

## 한천 올리고당 제조를 위한 유기산 처리 조건

주동식<sup>+</sup> · 김옥선\* · 조순영\* · 이창호\*\*  
동해대학교 관광외식산업학과, \*강릉대학교 동해안해양생물자원연구소  
\*\*강릉대학교 생물학과

## Preparation Conditions of Agar Oligosaccharides with Organic Acids

Dong-Sik JOO<sup>+</sup>, Ok-Seon KIM\*, Soon-Yeoung CHO\* and Chang-Ho LEE\*\*  
Department of Tourism and Foodservice Industry, Donghae University, Donghae 240-150, Korea  
\*East coastal Marine Bioresources Research Center, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea  
\*\*Department of Biology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

The optimum organic acid and temperature conditions were investigated for the preparation of oligosaccharides from agar. The tested organic acids were acetate, citrate, lactate, malate, and succinate and the conditions for oligosaccharides preparation were 0.3%, 0.5%, and 0.7% organic acid concentrations at 80~120°C. The low concentration of organic acid below 0.3% decreased the degrading ratio and the high concentration up 0.5% could not changed the degrading ratio. Conditions below 100°C was not good for degrading agar. But 110°C or 120°C was optimal temperature conditions for agarooligosaccharides according to the organic acid type and concentration. The organic acid concentration was 0.5% and organic acid was the citrate or malate. The treatment time considered optimum was 120~180 min. The maximal degrading ratio giving optimum conditions such as 110°C and 120°C was 35.5% and 38.7%, respectively. The agarooligosaccharides prepared by autoclaving at 110°C and 120°C were 2~7 species oligomer.

Key words: Agar, Oligosaccharide, Agarooligosaccharides, Organic acid

### 서 론

한천은 알긴산 및 카라기난과 더불어 식품 가공, 연구 및 공업 용으로 가장 널리 이용되고 있는 해조 유래 다당이다 (Rees, 1969; Araki, 1965). 한천의 물성이나 화학적 구조에 대한 연구는 충분히 이루어져 있으며, 이용에 대한 연구도 많이 이루어져 있다 (Duckworth and Yaphe, 1971). 한편, 한천의 당질 구조에서 유래하는 특성을 이용하기 위한 일련의 연구로 한천을 올리고당화하려는 시도가 있었으나 (Morrice et al., 1983; Duckworth and Yaphe, 1970; Groleau and Yaphe, 1977; Leon et al., 1992), 시장, 생산 방법, 올리고당의 효과에 대한 확실성이 없어 산업적 생산에는 이르지 못하고 있다. 최근에는 한천으로부터 만들어진 올리고당의 기능 특성이 새롭게 인식되면서 국내에서도 미생물 유래 효소를 이용한 한천 올리고당 제조에 대한 연구가 이루어지고 있고 (Joo et al., 1998a; Kim et al., 1998), 이의 간단한 기능 특성 연구가 이루어진 바 있다 (Joo et al., 1998b). 일반적으로 다당으로부터 만들어지는 올리고당은 효소적 분해 또는 화학적 분해로 제조될 수 있지만, 효소적 방법은 고비용이고, 강산에 의한 화학적 분해는 선택적으로 올리고당을 만들 수 없으면서 단당이 다량으로 생산될 가능성이 높은 단점이 있다.

한편, 최근에는 해조 및 해조 다당의 고부가가치적 이용에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있는데, 그 중 하나가 해조 다당의 저분자화 또는 올리고당화에 의한 식품 또는 의약품 소재로의 이용이라 할 수 있다 (Kato, 1999).

본 연구는 저농도의 유기산을 사용하여 한천으로부터 기능성

올리고당을 생산하는데 목적을 두고 다양한 조건 실험에 대하여 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### 재 료

한천과 acetate, citrate, lactate, malate, succinate와 같은 5종의 유기산은 시판 제품 (Sigma Co., USA)을 구입하여 사용하였다.

#### 유기산 처리 농도 및 분해 방법

가열 분해 처리 처리는 온도 조절이 가능한 water bath (VS 1205SW, Vision Inc., Korea)를 이용하여 80~100°C 온도 범위에서 행하였고, 110°C (7 Lbs 가압)와 120°C (15 Lbs 가압)의 가압 가열 처리는 고압멸균기 (Sanyo Co., MLS 3020, Japan)를 이용하였다. 마이크로파 가열은 마이크로파 장치 (MDS 2000, CEM Co., USA)를 이용하여 온도, 시간 및 처리강도 (power)를 조절하면서 처리하였으며, 초음파 처리는 고강도 초음파 처리기 (VCX 600-20 kHz, Sonics & Materials Inc., USA)를 이용하였으며, 사용한 probe는 tapered microtips (Φ3 mm)였다.

