

- 총 설 -

## 펙틴의 정제 및 분석

황 재 관

한국식품개발연구원

### Purification and Analysis of Pectins

Jae-Kwan Hwang

Korea Food Research Institute, Kyonggido 463-420, Korea

#### Abstract

Pectins present in the primary cell walls and middle lamellae of plant cell walls are extracted by water, chelating agents, acid or alkali solutions. However, some neutral contaminating components are extracted in conjunction with pectins during the extraction process. Thus, the accurate characterization of physicochemical properties of pectins necessitates to get rid of the impurities. In this review, dialysis, alcohol precipitation, ion exchange chromatography and metal precipitation were compared as procedures to purify the pectin extracts. In addition, the chemical methods to analyze pectins are discussed in terms of three major chemical constituents, i.e., anhydrogalacturonic acid, methoxyl groups and neutral sugars.

**Key words :** pectins, pectin purification, pectin analysis

#### 서 론

펙틴은 식물 세포조직의 일차세포벽(primary cell wall)이나 세포 사이의 중간층(middle lamellae)에서 발견되는 다당류(polysaccharide)로서 식물세포의 기계적 강도 및 세포간의 결합에 관계하며<sup>1-3)</sup>, 또한 세포벽 내에 존재하는 수분의 분산과도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다<sup>4)</sup>. 펙틴은 야채나 과일의 숙성 중 조직의 단단함(firmness), 응집성(cohesiveness) 및 이들 가공제품의 텍스처(texture), 점조도(consistency)에 큰 영향을 미친다<sup>5,6)</sup>. 식품 내에서 펙틴은 젤화제(gelling agent), 안정제(stabilizing agent) 혹은 점증제(thickening agent)로서 광범위하게 사용되고 있으며<sup>7,8)</sup>, 특히 최근에는 지방대체제(fat substitute)로서의 용도가 새로이 개발되었다<sup>9)</sup>.

식물 세포벽에 존재하는 펙틴은 일반적으로 물, EDTA, CDTA, ammonium oxalate, sodium hexametaphosphate와 같은 킬레이트제(chelating agents), 산 혹은 알칼리 용액의 처리에 의하여 단계적으로 추출될 수 있다<sup>10,11)</sup>. 그러나 산업적으로는 위와 같은 단계적 추출방식보다는 수율(yield)을 높이고 생산원가를 줄이

기 위하여 사과 및 감귤류의 생산부산물인 사과박(apple pomace)이나 감귤껍질(citrus peel)에 고온의 산 용액을 처리하여 펙틴을 추출한다<sup>12,13)</sup>. 특히 최근에는 지금까지 연구되어온 식물 세포벽 구조에 관한 기본모델을 토대로 효소적 방법에 의하여 펙틴을 추출하는 방법이 시도되고 있다<sup>14)</sup>. 그런데 펙틴의 추출과정 중에는 펙틴 이외에도 중성전하를 갖는 단당류, 올리고당(oligosaccharides) 및 다당류로 이루어진 불순물이 세포벽으로부터 펙틴과 함께 추출된다<sup>15)</sup>. 단당류나 올리고당은 정제과정의 차이에 관계없이 대부분 쉽게 제거되나, 다당류의 경우에는 적당한 정제방법을 사용하지 않는 경우 펙틴과 함께 잔류하여 펙틴의 물리화학적 성질에 많은 영향을 미친다. 따라서 펙틴의 정확한 화학적 조성이나 기능적 특성을 정확히 이해하기 위해서는 이들 불순물을 펙틴으로부터 분리제거해야 한다.

펙틴은 연구자에 따라 정제 및 화학적 분석방법에 많은 차이를 보인다. 본 총설에서는 먼저 펙틴의 구조적 특성을 설명하며, 또한 펙틴의 정제와 화학적 분석에 이용되는 방법들의 작용원리와 장단점을 비교하여 펙틴의 기초적 연구나 실제적으로 펙틴을 식품공정에 이용하는데 있어서 가장 적합한 방법을 선택하기 위한

지침을 제시하고자 한다.

### 펙틴의 구조

펙틴은 지형학적 관점 (topological view)에서 크게 주골격(main backbone)과 측쇄 (sidechains)의 두 부분으로 나눌 수 있으며, 이들은 Table 1에 나타낸 바와 같이 각각 다른 화학적 구성성분으로 이루어져 있다.

#### 주골격(Main backbone)

펙틴의 주골격은 주로 D-갈락투론산(D-galacturonic acid)들이 탈수된 무수갈락투론산 (anhydrogalacturonic acid)의 형태로서  $\alpha$ -(1,4) 결합에 의하여 연결되어 있으며, 여기에 중간 중간 L-람노오스 (L-rhamnose)가  $\alpha$ -(1,2) 결합으로 삽입되어 있다<sup>16,17</sup>. 지금까지의 펙틴구조에 대한 연구결과에 의하면 람노오스는 주골격 전체를 통하여 산재하여 있는 것이 아니라 일부분씩 군 (group)을 이루어 존재한다<sup>18</sup>. 즉 주골격은 주로 갈락투론산으로 이루어진 호모갈락투로난 (homogalacturonan) 지역과 람노오스와 갈락투론산이 혼합되어 있는 람노갈락투로난 (rhamnogalacturonan) 지역으로 나뉘어진다. 그런데 이들 람노오스 잔기에 의하여 펙틴분자는 완전한 규칙형 (orderd conformation)을 갖지 못하며 상당한 정도의 유연성 (flexibility)을 보유하는 것으로 보고되었다<sup>19</sup>.

또한 갈락투론산의 카복실기 (carboxyl groups)는 일부 메탄올 (methanol)과 에스테르 (ester)를 형성하는데 그 정도를 나타내는 지표로서 에스테르화 정도 (degree of esterification : DE)가 사용된다<sup>20</sup>. DE는 펙틴의 기능특성 즉 용해도, 겔형성 및 유변특성에 큰 영향을 미치는 요인으로 밝혀져 왔다<sup>21,22</sup>. 이 밖에도 일부 갈락투론산의 수산기 (hydroxyl group : -OH)는 아세틸화 (acetylation)되어 있는데 이들은 특히 사탕무 (sugar

**Table 1. Structural characteristics of pectins<sup>16,17</sup>**

Main backbone	Galacturonan Rhamnogalacturonan
Major sidechains	Arabinan Galactan Arabinogalactan
Minor sidechains	$\beta$ -D-Xyl-(1,3)- $\alpha$ -L-Ara-(1,3)- $\beta$ -D-Gal-(1,2)- $\beta$ -D-Xyl-(1,3)- $\alpha$ -L-Fuc-(1,2)- $\beta$ -D-Xyl-(1,3)- D-Api-(1,3)-D-Api-(1- $\beta$ -D-GlcA-(1,4)-L-Fuc-(1- $\beta$ -D-GlvA-(1,6)-D-Gal-(1-

beet) 펙틴에서 특징적으로 발견된다<sup>23</sup>. 일반적으로 이들 아세틸기 (acetyl groups)는 펙틴의 겔 형성능력을 저해하는 것으로 알려져 있다<sup>24</sup>.

