

다시마 (*Laminaria japonicus*) Alginate의 가열가수분해에 따른 물리·화학적 및 생물학적 특성에 관한 연구

1. 저분자 alginate의 점도, 평균분자량 및 분자구조의 변화

김육용 · 조영제*

주식회사 MSC 연구소, *부경대학교 식품생명공학부

Studies on Physicochemical and Biological Properties of Depolymerized Alginate from Sea tangle, *Laminaria japonicus* by Thermal Decomposition

1. Changes in Viscosity, Average Molecular Weight and Chemical Structure of Depolymerized Alginate

Yuck-Yong KIM and Young-Je CHO*

Research Laboratory, MSC Co. Ltd., Yangsan 626-840, Korea

*Faculty of Food Science and Biotechnology, Food Science and Technology Major, Pukyong National Univ., Pusan 608-737, Korea

Alginate obtained from brown algae had various physicochemical and rheological properties and could used as a dietary fiber. However, alginate has not been widely applied to the food industry, since it had high viscosity, high gelling effect conjugated with some mineral, and low solubility. To improve functionality of alginate, partially depolymerized alginates, which was water-soluble dietary fiber were obtained by hydrolysis of alginate from the sea tangle, *Laminaria japonicus*, heated at 121°C. Effects of depolymerization of alginate on the changes of viscosity and average molecular weight, block composition, ratio of mannuronate to guluronate (M/G ratio), chemical properties using FT-IR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR spectrum were investigated. The average molecular weight and viscosity of the alginate were rapidly decreased with the thermal decomposition, and estimated to be 1,307,415 dalton and 284,000 cps, before heating, 728,106 and 3,940.29 cps after 30 min heating, 102,635 and 22.22 cps after 2.5 hrs heating, 51,265 and 12.05 cps after 3 hrs, and 10,049 and 4.28 cps after 6.5 hrs, respectively. The M/G ratio was increased with the heating time, while MM-block did not show any changes and GG-block diminished. The results of FT-IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectrum suggested that changes of molecular structure did not occur by the thermal decomposition.

Key words: Depolymerized alginate, Sea tangle, Thermal decomposition, Mannuronate, Guluronate, M/G ratio, MM-block, GG-block

서 론

알긴산은 β-D-manuronic acid와 α-L-guluronic acid가 α-1,4 또는 β-1,4 결합으로 구성된 해조다당류의 일종으로 (Haug *et al.*, 1974; Nishide *et al.*, 1988), 알긴산의 물리·화학적 특성은 M/G 비율 및 block 조성에 의해 결정되고, M/G 비율은 해조류의 종류에 따라 다르지만, 일반적으로 알긴산의 함량이 높은 시기에 M/G 비율도 높다 (Nishide *et al.*, 1988; Hideki *et al.*, 1993). 알긴산은 오래전 부터 식품소재로써 이용되어 왔지만 상온에서 용해 시간이 길고 알콜류 함유 용매에는 난용이며, 농도의 증가에 따라 고점성으로 인한 식품고유의 특성을 잃게 되는 등의 단점때문에 사용에 제한을 받고 있는 실정이다. 이 단점들을 해결하기 위하여 가수분해하여 저분자화하고 있으며, 알긴산의 가수분해에 의한 물리·화학적 특성의 변화에 대하여, Haug and Larsen (1963, 1964)은 다시마의 종류별로 그리고 Lee *et al.* (1998a)은 식용갈조류의 종류와 생산시기에 따라 알긴산의 uronic acid의 조성을 측정하였고, Haug (1967)는 Ca²⁺와 Na⁺ 함유 전기영동에 의한 이동도를

측정하여 uronic acid와 평균중합도를 구하였으며, Penman and Sanderson (1972)은 P.M.R. spectroscopy로 동질중합획분과 이종 중합획분으로 분획하여 M/G의 비율을 측정하여 보고하였다. Mackie *et al.* (1971)은 X선회절분석과 적외선분광분석으로, Grasdalen *et al.* (1979)은 ¹H-NMR로, Grasdalen *et al.* (1981)은 ¹³C-NMR로, 또한, Gacesa *et al.* (1983)은 HPLC에 의해 uronic acid의 조성을 밝혔다. 국내에서는 저분자화 alginate의 제조방법으로는 알긴산 용액에 염산의 농도와 가열 온도를 달리하여 분해하는 산가수분해 방법이 보고 (Lee *et al.*, 1998b)되어 있으나, 생산현장에서 공정의 제어가 힘들고 탈염 공정이 필요하게 되며, 염산의 잔존위험성의 문제가 야기될 수 있는 단점들을 가지고 있다. 따라서, 본 연구에서는 alginate가 가지고 있는 고유의 생리적 기능성을 유지 향상시키면서 이용에 제한이 되고 있는 점성을 줄이고 용해도를 높여서 alginate의 이용성을 확대할 목적으로, 산가수분해법의 단점들을 해결함과 동시에 생산현장에서 직접 응용하여 제조가 가능한 가열에 의한 저분자화를 시도하였으며, 저분자화에 따른 물리·화학적 특성을 검토하였기에 보고한다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 원 료