#### 환원당 및 분해율 측정

환원당은 Somogyi-Nelsson 법 (1952) 즉, 시료용액 1 mL과 구리 시약 1 mL을 시험관에 각각 취하고 water bath에서 20분간 가열하여 산화 제1구리 (Cu<sub>2</sub>O)을 생성시켰다. 여기에 몰리브덴 용액 1 mg/mL 가하여 발색시킨 다음, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 maltose를 사용한 표준 검량선으로부터 환원당을 정량하였다. 분해율은 전당 (10 mg/mL, 초기 한천 농도)에 대한 환원당의 비 즉,

<sup>+</sup>Corresponding author: dsjoo777@yahoo.co.kr

(환원당/전당)×100의 식으로 구하였으며, 아울러 중합도 (degree of polymerization, DP)는 환원당에 대한 전당의 비로써 환산하였다 (Waniska and Kinsella, 1980).

TLC

TLC는 plate (silica gel F<sub>254</sub>, Merck Co.)를 105°C에서 1시간 가열 전처리하고 방냉한 후, 이 plate에 시료액 10 µL를 spotting한 후 butanol, acetate, water의 혼합액 (2:1:1)을 전개용매로 전개한 다음 화염으로 태워서 발색시켰다.

결과 및 고찰

한천 분해를 위한 유기산 농도

한천 분해를 위한 적절한 유기산 농도 범위를 결정하기 위해 각 농도의 유기산 용액에 1%의 농도로 한천을 가하고 100°C, 1시간 처리하여 분해율을 확인하였다 (Fig. 1). 유기산의 종류에 관계없이 1% 농도까지는 분해율이 지속적으로 증가하였으나, 1% 이상의 농도에서는 분해율에 큰 변화가 없었다. 아울러 0.7% 이상의 유기산 농도에서는 분해율의 증가가 미미하여 한천 올리고당 제조를 위한 분해 조건 설정을 위한 처리 유기산 농도는 0.3%를 최저 농도로 하고, 0.7%를 최고 농도로 하였다.

한천의 유기산 분해

1) 가열 처리

온도를 달리하여 유기산 처리한 한천의 가수분해율은 온도가 높아짐에 따라 분해율이 증가하였고, 유기산의 농도에도 비례하여 증가하였다. 80°C에서는 유기산의 농도에 따른 분해율의 차이가 큰 것이 특징적이었는데 (Table 1), 0.3% 유기산 농도에서는 분해

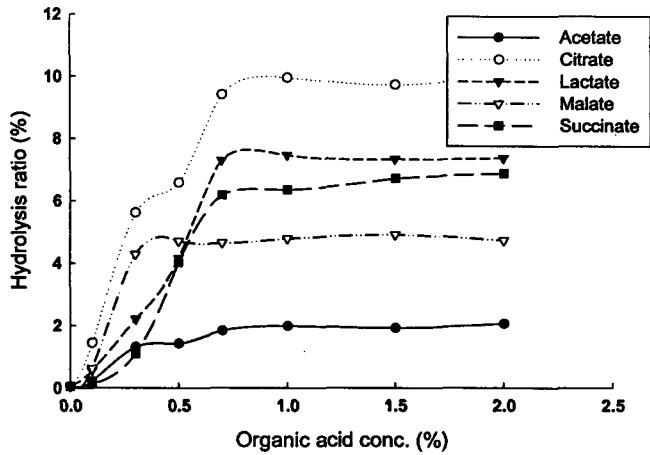


Fig. 1. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids and concentration at 100°C for 1 hr.

시간에 따른 큰 차이를 보이지 않았으나, 0.7%의 유기산 농도에서는 분해 시간에 따라 큰 차이를 보였으며, citrate나 malate 용액에서는 90분 이상 분해 처리가 60분 처리 경우보다 10배 이상의 높은 분해율을 나타내었다. 몇몇 실험 조건에서는 분해 시간이 짧은 경우, 0.5%가 0.7% 유기산 농도 조건에 비해 오히려 분해율이 높았는데, 이는 다당 분자들이 상대적으로 높은 농도의 유기산에서는 입자처럼 뭉쳐졌기 때문으로 판단되었다.

