. 2가 금속이 alginates의 gel 형성 중 소수성 미세영역과 pre-micelle의 형성 정도에 미치는 영향을 측정하기 위하여 Na-alginates용액에  $\text{CaCl}_2$ 와  $\text{MgCl}_2$ 가 각각 0-0.4 mM 농도가 되도록 첨가하여 위와 같은 방법으로 측정하였다.

### 통계분석

5회 반복 측정된 모든 실험결과와 평균  $\pm$  표준편차는 PASW Statistics 18 program의 평균비교를 통하여 one-way ANOVA

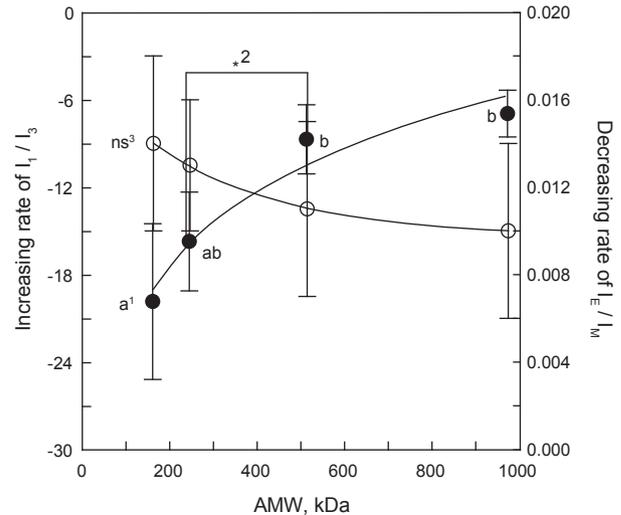


Fig. 2. Correlation between change rates of  $I_1/I_3$  (●) and  $I_E/I_M$  (○) values and average molecular weights (AMWs) of Na-alginates. <sup>1</sup>The data with different superscripts are significantly different by one-way ANOVA test at  $P<0.05$ . <sup>2</sup>The mark of \* means significant difference by independent t-test at  $P<0.05$ . <sup>3</sup>The ns is indicated no significant difference. Correlation between  $I_1/I_3$  values and AMWs of Na-alginates:  $y=7.388 (\ln x)-56.547$ ,  $r^2=0.952$ . Correlation between  $I_E/I_M$  values and AMWs of Na-alginates:  $y=0.007 \exp (-0.003x)+0.010$ ,  $r^2=0.999$ .

(Analysis of Variance) test를 실시하여 95 % 유의수준( $P<0.05$ )에서 Turkey's multiple range test로 평균값의 유의성을 검정하였다. 또한 두 집단 간의 평균비교는 독립표본 t-test를 이용하여  $P<0.05$  (\*),  $P<0.01$  (\*\*) 및  $P<0.001$  (\*\*\*)의 유의수준에서 검정하였다(IBM SPSS Analytics, 2009).

## 결과 및 고찰

### Na-alginates의 평균분자량과 농도가 용액의 소수성에 미치는 영향

Na-alginates 용액의 농도에 따른  $I_1/I_3$  및  $I_E/I_M$  형광강도의 변화를 Na-alginates의 평균분자량 크기에 따라 Fig. 1에 나타내었다. Na-alginates의 평균분자량 크기에 관계없이 모든 용액에서 Na-alginates의 농도가 높을수록 pyrene의  $I_1/I_3$  값은 지속적으로 감소하였고, pyrene의  $I_1/I_3$  값의 감소 속도는 평균분자량 973 kDa의 경우 -6.905, 513 kDa의 경우 -8.670, 245 kDa의 경우 -15.680 및 161 kDa의 경우 -19.804로, 평균분자량이 작을수록 감소속도가 증가함을 나타내었다. Fig. 2는 Na-alginates 용액의 평균분자량 크기가 pyrene의  $I_1/I_3$  및  $I_E/I_M$  값의 변화 속도에 미치는 영향을 나타낸 것이다. Na-alginates 용액의 평균분자량이 클수록 pyrene의  $I_1/I_3$  값은  $y=7.388(\ln x)-56.547$ 의 식

