

불균일 성질을 평가하기 위한 분획화된 galactomannan의 이화학적 특성

김경이* · 이은경¹

서일대학교 식품생명과학과, ¹이경 연구소

Physicochemical Characteristics of Galactomannan by Fractionation to Evaluate Heterogeneity

Kyeong-Yee Kim* and Eun-Kyung Lee¹

Department of Food Science and Biotechnology, Seoil University

¹Institute of Ikyung

Abstract Heterogenous samples of locust bean gum (galactomannan) were prepared into homogeneous substances. Locust bean gum was fractionated using ammonium sulfate (14.11-23.08%, w/w). The intrinsic viscosity was obtained by extrapolating reduced viscosity versus concentration by using an Ubbelohde viscometer. The ranges of intrinsic viscosity for fractions that not included protein (F3-F6) and fractions that included protein (F1-F2) were 9.89-8.10 and 8.44-4.59, respectively. Values for Huggins' coefficient (k'), which depends on physical interactions, were 0.46-0.78. Increasing ammonium sulfate concentration was associated with a weak trend towards lower molecular weight and intrinsic viscosity by size-exclusion chromatography (SEC): M_w ranged from 674 to 617 kg/mol and $[\eta]$ from 9.80 to 8.10 dL/g between F3 and F6. The evaluations of those fractions by using SEC and the Ubbelohde viscometer produced very similar values, as predicted. We verified the application of a gradient of ammonium sulfate to precipitate locust bean gum into fractions of different molecular size and show structural variations.

Keywords: locust bean gum, fractionation, Ubbelohde viscometer, intrinsic viscosity, size-exclusion chromatography

서 론

인류 생활에 다당류 사용의 역사는 상당히 긴 편이다. 전분, 식품재료 및 의복물질인 셀룰로오스를 포함하는 많은 물질들이 다당류로 공헌해 왔으며 그 중에서 산업물질과 식품분야에 주로 쓰이는 galactomannan (GM) 물질에 대한 것을 살펴보고자 한다. GM은 종이제조에 강화제, 라텍스 페인트의 유동제, 화장품의 점성제, 음식분야의 첨가제 및 안정제로서 넓게 활용되고 있다(1). 특히 식품에서는 아이스크림의 질감을 향상시키고 녹는 현상을 감소시키는 요소와 크림치즈, 샐러드드레싱, 과일가공제조 시 첨가제로 많이 사용되고 있다. 화학적 구조는 (1→4)- β -D-mannose 기본골격에 D-galactose 치환체를 갖는 구조를 나타내며 불균일성 다당류로서 hydrocolloid성 물질이다(2). 많은 종류가 있으나 주로 사용되는 것으로는 콩과식물인 *Caesalpinia spinosa*, *Caretonia siliqua* L.과 *Cyamopsis tetragonolobus* 등의 종자들로부터 내배유를 갈아서 추출한 locust bean gum (LBG), tara gum (TG) 및 guar gum (GG) 등이 있으며 분자량은 약 백만이 넘는 높은 범위를 갖는다(3). GM의 형태는 백색과 옅은 황색의 분말로 거의 냄새가 없고 냉수에서도 용해가 가능하나 80-90°C 근처에서 완

전히 녹아 높은 점도의 용액과 내산성, 내열성, 내염성 등의 특성이 있다(4). GM의 유변학적 성질은 비교적 낮은 농도에서도 매우 큰 점성성질을 나타내는 용액제조가 가능하다는 것이고 생물학적인 다양한 응용부분은 인간의 체력 소모성 체크에 대해 적용할 수 있으며 특히 중요한 것은 이러한 유변학적 행동과 생물학적인 응용을 바탕으로 하여 다른 다당류나 고분자와의 상호작용을 기대할 수 있다는 것이다(5,6) 이러한 화학적 성질을 파악하기 위하여 다른 온도에서의 용해도에 따라 GM의 겔화를 체계적으로 연구하였으며(7-9), 높은 온도에서 녹은 용액들이 안전한 겔화 행동을 보여 준다는 것을 밝혔다(10,11). GM을 분자량별로 분획하기 위하여 염석효과를 이용한 침전법으로 여러단계의 분획물질로 분류하여 각 시료들에 대한 구조적 차이를 규명하는 연구 결과를 제시하였다(12,13). 다른 연구자들은 넓은 분자량 분포도를 갖는 귀리와 보리에 황산암모늄 침전법을 이용하여 단순 물질로 분획한 후 분자량 분포도를 관찰하였으며(14), GM 수용액의 유변학적인 행동을 관찰하기 위하여 steady-shear와 dynamic oscillatory 측정을 실시하였고(15,16) GM의 용해도의 평형 상태를 용해 온도 함수로서 녹는 부분과 녹지 않는 부분을 결정하였다(17,18). GM과 같은 복합물질들의 구조적 요인을(19-21) 균일하게 분석하는 분획화에 대한 필요성은 많이 대두되고 있으나 정밀한 화학적 방법이 요구되고 긴 시간 실험과정에 비하여 수득율이 매우 낮아 소수의 연구자들만 수행하고 있는 실정이다. 복합성이며 hydrocolloids성 분자인 GM을 분획화를 통하여 얻은 각 물질들에 대한 물리화학적 성질과 유변학적 성질(22,23)을 더 구체적으로 규명할 수 있다면 분획된 물질을 사용하여 의약품, 식품, 화장품 및 다양한 화학제품에 안정제 혹은 점성을 증가시키