한편, 90°C에서의 전체적 경향은 80°C 조건과 유사하였으나, 유기산 농도와 처리시간에 따른 분해율의 차이는 크지 않은 것으로 나타났고, 80°C 조건에서 나타났던 유기산에 의한 한천의 입자화 현상은 나타나지 않았다 (Table 2). 100°C에서는 60분 및 90분 분해로는 citrate 이용 구간이 가장 분해율이 높게 나타났고, 120분 이상 분해할 경

Table 1. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids at 80°C

Treatment time (min)	Acetate solution			Citrate solution			Lactate solution			Malate solution			Succinate solution		
	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%
30	0.30* ± 0.01	0.39 ± 0.04	0.68 ± 0.12	2.04 ± 0.48	0.35 ± 0.16	1.77 ± 0.24	1.29 ± 0.24	1.67 ± 0.28	1.15 ± 0.16	1.38 ± 0.19	1.95 ± 0.26	1.57 ± 0.13	0.68 ± 0.18	1.81 ± 0.22	0.82 ± 0.14
60	0.54 ± 0.11	2.04 ± 0.30	0.63 ± 0.14	2.56 ± 0.31	3.50 ± 0.25	3.61 ± 0.33	1.81 ± 0.24	2.94 ± 0.19	2.18 ± 0.14	1.99 ± 0.29	2.94 ± 0.18	3.27 ± 0.31	1.71 ± 0.26	1.84 ± 0.17	0.82 ± 0.10
90	0.49 ± 0.12	0.63 ± 0.11	3.08 ± 0.22	0.25 ± 0.04	1.81 ± 0.22	11.72 ± 1.40	1.33 ± 0.23	0.82 ± 0.20	4.91 ± 0.24	1.48 ± 0.11	0.68 ± 0.11	10.11 ± 0.61	0.39 ± 0.15	0.25 ± 0.11	6.23 ± 1.17
120	1.29 ± 0.40	0.39 ± 0.04	4.40 ± 1.01	1.34 ± 0.44	1.94 ± 0.69	11.61 ± 1.32	1.83 ± 0.38	1.81 ± 0.27	10.22 ± 0.96	1.57 ± 0.34	1.62 ± 0.21	12.05 ± 1.55	0.49 ± 0.16	0.35 ± 0.05	8.55 ± 0.72
150	1.43 ± 0.12	1.44 ± 0.25	6.19 ± 0.77	2.94 ± 0.49	4.35 ± 0.87	17.44 ± 2.21	2.09 ± 0.13	3.03 ± 0.54	17.26 ± 1.82	0.72 ± 0.14	3.88 ± 0.66	16.52 ± 2.70	2.09 ± 0.28	2.23 ± 0.43	12.03 ± 1.92
180	1.38 ± 0.16	1.57 ± 0.32	7.94 ± 1.07	2.42 ± 0.28	3.74 ± 0.74	18.40 ± 2.51	2.33 ± 0.31	3.41 ± 0.55	16.51 ± 2.14	2.47 ± 0.32	3.55 ± 0.43	23.94 ± 1.91	1.81 ± 0.14	1.71 ± 0.12	15.8 ± 2.82

\*Each data represents the mean ± S.D. from triplicates.

Table 2. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids at 90°C

Treatment time (min)	Acetate solution			Citrate solution			Lactate solution			Malate solution			Succinate solution		
	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%
30	3.32* ± 0.32	1.37 ± 0.16	2.99 ± 0.58	5.20 ± 0.72	5.63 ± 0.67	5.67 ± 0.84	3.65 ± 0.23	5.20 ± 0.79	1.24 ± 0.18	4.68 ± 0.37	4.87 ± 0.64	1.85 ± 0.04	1.65 ± 0.12	2.19 ± 0.33	2.05 ± 0.19
60	1.36 ± 0.06	1.79 ± 0.15	1.21 ± 0.72	7.23 ± 0.97	7.79 ± 0.87	8.82 ± 0.99	5.25 ± 0.51	6.05 ± 0.66	5.55 ± 0.64	5.53 ± 0.67	6.99 ± 0.89	6.33 ± 0.72	2.64 ± 0.42	2.75 ± 0.35	1.29 ± 0.23
90	1.90 ± 0.14	2.84 ± 0.45	2.80 ± 0.29	8.60 ± 0.82	8.61 ± 0.66	12.12 ± 1.41	5.91 ± 0.22	8.12 ± 0.91	7.13 ± 0.84	7.28 ± 0.64	9.49 ± 0.45	10.22 ± 0.74	3.04 ± 0.21	4.17 ± 0.62	4.64 ± 0.26
120	2.35 ± 0.18	3.35 ± 0.41	4.56 ± 0.46	3.08 ± 0.20	7.41 ± 0.47	11.73 ± 1.62	6.57 ± 0.37	8.55 ± 0.31	9.23 ± 0.77	9.02 ± 0.84	8.84 ± 0.22	13.72 ± 1.25	4.68 ± 0.39	6.85 ± 0.71	6.86 ± 0.48
150	3.02 ± 0.22	2.68 ± 0.17	6.94 ± 0.49	3.56 ± 0.52	8.36 ± 0.42	15.91 ± 1.83	3.70 ± 0.34	7.14 ± 0.32	11.82 ± 2.13	8.55 ± 0.11	9.61 ± 0.71	16.25 ± 1.16	3.61 ± 0.21	6.86 ± 0.40	10.93 ± 2.40
180	3.22 ± 0.16	4.87 ± 0.35	8.59 ± 0.31	5.11 ± 0.71	8.55 ± 0.26	18.36 ± 2.54	9.07 ± 0.57	10.91 ± 1.73	15.94 ± 1.32	8.24 ± 0.39	16.90 ± 1.35	20.07 ± 1.93	5.77 ± 0.51	7.46 ± 0.40	14.1 ± 1.64