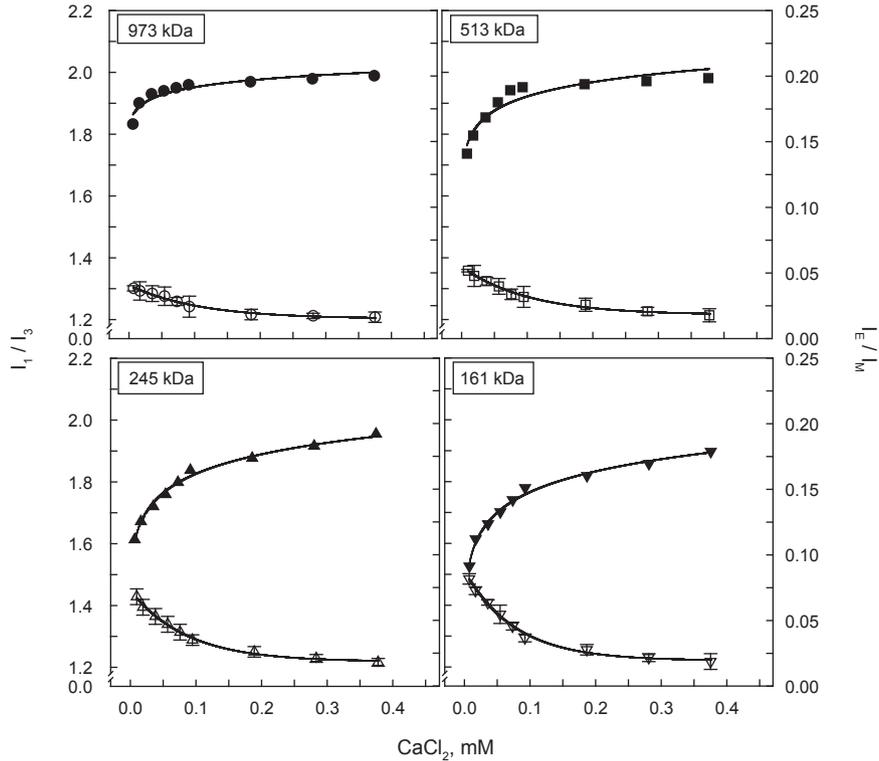


Fig. 3. Dependence of the  $I_1/I_3$  (● ■ ▲ ▼) and  $I_E/I_M$  (○ □ △ ▽) values in 0.2% Na-alginates solution on  $\text{CaCl}_2$  concentrations. Correlation between  $I_1/I_3$  values and average molecular weights (AMWs) of Na-alginates: 973 kDa,  $y=0.038 (\ln x)+2.026$ ,  $r^2=0.897$ ; 513 kDa,  $y=0.069 (\ln x)+2.063$ ,  $r^2=0.911$ ; 245 kDa,  $y=0.095 (\ln x)+2.029$ ,  $r^2=0.992$ ; 161 kDa,  $y=0.100 (\ln x)+1.979$ ,  $r^2=0.992$ . Correlation between  $I_E/I_M$  values and AMWs of Na-alginates: 973 kDa,  $y=0.026 \exp(-8.872x)+0.015$ ,  $r^2=0.984$ ; 513 kDa,  $y=0.036 \exp(-9.223x)+0.016$ ,  $r^2=0.996$ ; 245 kDa,  $y=0.054 \exp(-11.015x)+0.018$ ,  $r^2=0.996$ ; 161 kDa,  $y=0.070 \exp(-12.206x)+0.019$ ,  $r^2=0.995$ .