*Corresponding author: Kyeong-Yee Kim, Department of Food Science and Biotechnology, Seoil University, Seoul 131-702, Korea
Tel: 82-2-490-7461
Fax: 82-2-490-7811
E-mail: kykim@seoil.ac.kr
Received April 11, 2013; revised May 9, 2013;
accepted May 9, 2013

는 첨가제(24,25)로서의 유용성을 높여서 사용범위가 크게 확대 될 것으로 기대된다. 본 연구에서는 GM물질 중에 M:G비율이 4:1로 $DS_{gal}=0.25$ 인 LBG를 시료로 사용하여 황산암모늄염 침전 법으로 분획하고 이렇게 분획된 물질들의 본성점성도를 구하여 불균일상태를 평가하고 size-exclusion chromatography (SEC)로 분획 물질들의 중량 평균 분자량(M_w), 수 평균 분자량(M_n), M_z 및 size-exclusion chromatography (SEC) 측정값(IV)의 값들을 측정하여 각 단계별 분획물들에 대한 균일한 물리화학적 성질들을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

Mannose 기본구조에 galactose 치환체를 갖는 GM 구조 중에 M:G 비율이 4:1이고 평균 분자량이 1,050 kg/mol인 LBG (Locust Bean Gum: carob L-175 Unipektin)를 본 실험재료로 사용하였으며 화학적 구조(15,26,27)를 Fig. 1에 나타내었다. 이 재료는 Laboratory of Food Process Engineering, ETH University, Zurich, Switzerland 로부터 받았으며 그 성분은 75-76% galactomannan polysaccharide, 14% water, 3.8% crude fiber, 5-6% protein 그리고 1.2% ash로 구성되어 있다(18). 그 외 사용한 시약은 ammo-

nium sulfate, hydrochloric acid, barium chloride, sodium sulfate, sodium azide, 25 mM-EDTA를 사용하였다.

황산암모늄을 이용한 fractionation

LBG 2.25 g을 1 L 증류수와 5 ppm sodium azide 에 녹이고 먼 저 한 시간 동안 실온에서 강하게 저어준 후 온도를 올려 85°C 에서 30분 동안 자석 교반기로 저어주고 실온에서 방치하였다. 실험재료의 정제를 위하여 40,000×g, 25°C, 10분 동안 원심분리기를 사용하여 녹지 않은 부분을 제거하였다. 정제된 맑은 용액에 25°C에서 황산암모늄을 서서히 가하면서 침전이 생길 때 까지 관찰(28)하고 방치 후 40,000×g, 25°C, 10분 동안 원심분리기를 사용하여 첫 번째 분획물질인 침전물을 얻었다. 침전물을 85°C 증류수에 30분 동안 녹이고 25 mM-EDTA 용액에서 98°C에서 20분 동안 담귀 놓은 dialysis tubing (Cat. No. 44146, SERVA, Heidelberg, Germany)을 사용하여 황산이온이 검출되지 않을 때 까지 탈 이온 수에서 하루 동안 투석시켰다. 이 용액을 -50°C에서 한 시 간 동결시킨 후, 진공 동결건조기(Kryomat RUK 90, LAUDA, lauda-Königshofen, Germany)에서 건조시켜서 섬유모양의 흰색 분획 물을 얻었고 이를 첫 번째 분획물인 F1으로 표기하였다. 남은 투명 액에 다시 암모늄염을 서서히 가하는 반복과정을 거치면서 6개의 분획 물질을 얻었고 그 과정을 Fig. 2에 나타내었다.

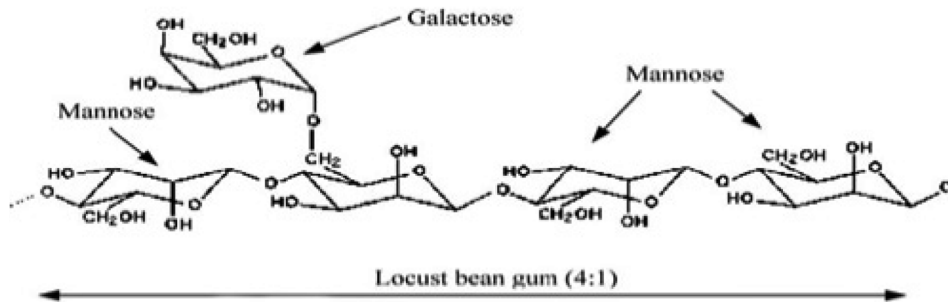


Fig. 1. Schematic illustration of the structures of LBG.

