

## Exo-polygalacturonase를 이용한 사과박의 펙틴 추출

이승철 · 육현균 · 배성문 · 황용일 · 최정선\* · 조용진\*  
경남대학교 식품공학과, \*한국식품개발연구원

### Extraction of Pectin with Exo-polygalacturonase from Apple Pomace

Seung-Cheol Lee, Hyun-Gyun Yuk, Sung-Moon Bae,  
Yong-Il Hwang, Jung-Sun Choi\* and Yong-Jin Cho\*  
Department of Food Engineering, Kyungnam University  
\*Korea Food Research Institute

#### Abstract

In order to overcome some disadvantages of acidic solubilization of pectin from apple pomace, enzymatic selective solubilization with exo-polygalacturonase was developed. According to analyses of the effects of temperature, pH and reaction time on extraction yield, the maximum yield by the enzymatic method, shown under the extraction condition of 45°C, pH 7 and 60 hours, was 31.0%, whereas the yield from an acidic method was 8%. Also, the quality of pectin extracted by the enzymatic method was compared to that from acidic solubilization. The purity and methoxyl content of enzyme-extracted pectin were 80.1% and 6.36%, respectively, which were higher than 75.7% and 2.44% of acid-solubilized pectin. Viscosity average molecular weights of enzymic extracted and acid solubilized pectins were  $1.50 \times 10^6$  and  $7.66 \times 10^6$ , respectively.

Key words: pectin, exo-polygalacturonase, apple pomace

## 서 론

펙틴은 galacturonic acid와 methanol을 주성분으로 하는 다당류로서, 식물조직의 세포벽이나 중엽에서 발견된다<sup>(1,2)</sup>. 펙틴은 식물세포의 기계적 강도를 유지하거나 세포간의 결합, 조직의 강도, 응집성 및 점조성 등에 영향을 미친다<sup>(3)</sup>. 펙틴은 특유의 성질로 말미암아 식품에서 겔화제, 안정제, 점증제 등으로 이용되며, 또한 의약, 화장품 등에 널리 이용되어져 왔다<sup>(4)</sup>. 최근에는 정장 작용, 콜레스테롤 저하 효과, 지방대체제로서의 기능성 등이 보고되어 그 사용량이 계속 증가하고 있다<sup>(5)</sup>.

펙틴은 산이나 알칼리 처리를 통하여 식품으로부터 단계적으로 얻을 수 있으며, 산업적으로는 감귤류의 껍질이나 사과박에 고온의 산 용액을 처리하는 화학적 방법을 사용하고 있다<sup>(6)</sup>. 그러나 산처리 방법은 불순물을 함유하여 펙틴의 순도를 낮추어 기능성을 저하시키고 기기를 부식시키며 수질오염을 야기하는 등

의 단점을 가지고 있다. 이러한 단점들을 보완하기 위한 방안으로 hemicellulase, cellulase 등의 효소를 이용하여 펙틴을 추출하는 연구가 보고되었다<sup>(7)</sup>.

Exo-polygalacturonase (EPG)는 protopectinase의 일종으로서 프로토펙틴으로부터 펙틴을 방출하며, 식물의 부패에 관여하는 미생물과 토양 미생물에 많이 존재한다<sup>(8,9)</sup>. EPG는 cellulose와 결합된 펙틴의 중성당 결사슬을 분해하거나, homogalacturonan부분을 분해한다<sup>(10-12)</sup>. EPG는 식물성 식품소재에 대한 단세포화<sup>(13,14)</sup>, 식물세포의 protoplast 생산<sup>(15)</sup> 등에 응용성을 가진다고 보고되었으며, 그 중요성은 점차 증가하고 있다. 사과의 펙틴은 세포벽의 cellulose나 hemicellulose에 에스테르결합화되어 프로토펙틴의 형태로 존재하고 있으며, 사과의 숙성에 따라 일부가 가용성 펙틴으로 전환된다. EPG는 프로토펙틴을 제한 가수분해하고, 토양 미생물로부터 대량 생산이 가능하므로 펙틴 추출에 매우 효과적이라 기대된다.

따라서, 본 연구에서는 EPG라는 효소를 이용하여 효소가 가지고 있는 식물세포벽의 선택적 수용화에 의한 고품질, 고수율의 펙틴 생산기술을 개발하고자 *Rhizopus* sp.에서 생산된 EPG<sup>(16)</sup>를 이용하여 사과박의

Corresponding author: Seung-Cheol Lee, Department of Food Engineering, Kyungnam University, Wolyoung-Dong, Happpo-Gu, Masan 631-701, Korea

펙틴 추출 효과를 분석하였으며, 추출된 펙틴의 특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 연구에서 사용한 건조 사과박은 국내 사과음료수 생산공장(경북 군위군 경북능금조합)에서 수거한 것으로 hammer mill로 분쇄하여 80 mesh체를 통과시켜 -10°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다. 실험에 이용한 *exo-polygalacturonase*는 Yakult Honsha (Tokyo, Japan)에서 구입했고, *alcohol oxidase* (EC 1.1.3.13)는 Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, U.S.A)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 기타 시약들은 특급품 이상을 사용하였다.