에 따라 대수적으로 증가하였으며, pyrene  $I_E/I_M$  값은  $y=0.007 \exp(-0.003x)+0.010$ 의 지수 식에 따라 유의적인 차이를 보이지 않았다.  $I_1/I_3$ 의 값은 pyrene을 둘러싸고 있는 미세한 환경의 극성을 나타내는 지표(Yekta et al., 1993)로 알려져 있고, micelle 형성을 추적하는 값이라고 보고(Dong and Winnik, 1982)되어 있으며, Ndou and Wandruszka (1990)은 pyrene과 용매와의 친수성 상호반응이 감소하면  $I_1/I_3$  값이 감소하며, 여기에 유화제인 triton TX-405을 첨가하면 TX-405의 농도가 증가하면 pyrene분자가 물로부터 TX-405의 micelle 상으로 이동하므로  $I_1/I_3$  값이 급격하게 감소한다고 보고하였다. Ren et al. (2006)은  $I_1/I_3$ 의 값이 감소하는 것은 alginates 분자가 응집하여 소수성 micelle을 형성하므로 pyrene이 소수성 micelle 상에 점차적으로 용해되기 때문이라고 하였고, Neumann et al. (2003)은 alginates 수용액에서 alginates의 농도가 높아지면 alginates 중합체 사슬에 소수성 미세영역이 다수 생성되어 소수성이 강한 pyrene 분자가 액상 용액에서 alginates 분자사슬의 미세영역으로 분리되어 이동하므로  $I_1/I_3$  값이 감소한다고 보고하였다. 또한 Mansoor (1995)은 부분적으로 탈아세틸화한 키토산

수용액에서 키토산의 농도가 증가하면 glucosamine-N-acetyl group 사이의 소수성 상호작용에 의해 소수성 영역이 증가하므로  $I_1/I_3$ 가 감소한다고 보고하였다. 이러한 연구보고를 미루어 보면 본 연구에서 Na-alginates의 농도가 높을수록 pyrene의  $I_1/I_3$  값이 감소하는 것은 Na-alginates 분자사슬 내부에 소수성 pre-micelle이 생성되므로 소수성 미세 영역이 증가하여 이 영역으로 pyrene이 이동하기 때문이다. 또한 본 실험에서 Na-alginates의 분자량이 작을수록  $I_1/I_3$  값의 감소속도가 증가하는 것(Fig. 2)은 Na-alginates의 분자량이 작을수록 용액의 점도가 낮아지므로 Na-alginates 분자의 이동이 용이하여 Na-alginates 분자들이 서로 빠르게 접근하므로 분자 사이의 소수성 미세영역이 빠르게 형성됨을 의미한다.

그리고 Fig. 1과 2에서 Na-alginates의 농도에 대한  $I_E/I_M$ 의 값은 지수적으로 증가하였고,  $I_E/I_M$  값의 증가속도는 973 kDa의 경우 0.010, 513 kDa의 경우 0.011, 245 kDa의 경우 0.013 및 161 kDa의 경우 0.014로 나타나, 평균분자량이 작을수록  $I_E/I_M$  값의 증가속도가 증가함을 보이지만  $I_1/I_3$  값은 감소속도가 증가하여 반비례하는 결과를 나타내었다. Neumann et al. (2003)