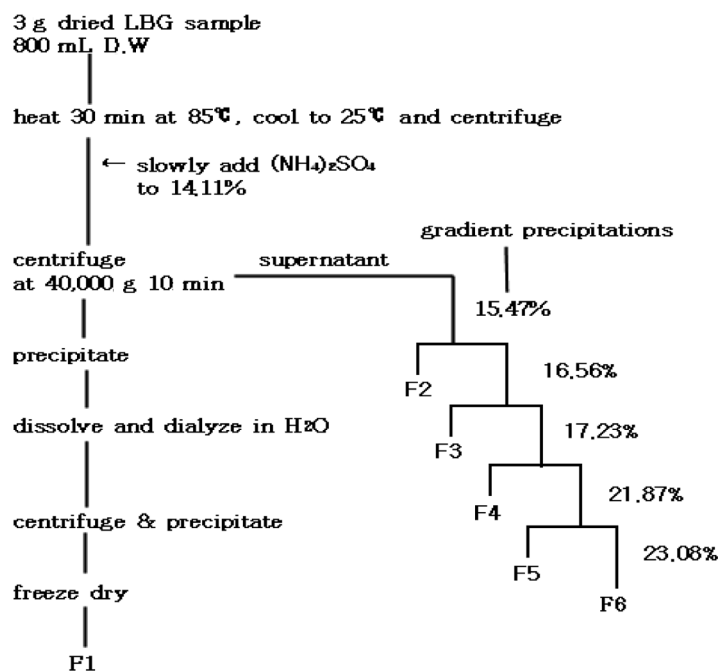


Fig. 2. Procedure for preparing LBG fractions through stepwise precipitation by ammonium sulfate.

Table 1. Protein contents determination of LBG fractions by UV-Visible Spectrophotometer

	Absorbance	Content (mg/mL)	Protein (%)
F1	0.538	0.010749	1.074
F2	0.554	0.014983	1.498
F3	0.499	0.000862	0.086
F4	0.513	0.004293	0.429
F5	0.508	0.003097	0.309
F6	0.498	0.000520	0.052

Ubbelohde viscometer 측정

Heater, cooler, pump, program을 장착한 Processor Viscosity System PVS1 (LAUDA)에서 dilution Ubbelohde viscometer (capillary No.: 직경: 0.40 mm, Constant K=0.01)를 사용하여 LBG 분획물들의 농도를 희석해 가면서 흐르는 시간을 측정하였다. 분획물들의 시작농도는 F1: 0.027 g/dL, F2: 0.028 g/dL, F3: 0.032 g/dL, F4: 0.029 g/dL, F5: 0.026 g/dL, F6: 0.026 g/dL이었다. 각 용액의 흐르는 시간과 증류수 흐르는 시간을 측정하고 그 시간이 길어질수록 보정 수치 값이 작아지는 kinetic energy correction (Hagenbach Couette Korrektur: German) 상수인 HC 값과 $\eta_{rel} = t/t_0$ 와 $\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1$ 식을 이용하여 상대 점성도(η_{rel})와 비 점성도(η_{sp})를 구하였다(29).

단백질 함량 측정

UV-Visible Spectrophotometer (Cary 400, Varian, Palo Alto, CA, USA)로 bovine serum albumin (BSA) 표준시약(30)을 사용하여 $Y=0.799X+0.496$ ($R^2=0.98$) 표준 곡선을 얻고 분획물질 별로 용액을 제조하여 흡광도를 측정하였고 Table 1에 나타내었다.

본 실험에서 재료로 사용한 L-175 성분은 앞에서 밝힌 바와 같이 5-6% 단백질을 포함하고 있는데 분획별로 구한 총 단백질 함량은 3.45%로 평균수득률이 63.50%였다. 이는 분획하는 과정에서 침전 및 용해를 반복하면서 생긴 손실로 판단되었다.