1999년 8월에 경남 기장산 생다시마 (*Laminaria japonicus*)를 구입하여 자연건조하고 입자크기를 3 mm로 조분쇄하여 -25°C 로 유지되는 동결고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

2) 다시마 alginate의 제조

건조한 다시마 분쇄물을 70% ethanol에 3회 수세하여 염분과 불순물을 제거한 후에 Nishide *et al.* (1988)의 방법으로 제조하였다. 즉, 수세한 다시마 분쇄물 10 g에 0.17 N Na_2CO_3 용액 200 ml를 가하고 75°C 에서 4시간 동안 교반하면서 추출하였다. 여기에 증류수 800 ml를 가하여 혼합한 후에 celite 545 여지를 사용하여 감압 여과하고 여액에 0.5 g의 차아염소산나트륨을 투입하여 여액을 탈색하고 10% HCl 용액으로 pH 1.0으로 조절하였으며, 실온에서 3시간 방치 후에 원심분리 (3,000×g, 10분)하여 침전물만 회수하였다. 침전물에 50% ethanol 200 ml를 가하여 교반하면서 10% NaOH 용액으로 중화하였다. 실온에서 하룻밤 방치한 후에 면포로 걸러 중화된 gel을 회수하였다. 다음 60%와 95% 에탄올로 수세하고 30°C 에서 12시간 정도 열풍건조한 후에 분쇄하여 -25°C 로 유지되는 동결고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

3) 저분자 alginate의 제조

2)에서 제조한 alginate 분말을 교반기가 부착된 가압추출기에 5.0% alginate 용액을 넣고 70 rpm으로 교반, 가압가열 (121°C)하면서 가수분해하였다. 가열시간에 따른 가수분해 정도를 점도로서 확인하면서 저분자 alginate 분해액을 제조한 후에, 실온까지 냉각하였으며, 1차 여과를 행하고 활성탄을 여과액량에 대하여 0.1%를 첨가하여 75°C 에서 30분간 반응시킨 후에 실온까지 냉각시켰다. 이 액을 2차 여과 및 정밀여과 (0.45 μm membrane filter)하므로써 탈색 및 탈철하였다. 이를 역삼투압여과장치 (MFS Laboratory Unit Type UF/RO M20, DOW, Denmark)로 MWCO가 분자량 (M.W.) 6,000 Da (Type GR81PP), 20,000 Da (Type GR61PP), 50,000 Da (Type GR51PP) 및 100,000 Da (Type GR40PP)의 한외여과막 (DDS Membrane, Denmark)으로 여별하여 평균분자량이 약 10,000 (이하, HAG-10으로 약함), 50,000 (이하, HAG-50으로 약함) 및 100,000 (이하, HAG-100으로 약함)으로 분획하였다. 이를 다시 진공농축기로 농축하고 분무건조기 (Mobile Minor Spray Dryer, Type HI-TEC, NIRO Atomizer, Denmark) 및 진공동결건조기 (ISE Freezer Dryer, IL SHIN Engineering Co., Korea)로 건조 및 분말화하여 -25°C 로 유지되는 동결고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 점도의 측정

5.0% alginate 용액으로 용해한 시료에 대하여 25°C 에서 점도계 (BROOKFIELD Digital Viscometer, Model DV-II, U.S.A.)를 써서 측정하였다.