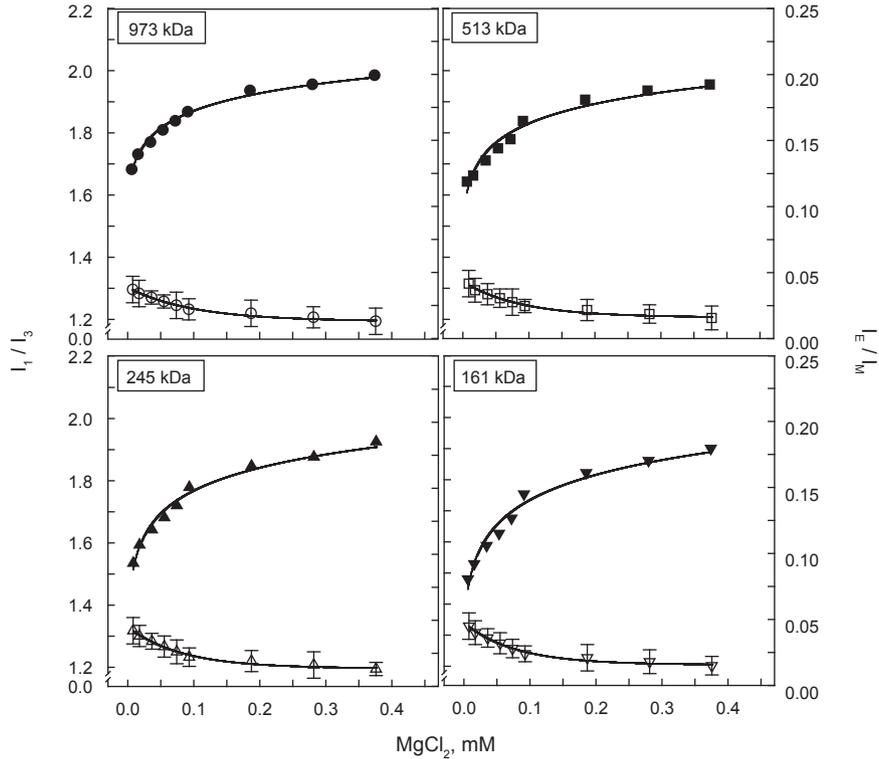


Fig. 4. Dependence of the  $I_1/I_3$  (●■▲▼) and  $I_E/I_M$  (○□△▽) values in 0.2% Na-alginate solution on  $MgCl_2$  concentrations. Correlation between  $I_1/I_3$  values and average molecular weights (AMWs) of Na-alginate: 973 kDa,  $y=0.087(\ln x)+2.056$ ,  $r^2=0.990$ ; 513 kDa,  $y=0.096(\ln x)+2.036$ ,  $r^2=0.965$ ; 245 kDa,  $y=0.111(\ln x)+2.007$ ,  $r^2=0.983$ ; 161 kDa,  $y=0.123(\ln x)+2.005$ ,  $r^2=0.974$ . Correlation between  $I_E/I_M$  values and AMWs of Na-alginate: 973 kDa,  $y=0.025 \exp(-9.764x)+0.016$ ,  $r^2=0.987$ ; 513 kDa,  $y=0.026 \exp(-11.057x)+0.019$ ,  $r^2=0.982$ ; 245 kDa,  $y=0.031 \exp(-11.850x)+0.020$ ,  $r^2=0.987$ ; 161 kDa,  $y=0.032 \exp(-12.395x)+0.021$ ,  $r^2=0.986$ .

은 alginates 용액에 계면활성제를 첨가하지 않은 경우보다 계면활성제를 매우 낮은 농도로 첨가하였을 때 pyrene의 원자진동구조를 나타내는  $I_1/I_3$  값은 급격하게 감소하고, pyrene의 단량체와 여기 상태의 이량체 비율을 나타내는  $I_E/I_M$  값은 급격히 증가하는 것은 Na-alginate와 계면활성제 사이에 소수성 영역인 pre-micelle이 생성되기 때문이라고 보고하였다. 이러한 연구결과를 미루어 보아 본 연구의 결과에서 평균분자량이 작을수록  $I_E/I_M$  값의 증가속도가 증가함을 보이는 반면,  $I_1/I_3$  값은 감소속도가 증가하여 반비례하는 것은 Na-alginate의 용액에서는 Na-alginate의 평균분자량이 작을수록 alginates의 짧은 중합체 사슬 사이에서 물과의 정전기적 인력에 의한 상호작용으로 반대전하를 띤 물질과 micelle 형성에 관여하는 소수성인 pre-micelle의 생성속도가 빨라져 pre-micelle에 소수성이 강한 pyrene 분자가 빠른 속도로 이동함을 의미한다. 그리고 Na-alginate의 분자량과는 관계없이 Na-alginate의 농도가 0.2% 이상에서는  $I_1/I_3$  값의 감소가 거의 일어나지 않은 것은 Na-alginate 사슬 사이에 소수성 pre-micelle은 0.2% 이하에서 거의 형성이 완료되었음을 의미한다.

