

가시파래 산성 수용성 다당의 구성당 결합 특성

구재근⁺ · 최용석 · 하진환*

군산대학교 식품공학과, *제주대학교 식품공학과

Glycosyl-linkages of Acid Soluble Polysaccharide from Green Laver, *Enteromorpha prolifera*

Jae-Geun KOO⁺, Yong-Seok CHOI and Jin-Hwan HA*

Department of Food Science and Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-702, Korea

*Department of Food Science and Technology, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

Green laver, *Enteromorpha prolifera*, is regarded as one of important materials for food processing in Korea. The acidic water-soluble polysaccharide (CPC-PS) isolated from the alga with hot water and cetylpyridinium chloride was mainly constituted of rhamnose, xylose, uronic acid and sulfate. To determine the glycosyl-linkages and positions of sulfate by methylation, the CPC-PS was reduced and/or sulfated. A marked increase of glucose content in the reduced polysaccharide indicated that glucuronic acid was a major sugar in the polymer and sulfation was deduced to occur on O-3 of rhamnose and O-2 of xylose. According to the methylation analysis of the native, reduced, desulfated and reduced-desulfated polymers, CPC-PS mainly composed of 1,4- and 1,2,3-linked rhamnose 3-sulfate, 1,4-linked xylose 2-sulfate, 1,4-linked xylose and 1,4-linked glucuronic acid. Minor 1,4-linked rhamnose and 1,4,6-linked galactose residues were also detected.

Key words: Green laver, Methylation, *Enteromorpha prolifera*, Glycosyl-linkage, Acidic water-soluble polysaccharide

서 론

파래 (*Ulva sp.*)의 주요 특성의 하나는 육상 식물과는 달리 황산기를 함유한 다당을 다량 함유하고 있고, 이 수용성 산성 다당은 국내에서도 홀파래에서 추출한 당단백질이 Sarcoma-180 cell에 대한 항암효과 및 면역활성이 있다고 보고된 바 있다 (Lee et al., 1992).

파래의 총 식이섬유, 수용성 식이섬유, 불용성 식이섬유의 함량은 건물 기준으로 각각 29.8%, 16.5%, 13.3%이고, 이 수용성 식이섬유는 주로 황산기를 함유한 glucuronorhamnoxyloglycan으로 구성되어 있으며, 황산기와 우른산이 각각 20%와 21% 정도 함유되어 있다 (Percival and Wold, 1963; Lahaye, 1991; Ray and Lahaye, 1995). 그리고, Percival and McDowell (1967)은 파래에서 주로 rhamnose, xylose, glucose, glucuronic acid와 황산기로 구성되어 있는 수용성 산성 다당을 추출하였고, β -D-glucuronic acid-1, 4-L-rhamnose가 주 구조단위라고 보고하였다. Ray and Lahaye (1995)는 *Ulva rigida*로부터 추출한 다당을 정제 후 methylation하여 황산기가 O-3에 결합한, terminal, 1,4-, 1,2,4-결합된 rhamnose, 황산기가 O-2에 결합한 1,4-결합된 xylose 그리고 1,4-, terminal 결합된 glucuronic acid를 분리 동정하였다. 이 같은 구조의 복잡성은 파래 다당의 조성이 매우 복잡하기 때문에 보다 많은 구조에 관한 연구가 필요하다. 또한 파래의 생리기능성은 당구조와 조성에 밀접한 상관성이 있어 다당의 구조 연구는 생리작용 기작 연구뿐만 아니라 다당의 효율적 이용에도 매우 중요하다. 본 연구에서는 전보 (Choi et al., 2002)에서 가시파래로부터 추출한

수용성 산성 다당 (CPC-PS)을 시료로 하여 화학적 처리를 한 후 당결합 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

전보 (Choi et al., 2002)에서 분획한 가시파래의 수용성 산성 다당 (CPC-PS)을 시료로 사용하였다.