\*Each data represents the mean ± S.D. from triplicates.

우, 0.7% 농도의 citrate, lactate 및 malate에서는 20% 정도의 분해율을 나타내었으며 0.5% 농도에서는 유기산 종류에 따른 차이는 별로 없었다 (Table 3).

### 2) 고온가압처리

110°C에서는 100°C보다 전체적으로 유기산 종류나 농도, 분해 시간에 관계없이 분해율이 증가하였으며 (Table 4), 2시간 분해에서는 대개 20%가 넘는 분해율을 나타내었고, citrate, lactate 및 malate는 30% 이상의 분해율을 나타내었다. 특히 citrate나 malate의 경우 0.5% 농도에서 60분 처리로 20% 이상의 분해율을 나타내어 한천 분해물을 제조하기 위한 유기산으로는 malate나 citrate가 적절하다는 것을 간접적으로 확인할 수 있었다. 한편, 분해 온도 120°C의 경우 citrate와 malate의 농도에 따라서는 60분 분해로 30% 정도의 분해율을 나타내었고, 120분 이상 처리시에는 유기산과 처리농도에 따라 40%를 넘는 분해율을 나타내었는데 (Table 5), 이는 효소 처리법보다 15~20% 이상 높은 분해율이었다 (Joo et al., 1998b). 한편, 상대적으로 낮은 온도에서 분해율이 낮았던 acetate나 succinate에서도 30% 이상의 분해율을 나타

내어 한천의 분해는 결국 100°C 이하의 낮은 온도에서는 처리 유기산의 종류에 다소 의존하지만 120°C의 고온에서는 유기산의 종류보다는 처리 온도에 의존하는 경향을 보여주었다.

### 3) 마이크로파 및 초음파 처리

Microwave 장치로 100°C에서 30분 처리로 citrate의 경우 처리 농도에 따라 다소 차이를 보였는데, 0.5% 농도에서는 5%, 0.7% 농도에서는 8% 정도의 분해율을 나타내었다 (Table 6). 동일 조건에서 처리시간을 60분으로 하였을 때 각 농도의 유기산 조건에서 약 2% 정도 분해율이 상승하였다. Malate의 경우 60분 처리로 최대 9.7% 정도의 분해율을 나타내었고, 다른 유기산은 최대 3% 정도의 분해율을 보여, 전체적 마이크로파 처리 조건이 적절한 한천 분해 처리 방법이 아니라는 사실을 확인할 수 있었다. 50°C에서 초음파 전처리 조건에서는 유기산의 종류, 유기산 농도 및 처리 시간에 별로 영향을 받지 않았으며, 분해율도 1%를 넘지 못했다 (Table 7). 상기한 것처럼 유기산에 의한 한천의 분해 조건으로 분해율로만 판단해본다면, 120°C 고온가압처리 조건하에서 0.5% 또는 0.7%의 citrate나 malate를 이용하는 것이 가장 효과적이었다.