#### 측쇄 (Sidechains)

펙틴의 측쇄에는 D-갈락토오스 (D-galactose), L-아라비노오스 (L-arabinose) 및 D-크실로오스 (D-xylose), D-만노오스 (D-mannose), D-글루코오스 (D-glucose), L-퓨코오스 (L-fucose), D-아피오스 (D-apiose) 등과 같은 중성당이 존재한다<sup>25</sup>. 이들 중성당은 대부분 주골격에 짧은 측쇄로서 연결되어 있는 반면에 D-갈락토오스와 L-아라비노오스의 경우에는  $\beta$ -(1,4) 결합으로 연결된 갈락탄 (galactan)이나  $\alpha$ -(1,5) 결합으로 구성된 아라비난 (arabinan) 혹은 이들의 중합체인 아라비노갈락탄 (arabinogalactan)의 고분자형태로서 발견된다<sup>26</sup>. 그런데 갈락탄은 거의 선형구조 (linear structure)를 보이나 아라비난 (arabinan)은 상당히 가지구조 (branched structure)를 나타내는 것으로 보고되었다<sup>27</sup>. 따라서 펙틴측쇄는 화학적 이질성 (chemical heterogeneity)과 크기 (bulkiness)의 두가지 구조적 특성을 갖는 것을 알 수 있다<sup>28</sup>. 펙틴의 측쇄는 주로 주골격의 rhamnogalacturonan 지역에 존재하는 람노오스의 C-4 결합을 통하여 공유결합으로 연결되어 있다<sup>15</sup>. 따라서 펙틴분자는 측쇄가 거의 존재하지 않는 homogalacturonan 부분을 "smooth region"으로 반면에 대부분의 측쇄가 연결되어 있는 rhamnogalacturonan 부분은 "hairy region"으로 분류되며, 이와 같은 특징은 여러 종류의 펙틴에서 발견되어 왔다<sup>29-31</sup>.

식물의 세포벽에 존재하는 펙틴의 양은 식물의 종류, 숙성정도, 추출방법에 따라 많은 차이를 보이며, 펙틴의 화학적 조성 역시 이에 따라 상당히 영향을 받

**Table 2. Composition of pectins from sugar-beet pulp<sup>29</sup>**

Components	WSP	OXP	HP	OHP
AGA (% w/w)	54.40	77.90	65.10	54.90
Methoxyl(% w/w)	7.24	8.19	7.09	0.72
Neutral	16.50	5.70	18.90	24.30
Sugars (% w/w)				
Rhamnose	0.89	0.86	2.25	3.17
Arabinose	8.44	1.85	9.97	12.49
Xylose	0.14	0.16	0.17	0.23
Mannose	0.18	0.14	0.12	0.00
Galactose	6.46	2.43	5.93	8.09
Glucose	0.39	0.21	0.44	0.31

\*WSP : water-soluble pectins ; OXP : oxalate-soluble pectins ; HP : acid-soluble pectins ; OHP : alkali-soluble pectins

**Table 3. The total neutral sugar content (% w/w) of sidechains present in different pectin fractions of plants<sup>32)</sup>**

Pectins*	WSP	OXP	HP	OHP
Cabbage	34.9	25.7	nd**	nd
Carrot	17.8	nd	11.7	14.3
Cherry	47.1	15.9	18.2	15.0
Grape berries	25.4	14.5	13.4	12.4
Sugar beet	15.6	4.8	16.7	21.1

\*WSP : water-soluble pectins ; OXP : oxalate-soluble pectins ; HP : acid-soluble pectins ; OHP : alkali-soluble pectins  
\*\*not determined

는 것으로 알려져 있다. 예로서 Table 2에 사탕무의 추출방법에 따른 펙틴의 화학적 조성을 나타내었다. 사탕무 펙틴을 이루는 주요 중성당으로는 아라비노오스와 갈락토오스인 것을 알 수 있으며, 이는 사탕무 이외의 대부분의 펙틴에도 해당된다. Table 3에 나타낸 5가지 펙틴의 추출방법에 따른 측쇄의 양을 살펴보면 조사된 식물의 종류 및 추출방법에 따라 측쇄의 양은 약 5~50%의 광범위한 분포를 보이는 것을 알 수 있다<sup>32)</sup>. 따라서 펙틴은 상당한 크기와 양의 측쇄를 보유한 분지형 고분자 (branched polymer)로서 분류된다.

### 펙틴의 정제

일반적으로 펙틴의 추출과정에서 발생하는 불순물 (contaminants)들은 펙틴의 카복실기에 의한 음이온적 성질과 비교하여 중성을 띠고 있으며, 펙틴의 측쇄에 공유결합에 의하여 연결되어 펙틴분자의 한부분으로 관주되는 중성당과는 구분된다. 지금까지 펙틴은 연구자에 따라 투석법, 알콜침전법, 이온교환크로마토그래피 혹은 금속침전법에 의하여 정제되어 왔다.

#### 투석법(Dialysis)

투석법은 펙틴용액을 반투과성막 (semi-permeable membrane) 내에 넣은 후 용액과 막 주변 용매와의 농도차이에 의하여 불순물을 제거하는 방법이다<sup>33-36)</sup>. 이때 막은 제조방법에 따라 일정한 분자량절단 (molecular weight cut-off : MWCO)을 갖는데 이 MWCO 이하의 물질만이 투석과정에서 제거된다. 지금까지의 연구결과에 의하면 MWCO 이하의 물질들을 제거하기 위해서는 약 48~72시간의 투석을 필요로 한다. 이 방법을 사용하면 단당류, 올리고당 그리고 비교적 작은 크기의 다당류들이 제거되므로 저분자량의 불순물을 포함하는 펙틴시료의 경우에 사용이 가능한 반면에 MWCO이상의 분자량이 큰 불순물을 포함하는 시료

에는 사용될 수 없다는 단점이 있다.