다당의 화학적 수식

다당의 우른산 특징 및 황산기의 결합 위치 그리고 구성당 결합 구조를 알아보기 위해서 CPC-PS를 가지고 황산기 제거와 우른산 환원을 하였다. 다당의 황산기 제거는 Nagasawa et al. (1977)과 Inoue and Nagasawa (1976)의 방법에 따라 methanol/dimethyl sulfoxide (DMSO)로 황산기를 제거하였다. CPC-PS 600 mg을 소량의 중류수에 녹여 Dowex 50W (X-8, H⁺ form, 50~100 mesh)로 충진된 칼럼을 통과시킨 후 용리액을 pyridine으로 중화, 동결 건조하여 pyridinium염 (622 mg)으로 만들었다. 이 pyridinium염에 10% methanol을 함유한 DMSO 60 mL를 가하고 100°C, 2시간 가열한 다음 동량의 중류수로 회석하였다. 그리고 0.1 M NaOH를 가하여 pH를 9.14로 조정한 후 투석, 농축, 동결 건조하여 황산기를 제거하였고, 위 조작을 한번 더 반복하여 332 mg (회수율: 55.3%, dry basis)의 황산기 제거 (CPC-PS-D) 시료를 얻었다. CPC-PS 및 CPC-PS-D의 환원처리는 York et al. (1985)과 Taylor and Conrad (1972)의 방법에 의하여 분석하였다. 즉, 시료 25 mg을 deuterium oxide에 녹인 후 250 mg의 1-cyclohexyl-3-(2-morpholinioethyl)-carbodimidemetho-p-toluenesulfonate (Sigma Co., USA)

*Corresponding author: Kseaweed@kunsan.ac.kr

를 가하고 0.1 M HCl용액 (HCl 원액을 희석하여 D₂O에 녹여서 0.1 M로 조제)으로 pH를 4.75로 유지하였다. 1시간 후 NaBD₄용액 (D₂O 5 mL에 NaBD₄ 800 mg을 녹인 용액)을 서서히 가하면서 2.0 M HCl용액 (0.1 M HCl 용액과 동일하게 조제)으로 pH를 7.0으로 유지하면서 NaBD₄ 용액을 다 가한 후 30분간 더 반응시켰다. NaBD₄ 용액을 가할 때 거품이 생기므로 octanol을 2~3방울을 가하였다. pH 4.0으로 조정하고 환원된 다당을 하룻밤 투석, 농축한 후 동결 건조하여 24~31 mg (회수율: 97~123%, dry basis)의 우론산 환원 (CPC-PS-R, CPC-PS-D/R) 시료를 얻었다.

다당의 methylation

다당 및 화학적 수식한 시료의 methylation은 Harris et al (1984)과 Carpita and Shea (1987)의 방법에 의하여 분석하였다. 시료 5 mg을 teflon-lined 뚜껑이 있는 시험관에 취하고 DMSO를 가해서 50°C에서 시료 다당을 녹였다. 이 시료 용액에 2.5 M butyl-lithium solution (in hexane)을 가하고 40°C에서 1시간 반응시켜 hydroxyl기를 polyalkoxide 이온으로 전환시킨 후 0°C로 냉각하였다. 냉각된 용액은 iodomethane으로 methylation시켰다. 극성이 높은 CPC-PS와 CPC-PS-R은 Stevenson and Furneaux (1991)의 방법에 따라 다당을 triethylammonium salt의 형태로 전환시킨 후 methylation 시켰다. Methylation 시킨 다당은 2 M TFA로 120°C에서 75분간 가수분해하였다. 그리고 0.26 M sodium borodeuteride-용액을 가하고 40°C에서 90분간 환원하였다. 과잉의 borodeuteride는 acetic acid glacial을 통하여 반응을 정지시키고 40°C 공기로 건조시켰다. 그리고 methanol을 가하여 교반 후 건조시켜 잔존하는 borate 제거 조작을 2번 더 반복하였다. 가수분해 된 당을 acetic anhydride와 pyridine을 가하고 교반 후 120°C에서 20분간 acetylation시켜서 GC/MSD (HP 5973, USA)로 분석하였다. Partially O-methylated alditol acetate의 동정은 Supelco SP-2330 (0.25 mm I.D. × 60 m, film thickness 0.2 μm) 칼럼을 설치한 GC/MSD로 160°C → 210°C (2°C/min), 210°C → 240°C (5°C/min), 240°C (10 min)로 승온 분석하여 각 peak의 retention time과 mass spectrum을 확인하여 동정하였다. 정량은 위와 같은 조건에서 시료 주입구 및 검출기의 온도를 240°C로 하여 FID (GC HP 6890)로 검출하여 피크 면적을 구한 후 response factor (Sweet et al., 1975)를 이용하여 mol %로 나타내었다.