**Table 3. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids at 100°C**

Treatment time (min)	Acetate solution			Citrate solution			Lactate solution			Malate solution			Succinate solution		
	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%
30	0.82* ± 0.12	0.77 ± 0.19	1.81 ± 0.11	5.01 ± 0.33	5.15 ± 0.22	8.08 ± 0.48	3.22 ± 0.15	3.79 ± 0.19	5.11 ± 0.41	2.61 ± 0.07	5.34 ± 0.32	5.96 ± 0.27	0.91 ± 0.30	2.75 ± 0.31	3.32 ± 0.16
60	2.18 ± 0.41	0.58 ± 0.22	1.67 ± 0.20	5.48 ± 0.27	7.04 ± 0.51	10.51 ± 0.72	2.87 ± 0.30	4.40 ± 0.22	7.70 ± 0.34	4.64 ± 0.24	4.68 ± 0.20	11.17 ± 0.70	1.58 ± 0.22	3.69 ± 0.23	7.75 ± 0.25
90	2.28 ± 0.28	2.47 ± 0.36	5.48 ± 0.73	7.65 ± 0.30	8.78 ± 0.78	18.32 ± 2.13	4.92 ± 0.41	6.90 ± 0.56	14.72 ± 1.01	7.04 ± 0.18	4.62 ± 0.34	17.14 ± 1.21	5.53 ± 0.13	4.07 ± 0.26	8.74 ± 0.68
120	3.17 ± 0.33	4.78 ± 0.14	7.32 ± 0.82	12.51 ± 0.54	9.21 ± 0.29	22.53 ± 1.52	4.00 ± 0.29	7.51 ± 0.43	16.44 ± 1.41	6.47 ± 0.26	4.68 ± 0.16	20.25 ± 0.63	4.68 ± 0.25	6.80 ± 0.32	10.22 ± 0.34
150	3.03 ± 0.25	4.83 ± 0.42	8.70 ± 0.79	11.44 ± 1.42	9.74 ± 0.64	21.40 ± 2.25	4.14 ± 0.18	8.69 ± 0.33	20.35 ± 0.83	7.41 ± 0.35	2.51 ± 0.11	17.32 ± 0.35	4.59 ± 0.23	5.15 ± 0.72	8.81 ± 0.49
180	3.74 ± 0.19	5.06 ± 0.57	6.76 ± 0.45	10.15 ± 0.54	9.36 ± 1.28	20.92 ± 2.46	4.28 ± 0.52	8.84 ± 0.26	22.71 ± 1.71	7.60 ± 0.24	12.42 ± 0.92	28.96 ± 1.65	5.25 ± 0.18	6.99 ± 0.65	12.65 ± 0.91

\*Each data represents the mean ± S.D. from triplicates (n=3).

**Table 4. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids at 110°C in autoclave**

Treatment time (min)	Acetate solution			Citrate solution			Lactate solution			Malate solution			Succinate solution		
	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%
30	2.99* ± 0.21	4.02 ± 0.15	6.00 ± 0.11	5.15 ± 0.34	11.04 ± 0.42	19.50 ± 1.55	5.25 ± 0.18	4.20 ± 0.33	15.01 ± 1.13	8.08 ± 0.32	17.34 ± 1.12	27.90 ± 1.85	3.83 ± 0.53	6.19 ± 0.40	10.91 ± 1.11
60	5.53 ± 0.18	8.27 ± 0.44	12.42 ± 0.93	7.04 ± 0.62	9.96 ± 0.27	25.89 ± 2.42	8.74 ± 0.11	6.66 ± 0.28	22.89 ± 1.51	18.21 ± 0.44	27.99 ± 2.23	29.77 ± 2.15	2.89 ± 0.21	12.21 ± 1.22	17.65 ± 0.41
90	5.72 ± 0.13	12.12 ± 1.14	18.22 ± 1.83	22.34 ± 1.92	13.77 ± 1.23	26.53 ± 1.34	30.58 ± 2.31	21.58 ± 1.73	23.26 ± 2.35	23.35 ± 1.35	27.05 ± 2.82	32.41 ± 1.28	15.90 ± 1.42	16.04 ± 1.66	17.34 ± 0.32
120	4.87 ± 0.24	15.51 ± 1.85	17.03 ± 1.36	24.05 ± 2.45	20.61 ± 1.58	30.44 ± 1.94	35.81 ± 1.62	23.22 ± 2.05	28.57 ± 2.23	30.94 ± 0.85	32.91 ± 2.64	34.10 ± 0.85	17.29 ± 1.83	22.72 ± 1.31	24.38 ± 0.92
150	15.80 ± 1.52	20.16 ± 1.31	21.34 ± 1.43	22.19 ± 1.63	30.30 ± 2.15	38.56 ± 3.17	35.47 ± 2.25	32.50 ± 2.31	30.70 ± 2.00	32.72 ± 1.45	32.21 ± 1.27	34.85 ± 2.52	19.00 ± 2.19	25.29 ± 2.24	24.52 ± 1.84
180	18.12 ± 1.73	22.73 ± 2.16	26.88 ± 2.56	22.28 ± 1.86	35.57 ± 2.84	35.29 ± 1.54	31.50 ± 1.17	35.83 ± 2.82	34.51 ± 2.51	31.55 ± 2.67	33.51 ± 2.14	35.35 ± 2.14	24.77 ± 1.96	28.57 ± 2.63	32.66 ± 2.48

\*Each data represents the mean ± S.D. from triplicates.