#### 알콜 침전법 (Alcohol precipitation)

일반적으로 펙틴의 분자량은 100,000~1,000,000로서 알콜용액내에서 불용성 침전물을 형성하는 성질을 이용하여 펙틴정제에 이용되어 왔다<sup>12,13,37,38)</sup>. 그러나 분자량이 적은 단당류나 올리고당의 경우에는 알콜에 의해 침전되지 않는다. 따라서 알콜침전법은 투석법과 마찬가지로 작은 크기의 불순물을 포함하는 펙틴시료에는 효율적으로 사용될 수 있는 반면에, 분자량이 큰 불순물을 함유한 시료에는 적용될 수 없다는 단점이 있다.

#### 이온교환크로마토그래피 (Ion exchange chromatography)

펙틴은 음이온의 카복실기 (carboxyl groups)를 포함하고 있으므로 이같은 펙틴의 전기적 성질을 이용하여 펙틴을 정제할 수 있다<sup>39,40)</sup>. 즉 양이온을 갖는 젤 (gel)을 포함하는 관 (column)에 펙틴용액을 가하면 음이온의 펙틴은 양이온수지와 결합하나 중성의 불순물은 결합하지 않으므로 펙틴으로부터 이같은 불순물을 분리 제거할 수 있다. 대표적인 음이온교환기 (anion exchanger)로는 aminoethyl (AE-), diethylaminiethyl (DEAE-), quaternary aminoethyl (QAE-)이며<sup>41)</sup>, 이들 가운데 DEAE가 펙틴의 정제에 가장 많이 이용된다. 이 정제방법은 투석법이나 알콜침전법과 비교하여 모든 크기의 중성불순물을 제거할 수 있는 반면에 정제시간이 오래 걸리며 시료용량에 한계가 있으므로 다량의 시료를 필요로 하는 경우에는 비효율적이다<sup>42)</sup>.

#### 금속침전법 (Metal precipitation)

금속침전법은 기본적으로 이온교환크로마토그래피 방법과 같은 원리에 의해 작용하며, 양이온 젤 대신에 구리 ( $\text{Cu}^{2+}$ )나 알루미늄 ( $\text{Al}^{3+}$ )이온을 이용한다<sup>42-45)</sup>. Fig. 1은 구리이온을 이용하여 펙틴을 정제하는 과정을 개략적으로 나타내었다. 먼저 구리이온은 선택적으로 펙틴과 결합하여 중합체를 형성하나 중성다당류와는 반응하지 않으므로 중성다당류로 이루어진 불순물을 분리제거할 수 있다. 다음으로 산알콜 (acid alcohol)이나 킬레이트제로서 EDTA를 가하여 구리-펙틴 중합체로부터 구리이온을 제거함으로써 정제된 펙틴을 얻을 수 있다. Fig. 2는 사과펙틴을 구리이온과 산알콜처리에 의한 금속침전법으로 정제하였을 경우의 이온교환크로마토그램을 나타내고 있다. 크로마토그램

의 좌측에 분포되어 있는 중성당은 자유중성당으로서 정제과정에서 제거되어야 하는 불순물을 나타내며, 우측의 중성당은 펙틴분자의 한 부분으로서 주로 펙틴의 측쇄에 존재하는 것을 나타낸다. 따라서 Fig. 2로부터 구리를 이용한 금속침전법에 의하여 불순물인 자유중성당이 대부분 제거된다는 것을 알 수 있다. 이같은 결과는 구리이온을 이용한 금속침전법으로 사과펙틴을 정제하였을 때 약 99.5%의 불순물이 제거되었다는 Thibault와 Rinaudo<sup>46)</sup>의 보고와 일치한다. Hwang 등<sup>47)</sup>은 사과펙틴의 정제방법으로서 MWCO 12,000의 막을 사용한 투석법과 구리이온을 이용한 금속침전법을 사용하여 이들이 화학적 조성에 미치는 영향을 비교 조사하였으며, 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 먼저 투석법은 금속침전법에 비하여 높은 중성당을 갖는데 이는 사용된 사과펙틴에 분자량 12,000 이상의 불순물이 다량 함유되어 있어 투석법에 의한 정제효과가 낮다는 것을 의미한다. 또한 금속침전법의 경우 산알콜을 사용하였을 때 EDTA를 사용한 경우보다 상대적으로

로 중성당의 양이 적게 나타나는데 이는 산알콜의 가수분해 작용에 의하여 측쇄에 존재하는 중성당이 일부 가수분해되기 때문이다.

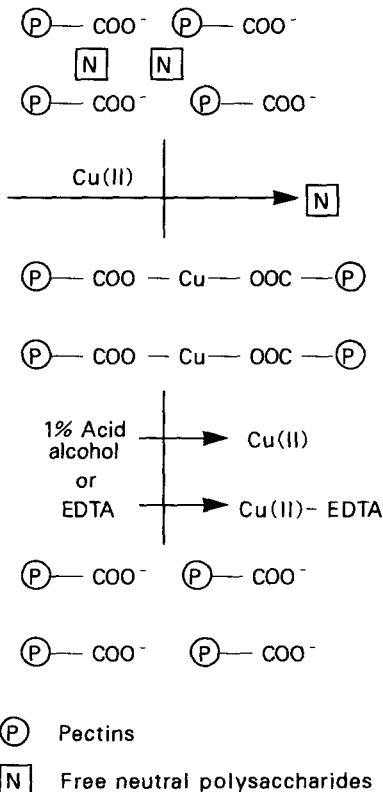


Fig. 1. Schematic representation of pectin purification by metal precipitation.

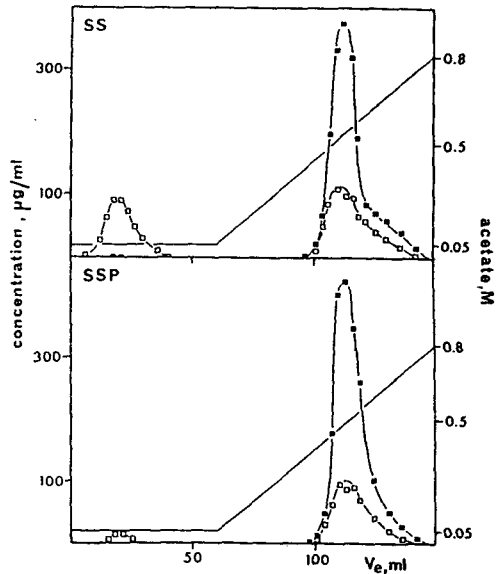


Fig. 2. Ion exchange chromatography of unpurified slow-set apple pectins (SS) and slow-set pectins purified by cupric ions (SSP)<sup>42)</sup>.

After pectin sample loading (10mg), the column was washed by 0.05M acetate buffer (pH 4.8). Bound materials were eluted by a linear acetate gradient at pH 4.8 (0.05~0.8M). Fractions (3ml) were assayed for neutral sugars (□) and anhydrogalacturonic acids (■).