다당의 화학적 조성 분석

총당의 함량은 glucose를 standard로 사용하여 phenol-sulphuric acid법 (Dubois et al., 1956)으로 측정하였고, 단백질의 함량은 Lowry법 (Lowry et al., 1951)에 따라 standard로 bovine serum albumin (Sigma Co., USA)를 사용하여 정량하였다. 황산기의 함량은 Dodgson and Price (1962)의 방법에 따라 측정하였다. 우론산의 함량은 Knutson and Jeanes (1968)의 방법에 따라 측정하였다. 그리고 gas chromatography에 의한 구성당 조성 분석은 Furneaux et al. (1990)의 방법에 따라서 GC (HP 6890, USA)로 분석하였다.

결과 및 고찰

다당의 화학적 수식

다당의 우론산 특징 및 황산기의 결합 위치 그리고 당결합 구조를 알아보기 위해서 수용성 산성 다당인 CPC-PS를 황산기 제거와 우론산을 환원한 다당의 화학적 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Chemical composition of CPC-PS and its chemical modified polysaccharide (% , dry basis)

Sample	Sulfate	Protein	Uronic acid	Total sugar	Sugar composition ^{a)}				
					Rhm	Xyl	Man	Gal	Glc
CPC-PS	21.8	3.1	19.5	72.8	71.6	20.8	- ^{b)}	2.7	4.9
CPC-PS-D ^{c)}	0.1	2.4	23.6	81.4	71.3	20.8	-	1.8	6.1
CPC-PS-R ^{d)}	17.0	3.3	2.8	60.7	54.0	14.1	-	2.3	29.7
CPC-PS-D/R ^{e)}	0.5	3.2	4.3	71.2	56.3	13.9	-	2.2	27.7

^{a)} Desulfation treatment.

^{b)} Reducing treatment.

^{c)} Desulfation and reducing treatment.

^{d)} Calculated from GC analysis, considering the total amounts under the five monosaccharides as 100%.

^{e)} Not detected.

황산기 제거 방법으로는 autodesulfation과 methanolic-HCl 방법 등이 있으나 methanol/DMSO를 이용한 방법이 다당내의 depolymerization과 당구조의 변화가 적고 황산기만 제거되며 또한 다른 방법에 비해 상대적으로 수율이 좋으며, 황산기가 많이 제거되기 때문에 많이 사용된다 (Percival and Wold, 1963; Nagasawa et al., 1977; Inoue and Nagasawa, 1976). CPC-PS를 가지고 황산기 제거 (CPC-PS-D) 처리를 2번 하였을 때 수율은 55.3%였고, 황산기의 함량은 21.8%에서 0.1%로 황산기가 거의 제거되었음을 알 수 있었다. 그리고 상대적으로 우론산과 총당의 함량이 소량씩 증가하였다. 주요 구성당 조성은 xylose가 20.8%, rhamnose가 71.3% 그리고 glucose의 함량이 6.1%로 몰비율은 1:3.1:0.2였으며, CPC-PS의 몰비율은 1:3.1:0.2로 당 구조의 큰 변화없이 황산기가 제거되었음을 알 수 있었다 (Choi et al., 2002).