SEC 측정

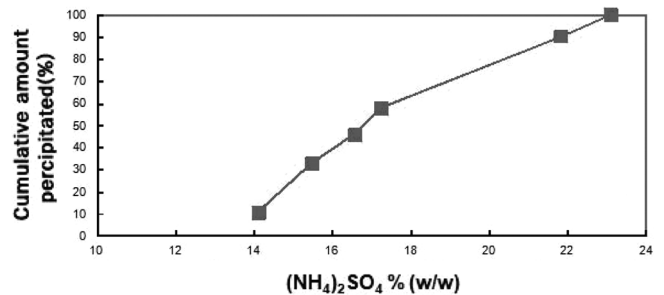
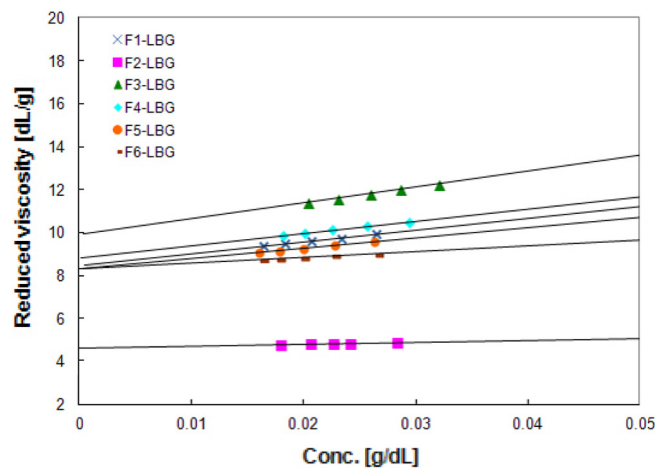
사용된 SEC는 refractive index detector, single-angle light scattering detectors와 viscosity detector로 이루어진 Viscotek TDA 302 (Viscotek, Huston, TX, USA)였고 다른 장비로는 VE 1121 pump, VE 7510 degasser, VE 5200 autosampler와 OmniSEC 3.2 (Viscotek) 프로그램을 사용하였다. Column은 7×300 Ultrahydrogel columns (Warves, Milford, MA, USA), 용리액은 0.1 M NaNO₃를 첨가한 nanopure water, 표준물질과 보정물질로는 polyethylene oxide와 Pullulan P100 (Showa Denko KK, Tokyo, Japan)을 사용하였다(18). 분획별로 용해 반응속도 상수를 구하기 위해 0.5 mg/mL 농도를 85°C에서 제조하고 0.46 μm PVDF syringe filter로 여과시켰다. % recovery는 24시간 동안 측정된 값으로 $c_p=0.5$ mg/mL, $dn/dc=0.145$ 의 RI 피크면적에 기초를 둔 OmniSEC 프로그램으로 계산되었으며, 72.44-101.61%이었고 분성 점성도와 분자량은 Solomon-Gatesman 방법(31)을 이용하여 계산되었다.

결과 및 고찰**황산암모늄 양과 분획화의 관계**

LBG 분획화 실험과정을 거쳐 얻은 수득율은 F1: 7.1%부터 F6:

Table 2. Yield value of LBG precipitated for different fractions according to ammonium sulfate concentration

LBG	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Yield value %	7.10	14.27	8.69	7.90	21.06	6.35

**Fig. 3. Cumulative amount precipitated of LBG according to ammonium sulfate percent.****Fig. 4. Plots of reduced viscosity and concentration for each LBG fraction.**

6.35%까지 총 65%였고 Table 2에 나타내었다. 이로부터 분획화 과정에서 침전과 용해를 거치면서 손실되는 부분이 35% 정도 차지하고 여러 분획단계를 거치면서 첨가되는 황산암모늄 양을 결정한다는 것은 매우 정밀한 실험이 필요하다는 것을 알았다. 단계별로 첨가된 (NH₄)₂SO₄ %는 25°C에서의 포화용액 4.1 M과 specific volume 0.54 mL/g, $d=1.77$ 을 이용하여 $G=sat(M_2-M_1)$ (sat M-spec.vol/ 1000×132.14×sat M×M₂ (M₂: 원하는 몰수 M₁: 시작하는 몰수 sat M: 포화몰수)식으로 계산하였다. 염의 이온강도는 각 이온의 농도에 비례하므로 염을 많이 넣으면 용액의 이온강도가 증가하여 용액은 거대분자인 LBG물질을 용매화하는 능력이 감소하고 거대분자들 간의 효과적인 정전기적 차단을 감소시키는 결과가 생기게 된다. 즉 염의 양이 많아질수록 거대분자가 침전되는 것이다(32). 그러나 본 실험을 통해서 농도가 진하면 수득율은 좋으나 분별되는 예리함이 감소하고 농도가 묽으면 수득율이 낮아 양을 거의 얻지 못하는 경우가 생긴다는 것을 알 수 있었다(33). 첨가된 황산암모늄 %에 따르는 누적되는 침전물 양은 Fig. 3에 나타내었으며 황산암모늄 18%이내에서 침전된 양은 60%를 나타냈다.

Table 3. Intrinsic viscosity by extrapolation until zero concentration between induced viscosity and concentration and Huggins' coefficient of each LBG fraction

LBG	F1	F2	F3	F4	F5	F6
$[\eta]$ (dL/g)	8.44	4.59	9.89	8.80	8.30	8.10
K'	0.7817	0.4626	0.7634	0.7372	0.6942	0.5690

본성 점성도와 Huggins' Coefficient

LBG 각 분획물 들의 상대 점성도(η_{rel})와 비 점성도(η_{sp})값을 활용하여 유도 점성도(η_{red})를 구하고 농도에 대한 유도점성도를 도 시하여 Fig. 4에 나타내었다. 분획물 들 간에 서로 정확하게 다 르게 나타난 현상으로부터 다당류 물질인 LBG의 분획이 잘 일 어났음을 확인할 수 있었다. 농도가 영이 되도록 외삽 하여 y절 편 값으로부터 본성 점성도($[\eta]$)를 구하여(34) Table 3에 나타내 었다. 그 값은 F1: 8.44, F2: 4.59, F3: 9.89, F4: 8.80, F5: 8.30, F6: 8.10 dL/g 이었고 LBG물질이 분자량별로 6단계의 정확한 분 획이 이루어짐을 보였다. 첫 번째와 두 번째 분획물이 갖는 본성 점성도 값이 기대치보다 작았다. 그 원인은 단백질 성분 함량으 로 판단되었다. 다음 식에 대입하여 k' (Hugg. Coeff.)와 고유 점 성도(Inher. Vis.)를 구하였다(4,35).