Table 4. Chemical composition of apple pectins purified by dialysis or metal precipitation<sup>42)</sup>

Components	Samples <sup>a</sup>		
	D	MA	MC
AGA (% w/w)	65.8±2.8 <sup>b</sup>	74.8±1.7	71.1±2.7
Methoxyl (% w/w)	7.4±0.2	8.1±0.1	8.1±0.1
DE (%)	63.8±3.4	61.5±1.8	64.7±2.6
Methoxyl			
Sugars (% w/w)	17.5±1.7	7.1±0.4	12.1±0.6
Rhamnose	4.0±0.8	2.7±0.2	3.1±0.4
Arabinose	0.9±0.1	0.4±0.1	0.8±0.2
Xylose	1.9±0.3	1.3±0.2	2.9±0.3
Mannose	0.2±0.1	-	-
Galactose	9.3±0.7	2.4±0.3	4.7±0.2
Glucose	1.2±0.3	0.3±0.1	0.6±0.1

<sup>a</sup> Pectin samples are prepared as follows : sample D (dialysis) ; sample MA (Cu(II) precipitation and 1% acid alcohol treatment) ; and sample MC (Cu (II) precipitation and EDTA treatment)

<sup>b</sup> Mean±standard deviation (based on three replications)

금속침전법은 이온교환크로마토그래피 방법과 비교하여 대량의 시료를 제조하는 경우에 효율적으로 이용될 수 있다. 따라서 산업적으로는 산알콜을 이용한 금속침전법에 의하여 펙틴을 정제하는 방법이 사용된다. 그러나 이 경우 산알콜의 가수분해 작용에 의하여 펙틴의 중합도(degree of polymerization)가 저하되는 단점이 있다. 특히 금속침전법에 사용되는 산알콜의 산농도에 따라 최종펙틴의 화학적조성과 유변인자(rheological parameters)가 큰 영향을 받는다. Hwang 등<sup>48)</sup>은 사과, 감귤 및 토마토펙틴의 정제방법으로서 금속침전법을 사용하였는데 산알콜의 농도를 1%와 5%로 달리 하였을 경우 화학적 조성에 미치는 영향을 조사하였다. 연구결과에 의하면 5% 산알콜을 사용하는 경우 1%와 비교하여 람노오스의 양이 크게 감소하였다. 앞에서도 언급한 바와 같이 람노오스는 펙틴의 주골격에 위치하므로 이의 감소는 5% 산알콜의 작용에 의하여 펙틴의 주골격이 분해되어 중합도가 낮아졌다는 것을 의미한다. 이같은 결과는 Hwang 등<sup>48)</sup>이 보고한 분자량과 고유점도와의 결과와도 잘 일치하였다. 따라서 금속침전법을 사용하는 경우에는 산알콜의 산농도와 반응시간을 최적화하는 것이 중요하다. 반면에 산알콜 대신에 EDTA나 CDTA 등의 킬레이트제를 사용하여 구리이온을 제거하는 경우에는 중합도는 영향을 받지 않으나 소량의 시료에만 적용된다는 단점이 있다.

### 펙틴의 분석

#### 무수갈락투론산(Anhydrogalacturonic acid : AGA)

AGA는 펙틴의 주골격을 구성하는 물질로서 고온하에서 강산으로 펙틴을 처리하여 개개의 갈락투론산(galacturonic acid)으로 분리한 후 정량한다. AGA의 정량은 크게 정색반응과 크로마토그래피에 의한 두가지로 나눌 수 있다. 현재까지 가장 광범위하게 사용되는 정색반응은 carbazole 방법<sup>50-52)</sup>과 *m*-hydroxydiphenyl 방법<sup>53)</sup>으로서 이 두가지 방법은 기본적으로 같은 원리와 순서에 의해 이루어지나 최종적으로 갈락투론산을 정색화할 때 사용하는 화학물질이 다르다. Carbazole 방법은 그 물질 자체가 갈락투론산 뿐만 아니라 중성당과도 상당히 반응을 하므로 펙틴에 중성당의 함량이 많은 경우에는 실제보다 AGA함량을 과대평가하므로 사용될 수 없다. 반면에 *m*-hydroxydiphenyl은 중성당과의 반응은 미약한 반면에 갈락투론산과 선택적으로 반응하므로 carbazole 방법보다 훨씬 정확하게 AGA를 정

량할 수 있으므로 현재 펙틴의 AGA 정량에 가장 많이 사용되고 있다. 그러나 대량의 중성당이 포함되어 있는 경우에는, 즉 >200 $\mu$ g/mL, *m*-hydroxydiphenyl 역시 중성당과의 반응에 의하여 AGA양이 실제보다 높게 측정된다<sup>54)</sup>. Scott<sup>55)</sup>는 다량의 중성당이 존재하는 경우 *m*-hydroxydiphenyl보다 3,5-dimethylphenol을 적용하였을 경우 정확도가 증가하였다고 보고하였다. 특히 최근에는 carbazole 방법과 *m*-hydroxydiphenyl 방법의 장점을 결합하여 중성당과의 반응이 배제된 새로운 AGA 측정방법이 Filisetti-Cozzi와 Carpita<sup>56)</sup>에 의하여 제시되었다. AGA는 정색반응 이외에도 GC<sup>57-60)</sup>나 HPLC<sup>61-65)</sup>에 의하여 측정되기도 한다.

#### 메톡실기(Methoxyl groups)

펙틴의 카복실기에 에스테르화 되어 있는 메톡실기는 알칼리용액에 의하여 메탄올로서 분리된다. 이때 분리된 메탄올은 화학적<sup>66)</sup> 혹은 효소적<sup>67)</sup>인 방법에 의하여 포름알데히드(formaldehyde)로 치환된 후 Hantzsch반응<sup>68,69)</sup>에 의한 정색반응에 의하여 측정되거나, 혹은 메탄올을 치환과정없이 직접 GC<sup>70,71)</sup>나 HPLC<sup>72)</sup>를 이용하여 정량한다. 특히 Klavons와 Bennette<sup>67)</sup>는 메탄올을 포름알데히드로 치환할 때 알콜산화효소(alcohol oxidase : EC 1.1.3.13.)를 사용한 경우 화학적인 방법보다 훨씬 용이하였으며 정확도는 GC에 의한 결과와 거의 필적하였다고 보고하였다.