### 사과박으로부터 Water-Alcohol Insoluble Pectin (WAIP)의 제조

사과박(10 g)을 증류수(20 mL)에 혼합한 후 마쇄기 (AM-T, Nihonseiki Kaisha LTD, Japan)를 이용하여 30초간, 2회에 걸쳐서 사과박을 잘게 마쇄하였다. 여과지(Whatman No.2)로 사과박의 마쇄물을 걸러낸 후, 그 여과물에 ethanol (20 mL)을 가하여 20분간 가열하였다. 이것을 다시 여과한 후 그 여과물에 ethanol (20 mL)을 가하여 한번 더 여과하고, 최종적으로 그 여과물에 acetone (20 mL)을 가하여 여과한 후 동결건조시켜서 WAIP를 얻었다.

### WAIP로부터 Acid Soluble Pectin (ASP)의 제조

WAIP 2 g에 0.05 M의 HCl 100 mL를 첨가한 후 60°C에서 30분간 가열하였다. 냉동 원심분리기(Hitachi, 20PR-502, Japan)에서 10,500×g, 20분간 원심분리한 후 여과지로 여과하고 여과액에 1 M NaOH를 첨가하여 용액의 pH를 4.5로 조절하였다. 이 용액에 acetone 량이 70%가 되도록 첨가하여 19,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 최종적으로 침전물을 acetone으로 씻은 후 동결건조시켰다.

### WAIP로부터 Enzyme Soluble Pectin(ESP)의 제조

20 mM의 각 buffer 100 mL (pH 3.0, citrate buffer; pH 4.0, acetate buffer; pH 5.0, acetate buffer; pH 6.0, sodium phosphate buffer; pH 7.0, sodium phosphate buffer; pH 8.0, Tris buffer; pH 9.0, glycine buffer)에 WAIP 1 g과 효소 적당량을 첨가한 후 배양기(HB-201 SF)에서 온도와 시간을 달리하여 100 rpm으로 진탕하

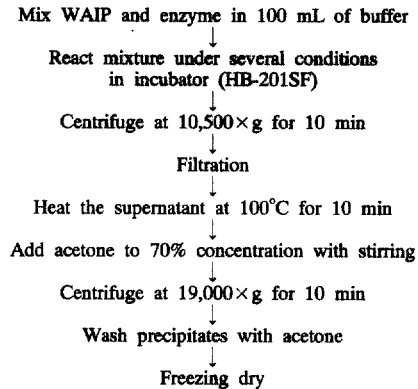


Fig. 1. Extraction process of enzyme-soluble pectin (ESP) from water alcohol insoluble pectin (WAIP).

며 반응시켰다. 배양이 끝난 후 10,500×g에서 10분간 원심분리하였다. 상정액을 여과지로 여과한 후 100°C에서 10분간 가열한 후, acetone량이 70%가 될 때까지 잘 저으면서 첨가하였다. 그 후 19,000×g에서 10분간 원심분리시켜 침전물(enzyme soluble pectin)을 acetone으로 씻은 후 동결건조기에서 건조시켰다(Fig. 1).

### 펙틴의 순도 및 methoxyl 함량 측정

펙틴의 순도는 추출 펙틴의 galacturonic acid를 *m*-hydroxydiphenyl법으로 측정하여 측정된 galacturonic acid양을 시료 양에 대한 백분율로 나타내었다<sup>(17)</sup>. 0.01% (w/v)의 펙틴 용액 0.5 mL를 냉수에서 5분 동안 식힌 뒤 황산을 용매로 하여 만든 12.5 mM의 sodium tetraborate 3 mL를 첨가하여 혼합시켰다. 그 후 100°C에서 5분간 끓이고 나서 다시 냉수에서 5분간 식히고, 0.5% (w/v) sodium hydroxide에 녹인 0.15% (w/v) *m*-hydroxydiphenyl을 0.05 mL 첨가하여 잘 혼합한 뒤 20분 후에 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 0.001~0.010% galacturonic acid를 사용하였다.

펙틴의 methoxyl 함량은 0.001~0.010% methanol을 표준물질로 사용하여 추출된 galacturonic acid 내의 carboxyl기의 에스테르화 정도를 Klavons & Bennett법<sup>(18)</sup>으로 측정하였다. 추출 펙틴 3 mg을 증류수 5 mL에 녹인 뒤 1.0 N potassium hydroxide 용액을 5 mL 첨가하고 실온에서 30분간 정치시킨 후, 5% (v/v) *o*-phosphoric acid를 이용하여 용액의 pH를 7.5로 맞추고 전체 용액이 20 mL가 되게끔 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 첨가하여 stock solution을 제조하였다. Stock solution 중 1 mL를 취하여 1 unit/mL의 alcohol oxidase를 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 용해시킨 용액 1 mL를 첨가한 후

25°C에서 15분간 반응시키고, 2.0 M ammonium acetate 와 0.05 M acetic acid에 용해된 0.02 M pentan-2,4-dione 용액 2 mL를 첨가하고 잘 혼합한 뒤 60°C에서 15분간 열처리를 하고 실온에서 식힌 뒤 412 nm에서 흡광도를 측정했다.