### Ca<sup>++</sup>와 Mg<sup>++</sup>이 Na-alginate 용액의 소수성에 미치는 영향

Ca-alginate gel 형성 중 alginates의 소수성 변화를 알아보기 위하여 평균분자량이 각각 다른 0.2% alginates 용액에  $CaCl_2$  용액의 첨가농도를 달리할 때 pyrene의  $I_1/I_3$  및  $I_E/I_M$  값의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 이 그림에서 알 수 있듯이  $Ca^{++}$  이온의 농도가 높을수록 alginates의 분자량의 크기에 상관없이 pyrene의  $I_1/I_3$  값은 대수적으로 증가하였으며, alginates의 분자량이 973, 513, 245 및 161 kDa로 작아질수록  $I_1/I_3$  값의 증가속도는 각각 0.038, 0.069, 0.095 및 0.100으로 증가하였다. 그러나  $I_E/I_M$  값은 alginates에 대하여 지수적으로 감소함을 보였으며 alginates의 분자량이 작아질수록  $I_E/I_M$  값의 감소속도는 증가하였다. 그리고 가장 낮은  $Ca^{++}$  이온의 농도인 0.01mM일 때  $I_1/I_3$  값은 alginates 분자량이 161 kDa의 경우 1.510, 245 kDa의 경우 1.600, 513 kDa의 경우 1.72, 및 973 kDa의 경우 1.830으로, 분자량이 클수록  $I_1/I_3$  값이 증가하였다. Zhao and Winnik (1990)은 수용성 고분자물질의 gel에서 micelle 구조형성은 소수성 미세영역의 존재하기 때문이며, Liangbin et al. (2007)은

Na-alginates 용액에  $\text{Ca}^{++}$ 을 가하면 Na-alginates로부터  $\text{Na}^+$ 가 해리가 되어 alginates의 carboxyl group이 표면으로 노출되고,  $\text{Na}^+$ 보다 친화력이 큰  $\text{Ca}^{++}$ 을 중심으로 이웃의 alginates 분자의 노출된 carboxyl group들이 결합하여 egg-box 형태의 gel을 형성한다고 보고하였다. 이러한 연구 결과를 미루어 보면 본 실험에서  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도가 높을수록 alginates의 분자량 크기에 상관없이 pyrene의  $I_1/I_3$  값이 증가하는 것은  $\text{Ca}^{++}$ 농도의 증가로 인하여 alginates 분자의 carboxyl group 사이를  $\text{Ca}^{++}$ 이 결합을 왕성하게 형성하므로 alginates 분자들의 사슬 내부에 소수성 pre-micelle의 생성이 증가하므로 소수성 미세 영역이 증가하여 이 영역으로 pyrene이 이동하기 때문이다. 그리고 alginates의 분자량이 작을수록  $I_1/I_3$  값의 증가속도가  $\text{Ca}^{++}$ 농도가 높아짐에 따라 증가하는 것은  $\text{Ca}^{++}$ 에 의한 alginates분자들이 결합할 때 분자량이 작은 alginates의 이동이 용이하므로 소수성 미세 영역이 빠르게 형성되기 때문이다.  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도가 가장 낮은 0.01 mM에서 alginates 분자량이 높을수록  $I_1/I_3$  값은 증가하고,  $I_E/I_M$  값은 감소하는 것은 alginates gel을 형성함에 있어 충분하지 않은  $\text{Ca}^{++}$ 의 농도에서는 분자량이 큰 alginates가 분자량이 작은 alginates에 비하여 pre-micelle의 형성이 불완전하다는 것을 보여준다.