펙틴의 기능특성에 큰 영향을 미치는 에스테르화 정도(degree of esterification : DE)는 위에서 측정된 AGA와 메탄올 양으로부터 다음 식에 의하여 구한다<sup>73)</sup>.

$$DE(\%) = \frac{176 \times \text{methanol content} (\% \text{ w/w})}{31 \times \text{AGA content} (\% \text{ w/w})} \times 100 \quad (1)$$

반면에 적정법(titration method)<sup>73)</sup>을 이용하면 직접 DE를 구할 수 있으며, 이 경우에는 역으로 식(1)에서 AGA와 DE로부터 메탄올 양을 계산할 수 있다. 최근 Plöger<sup>74)</sup>는 펙틴의 전도도(conductivity) 측정에 의한 DE 측정법을 보고하였다.

#### 중성당(Neutral sugar)

펙틴의 중성당은 먼저 펙틴을 고온하에서 강산으로 가수분해하여 각각의 중성 단당류로 분리한 후 측정한다. 단순히 중성당 전체의 양을 측정하는 경우에는 orcinol<sup>75)</sup> 혹은 phenyl-sulfuric acid<sup>76)</sup> 방법과 같은 정색반응을 이용하여 간단히 결정할 수 있다. 그러나 각각

의 중성당을 개별적으로 정량하는 경우에는 일반적으로 중성당을 휘발성 유도체 (volatile derivatives)로 치환한 후 GC를 이용하여 측정한다<sup>77-81</sup>. 지금까지 사용된 유도체로는 trimethylsilyl(TMS), TMS-oxime, alditol acetate, aldononitrile 등을 들 수있으며<sup>82</sup>, 이때 가장 많이 사용되며 또한 정확도가 높은 방법은 알디톨 아세테이트(alditol acetate)로 치환하는 것으로 알려져 있다<sup>83</sup>. 그런데 중성당과 우론산 (uronic acids)은 알디톨 아세테이트로의 치환과정이 다르다. Fig. 3에 예로서 갈락토오스와 갈락투론산을 알디톨 아세테이트 유도체로 치환하는 과정을 나타내었다. 먼저 알도오스(aldose)에 존재하는 알데히드기(aldehyde group : -CHO)는 sodium borohydride와 같은 환원제를 이용하여 알디톨(alditol)로 환원된 후 acetic anhydride를 가하여 알디톨 아세테이트(alditol acetate)로 치환한다. 반면에 카복실기를 포함한 우론산(uronic acid)인 경우에는 알도오스와는 달리 중간단계인 락톤(lactone)을 형성한 후 알디톨 아세테이트로 치환되며, 이는 펙틴의 AGA를 GC를 이용하여 측정할 때 사용된다.

Blakeney 등<sup>83</sup>은 복잡한 기존의 알디톨 아세테이트

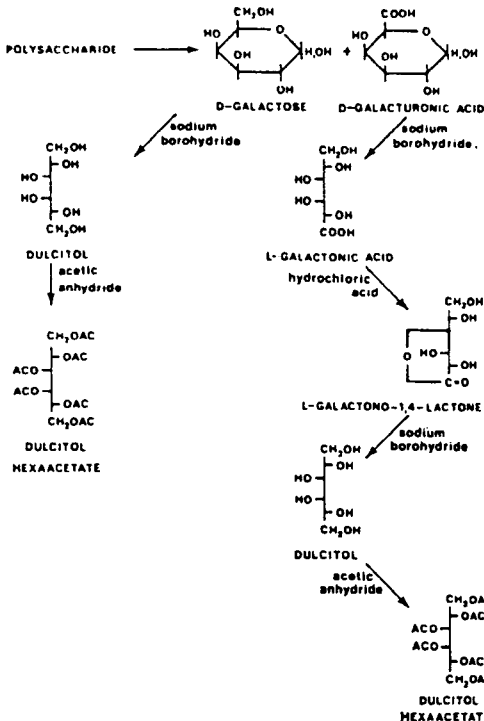


Fig. 3. Reactions involved in the production of alditol acetate derivatives from D-galactose and D-galacturonic acid<sup>87</sup>.

치환과정을 개선한 새로운 유도체 형성방법을 개발하여 세포벽물질의 단당류를 측정하였다. 그러나 이들의 방법은 중성당을 대량 함유하는 세포벽물질에는 잘 적용되나 상대적으로 AGA에 비하여 총 중성당의 함량이 적으며 특히 만노오스, 글루코오스, 푸코오스 등과 같이 함량이 매우 적은 중성당을 포함하는 펙틴에는 잘 적용되지 않았다. 따라서 Hwang 등<sup>40</sup>은 Blakeney 등<sup>83</sup>의 방법을 개선하여 펙틴의 중성당 측정에 가장 알맞는 방법을 고안하였으며, 이를 Fig. 4에 나타내었다. 이 방법을 사용하여 사과펙틴의 중성당을 분리한 결과를 Fig. 5에 나타내었는데, 상세한 설명은 Hwang 등<sup>40</sup>에 의하여 서술되었다. GC 이외에도 유도체로의 치환 과정없이 직접 HPLC<sup>84-86</sup>를 이용하여 중성당을 측정하는 방법도 사용된다.

앞에서 설명한 AGA와 중성당을 HPLC나 GC를 이용하여 측정할 때 이 두 성분을 분리한 후 각각 달리 정량하여 비효율적인 측면을 내포하고 있다. 최근 Matsuhashi 등<sup>89</sup>은 효소를 이용하여 펙틴을 완전 가수분해한 후 HPLC를 이용하여 AGA와 중성당을 동시에 측정하는 방법을 보고하였다. 그러나 이 경우에 중성당의

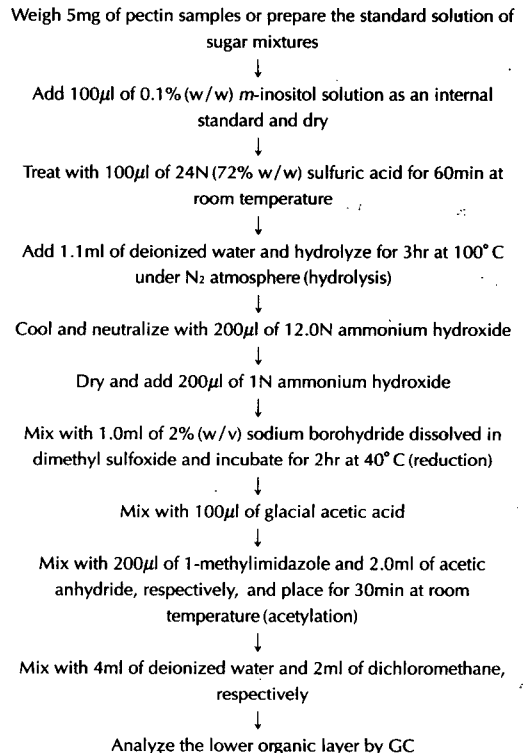


Fig. 4. Preparation of alditol acetate derivatives for the neutral sugar analysis of pectins<sup>40</sup>.