2) Gel chromatography에 의한 평균분자량의 측정

0.15 M NaCl 용액에 용해한 각각의 시료를 Biliaderis *et al.* (1979)의 방법에 따라 gel chromatography에 의하여 측정하였다. 즉, 장치는 Pharmacia LKB liquid chromatography system (Pharmacia, Sweden), 수지는 Sepharose CL-6B (Pharmacia, Sweden), Column은 SR 25/100 (2.5×100 cm) column (Pharmacia, Sweden), 이동상은 0.05 M sodium phosphate buffer, 0.15 M NaCl (pH 7.0), 당분자량표준품은 Dextran T-10 (M.W. ≒ 11,500, Pharmacia), Dextran T-40 (M.W. ≒ 40,500, Pharmacia), Dextran T-70 (M.W. ≒ 69,500, Pharmacia), Dextran (M.W. ≒ 167,000, Sigma), Dextran T-500 (M.W. ≒ 495,000, Pharmacia), Dextran sulfate sodium salt (M.W. ≒ 1,000,000, Fluka), 용출속도, 1.0 ml/min; 분획량, 5.0 ml/tube; 온도 15°C 의 조건으로 측정하였다. 각 시료의 용출속도에 대한 표준물질의 분자량 대수값으로 작성한 검량선으로부터 시료의 분자량을 계산하였으며, 용출된 당은 페놀-황산법 (Dubois *et al.*, 1956)으로 uronic acid 함량을 측정하였다.

3) MM-, GG-, MG-block 및 M/G 비율의 측정

Haug *et al.* (1966, 1974)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, alginate를 1.0 g 취하여 0.3 M HCl 100 ml를 가하고 100°C 에서 2시간 가열하였다. 이 용액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 MG-block으로 하였다. 잔사에 2.0% NaCl 함유하는 20% Na_2CO_3 을 가하여 alginate의 최종농도가 1.0% 되도록 조정하면서 pH 7.0으로 조절하였으며, 0.1 M 농도가 되도록 NaCl을 첨가하였다. 이 용액을 여과후 25 mM HCl로 pH 2.8~3.0으로 조정하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액을 MM-block으로 하였고, 잔사를 Na_2CO_3 으로 중화 용해후 GG-block으로 하였다. 각각의 block 획분들은 페놀-황산법 (Dubois *et al.*, 1956)으로 uronic acid 함량을 정량하였다. M/G 비율은 alginate 50mg에 80% H_2SO_4 0.5 ml를 가하고 20°C 에서 18시간 방치 후, 증류수 6.5 ml를 가하여 100°C 에서 1시간 가수분해하였다. 그 후에 CaCO_3 으로 2.5 g을 가하여 중화하고 여과 후 증류수로 25 ml로 정용하여 시험용액을 만들었다. 이 시험용액을 0.45 μm filter로 여과하고 Gacesa *et al.* (1983)의 방법으로 HPLC를 이용하여 분석하였다 (기기, Waters HPLC (Model 515, U.S.A.); Column, Aminex HPX-87C Carbohydrate column, 300×7.8 mm (Bio-Rad, U.S.A.); 이동상, H_2O ; Detector, RI (Waters 2410, U.S.A.); 유속, 0.6 ml/min; 주입량, 25 μl ; Column temp., 85°C). Mannuronic acid peak는 표준품 (Sigma Chemical Co., U.S.A.)의 retention time으로 동정하였고 guluronic acid와 시료의 peak는 Gacesa *et al.* (1983)에 따라 동정한 후에 각각의 면적비로써 M/G 비율을 계산하였다.

4) FT-IR spectrum의 측정

HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate를 KBr 분말로 정제를 만들어 FT-IR Spectrophotometer (Bruker IFS 66/FRA 106, Bruker, Germany)로 spectrum을 측정하였으며, 흡수 peak는 Mackie *et al.* (1971)의 분석 결과를 참고하여 동정하였다.

5) ^1H -, ^{13}C -NMR spectrum의 측정

HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 원자결합위치를

NMR (Varian NMR, UNITY plus, U.S.A.)로 Table 1과 같은 조건으로 결합위치를 측정하였으며, 관측된 peak는 Grasdalen *et al.* (1979, 1981)의 방법으로 동정하였다.

Table 1. Operating conditions of ¹H-, ¹³C-NMR in HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate

| Item | Condition | |
|-----------------|--|-------------------------------|
| Instrument | Varian Nuclear Magnetic Resonance Instruments (UNITY plus, U.S.A.) | |
| Nucleus | ¹ H | ¹³ C |
| Solvent | D ₂ O | D ₂ O |
| Frequency | 300.0935592 MHz | 75.4580187 MHz |
| Temperature | 80°C | 80°C |
| Spectrometer | Varian Unity plus 300(U.S.A.) | Varian Unity plus 300(U.S.A.) |
| Reference | TMS | TMS |
| Detection tech. | FT-65536 pulses | FT-65536 pulses |
| Flip angle | 31.5° | 60° |
| Repetition time | 32 sec | 5,000 sec |
| Acq. time | 3.744 sec | 1.815 sec |
| Width | 8000.0 Hz | 16501.7 Hz |
| Total time | 4.0 min | 9.5 hrs |