$$\eta_{red} = \eta_{sp}/c = k'[\eta]^2c + [\eta]; \text{ Huggins' Equation}$$

$[\eta]$ = The y-intercept is the intrinsic viscosity which is related to the slope which is $k'[\eta]^2$

$$\ln \eta_{rel}/c = \eta_{inh} = k''[\eta]^2c + [\eta]; \text{ Kramer's Equation}$$

고분자 물질의 용질-용매간의 상호작용과 응집상태에 의존하는 상태를 나타내는 K' (Hugg. Coeff.)값을 구하여 Table 3에 나타내 었다. 점성도 값이 클수록 k'값이 커지는 경향을 보였으며 단백 질을 함유한 F1, F2의 경우는 증가하는 비율이 좀 더 컸음을 알 수 있었다(36). Kramer's Equation으로부터 본성점성도 값을 구하 여 Table 4에 나타내었고 Huggins' Equation에서 구한 본성 점성 도와 거의 근사한 값을 나타냄을 확인하였다.

단백질 함량에 따르는 현상

LBG의 6개 분획물의 본성 점성도는 첫 번째 그룹인 두 개의 분획물과 두 번째 그룹인 4개의 분획물에서 다른 경향을 Fig. 5 에 나타내었다. 첨가된 황산암모늄양이 낮아지면서 먼저 침전된 분 획물이 높은 점성도를 갖는 것이 일반적인 현상인데 본 실험에 서는 단백질을 함유하는 성분이 먼저 침전되었으며 단백질을 함 유하는 물질간의 분자간 상호작용이 커서 낮은 본성점성도를 나 타내었음을 알 수 있었다(12,30). 또한 단백질을 포함하는 분획 물을 포함한 각 분획물의 분자량 값을 구하기 위하여 다음 식에 대입하여 분획별 분자량 값을 계산(26,37)하여 Table 5에 나타내

Table 5. Viscosity average molecular masses (Mv) of each LBG fraction for ammonium sulfate percent

LBG	F1	F2	F3	F4	F5	F6
(NH ₄) ₂ SO ₄ %	14.11	15.47	16.56	17.23	21.87	23.08
Mv×10 ⁻⁶ (g/mol)	1.063	0.440	1.326	1.125	1.090	1.029

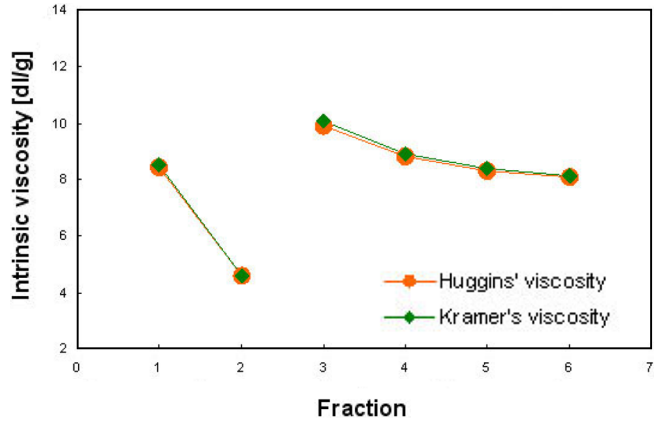


Fig. 5. Two groups phenomena of intrinsic viscosity for each LBG fraction according to including protein

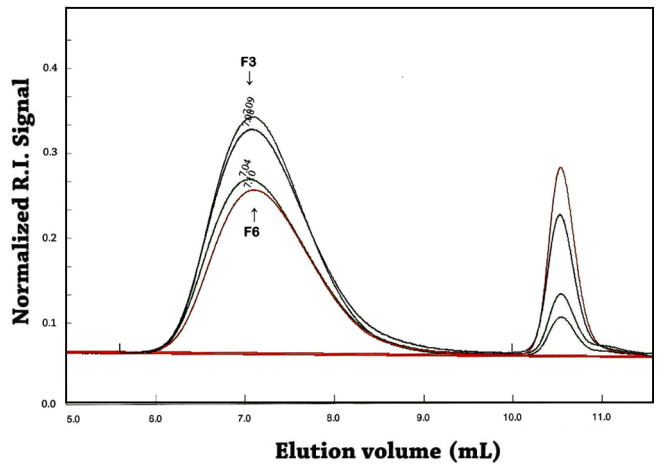


Fig. 6. Size exclusion chromatography profiles of four fractions (F3-F6) of the LBG obtained by stepwise precipitation with ammonium sulfate.