평균분자량이 다른 Na-alginates 0.2% 용액에서  $\text{Mg}^{++}$ 의 첨가 농도 변화에 따른  $I_1/I_3$  및  $I_E/I_M$  값의 변화를 Fig. 4에 나타내었다.  $\text{Mg}^{++}$ 의 첨가농도가 높을수록 alginates의 분자량 크기에 상관없이 pyrene의  $I_1/I_3$  값은 대수적으로 증가함을 보였으며, Na-alginates의 분자량이 973, 513, 245 및 161 kDa로 감소함에 따라  $I_1/I_3$  값의 증가속도는 각각 0.038, 0.069, 0.095 및 0.100으로 증가하였다. 그러나  $I_E/I_M$  값은 지수적으로 감소함을 보였으며 Na-alginates의 분자량이 작을수록  $I_E/I_M$  값의 감소속도는 증가하였다. 그리고 가장 낮은  $\text{Mg}^{++}$  농도인 0.01 mM 일 때  $I_1/I_3$  값은 Na-alginates의 분자량이 161 kDa이면 1.470, 245 kDa이면 1.520, 513 kDa는 1.630, 및 973 kDa는 1.670으로, 분자량이 높을수록 증가하였고  $I_E/I_M$  값은 각각 0.050, 0.048, 0.044 및 0.039로 감소하였다. 이러한 결과는 Fig. 3에서 언급한  $\text{Ca}^{++}$ 농도에 따른  $I_1/I_3$  및  $I_E/I_M$  값의 변화와 같은 경향의 것으로서 이미 설명한 바 있다. 다만 이온의 농도가 0.01에서 0.1 mM 까지 증가하는 구간에서의  $I_E/I_M$  값의 초기감소속도에 있어서  $\text{Ca}^{++}$  첨가 경우는 Na-alginates의 분자량의 크기에 따라 뚜렷한 차이를 나타내지만  $\text{Mg}^{++}$ 경우는 큰 차이를 보이지 않는다. Smidsrød (1973)는 alginates 용액의 sol에서 gel로 전환되는 과정에서 alginates 분자의 구성 성분 중의 하나인 guluronate는  $\text{Ca}^{++}$ 과의 결합이  $\text{Mg}^{++}$ 과의 결합보다 더 강하고 선택적이라고 보고하고 있다. 이러한 연구결과를 고려하면 이온의 농도가 0.01에서 0.1 mM 까지 증가하는 구간에서의  $I_E/I_M$  값의 초기감소속도에 있어서  $\text{Ca}^{++}$  첨가 경우는 Na-alginates의 분자량의 크기에 따라 뚜렷한 차이를 나타내지만  $\text{Mg}^{++}$ 경우는 큰 차이를 보이지 않는 것은 alginates의 분자와  $\text{Ca}^{++}$ 과의 결합력이  $\text{Mg}^{++}$ 와의 결합력보

다 강함으로  $\text{Ca}^{++}$  첨가 경우가  $\text{Mg}^{++}$ 경우에 비하여 pre-micelle 형성 속도가 빨라졌기 때문이다.

저분자 Na-alginates가 0.2% 이하의 농도에서  $\text{Ca}^{++}$ 에 의한 pre-micelle 형성속도가 고분자 Na-alginates에 비하여 빠른 관계로, 첨가초기에 pre-micelle 형성에 의한 소수성이 커져 유화액의 유화능이 생성초기에 증가하므로 ice cream의 안정제로 사용하면 매우 유용할 것으로 사료된다.