결과 및 고찰

1. 점도와 평균분자량의 변화

가열에 따른 alginate의 점도와 평균분자량의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 5.0% 용액으로 25°C에서 측정된 점도는 가열전인 284,000 cps였으나 가열시간이 경과함에 따라 급격히 저하하여 30분후에 3,940.29 cps, 2.5시간후에 22.22 cps, 3시간후에 12.05 cps로 급격히 저하하였으며 그 후, 6.5시간까지는 4.28 cps로 완만히 감소하였다. 평균분자량은 초기에 약 1,307,415 dalton이었으나 가열시간이 경과할 수록 급격히 감소하여 가열 30분후에 약 728,106, 2.5시간이 약 102,635, 3시간이 약 51,265, 6.5시간이 10,049로 급격히 저하하였다. 가열 2.5시간 동안 저분자화한 평균분자량 약 100,000 (HAG-100), 가열 3시간의 평균분자량 약 50,000 (HAG-50) 및 가열 6.5시간의 평균분자량 약 10,000 (HAG-10) 정도의 저분자 alginate를 제조하고 분자량별에 따른 특성을 비교하였다. 점도와 평균분자량과의 관계를 Fig. 2에 나타내었는데, 평균분자량은 점도와 서로 비례하는 밀접한 상관관계 ($r^2=0.955$)를 나타내었다.

이상의 결과와 같이, alginate의 점도는 가열초기부터 급격한 저하가 진행되었는데, 이는 Haug *et al.* (1966)과 Smidsrød *et al.* (1966)이 알긴산을 1M 수산으로 100°C에서 가수분해했을 때, 그리고 Haug *et al.* (1967)도 0.3 N 염산으로 100°C에서 가수분해하여 M/G 비율을 측정했을 때, 또한, Haug *et al.* (1974)은 염산으로 부분가수분해하여 각각의 block 조성을 측정했을 때 가수분해 초기부터 현저한 점도의 저하를 확인하였다는 연구 결과들과 일치하였다. 평균분자량은 점도와 밀접한 상관관계 ($r^2=0.995$)를 나타

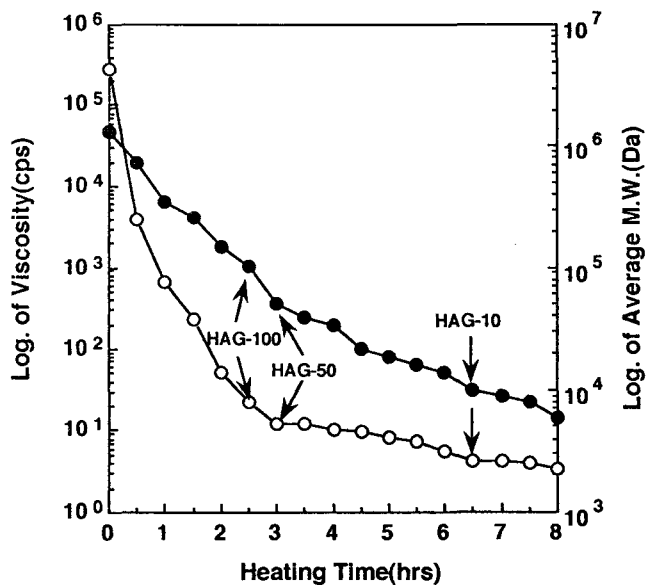


Fig. 1. Changes of viscosity(○) and average molecular weight (●) in depolymerized alginate hydrolysed by heating at 121°C.

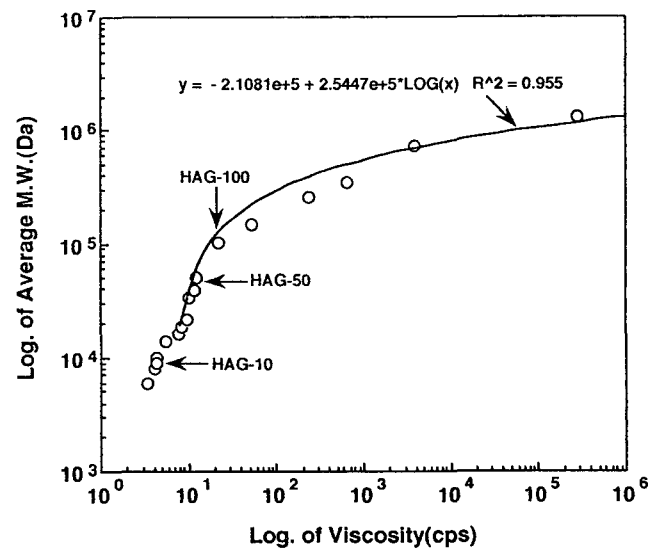


Fig. 2. Relationship between average M.W. and viscosity of depolymerized alginate hydrolysed by heating at 121°C. Viscosity was measured in 5.0% solution at 25°C.