었다.

$$[\eta] = 11.55 \times 10^{-6} [(1-\alpha)M_v]^{0.98}, \alpha_{LBG} = 1/\{(DS_{gal})^{-1} + 1\}$$

Table 4. Inherent viscosity of each LBG fraction according to concentration by Kramer's equation

F1		F2		F3		F4		F5		F6	
Conc. ¹⁾	η_{inh} ²⁾	Conc.	η_{inh}	Conc.	η_{inh}	Conc.	η_{inh}	Conc.	η_{inh}	Conc.	η_{inh}
0.2650	8.8812	0.2836	4.5575	0.3202	10.3410	0.2937	9.1281	0.2633	8.5217	0.2603	8.1437
0.2343	8.7652	0.2418	4.5654	0.2857	10.3569	0.2567	9.1233	0.2277	8.5138	0.2247	8.1492
0.2069	8.7390	0.2265	4.5649	0.2597	10.3062	0.2259	9.1054	0.2002	8.4898	0.1972	8.1510
0.1835	8.7314	0.2063	4.5680	0.2299	10.2883	0.2015	9.0698	0.1785	8.4740	0.1755	8.1400
0.1644	8.7030	0.1796	4.5715	0.2035	10.2516	0.1817	9.0454	0.1608	8.4654	0.1608	8.1463

¹⁾Conc.Unit (mg/mL), ²⁾ η_{inh} Unit (dL/g)

Table 6. SEC evaluations of each LBG fraction

LBG	Mw (kg/mol)	Mn (kg/mol)	Mz (kg/mol)	IV (dl/g)	R _g (nm)	Ret. Vol. (mL)	dn/dc (m/mg)	Recovery (%)
F3	634.49	422.52	852.31	10.1456	45.278	7.2705	0.145	96.85
F4	668.62	352.47	978.66	9.99275	45.899	7.047	0.145	79.09
F5	674.32	323.81	1046.50	9.3465	45.427	7.0945	0.145	72.44
F6	617.27	345.67	871.50	9.30735	43.536	7.182	0.145	101.61

첨가된 황산암모늄양이 낮아져서 먼저 침전된 분획물이 높은 분자량을 갖는 것이 일반적인 현상인데 F1, F2 분획물이 F3-F6 분획물보다 분자량이 낮게 나타났으며 이는 F1, F2 용액을 제조할 때 용해도가 낮아 더 높은 온도에서 용해 시켰음에도 불구하고 측정 시 사용된 용액상태에서 녹지 않은 입자가 보여 그 부분이 단백질 성분임을 확인하였다(9).

Molecular weight 와 SEC evaluation

단백질을 함유한 분획물은 녹지 않은 입자로 인하여 제외시켰고 황산암모늄 침전법으로 얻어진 4개의 LBG 분획물들에 대한 체류용량에 따른 크로마토그램을 Fig. 6에 나타내었다. 4개의 분획물의 다당류는 6.0에서 9.0 mL에서 용리되었고 염 혹은 oligomeric sugar 성분은 10에서 11 mL에서 용리되었다. oligomeric sugar 성분들은 LBG 수용액 상태의 추출물에 5% 질량에 포함되어 있는 glucose, xylose, arabinose, rhamnose로 밝혀졌다(35). 이러한 분획별 크로마토그램은 분리가 일어난 후 용리하는 동안 굴절 지수 검출기에 나타나는 값들이며 분획물에 따라 얻어진 SEC 용리 그래프에서 나타나는 차이들로부터 분자량 크기의 차이를 관찰할 수 있다(31,38). OmniSEC 프로그램으로 측정된 중량 평균 분자량, 수 평균 분자량, 회전 반경 및 본성 점성도 값들을 Table 6에 나타내었다. M_w/M_n 으로 부터 얻은 분자량 분포도는 평균 1.80으로 25에서 용해시킨 용액에 대한 값 1.10-1.30과 비교(18,39)하여 비교적 높게 나타났다. 이는 높은 용해온도(85°C)에서 제조한 용액이 낮은 용해온도에서 제조한 용액에 비해 중량 평균 분자량이 크게 나타남을 알 수 있었다. 각 분획물들의 본성 점성도 값을 관찰한 결과, ubbelohde viscometer로 측정된 값은 F3:9.89, F4:8.80, F5:8.30, F6:8.10이었고 IV는 10.15, 9.99, 9.35, 9.31이었다. 얻어진 분획화된 물질 순서대로 본성 점성도 값을 비교한 결과 계산식과 프로그램의 영향으로 수치에는 약간의 차이가 있었으나 일률적으로 감소하는 경향은 동일하게 일치하여 황산암모늄 양에 따르는 LBG 분획물들이 차별화 있게 잘 이루어졌음을 알았고 황산암모늄의 용매화는 다당류를 분획화 시킴으로써 분획물질별로 분자량과 화학적 성질을 파악할 수 있음을 확인할 수 있었다.