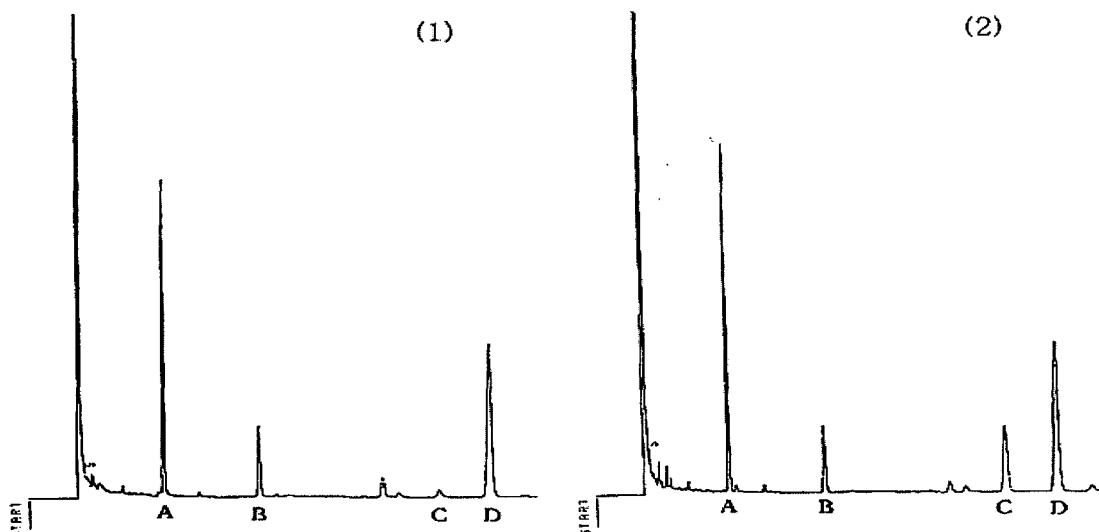
Fig. 1은 CPC-PS를 환원 처리하여 GC로 분석한 크로마토그램이다. CPC-PS를 환원처리 하였을 때 수율은 97~127%였으며, 우론산의 함량이 19.5%에서 2.8%로 우론산이 환원되었음을 알 수 있었고, 이 환원된 다당을 GC로 분석하였을 때, glucose의 함량이 4.9%에서 29.7%로 증가하여 CPC-PS 내의 우론산은 glucuronic acid임을 알 수 있었다. 그리고 다른 구성당의 조성은 약간 감소하였는데, 이는 glucose의 함량의 증가에 따른 상대적인 감소로 보인다. 그리고 황산기의 함량이 17.0%로 가시파래로부터 추출한 다당은 주로 황산기를 함유한 rhamnose, xylose, glucuronic acid로 구성된 다당임을 보여주고 있다. 이는 기존의 *U. rigida*로부터 추출한 sulfated glucuronorhamnoxyloglycan와 커다란 차이가 없었다 (Ray and Lahaye, 1995a).

다당의 구조

다당의 결합 위치를 조사하기 위하여 화학적 수식을 한 후

Table 2. Methylation analysis of chemical modified polysaccharide

Methylated sugars ¹⁾	Mol %				Major mass spectral fragment ions (m/z)
	CPC-PS	CPC-PS-D	CPC-PS-R	CPC-PS-D/R	
2,3,4-Me-Rhm	5.7	11.5	4.6	7.0	175, 162, 131, 118, 115, 102, 89, 72
2,3-Me-Rhm	5.4	42.5	4.4	28.0	247, 203, 162, 143, 118, 102, 87
2-Me-Rhm	37.0	1.1	31.7	1.1	275, 173, 160, 129, 118, 99, 87
3-Me-Rhm	tr ³⁾	14.9	tr	12.3	234, 203, 190, 161, 143, 130, 118, 101, 88
Rhm	17.6	tr	14.3	3.0	303, 290, 231, 218, 201, 188, 171, 157, 129, 115
2,3-Me-Xyl	12.8	20.5	8.6	11.0	189, 162, 129, 118, 102, 87
3-Me-Xyl	9.3	1.6	7.7	5.4	190, 189, 130, 129, 88, 87
Xyl	tr	tr	2.1	2.1	290, 289, 218, 217, 201, 188, 187, 159, 145, 128
2,3,6-Me-GlcUA ²⁾	tr	1.8	17.5	19.1	279, 235, 175, 162, 144, 129, 118, 102, 87, 47
2,3,4-Me-Glc	4.2	5.0	2.0	8.9	233, 189, 173, 162, 129, 118, 102, 99, 87
Glc	2.7	tr	2.4	1.6	290, 289, 260, 218, 187, 171, 157, 145, 128, 115
2,4,6-Me-Gal	tr	tr	1.1	tr	277, 234, 217, 174, 161, 129, 118, 101, 87
2,3-Me-Gal	3.9	tr	3.5	tr	261, 201, 187, 159, 142, 127, 118, 102, 85
3-Me-Gal	tr	tr	tr	tr	261, 201, 190, 159, 130, 127, 115, 99, 88