**Table 5. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids at 120°C in autoclave**

Treatment time (min)	Acetate solution			Citrate solution			Lactate solution			Malate solution			Succinate solution		
	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%
30	4.68* ± 0.24	16.88 ± 1.43	8.12 ± 0.35	21.71 ± 1.65	18.11 ± 1.07	13.43 ± 0.43	9.11 ± 0.25	11.15 ± 0.56	11.49 ± 1.37	16.31 ± 0.92	14.13 ± 1.03	17.75 ± 1.14	17.54 ± 1.14	11.12 ± 0.54	6.67 ± 0.48
60	12.52 ± 0.32	16.51 ± 0.62	21.32 ± 1.35	18.42 ± 1.04	16.56 ± 1.91	16.89 ± 0.84	15.15 ± 0.29	11.87 ± 0.36	15.38 ± 0.63	24.77 ± 0.62	27.16 ± 0.84	35.20 ± 1.32	8.17 ± 0.21	21.76 ± 0.22	12.71 ± 0.51
90	15.45 ± 0.61	14.04 ± 0.42	32.91 ± 1.80	23.94 ± 0.71	24.62 ± 0.74	37.82 ± 1.15	28.33 ± 1.54	23.60 ± 1.17	34.62 ± 2.13	30.55 ± 1.38	20.80 ± 1.27	43.44 ± 1.45	19.96 ± 1.15	25.32 ± 0.47	40.41 ± 1.91
120	22.53 ± 1.17	29.12 ± 1.27	30.55 ± 0.95	35.22 ± 1.39	30.05 ± 1.15	39.03 ± 2.56	35.42 ± 2.61	30.53 ± 1.41	37.52 ± 1.84	36.48 ± 1.76	30.55 ± 0.44	40.05 ± 1.52	33.34 ± 0.84	27.90 ± 1.41	36.80 ± 0.55
150	25.55 ± 1.52	28.59 ± 0.53	30.50 ± 1.23	38.20 ± 2.21	33.14 ± 2.14	33.11 ± 0.92	35.70 ± 2.27	34.25 ± 1.73	33.15 ± 2.01	35.71 ± 1.45	33.19 ± 1.85	38.52 ± 0.26	28.80 ± 1.24	33.35 ± 0.52	32.10 ± 1.78
180	30.53 ± 0.92	29.14 ± 1.73	30.84 ± 1.43	38.76 ± 1.19	31.61 ± 0.58	38.73 ± 1.23	37.34 ± 1.39	32.64 ± 0.91	35.90 ± 1.21	33.56 ± 0.83	34.06 ± 1.65	37.39 ± 2.07	32.60 ± 1.73	34.58 ± 1.43	36.12 ± 0.91

\*Each data represents the mean ± S.D. from triplicates.

**Table 6. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids at 100°C using microwave system**

Treatment time (min)	Acetate solution			Citrate solution			Lactate solution			Malate solution			Succinate solution		
	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%
30	1.04* ± 0.14	1.26 ± 0.09	1.11 ± 0.11	4.13 ± 0.27	4.87 ± 0.27	8.27 ± 0.63	2.12 ± 0.11	2.19 ± 0.14	4.40 ± 0.39	2.33 ± 0.22	4.68 ± 0.19	5.32 ± 0.31	1.41 ± 0.16	2.28 ± 0.11	2.68 ± 0.27
60	1.18 ± 0.32	1.42 ± 0.06	1.61 ± 0.35	5.14 ± 0.50	6.32 ± 0.27	10.80 ± 0.48	3.54 ± 0.26	4.44 ± 0.32	6.65 ± 0.66	4.81 ± 0.10	6.42 ± 0.32	9.72 ± 0.62	1.87 ± 0.24	2.92 ± 0.13	3.57 ± 0.34

\*Each data represents the mean ± S.D. from triplicates.