요 약

Mannose 기본구조에 galactose 치환체 비율이 4:1인 화학적 구조와 평균 분자량이 1,050 kg/mol인 LBG를 황산암모늄 침전법을 사용하여 분자량 크기별로 분획하여 분획물질들 간에 서로 다른 물리화학적 성질을 확인하였다. 황산암모늄을 맑은 용액에 천천히 첨가한 후 얻어진 침전물을 원심분리에 의해 모집, 탈이온수에 대한 투석 후 동결상태에서 건조시켜서 첫 번째 분획물을 얻었고 동일한 방법으로 각 단계별 분획물을 여섯 단계 까지 얻었다(F1-F6). 수득율은 F1 7.1% 부터 F6 6.35%까지 총 65%였다. 각 분획물들의 묽은 농도범위 0.05 g/dL 이하에서 Ubbelohde

viscometer로 흐르는 시간을 측정하여 상대점성도, 비점성도, 유도점성도 및 본성점성도를 구하였으며 그 값은 F1:8.44, F2:4.59, F3:9.89, F4:8.80, F5:8.30, F6:8.10 dL/g이었다. F1과 F2 분획물이 갖는 본성 점성도 값은 기대치보다 작았고 그 원인은 단백질 성분을 포함하는 것으로 판단되어 함량을 측정된 결과 전체 단백질 함량 3.45%중에 F1, F2가 2.59%를 포함하고 있음을 확인하였다. 또한 고분자 물질의 용질-용매간의 상호작용과 용집상태에 의존하는 상태를 나타내는 k' (Hugg. Coeff.)값을 측정된 결과 값의 범위는 0.463-0.781이었고 점성도 값이 클수록 k' 값이 커지는 경향을 나타내었다. 분획물들의 체류용량에 대한 RI detector 크로마토그램은 4개의 분획물들의 다당류는 6.0에서 9.0 mL에서 용리되었고 염 혹은 oligomeric sugar 성분은 10에서 11 mL에서 용리되었음을 나타내었다. 중량 평균 분자량, 수 평균 분자량, 회전 반경 및 본성 점성도 값들은 $c_p=0.5$ mg/mL, $dn/dc=0.145$ 의 RI 피크면적에 기초를 둔 OmniSEC 프로그램으로 계산되었다. 본성 점성도 값은 F3: 10.15, F4: 9.99, F5: 9.35, F6: 9.31이었고 M_w 값 범위는 617-674 kg/mol, M_n 값 범위는 324-423%, recovery 72.44-101.61%였다. Ubbelohde viscometer와 SEC로 측정된 각 분획물들의 본성 점성도 값을 비교한 결과, 측정에 사용한 기기 원리와 계산식의 영향으로 수치에는 미소한 차이가 있었으나 분획물 순서대로 본성점성도가 감소하는 경향은 동일하여 황산암모늄 침전법에 의한 LBG 분획화가 차별화 있게 잘 이루어졌음을 확인하였다. 화학물질에 대한 안정제 및 식품첨가제로 주로 사용되고 있는 LBG 복합물질을 단순물질로 분획화하여 균일한 성분의 물리화학적 성질을 연구한 것은 안정제 및 첨가제의 효과를 높이고 사용범위가 확대될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 서일대학 학술연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Scherbukhin VD, Anulov OV. Legume seed galactomannans. Appl. Biochem. Microbiol. 35: 229-244 (1999)
2. Chandrasekaran R, Radha A, Okuyama K. Morphology of galactomannans: an X-ray structure analysis of guaran. Carbohydr. Res. 306: 243-255 (1998)
3. Daas PJ, Schols HA, de Jongh HH. On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. Carbohydr. Res. 329: 609-619 (2000)
4. Gaisford SE, Harding SE, Mitchell JR, Bradley TD. A comparison between the hot and cold water soluble fractions of two locust bean gum samples. Carbohydr. Polym. 6: 423-442 (1986)
5. Srivastava M, Kapoor VP. Seed galactomannan: An overview. Chem. Biodivers. 2: 295-317 (2005)
6. Fernandes PB. Determination of the physical functionality of galactomannans in xanthan gum/galactomannan mixed systems by