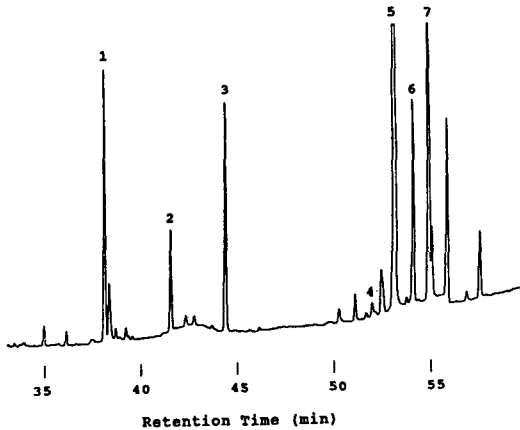


Fig. 5. Gas chromatogram of apple pectin<sup>17)</sup>.

Alditol acetate derivatives were prepared according to the procedures as shown in Fig. 4. The GC peaks were identified as follows ; 1, rhamnose ; 2, arabinose ; 3, xylose ; 4, mannose ; 5, galactose ; 6, glucose ; 7, *m*-inositol.

전체량은 측정하였으나 각각의 중성당으로는 분리하여 정량화 하지않아 앞으로 이에 관한 연구가 필요하다. 반면에 Ha와 Thomas<sup>90)</sup>는 GC를 이용하여 일반 하이드로콜로이드(hydrocolloids)의 각각의 중성당과 우론산(uronic acids)을 함께 정량하였다.

## 결 론

펙틴은 종류에 따라 또는 같은 펙틴이라도 숙성정도나 추출방법에 따라 물리화학적 특성이 매우 다르다. 따라서 본 총설에서 서술된 4가지 정제방법의 장단점을 이해하여 각 경우에 따라 가장 효율적인 정제방법을 선택할 필요가 있다. 또한 펙틴의 화학적 구조는 펙틴의 기능특성과 밀접한 관계가 있다<sup>29,91,92)</sup>. 따라서 펙틴 화학적 구조성분의 분석은 펙틴의 기능성을 정확히 이해하기 위한 매우 중요한 연구과제이다. 지금까지 대개 펙틴의 화학적 분석은 그 주요 구성성분인 AGA, 메톡실기, 중성당을 화학적인 혹은 효소적인 방법으로 분리하여 각각 다른 실험조건과 기기를 사용하여 측정하여 왔다. 그런데 앞에서 언급된 바와 같이 이들 세 가지 구성성분은 모두 GC나 HPLC를 이용하여 측정이 가능하므로 궁극적으로는 AGA, 중성당, 메톡실기를 한종류의 기기를 사용하여 동시에 간단하게 측정할 수 있는 기술의 개발이 필요하다. 이는 기초실험적인 용이성 뿐만 아니라 펙틴을 산업적으로 대량 생산하거나 식품에 이용할 때 효율적인 품질관리의 측면에서도 매우 중요한 과제이다.

## 문 헌

1. Dey, P. M. and Brinson, K. : Plant cell-walls. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **42**, 265(1982)
2. Ilker, R. and Szczesniak, A. S. : Structural and chemical bases for texture of plantstuffs. *J. Tex. Stud.*, **21**, 1 (1990)
3. McFeeters, R. F. : Changes in pectin and cellulose during processing. In "Chemical changes in food during processing" Richardson, T. and Finley, J. W. (eds.), AVI Publishing Company, Inc., Westport, Co., p.347 (1985)
4. Haard, N. F. : Carbohydrates. In "Food chemistry" Fennema, O. R. (ed.), Marcel Dekker, New York, p. 860(1985)
5. Jarvis, M. C. : Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. *Plant Cell Environ.*, **5**, 153(1984)
6. John, M. A. and Dey, P. M. : Postharvest changes in fruit cell wall. *Adv. Food Res.*, **30**, 139(1986)
7. Christensen, S. H. : Pectins. In "Hydrocolloids" Glicksman, M. (ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, Vol III, p. 223 (1986)
8. Rolin, C. and DeVries, J. : Pectin. In "Food gels" Harris, P. (ed.), Elsevier Applied Science, London, p.401 (1990)
9. Pszczola, D. E. : Pectin's functionality finds use in fat-replacer market. *Food Technol.*, **45**, 116(1991)
10. DeVries, J. A., Voragen, A. G. J., Rombouts, F. M. and Pilnik, W. : Extraction and purification of pectins from alcohol insoluble solids from ripe and unripe apples. *Carbohydr. Polym.*, **1**, 117(1981)
11. Selvendran, R. R. : Developments in the chemistry and biochemistry of pectin and hemicellulosic polymers. *J. Cell Sci. Suppl.*, **2**, 51(1985)
12. May, C. D. : Industrial pectins : Sources, production and applications. *Carbohydr. Polym.*, **12**, 79(1990)
13. May, C. D. : Commercial sources and production of pectins. In "Gums and stabilizers for the food industry 5" Phillips, G. O., Williams, P. A. and Wedlock, D. J. (eds.), IRL Press, Oxford, p.223 (1990)
14. Renard, C. M. G. C., Voragen, A. G. J., Thibault, J. F. and Pilnik, W. : Comparison between enzymatically and chemically extracted pectins from apple cell walls. *Animal Food Sci. Technol.*, **32**, 69(1991)
15. Brigand, G., Denis, A., Grall, M. and Lecacheux, D. : Insight into the structure of pectin by high performance chromatographic methods. *Carbohydr. Polym.*, **12**, 61 (1990)
16. Aspinall, G. O. : Chemistry of cell wall polysaccharides. In "The biochemistry of plants" Preiss, J. (ed.), Academic Press, New York, p.480 (1980)
17. Bacic, A., Harris, P. J. and Stone, B. A. : Structure and function of plant cell walls. In "The biochemistry of plants" Preiss, J. (ed.), Academic Press, New York, p.309(1988)
18. Keegstra, K., Talmadge, K. W., Bauer, W. D. and Albersheim, P. : The structure of plant cell walls of