**Table 7. Hydrolysis ratio of agar-agar treated with various organic acids at 50°C using ultrasonicator**

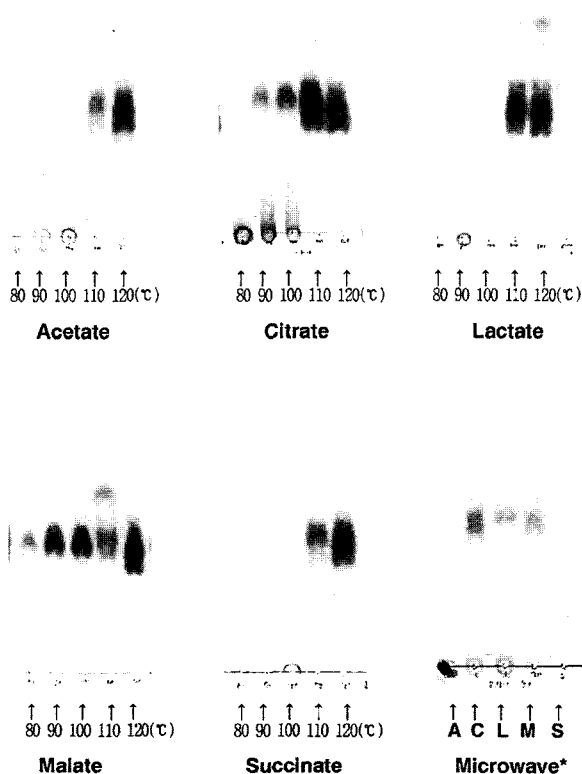
Treatment time (min)	Acetate solution			Citrate solution			Lactate solution			Malate solution			Succinate solution		
	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%	0.3%	0.5%	0.7%
30	0.17* ± 0.02	0.21 ± 0.04	0.32 ± 0.03	0.26 ± 0.02	0.43 ± 0.04	0.37 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.40 ± 0.05	0.48 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.42 ± 0.05	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.02	0.22 ± 0.04
60	0.43 ± 0.04	0.39 ± 0.02	0.41 ± 0.05	0.52 ± 0.02	0.49 ± 0.03	0.62 ± 0.03	0.28 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.52 ± 0.04	0.54 ± 0.03	0.48 ± 0.01	0.37 ± 0.06	0.31 ± 0.05	0.38 ± 0.02

\*Each data represents the mean ± S.D. from triplicates.

**분해물의 TLC 및 중합도**

유기산 종류별 0.5% 농도에서 처리 온도에 따른 한천의 분해물의 TLC 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 유기산 종류에 따른 차이는 확연하게 구분되지 않았지만, 온도에 따른 변화는 어느 정도 확인되었다. 특히 분해 시간이 경과함에 따라 저분자 획분이 TLC 상에서 나타났고, 유기산으로는 citrate와 malate를 사용한 경우가 낮은 온도에서도 뚜렷한 분해가 일어났다. 대체적으로 분해 온도

는 TLC상의 형태로도 110~120°C가 적절하였고, 분해 시간의 조절로 과도한 분해에 의한 저분자 물질의 다량 생성을 막는 것이 필요하였다. 또한 분해율을 고려하지 않는다면 유기산의 종류에 관계없이 분해 온도 및 시간 조절만으로도 목적하는 분해물을 얻을 수는 있음을 알 수 있었다. 한편, TLC 상에서 확인된 획분들의 올리고당 유무를 판별하는 것은 직접적으로 크로마토그래피를 통해 분자량을 측정하는 것이 확실하지만 본 연구에서는 전체 분해물의 중합도를 간접적으로 측정하여 올리고당 유무를 판별하였다. 그 방법으로 중합도를 측정하였는데, 즉 환원당에 대한 전당의 비로서 DP를 측정한 결과, 분해율에서도 확인되었던 것처럼 2~6 정도의 중합도를 나타내었다 (Table 8). 실제 TLC 상에서 나타난 획분들이 분자량에서는 차이가 있겠지만 올리고당이 확실하였고, 효소 분해에 의한 한천 올리고당과도 구별되었다 (Joo et al., 1998b).



**Fig. 2. TLC patterns of agar hydrolysates on each condition. (A, acetate; C, citrate; L, lactate; M, malate; S, succinate).**

**Table 8. Polymerization degree (DP) of agar-agar hydrolysates**

Samples	DP*
110°C - citrate	6.9 ± 1.1
120°C - citrate	4.3 ± 1.7
110°C - malate	6.5 ± 0.5
120°C - malate	2.6 ± 1.1

\*Each data represents the mean ± S.D. from five replicates (n=5).

한편, 유기산 분해 조건은 분해 산물의 분해율, 올리고당의 생성 정도 및 기능특성 등의 측면에서 어느 처리 조건이 유효할 것인지는 향후 충분한 실험이 이루어져야 할 것으로 생각된다. 하지만 유기산 처리로 얻어지는 분해물의 특정 기능성을 예측할 수 없어서 분해율과 TLC 상의 올리고당 획분, 분해 처리 후의 풍미 및 식품 첨가물로서의 용도 등으로 판단해 볼 때 citrate나 malate가 적절할 것으로 판단되었으며, lactate나 succinate 분해 산물이 특정 기능성을 가지고 있을 때에는 이들 유기산도 충분히 고려해야 할 대상으로 여겨진다.