## References

- Amiji M and Park K. 1994. Analysis on the surface adsorption of PEO/PPO/PEO triblock copolymers by radiolabelling and fluorescence techniques. *J Appl Polym Sci* 53, 539-544. <https://dx.doi.org/10.1002/app.1994.070520409>.
- Chapman DJ. 1980. Algin and alginate. In *Seaweeds and their Uses*. Chapman VJ ed. Chapman and Hall, New York, N.Y., U.S.A.
- Chowdary PK and Suresh Babu KV. 1988. Comparative evaluation of ethyl cellulose, gelation and calcium alginate microcapsules prepared by complex emulsion methods. *Indian J Pharm Sci* 50, 173-175. <https://dx.doi.org/10.12983/ijrsk-2014-p0075-0082>.
- Clark AH and Ross MSB. 1987. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Adv Polym Sci* 83, 57-192.
- Dong DC and Winnik MA. 1982. The Py scale of solvent polarities. Solvent effects on the vibronic fine structure of pyrene fluorescence and empirical correlation with  $E_t$  and  $\gamma$  values. *Photochem Photobiol* 35, 17-21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.1982.tb03805.x>.
- Dubin PL, Rigsbee DR and Mcquigg DW. 1985. Turbidimetric and dynamic light scattering of mixtures of cationic polymers and anionic micelles. *J Colloid Interface Sci* 45, 509-515. [https://dx.doi.org/10.1016/0021-9797\(85\)90325-X](https://dx.doi.org/10.1016/0021-9797(85)90325-X).
- Fuat T, Artur H, Walter R and Jürgen G. 2012. Magnesium ions and alginate do form hydrogels: a rheological study. *Soft Matter* 8, 4877-4881. <https://dx.doi.org/10.1039/c2sm07465f>.
- Hansen LT, Annan NT and Borza AD. 2008. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improve survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Food Res Int* 41, 184-193. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2007.11.001>.
- Hideki O, Jitsuo S and Yoshinari K. 1993. Direct control of the constituents ratio in a wide range in alginate produced by *Azobacter vinelandii*. *Biosci Biotech Biochem* 57, 332-337. <https://dx.doi.org/10.1271/bbb.57.332>.
- Hirst EL, Percival E and Wold JK. 1964. The structure of alginic acid. Part IV. Partial Hydrolysis of the reduced polysaccharide. *J Chem Soc* 8, 1493-1499.
- IBM SPSS Analytics. 2009. PASW Statistics 18 for window.