- suspension-cultured sycamore cells based on the interactions of the macromolecular components. *Plant Physiol.*, **51**, 188 (1973)
19. Rees, D. A. and Wight, A. W. : Polysaccharide conformation. VII. Model building computation for  $\alpha$ -1,4 galacturonan and the kinking function of L-rhamnose residues in pectic substances. *J. Chem. Soc., B*, 1366 (1971)
  20. Joslyn, M. A. : *Methods in food analysis*, 2nd ed., Academic Press, New York, p.143 (1970)
  21. Towle, G. A. and Christensen, O. : Pectin. In "Industrial gums" Whistler, R. L. (ed.), Academic Press, New York, p.446 (1973)
  22. BeMiller, J. N. : An introduction to pectins : Structure and properties. In "Chemistry and function of pectins" Fishman, M. L. and Jen, J. J. (eds.), American Chemical Society, Washington, D. C., p.3 (1986)
  23. Phippen, E. L., McCready, R. M. and Owens, H. S. : Gelation properties of partially acetylated pectins. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 813 (1950)
  24. Michel, E., Thibault, J. F., Mercier, C., Heutz, F. and Pouillade, E. : Extraction and characterization of pectins from sugar beet pulp. *J. Food Sci.*, **50**, 1499 (1985)
  25. Talmadge, K. W., Keegstra, K., Bauer, W. D. and Albersheim, P. : The structure of plant cell walls. *Plant Physiol.*, **51**, 158 (1973)
  26. McNeil, M., Darville, A. G. and Albersheim, P. : The structural polymers of the primary cell walls of dicots. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, **37**, 191 (1979)
  27. McNeil, M., Darville, A. G., Fry, S. C. and Albersheim, P. : Structure and function of the primary cell walls of plant. *Ann. Rev. Biochem.*, **53**, 625 (1984)
  28. Hwang, J. : Contribution of side branches of apple and tomato pectins to their rheological properties. *Ph.D. Dissertation*, Rutgers University, New Brunswick, NJ, U.S.A. (1991)
  29. DeVries, J. A., Rombouts, F. M., Voragen, A. G. J. and Pilnik, W. : Enzymatic degradation of apple pectins. *Carbohydr. Polym.*, **2**, 25 (1982)
  30. DeVries, J. A., Rombouts, F. M., Voragen, A. G. J. and Pilnik, W. : Comparison of the structural features of apple and citrus pectic substances. *Carbohydr. Polym.*, **4**, 89 (1984)
  31. Rombouts, F. M. and Thibault, J. F. : Feruloylated pectic substances from sugar-beet pulp. *Carbohydr. Res.*, **154**, 177 (1986)
  32. Hwang, J., Pyun, Y. R. and Kokini, J. L. : Sidechains of pectins : some thoughts on their role in plant cell walls and foods. *Food Hydrocoll.*, **26**, 20 (1992)
  33. Pfeffer, P. E., Doner, L. W., Hoagland, P. D. and McDonald, G. G. : Molecular interactions with dietary fiber components. Investigations of possible association of pectin and bile acids. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 455 (1981)
  34. Fishman, M. L., Pfeffer, P. E., Barford, R. A. and Doner, L. W. : Studies of pectin solution properties by high-performance size exclusion chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 372 (1984)
  35. Shrimanker, S. H. : Evaluation of the Doi-Edwards theory for predicting viscoelastic properties of food biopolymers. *M.S. Thesis*, Rutgers University, New Brunswick, NJ, U.S.A. (1989)
  36. Mort, A. J., Moerschbacher, B. M., Pierce, M. L. and Maness, N. O. : Problems encountered during the extraction, purification and chromatography of pectic fragments, and some solutions to them. *Carbohydr. Res.*, **215**, 219 (1991)
  37. Phatak, L., Chang, K. C. and Brown, G. : Isolation and characterization of pectin in sugar-beet pulp. *J. Food Sci.*, **53**, 830 (1988)
  38. Nelson, D. B., Smit, C. J. B. and Wiles, R. R. : Commercially important pectic substances. In "Food colloids" Graham, H. D. (ed.), AVI Publishing Co., Westport, Co, p.425 (1977)
  39. DeVries, J. A., Voragen, A. G. J., Rombouts, F. M. and Pilnik, W. : Structural studies of apple pectins with pectolytic enzymes. In "Chemistry and function of pectins" Fishman, M. L. and Jen, J. J. (eds.), American Chemical Society, Washington, D. C., p.41 (1986)
  40. Saulnier, L. and Thibault, J. F. : Extraction and characterization of pectic substances from pulp of grape berries. *Carbohydr. Polym.*, **7**, 329 (1987)
  41. Pharmacia : *Ion exchange chromatography : Principles and methods*, Rahmsi Lund, Uppsala, Sweden (1987)
  42. Michel, F., Thibault, J. F. and Doublier, J. L. : Characterization of commercial pectins purified by cupric acids. *Sciences Des Aliments*, **1**, 569 (1981)
  43. Stevens, B. J. H. and Selvendran, R. R. : Pectic polysaccharides of cabbage (*Brassica oleracea*). *Phytochemistry*, **23**, 107 (1984)
  44. Kausar, P. and Nomura, D. : A new approach to pectin manufacture by copper method. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.*, **26**, 111 (1982)
  45. Kravtchenko, T. P., Voragen, A. G. J. and Pilnik, W. : Analytical comparison of three industrial pectin preparations. *Carbohydr. Polym.*, **18**, 17 (1992)
  46. Thibault, J. F. and Rinaudo, M. : Interactions of mono- and divalent counterions with alkali- and enzyme-deesterified pectins in salt-free solutions. *Biopolymers*, **24**, 2131 (1985)
  47. Hwang, J., Roshdy, T. H., Kontominas, M. and Kokini, J. L. : Comparison of dialysis and metal precipitation effects on apple pectins. *J. Food Sci.*, **57**, 1180 (1992)
  48. Hwang, J., Roshdy, T. H. and Kokini, J. L. : Effect of metal precipitation on the chemical composition of pectins. *Foods and Biotechnol.*, **1**, 116 (1993)
  49. Hwang, J., Roshdy, T. H. and Kokini, J. L. : Effect of metal precipitation on the molecular parameters of pectins. *Foods and Biotechnol.*, submitted (1993)
  50. Dische, Z. : A new specific color reaction of hexuronic acids. *J. Biol. Chem.*, **167**, 189 (1947)
  51. Bitter, T. and Muir, H. M. : A modified uronic acid carbazole method. *Anal. Biochem.*, **4**, 330 (1962)
  52. Galambos, J. T. : The reaction of carbazole with carbohydrates. *Anal. Biochem.*, **19**, 119 (1967)