내었으며, 이는 Haug *et al.* (1966, 1967, 1974)과 Smidsrød *et al.* (1966) 등이 알긴산을 가수분해했을 때, 점도는 분자량과 비례하는 상관관계를 나타내었다는 보고들과 일치하였다.

2. MM-, GG-, MG-block 및 M/G 비율의 변화

가열시간에 따른 저분자 alginate의 MM-, GG-, MG-block 조성비와 M/G 비율을 측정하여 Table 2에 나타내었다. 가열전의 alginate는 MM-block이 41.22%, GG-block이 17.82% 및 MG-

Table 2. Changes in block structure and M/G ratio of depolymerized alginate hydrolysed by heating at 121°C

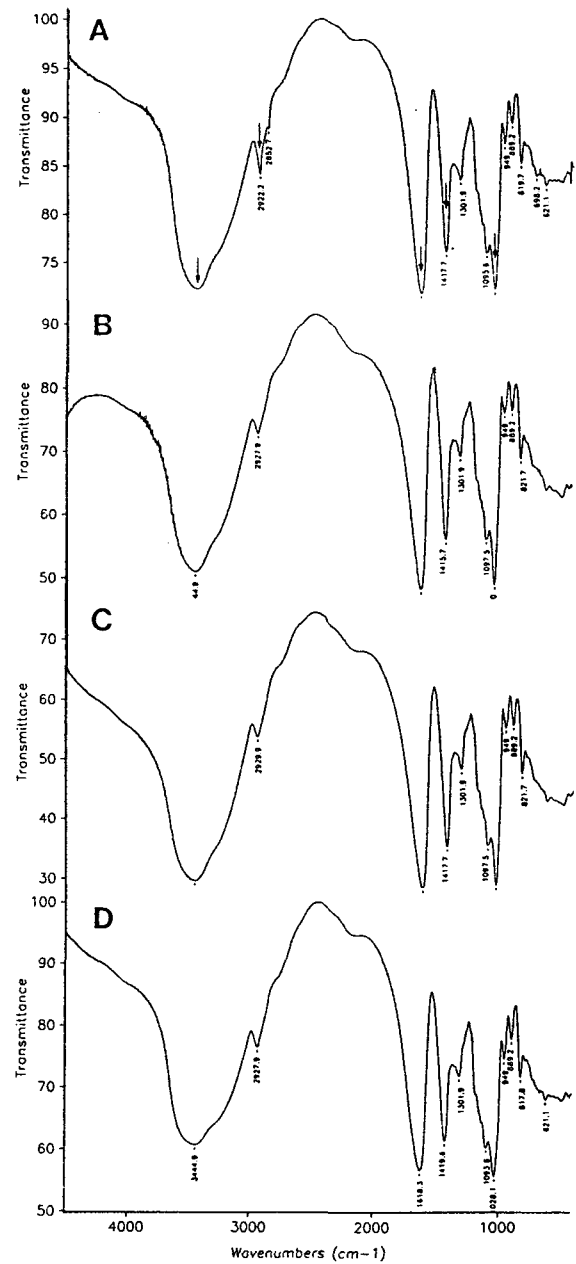
| Heating time (hrs) | Block structure ratio(%) | | | M/G ratio |
|-----------------------|--------------------------|-------|-------|-----------|
| | MG | MM | GG | |
| 0 | 40.90 | 41.22 | 17.82 | 1.70 |
| 0.5 | 41.29 | 41.52 | 17.19 | 1.73 |
| 1.0 | 43.08 | 43.60 | 13.32 | 1.81 |
| 1.5 | 44.76 | 40.09 | 15.15 | 2.01 |
| 2.0 | 45.24 | 41.98 | 12.78 | 2.09 |
| 2.5 | 45.98 | 41.91 | 12.11 | 2.22 |
| 3.0 | 46.19 | 42.21 | 11.60 | 2.43 |
| 3.5 | 46.85 | 42.16 | 10.99 | 2.67 |
| 4.0 | 48.90 | 40.26 | 10.84 | 2.82 |
| 4.5 | 47.89 | 42.76 | 9.35 | 2.93 |
| 5.0 | 47.07 | 43.77 | 9.16 | 3.01 |
| 5.5 | 48.22 | 43.89 | 7.89 | 3.20 |
| 6.0 | 48.16 | 44.09 | 7.75 | 3.30 |
| 6.5 | 48.88 | 44.13 | 6.99 | 3.38 |
| 7.0 | 49.72 | 44.32 | 5.90 | 3.44 |
| 7.5 | 49.99 | 44.08 | 5.93 | 3.47 |
| 8.0 | 49.87 | 44.45 | 5.68 | 3.49 |