¹⁾ 2,3,4-Me-Rhm: 1,5-di-O-acetyl-(1-deutero)-2,3,4-tri-O-methyl rhamnitol etc.²⁾ 2,3,6-Me-GlcUA: 1,4,5-tri-O-acetyl-(1,6,6-tri deutero)-2,3,6-O-methyl glucitol.³⁾ tr: 0.0% < tr < 1.0%.Fig. 1. GC chromatogram of CPC-PS (1) and reduced polysaccharide[CPC-PS-R,(2)].
A: Rhamnose; B: Xylose; C: Glucose; D: myo-Inositol

methylation 분석을 행하였다. Fig. 2는 CPC-PS-R의 total ion chromatography (TIC)이고, Fig. 3은 주요 성분인 1,4,5-tri-O-acetyl-(1,6,6-tri-deutero)-2,3,6-O-methyl glucitol의 mass spectrum이다.

파래는 2-Me-Rhm 37.0 mol%, Rhm (17.6 mol%), 2,3-Me-Xyl (12.8 mol%), 3-Me-Xyl (9.3 mol%) 순으로 함량이 높았다. 즉, rhamnose는 주로 1,3,4-결합, 1,2,3,4-결합으로 연결되어 있었고, xylose는 1,4-결합과, 1,2,4-결합으로 연결되어 있음을 알 수 있었다. 그리고 terminal, 1,4-결합의 rhamnose, 1,6-결합된 glucose, 1,4,6-결합된 galactose도 소량 동정되었다.

파래의 황산기를 제거하였을 때 2-Me-Rhm와 Rhm의 함량이 감소한 반면 2,3-Me-Rhm과 3-Me-Rhm의 함량은 주로 증가하였

고, 2,3,4-Me-Rhm의 함량도 소량 증가하였다. 이는 rhamnose의 C-3에 주로 황산기가 결합되어 있음을 알 수 있다. Xylose는 3-Me-Xyl의 함량이 감소하면서 2,3-Me-Xyl의 함량이 증가하여 xylose는 C-2에 황산기가 결합되어 있음을 알 수 있었다. 황산기 제거 처리중 분자구조 변화 없이 황산기가 제거되었다면, 2-Me-Rhm의 37.0 mol% 전부가 2,3-Me-Rhm (42.5 mol%)로 전환되고, Rhm도 역시 대부분 3-Me-Rhm로 전환되어 rhamnose C-3에 주로 황산기가 결합되어 있음이 수치상으로도 잘 일치하고 있다. 또한 xylose도 역시 3-Me-xyl 전부가 2,3-Me-xyl로 전환되어 xylose C-2에 황산기가 결합되어 있음이 수치상으로도 잘 일치하고 있다. 다행을 환원처리하였을 때 2,3,6-Me-GlcUA의 함량이 0.7 mol%

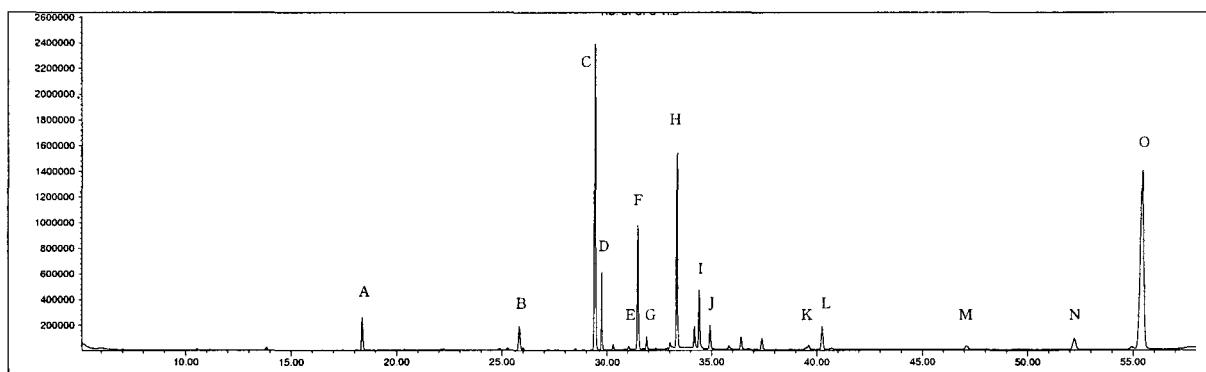


Fig. 2. Total ion chromatogram of the partially methylated alditol acetates from CPC-PS-R.
 A: 2,3,4-Me-Rhm, B: 2,3-Me-Rhm, C: 2-Me-Rhm, D: 2,3-Me-Xyl, E: 3-Me-Rhm,
 F: Rhm, G: 2,4,6-Me-Gal, H: 2,3,6-Me-GlcUA I: 3-Me-Xyl, J: 2,3,4-Me-Glc,
 K: Xyl, L: 2,3-Me-Gal, M: 3-Me-Gal, N: Glc, O: myo-inositol-(OAc)₆