- IBM Co. Amork, N.Y., U.S.A.
- Ikuko MS, Sakito O, Hiroyuki U, Yoshitaka K, Nao S and Hideo N. 2012. Effects of composition of Iron-cross-linked alginate hydrogels for cultivation of human dermal fibroblasts. *Int J Biomat* 2012. 1-8. <https://dx.doi.org/10.1155/2012/820513>.
- Kim JY and You SS. 2017. Development of a commercial process for micro-encapsulation of lactic acid bacteria using sodium alginate. *Kor Chem Eng Res* 55, 313-321. <https://dx.doi.org/10.9713/kcer.2017.55.3.313>.
- Leo QW, Jie J, Diana E, Arnold X, Edward G, Helen HL and Van CM. 2008. Calcium concentration effects on the mechanical and biochemical properties of chondrocyte-alginate constructs. *Cell Mol Bioeng* 1, 93-102. <https://dx.doi.org/10.1007/s12195-008-0014-x>.
- Liangbin L, Fang Y, Vreeker R and Appelqvist I. 2007. Reexamining the egg-box model in calcium-alginate gels with x-ray diffraction. *Biomacromolecules* 8, 464-468. <https://dx.doi.org/10.1021/bm060550a>.
- Lim YS and You BJ. 2005. Effects of hydrolysis time on the molecular weight distribution of alginates prepared from sea tangle *Laminara japonicus*. *J Fish Sci Technol* 8, 113-117. <https://dx.doi.org/10.5657/fas.2005.8.3.113>.
- Mansoor MA, 1995. Pyrene fluorescence study of chitosan self-association in aqueous solution. *Carbohydr polymers* 26, 211-213. [https://dx.doi.org/10.1016/0144-8617\(94\)00095-B](https://dx.doi.org/10.1016/0144-8617(94)00095-B).
- Meloan CE and Pomeranz Y. 1973. Food Analysis Laboratory Experiments. Westport, Connecticut, AVI Publishing Co. Inc., Emeryville, C.A., U.S.A.
- Miguel GN, Carla CS and Eduardo TI. 2003. A fluorescence study of the interactions between sodium alginate and surfactant. *Carbohydr Res* 338, 1109-1113. [https://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215\(03\)00051-X](https://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215(03)00051-X).
- Ndou TT and Wandruszka RV. 1990. Pyrene fluorescence in pre-micellar solutions: The effects of solvents and temperature. *J Luminescence* 46, 33-38. [https://dx.doi.org/10.1016/0022-2313\(90\)90079-Q](https://dx.doi.org/10.1016/0022-2313(90)90079-Q).
- Neumann MG, Schmitt CC and Iamazaki ET. 2003. A fluorescence emission study of the formation premicelles in solutions of polyelectrolytes and ionic surfactants. *J Colloid Interface Sci*, 490-495. [https://dx.doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00455-7](https://dx.doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00455-7).
- Nishide E, Kinoshita Y, Anzai H and Uchida N. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54, 1619-1622. <https://dx.doi.org/10.2331/suisan.54.1619>.
- Rak J, Chalabala M, Heinrich J and Antoninova K. 1984. Study on drug microforms. Part 8. Microcapsules with chloramphenicol prepared by precipitation with sodium alginate. *Farm Obz* 53, 309-314. <https://dx.doi.org/10.1080/02652040802211345>.
- Ren B, Gao Y, Lu L, Liu X and Tong Z. 2006. Aggregation of alginates binding with surfactants of single and twin alkyl chains in aqueous solutions: Fluorescence and dynamic light scattering studies. *Carbohydr Polymers* 66, 266-273. <https://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.03.012>.
- Rousseau I, Le Cerf O, Picton L, Argillier JF and Muller G. 2004. Entrapment and release of sodium polystyrene sulfonate (SPS) from calcium alginate gel beads. *Eur Polymer J* 40, 2709-2715. <https://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2004.07.022>.
- Salib NN, El-Menshawya MA and Ismail AA. 1978. Utilization of sodium alginate in drug microcapsulation. *Pharm Ind* 40, 1230-1234.
- Sinduin A, Huberi P and Dellacherie E. 1993. Amphiphilic derivatives of alginate: evidence of intra- and inter molecular hydrophobic association in aqueous solution. *Langmuir* 9, 3334-3337.
- Smidsrød, O. 1973. Some physical properties of alginates in solution and in the gel state. Ph. D. Thesis. Norwegian University, Trondheim, Norway.
- Somogyi M and Nelson N. 1952. Notes on sugar determination. *J Biol Chem* 195, 19-23.
- Xi N, Tu Z, Pel Y, Lui D and Ma L. 1981. Calcium alginate as a matrix for sustained release tablets. *Yeo Hsueh Hsueh Pao* 16, 277-282.
- Yekta A, Duchamel J, Brochard P, Adjwjdjaja H and Winnik MA. 1993. A fluorescent probe study of micelle-like cluster formation in aqueous solutions of hydrophobically modified poly (ethylene oxide). *Macro* 26, 1829-1836. <https://dx.doi.org/10.1021/ma00060a006>.
- You BJ, Lim YS, Jeong IH and Lee KH. 1997. Effect of extraction conditions on bile acids binding capacity *in vitro* of alginate extracted from sea tangle (*Laminaria* spp.). *J Kor Fish Soc* 30, 31-38.
- You, BJ, Lim YS and Ryu HS. 2004. Effects of hot water treatment and dialysis on measuring the average molecular weight of alginates. *J Kor Fish Soc* 37, 1-6. <https://dx.doi.org/10.5657/fas.2005.8.3.113>.
- Zhao CL and Winnik MA. 1990. Fluorescence probe Techniques used to study micelle formation in water-soluble block copolymers. *Langmuir* 6, 514-516. <https://dx.doi.org/10.1021/la00092a038>.