block이 40.96%였으며, 가열 2.5시간 후 (HAG-100)에 각각 41.91%, 12.11% 및 45.98%였고 가열 3시간 후 (HAG-50)에는 각각 42.21%, 11.60% 및 46.19%였으며, 가열 6.5시간 후 (HAG-10)에는 각각 44.13%, 6.99% 및 48.88%였다. 가열시간의 경과와 더불어 MM-block의 조성비는 거의 일정하게 유지되었으나, GG-block은 가열시간이 경과함에 따라 급격하게 저하하였고 MG-block은 완만히 증가하는 경향을 나타내었다. 또한, M/G 비율은 가열전 (alginate)이 1.70이었으나 2.5시간 후 (HAG-100)에 2.22 및 3시간 (HAG-50)이 2.43이었고 가열 6.5시간 (HAG-10)이 3.44로 급격히 증가함을 알 수 있었다.

본 실험에서 가열시간이 길어질수록 GG-block이 감소하고 M/G 비율이 현저히 증가되었는데, 이것은 alginate를 추출할 때 알칼리농도가 증가할수록, 추출온도가 높을수록, 추출시간이 길어질수록 M/G 비율이 증가하였다는 보고 (Nishide *et al.*, 1988, 1992)와 일치하였으며, 가수분해에 의한 저분자화 alginate에서 mannuronate 획득이 증가하여 M/G 비율이 증가되고 (Fujibayashi *et al.*, 1970; Haug *et al.*, 1974), 또한, 열수추출시에 가열시간이 길어짐에 따라 GG-block이 급격히 감소하고 MM-block이 상승하여 M/G 비율이 증가하였다는 보고 (Nishide *et al.*, 1992, 1996)들과도 일치하였다.

3. FT-IR, ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR spectrum의 변화

HAG-10, HAG-50, HAG-100 및 alginate의 FT-IR은 Fig. 3, ¹H-NMR은 Fig. 4 및 ¹³C-NMR은 Fig. 5에 각각 나타내었다. 근적외선 신축진동흡수위치는 carboxylic acid의 수산기(OH) (3,444 cm⁻¹ 부근), CH 신축진동 (2,927 cm⁻¹ 부근), C=O 신축진동 (1,612 cm⁻¹ 부근), C-O 신축진동 (1,415 cm⁻¹ 부근) 및 anti-symmetrical ring (1,030 cm⁻¹ 부근)으로 HAG-10, HAG-50, HAG-

**Fig. 3.** FT-IR spectra of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate.

A : HAG-10

C : HAG-100

B : HAG-50

D : Alginate

100 및 alginate 모두 동일위치에서 관측되었고, ¹H-NMR의 mannuronic acid(M)의 수소결합위치는 5.06 (M-1), 4.27 (M-2), 4.37 (M-3), 4.65 (M-4), 4.85 (M-5) 및 5.42 ppm (M-6)과 guluronic acid (G)는 5.04 (G-1), 4.15 (G-2), 4.34 (G-3), 4.54 (G-4), 4.79 (G-5) 및 5.09 ppm (G-6) 부근에서, ¹³C-NMR의 mannuronic acid (M)의 탄소결합위치는 108.43 (M-1), 79.01 (M-2), 79.48 (M-3), 86.42 (M-4), 84.46 (M-5) 및 183.22 ppm (M-6)과 gulu-