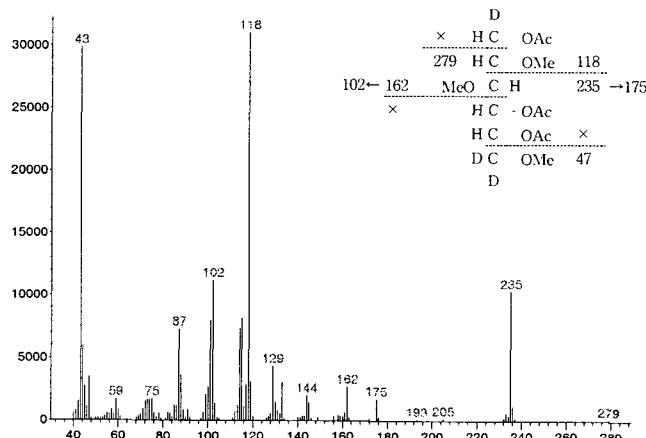


Fig. 3. Mass spectrum of 1,4,5-tri-O-acetyl-(1,6,6-tri-deutero)-2,3,6-O-methyl glucitol.

에서 17.5 mol%로 증가하였으며, 대부분의 다른 당들이 상대적으로 감소하여 파래의 우른산은 대부분이 1,4-결합으로 이루어진 glucuronic acid임을 확인할 수 있었다.

즉, 가시파래로부터 추출한 수용성 산성 다당의 주 구조를 살펴보면, C-3에 황산기가 결합한 1,4-, 1,2,4-rhamnose, C-2에 황산기가 결합한 1,4-xylose, 1,4-xylose, 그리고 1,4-glucuronic acid를 동정하였다. 그리고 미량의 1,4-rhamnose, 1,6-glucose, 1,4,6-galactose도 분리되었다.

Ray and Lahaye (1995b)는 *U. rigida*로부터 추출한 수용성 다당을 methylation 분석하였을 때 황산기가 C-2에 결합된 1,4-결합의 xylose, 황산기가 C-3에 결합된 1,4-, 1,2,4-결합된 rhamnose, 그리고 1,4-terminal 결합된 glucuronic acid를 분리하였고, Medgalf et al. (1972)은 1,3-결합된 glucuronic acid, 1,2,3,4-결합된 rhamnose, 1,4-결합된 xylose를 분리하였으며, 본 실험과 비교해 볼 때 황산기의 결합위치는 동일하였으며, 결합구조는 조금 다른 경향을 보여 파래 종 (species)마다 약간의 결합구조 차이가 있음을 나타내고 있다.

요약

국내에서 양식되는 가시파래의 당 결합 양식을 조사하기 위하여 가시파래의 수용성 산성 다당을 황산기 제거 및 우른산의 환원처리를 한 후 methylation하여 GC/MSD로 분석을 하였다.

가시파래의 수용성 산성 다당의 우른산은 대부분이 glucuronic acid였으며, 주로 황산기를 함유한 rhamnose, xylose, glucuronic acid로 이루어진 다당이었다. 이 수용성 산성 다당을 화학적 수식한 후 GC/MSD로 분석시 황산기는 rhamnose의 C-3과 xylose의 C-2에 결합되어 있었으며, 주 결합구조는 C-3에 황산기가 결합한 1,4-, 1,2,4-결합된 rhamnose, C-2에 황산기가 결합한 1,4-결합된 xylose, 1,4-결합된 xylose, 그리고 1,4-결합된 glucuronic acid였다. 그리고 일부 미량의 1,4-결합된 rhamnose, 1,4,6-결합된 galactose도 분리되었다.