- periodate oxidation. *Food Control* 5: 244-248 (1994)
7. Fernandes PB, Goncalves MP, Doublier JL. A rheological characterization of kappa-carrageenan/galactomannan mixed gels: a comparison of locust bean gum samples. *Carbohydr. Polym.* 16: 253-274 (1991)
 8. Garcia-Ochoa F, Casas JA. Viscosity of locust bean (*Ceratonia siliqua*) gum solutions. *J. Sci. Food Agr.* 59: 97-100 (1992)
 9. Mannion RO, Meria CD, Launay B, Cuvelier G, Hill SE, Harding SE. Xanthan/locust bean gum interactions at room temperature. *Carbohydr. Polym.* 19: 91-97 (1992)
 10. Richardson PH, Clark AH, Russell AL, Aymard P, Norton IT. Galactomannan gelation: A thermal and rheological investigation analyzed using the cascade model. *Macromolecules* 32: 1519-1527 (1999)
 11. Pollard MA, Fisher P. Partial aqueous solubility of low-galactose-content galactomannans-What is the quantitative basis? *Curr. Opin. Colloid. In.* 11: 184-190 (2006)
 12. Izydorczyk MS, Billaderis CG. Gradient ammonium sulphate fractionation of galactomannans. *Food Hydrocolloid.* 10: 295-300 (1996)
 13. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254 (1976)
 14. Wang Q, Wood PJ, Huang X, Cui W. Preparation and characterization of molecular weight standards of low polydispersity from oat and barley(1→3)(1→4)-β-D-glucans. *Food Hydrocolloid.* 17: 845-853 (2003)
 15. Sittikijyothin W, Torres D, Goncalves MP. Modeling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. *Carbohydr. Polym.* 59: 339-350 (2005)
 16. Richardson PH, Norton IT. Gelation behavior of concentrated locust bean gum solutions. *Macromolecules* 31: 1575-1583 (1998)
 17. Orford PD, Parker R, Ring SG, Smith AC. Effect of water as a diluent on the glass transition behaviour of malto-oligosaccharides, amylose and amylopectin. *Int. J. Biol. Macromol.* 11: 91-96 (1989)
 18. Pollard MA, Kelly R, Wahl C, Fischer P, Windhab E, Eder B, Amado R. Investigation of equilibrium solubility of a carob galactomannan. *Food Hydrocolloid.* 21: 683-692 (2006)
 19. Edwards ME, Marshall E, Gidley MJ, Reid JS. Transfer specificity of detergent-solubilized fenugreek galactomannan galactosyltransferase. *Plant Physiol.* 129: 1391-1397 (2002)
 20. Grant Reid JS, Edeards M, Gidley MJ, Clark AH. Enzyme specificity in galactomannan biosynthesis. *Planta* 195: 489-495 (1995)
 21. Grant Reid JS. Cementing the wall: Cell wall polysaccharide synthesizing enzymes *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 512-516 (2000)
 22. Alves MM, Garnier C, Lefebvre J, Goncalves MP. Microstructure and flow behaviour of liquid water-gelatin-locust bean gum systems. *Food Hydrocolloid.* 15: 117-125 (2001)
 23. Oblonsek M, Sostar-Turk S, Lapasin R. Rheological studies of concentrated guar gum. *Rheol. Acta* 42: 491-499 (2003)
 24. Ross-Murphy SB. Structure-property relationships in food biopolymer gels and solutions. *J. Rheol.* 39: 1451-1463 (1995)
 25. Joersbo M, Marcussen J, Brunstedt J. *In vivo* modification of the cell wall polysaccharide galactomannan of guar transformed with a α-galactosidase gene cloned from senna. *Mol. Breeding* 7: 211-219 (2001)
 26. MacCleary BV, Clark AH, Dea ICM, Rees DA. The fine structure of carob and guar galactomannans. *Carbohydr. Res.* 139: 237-260 (1985)
 27. Ruiz-Angel MJ, Simo-Alfonso EF, Mongay-fernandez C Ramis-Ramos G. Identification of leguminosae gums and evaluation of carob-guar mixture by capillary zone electrophoresis of protein extracts. *Electrophoresis* 23: 1709-1715 (2002)
 28. Izawa M, Kano Y, Koshino S. Relationship between structure and solubility of (1→3)(1→4)-β-D-glucan from barley. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 51: 123-127 (1993)
 29. Morris ER, Culter AN, Ross-Murphy SB, Rees DA, Price J. Concentration and shear rate dependence of viscosity in random coil polysaccharides solutions. *Carbohydr. Polym.* 1: 5-21 (1981)
 30. Anderson DM. Nitrogen conversion factors for the proteinous content of gums permitted as food additives. *Food Addit. Contam.* 3: 231-234 (1986)
 31. Wood PJ, Weisz J, Beer MU, Newman CW, Newman RK. Structure of (1→3)(1→4)-β-D-glucan in waxy and non waxy barley. *Cereal Chem.* 80: 329-332 (2003)
 32. Izydorczyk MS, Billaderis CG. Influence of structure on the physicochemical properties of wheat arabinoxylan. *Carbohydr. Polym.* 17: 237-247 (1992)
 33. Izydorczyk MS, Billaderis CG, Macri LJ, MacGregor AW. Fractionation of oat (1→3)(1→4)-β-D-glucans and characterization of the fractions. *J. Cereal Sci.* 27: 321-325 (1998)
 34. Andrede CT, Azero EG, Luciano L, Goncalves MP. Solutions properties of the galactomannan extracted from the seeds of *Caesalpinia pulcherrima* and *Cassia javanica*: comparison with locust bean gum. *Int. J. Biol. Macromol.* 26: 181-185 (1999)
 35. Doublier JL, Launay B. Rheology of galactomannan solutions: comparative study of guar gum and locust bean gum. *J. Texture Stud.* 12: 151-172 (1981)
 36. da Silva JAL, Goncalves MP. Studies on a purification method for locust bean gum by precipitation with isopropanol. *Food Hydrocolloid.* 4: 277-287 (1990)
 37. Robinson G, Ross-Murphy SB, Morris ER. Viscosity-molecular weight relationship, intrinsic chain flexibility and dynamic solution properties of guar galactomannan. *Carbohydr. Res.* 107: 17-32 (1982)
 38. Wood PJ, Weisz J, Blackwell BA. Structural studies of (1-3)(1-4)-beta-D-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chem.* 71: 301-307 (1994)
 39. Edwards ME, Marshall E, Gidley MJ, Reid JS. Transfer specificity of detergent-solubilized fenugreek galactomannan galactosyltransferase. *Plant Physiol.* 129: 1391-1397 (2002)