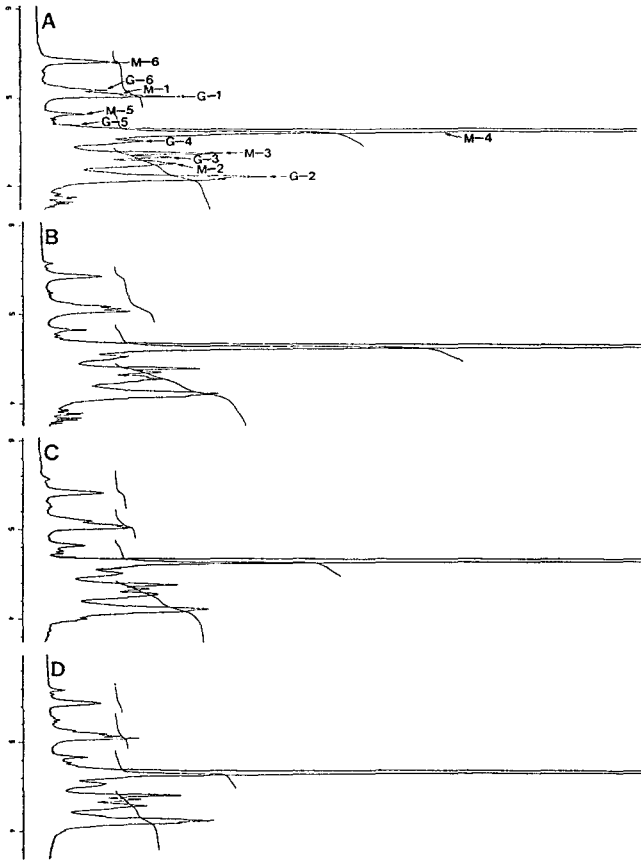


Fig. 4. ¹H-NMR spectra of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate.

A : HAG-10 D : Alginate
 B : HAG-50 M : Mannuronic acid
 C : HAG-100 G : Guluronic acid

ronic acid (G)는 109.03 (G-1), 73.23 (G-2), 77.44 (G-3), 88.35 (G-4), 76.24 (G-5) 및 183.34 ppm (G-6) 부근에서 각각 관측되어 가열에 의한 기본적인 분자구조의 변화는 확인할 수 없었다.

Grasdalen *et al.* (1979)이 알긴산을 ¹H-NMR로 측정된 수소결합위치와 Grasdalen *et al.* (1981)이 ¹³C-NMR로 측정된 탄소결합위치는 본 실험의 관측위치와 일치하였으며, Mackie *et al.* (1971)은 X선회절분석과 적외선분광분석 결과와, Gacesa *et al.* (1983)이 HPLC로 mannuronate와 guluronate의 조성을 밝힌 보고들은 본 실험의 결과를 더욱 잘 뒷받침 하였다.

요 약

갈조류의 주성분인 alginate는 다양한 생리적 기능을 가지고 있으나, 고점성과 난용성으로 인하여 식품에의 광범위한 이용에 제한을 받고 있는 실정이다. Alginate가 가지고 있는 고유의 생리적 기능성을 유지 향상시키면서 점성을 줄이고 용해도를 높여서 alginate의 이용성을 확대할 목적으로 가열에 의한 저분자화를 시도

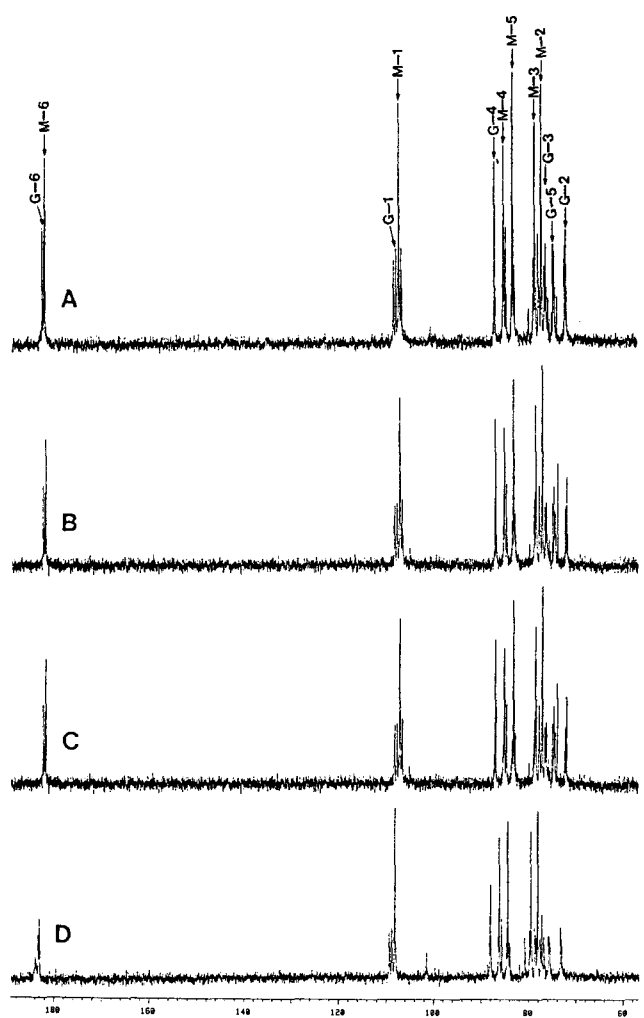


Fig. 5. ¹³C-NMR spectra of HAG-10, HAG-50, HAG-100 and alginate.