감사의 글

본 연구는 군산대학교 수산과학 연구소의 일부 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Carpita, N.C. and E.M. Shea. 1987. Linkage Structure of carbohydrates by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of partially methylated alditol acetates. In *Analysis of Carbohydrates by GLC and MS*, C.J. Biermann and G.D. McGinnis eds, CRC Press, Boca Raton, pp. 157~216.
- Choi, Y.S., J.G. Koo, J.H. Ha and J.T. Yoon. 2002. Extraction and chemical composition of soluble polysaccharide from *Enteromorpha prolifera*. J. Korean. Fish. Soc., 35, pp. 519~523 (in Korean).
- Dogson, K.S. and R.G. Price. 1962. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. Biochem. J., 84, 106~110.

- Dubois, M., K.A. Gills, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350~356.
- Furneaux, R.H., I.J. Miller and T.T. Stevenson. 1990. Agaroids from New Zealand members of the *Gracilariaeae* (*Gracilariales, Rhodophyta*) - a novel dimethylated agar. *Hydrobiologia*, 204/205, 645~654.
- Harris, P.J., R.J. Henny, A.B. Blakeney and B.A. Stone. 1984. An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides and polysaccharides. *Carbohydr. Res.*, 127, 59~73.
- Inoue, Y. and K. Nagasawa. 1976. Selective N-desulfation of heparin with dimethyl sulfoxide containing water or methanol. *Carbohydr. Res.*, 45, 87~95.
- Knutson, C.A. and A. Jeanes. 1968. A new modification of the carbazole analysis. *Anal. Biochem.*, 24, 470.
- Lahaye, M. 1991. Marine algae as sources of fibres: determination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some 'sea vegetables'. *J. Sci. Food Agric.*, 54, 587~594.
- Lee, Y.S., D.S. Kim, B.H. Ryu and S.H. Lee. 1992. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *Korean J. Soc. Food Nutr.*, 21, 544~550 (in Korean).
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 256~275.
- Medcalf, D.G., C.F. Root, C.L. Carney, D. Mukhopadhyay, C.K. Miller and W.D. Hopewell. 1972. Chemical characterization of mucilaginous polysaccharides from *Ulvaceae* species native to the puget sound. *Proc. Int. Seaweed Symp.*, 7, 541~547.
- Nagasawa, K., Y. Inoue and T. Kamata. 1977. Solvolytic desulfation of glycosaminoglycuronan sulfates with dimethyl sulfoxide containing water or methanol. *Carbohydr. Res.*, 58, 47~55.
- Percival, E. and J.F. Wold. 1963. The acid polysaccharide from the green seaweed *Ulva lactuca*. Part II. The site of the ester sulfate. *J. Chem. Soc.*, 5459~5468.
- Percival, E. and R.H. McDowell. 1967. Polysaccharides containing uronic acid and ester sulphate. In *Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides*, E. Percival and R.H. McDowell eds., Academy Press, London, pp. 176~189.
- Ray, B. and M. Lahaye. 1995a. Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva 'rigida'* (Ulvales Chlorophyta)-Extraction and chemical composition. *Carbohydr. Res.*, 274, 251~261.
- Ray, B. and M. Lahaye. 1995b. Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva 'rigida'* (Ulvales Chlorophyta)-Chemical structure of ulvan. *Carbohydr. Res.*, 274, 313~318.
- Stevenson, T.T. and R.H. Furneaux. 1991. Chemical methods for the analysis of sulfated galactans from red algae. *Carbohydr. Res.*, 210, 277~298.
- Sweet, D.P., R.H. Shapiro and P. Albersheim. 1975. Quantitative analysis by various g.l.c. response-factor theories for partially methylated and partially ethylated alditol acetates. *Carbohydr. Res.*, 40, 217~225.
- Tayer, M. and H.E. Conrad. 1972. Stoichiometric depolymerization of polyuronides and glycosaminoglycuronans to monosaccharides following reduction of their carbodiimide-activated carboxyl Groups. *Biochemistry*, 11, 1383~1388.
- York, W.S., A.G. Darvell, M. McNeil, T.T. Stevenson and P. Albersheim. 1985. Isolation and characterization of plant cell walls and cell wall components. *Methods in Enzymology*, 118, 3~40.

2002년 7월 8일 접수

2002년 9월 18일 수리