## 요 약

유기산을 이용한 한천의 올리고당화 조건을 검색한 결과, 유기산 조건에 관계없이 온도에 영향을 크게 받는 것으로 나타났으며, 100°C 이하의 온도에서는 한천이 올리고당으로 분해되지 못하였다. 반면, 110°C와 120°C 조건은 유기산의 종류와 농도에 관계없이 올리고당화 할 수 있는 조건이었으며, 유기산 종류 및 농도, 처리 시간에 따라 분해율의 차이를 나타내었다. 즉 유기산의 농도가 높고 처리 시간이 길수록 분해율은 높았고, 120°C 조건에서는 처리 시간 90분 이후로는 0.5%와 0.7%의 유기산 농도가 큰 차이가 없었으며, 분해율만을 고려한 처리 유기산 조건은 citrate나 malate 0.5%가 적절한 것으로 확인되었다. 마이크로파 처리나 초음파 처리에 의한 한천의 분해율은 5% 이내로 매우 부분적으로 일어나 저분자화나 올리고당화의 가열매체로서는 의미가 없었다. 110°C 이상의 온도에서 얻어진 분해물의 TLC 상의 형태는 유기산의 종류에 따라 다소 차이가 있었으며, 분해 온도가 높을수록 저분자획분이 많이 나타났다. TLC 상에서 나타난 spot 들의 중합도를 확인한 결과, 평균 중합도가 2~6 정도인 한천 올리고당인 것으로 확인되었다.

## 감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지정 강릉대학교 동해안 해양생물자원 연구센터의 지원에 의한 것입니다.

## 참 고 문 헌

- Araki, C.L. 1965. Some recent studies on the polysaccharides of agarophytes, pp. 3~17. In E.G. Young and J.L. MacLahan (ed.), Proc. Int. Seaweed Symp. 5, Pergamon Press, London.
- Durkworth, M. and W. Yaphe. 1970. Thin-layer chromatographic an-

- alysis of enzymic hydrolysates of agar. J. Chrom., 49, 482~487.
- Durkworth, M. and W. Yaphe. 1971. The structure of agar. Part 1. The fractionation of a complex mixture of polysaccharides. Carbohydr. Res., 16, 189~197.
- Groleau, D. and W. Yaphe. 1977. Enzymatic hydrolysis of agar; purification and characterization of  $\beta$ -neoagarotetraose hydrolase from *Pseudomonas atlantica*. Can. J. Microbiol., 23, 672~679.
- Joo, D.S., H.M. Song, J.S. Lee, S.Y. Cho and E.H. Lee. 1998a. Characterization and purification of agarase from *Cytophaga* sp. ACLJ-18. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 13, 320~324 (in Korean).
- Joo, D.S., S.Y. Cho and E.H. Lee. 1998b. Preparation of agar hydrolysates by agarase and functionality of the hydrolysates. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 13, 378~382 (in Korean).
- Kato, I. 1999. The functions of agar and agaro-oligosaccharides. Food & Develop., 33, 44~46 (in Japanese).
- Kim, B.J., S.D. Ha, D.J. Lim, C.M. Song and J.Y. Kong. 1998. Production of agarooligosaccharides using of agarase from marine bacterium *Bacillus cereus* ASK202. Korean J. Biotech. Bioeng., 13, 524~529 (in Korean).
- Leon, O., L. Quintana, G. Peruzzo and J.C. Slebe. 1992. Purification and properties of an extracellular agarase from *Alteromonas* sp. strain C-1. Appl. Environ. Microbiol., 58, 4060~4063.
- Morrice, L.M., M.W. McLean, F.B. Williamson and W.F. Long. 1983.  $\beta$ -Agarase I and II from *Pseudomonas atlantica* purifications and some properties. Eur. J. Biochem., 135, 553~558.
- Rees, D.A. 1969. Structural conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks. Adv. Carbohydr. Biochem., 24, 267~332.
- Somogyi, M. and N. Nelson. 1952. Notes on sugar determination. J. Biol. Chem., 195, 19~23.
- Waniska, R.D. and J.E. Kinsella. 1980. Comparison of methods for separating oligosaccharides: ultrafiltration, gel permeation and adsorption chromatography. J. Food Sci., 45, 1259~1262.

2002년 10월 2일 접수

2003년 1월 4일 수리