A : HAG-10 D : Alginate
 B : HAG-50 M : Mannuronic acid
 C : HAG-100 G : Guluronic acid

하였다. 즉, 평균분자량이 약 10,000 (HAG-10), 50,000 (HAG-50) 및 100,000 (HAG-100) 정도의 alginate를 제조하여 각 저분자 alginate의 물리·화학적 특성 변화를 검토하였다.

가열에 의한 점도와 평균분자량은 가열시간이 경과할수록 급격히 저하하였으며, 점도와 평균분자량사이에는 서로 밀접한 상관관계 ($r^2=0.955$)를 나타내었다. 가열에 의한 alginate의 block 조성비 및 M/G 비율은 가열시간이 경과함에 따라 MM-block은 변화가 없었으나 GG-block은 급격히 저하하였다. 그리고, MG-block은 오히려 완만히 증가하였으며 M/G 비율은 급격히 증가하는 경향을 보였다. 분자량의 감소에 따른 alginate의 분자구조의 변화를 FT-IR, ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR로 측정된 결과, 가열에 의해 alginate가 저분자화되어도 분자구조의 특징적인 변화는 관찰할 수 없었다.

참 고 문 헌

- Biliaderis, C.G., D.R. Grant and J.R. Vose. 1979. Molecular weight distribution of legume starches by gel chromatography. *Cereal Chemistry*, 56, 475~480.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350~355.
- Fujibayashi, S., H. Habe and K. Nisizawa. 1970. Heterogeneity of alginate in special reference to the enzymatic degradation. *J. Biochem.*, 67, 37~45.
- Gacesa, P., A. Squire and P.J. Winterburn. 1983. The determination of the uronic acid composition of alginates by anion-exchange liquid chromatography. *Carbohydrate Research*, 118, 1~8.
- Grasdalen, H., B. Larsen and O. Smidsrod. 1979. A P.M.R. study of the composition and sequence of uronate residues in alginates. *Carbohydrate Research*, 68, 23~31.
- Grasdalen, H., B. Larsen and O. Smidsrod. 1981. ¹³C-N.M.R. study of monomeric composition and sequence in alginate. *Carbohydrate Research*, 89, 179~191.
- Haug, A. and B. Larsen. 1964. Studies on the composition and properties of alginates. IV Congress International Des Algues Marines, 331~337.
- Haug, A., B. Larsen and O. Smidsrøfd. 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. Smidsrøfd. 1967. Studies on the sequence of uronic acid residues in alginic acid. *Acta Chem. Scand.*, 21, 691~704.
- Haug, A., B. Larsen and O. Smidsrøfd. 1974. Uronic acid sequence in alginate from different sources. *Carbohydrate Research*, 32, 217~225.
- Hideki, O., S. Jitsuo and K. Yoshinari. 1993. Direct control of the constituents ratio in a wide range in alginate produced by *Azobacter vinelandii*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 332~337.
- Lee, D.S., H.R. Kim, D.M. Cho, T.J. Nam and J.H. Pyeun. 1998a. Uronate compositions of alginates from the edible brown algae. *J. Korean Fish. Soc.*, 31, 1~7 (in Korean).
- Lee, D.S., H.R. Kim and J.H. Pyeun. 1998b. Effect of low-molecularization on rheological properties of alginate. *J. Korean Fish. Soc.*, 31, 82~89 (in Korean).
- Mackie, W., K.D. Parker and E.E. Snoko. 1971. Crystalline structures of poly-D-mannuronic acid and poly-L-guluronic acids. *Polymer Letter*, 9, 311~316.
- Nishide, E., Y. Kinoshita, H. Anzai and N. Uchida. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1619~1622.
- Penman, A. and G.R. Sanderson. 1972. A method for the determination of uronic acid sequence in alginate. *Carbohydrate Research*, 25, 273~282.
- Smidsrøfd, O., A. Haug and B. Larsen. 1966. The influence of pH on the rate of hydrolysis of acidic polysaccharide. *Acta Chem. Scand.*, 20, 1026~1034.

2000년 4월 29일 접수

2000년 7월 11일 수리