53. Blumenkrantz, N. and Asboe-Hansen, G. : New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Biochem.*, **54**, 484(1973)
54. Kinter, P. K. and Van Buren, J. P. : Carbohydrate interference and its correlation in pectin analysis using the *m*-hydroxydiphenyl method. *J. Food Sci.*, **47**, 756(1982)
55. Scott, R. W. : Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Anal. Chem.*, **51**, 936(1979)
56. Filisetti-Cozzi, T. M. C. C. and Carpita, N. C. : Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Anal. Biochem.*, **197**, 157(1991)
57. Jones, T. M. and Albersheim, P. : A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharides. *Plant Physiol.*, **49**, 926(1972)
58. Ford, C. W. : A routine method for identification and quantitative determination by gas-liquid chromatography of galacturonic acid in pectic substances. *J. Sci. Food Agric.*, **33**, 318(1982)
59. Taylor, R. L. and Conard, H. E. : Stoichiometric depolymerization of polyuronide and glycosaminoglucuronans to more saccharides following reduction of their carbodiimide-activated carboxyl groups. *Biochemistry*, **11**, 1383(1972)
60. Lau, J. M., McNeil, M., Darvill, A. G. and Albersheim, P. : Structure of the backbone of rhamnogalacturonan. I. A pectic polysaccharide in the primary cell walls of plant. *Carbohydr. Res.*, **137**, 111(1985)
61. Verhaar, L. A. T. and Kuster, B. F. M. : Liquid chromatography of sugars on silica-based stationary phases. *J. Chromatogr.*, **220**, 313(1981)
62. Voragen, A. G. J., Schols, H. A., DeVries, J. A. and Pilnik, W. : High-performance liquid chromatography analysis of uronic acids and oligogalacturonic acids. *J. Chromatogr.*, **244**, 327(1982)
63. Honda, S. : High-performance liquid chromatography of mono- and oligosaccharides. *Anal. Biochem.*, **140**, 1(1984)
64. Forni, E., Polesello, A. and Braga, F. : Studies on the standardization of a combined enzymatic and HPLC method for the evaluation of pectins from their galacturonic acid content. *Food Hydrocoll.*, **1**, 531(1987)
65. Hicks, K. B., Lim, P. C. and Haas, M. J. : Analysis of uronic and aldonic acids, their lactones and related compounds by high-performance chromatography on cation-exchange resins. *J. Chromatogr.*, **319**, 159(1985)
66. Wood, P. J. and Siddiqui, I. R. : Determination of methanol and its application to measurement of pectin ester content and pectin methyl esterase activity. *Anal. Biochem.*, **39**, 418(1971)
67. Klavons, J. A. and Bennett, R. D. : Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectins. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 597(1986)
68. Nash, T. : The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem. J.*, **55**, 416(1953)
69. Belman, S. : The fluorimetric determination of formaldehyde. *Anal. Chim. Acta.*, **29**, 120(1963)
70. McFeeters, R. F. and Armstrong, S. A. : Measurement of pectin methylation in plant cell walls. *Anal. Biochem.*, **139**, 212(1984)
71. Knee, M. : Properties of polygalacturonate and cell cohesion in apple fruit cortical tissue. *Phytochemistry*, **17**, 1257(1978)
72. Voragen, A. G. J., Schols, H. A. and Pilnik, W. : Determination of the degree of methylation and acetylation of pectins by h.p.l.c. *Food Hydrocoll.*, **1**, 65(1986)
73. Schultz, T. : Determination of the degree of esterification of pectin. *Meth. Carbohydr. Chem.*, **5**, 189(1965)
74. Plöger, A. : Conductivity detection of pectin : a rapid HPLC method to analyze degree of esterification. *J. Food Sci.*, **57**, 1185(1992)
75. Dische, Z. : Qualitative and quantitative colorimetric determination of heptose. *J. Biol. Chem.*, **204**, 983(1953)
76. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Robers, P. A. and Smith, F. : Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350(1956)
77. Sawadker, J. S., Sloneker, J. H. and Jeans, A. R. : Quantitative determination of monosaccharides as their alditol acetates by gas liquid chromatography. *Anal. Chem.*, **37**, 1602(1965)
78. Albersheim, P., Nevins, D. J., English, P. D. and Karr, A. : A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydr. Res.*, **5**, 340(1967)
79. Darvill, A. G., Roberts, D. P. and Hall, M. A. : Improved gas-liquid chromatographic separation of methylated acetylated alditols. *J. Chromatogr.*, **115**, 319(1975)
80. Hoebler, C., Barry, J. L., David, A. and Delort-Kaval, J. : Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 360(1989)
81. Henry, R. J., Blakeney, A. B., Harris, P. J. and Stone, B. A. : Detection of neutral and aminosugars from glycoproteins and polysaccharides as their alditol acetates. *J. Chromatogr.*, **256**, 419(1983)
82. Biermann, C. J. and McGinnis, G. D. : *Analysis of carbohydrates by GC and MS*. CRC Press, Boca Raton, FL(1989)
83. Blakeney, A. B., Harris, P. J., Henry, R. J. and Stone, B. A. : A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.*, **113**, 291(1983)
84. Kato, K. and Noguchi, M. : Sugar composition of cell wall polysaccharides of suspension-cultured tobacco cells. *Agr. Biol. Chem.*, **40**, 1923(1976)
85. Hurst, W. J., Martin, R. A. and Zoumas, B. L. : Application of HPLC to characterization of individual carbohydrates in foods. *J. Food Sci.*, **44**, 892(1979)

86. Blaschek, W. J. : Efficient isolation of phytoecdynes from ajuna plants by high-performance liquid chromatography and droplet counter-current chromatography. *J. Chromatogr.*, **256**, 157(1983)
87. Voragen, A. G. J., Schols, H. A., Searle-Van Leeuwen, M. F., Beldman, G. and Rombouts, F. M. : Analysis of oligomeric and monomeric saccharides from enzymatically degraded polysaccharides by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **370**, 113(1986)
88. Garleb, K. A., Bourquin, L. D. and Fahey, G. C. : Neutral monosaccharide composition of various fibrous substances : a comparison of hydrolytic procedures and use of anion-exchange high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection of monosaccharides. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 1287(1989)
89. Matsushashi, S., Inoue, S. and Hatanaka, C. : Simultaneous measurement of the galacturonate and neutral sugar contents of pectic substances by an enzymic-HPLC method. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1053(1992)
90. Ha, Y. W. and Thomas, R. L. : Simultaneous determination of neutral sugars and uronic acids in hydrocolloids. *J. Food Sci.*, **53**, 574(1988)
91. Hwang, J. and Kokini, J. L. : Contribution of the side branches to rheological properties of pectins. *Carbohydr. Polym.*, **19**, 41(1992)
92. Hourdet, D. and Muller, G. : Solution properties of pectin polysaccharides. I. Aqueous size exclusion chromatography of flax pectins. *Carbohydr. Polym.*, **7**, 301(1987)

(1992년 10월 26일 접수)