#### 펙틴의 분자량 분석

펙틴의 분자량은 고유 점도로부터 산출하였다. 펙틴의 고유점도는 Cannon-Fenske capillary viscometer를 이용하여 측정하였다. 일정량의 펙틴을 중류수에 넣고 상온에서 1시간 교반한 후, 이를 0.45 µm Millipore filter에서 여과하여 10 mL의 용액을 Cannon-Fenske 모세점도관(size 50)에 넣고 25±0.1°C에서 점도를 측정하였다.

비점도(specific viscosity:  $\eta_{sp}$ )와 고유점도(intrinsic viscosity:  $[\eta]$ )는 각각 다음 식을 이용하여 결정하였다.

$$\eta_{sp} = (\eta - \eta_s) / \eta_s$$

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{sp} / C$$

여기서  $\eta$ 은 용액의 점도,  $\eta_s$ 는 용매의 점도, C는 용액의 농도이다. 펙틴의 분자량은 위에서 구한 고유점도를 다음의 Mark-Houwink<sup>(19)</sup> 식에 대입하여 계산하였다.

$$[\eta] = 2.16 \times 10^{-4} M^{0.79}$$

$$\text{즉, } M = (4,630 \times [\eta])^{1.2658}$$

### 결과 및 고찰

#### 사과박으로부터 WAIP의 제조 및 ASP의 제조

본 연구에 이용된 건조 사과박의 화학적 성분은 수분 11.4%, 조단백질 3.7%, 조지방 4.5%, 회분 1.8%, 탄수화물 70.9% (중성당 38.3%, 우론산 27.4%, 전분 5.2%) 이었다. 사과박으로부터 효소를 이용하여 펙틴을 추출하기 위하여 불용성 펙틴을 함유한 WAIP를 제조하였다. Table 1에 단계별 추출률을 표시한 바와 같이 사과박 질량의 32.5%가 WAIP로 회수되었다. 한편, 효소에 의해 추출된 펙틴을 기존의 산처리 방법에 의한 펙틴과 비교 분석하기 위하여 사과박의 불용성 펙틴인 WAIP에 산을 처리하여 수용성 펙틴을 추출한 결과, 약 8%의 펙틴 추출 수율이 있었다.

WAIP로부터 ESP (enzyme soluble pectin)의 제조  
EPG는 일본 Yakult사에서 판매하고 있는 *Rhizopus*

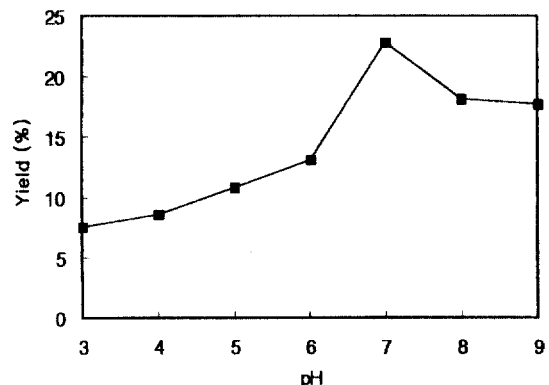
**Table 1. Galacturonic acid content on each steps for WAIP preparation process**

Step	Total galacturonic acid (g)	Yield (%)
Apple pomace	6.767	100.0
Distilled water washing <sup>1)</sup>	1.600	23.6
EtOH boiling <sup>1)</sup>	0.374	5.5
EtOH washing <sup>1)</sup>	0.398	5.9
Acetone washing <sup>1)</sup>	0.062	0.9
WAIP	2.199	32.5

<sup>1)</sup>Filtered liquids after each filtration were used as samples.

속의 상업용 효소로서, galacturonic acid 사슬의 말단에서 galacturonic acid를 유리시키으로써 프로토펙틴을 분해하는 작용을 한다. 이 효소는 식물 조직의 세포벽에 존재하는 프로토펙틴을 분해하여 식물세포를 단세포화하는 기능이 밝혀져 식물 기원의 식품 원료의 가공에 이용될 수 있다<sup>(16)</sup>.

사과박으로부터 EPG에 의한 펙틴 추출의 최적 조건을 구하기 위하여 먼저 pH를 변화시키면서 효소 반응을 수행하였다(Fig. 2). 효소 반응 조건은 36°C, 40시간의 반응시간으로 고정하고, 반응용액 100 mL에 기질인 WAIP 1 g과 효소 EPG 0.1 g을 가하고 pH만을 변화시켜 추출된 수용성 펙틴을 측정하였다. 이 결과, 산성에서 중성으로 갈수록 추출되는 펙틴의 양이 증가하여 pH 7에서 WAIP의 22.8%가 수용성 펙틴으로 추출되었으며, 염기성 pH로 갈수록 추출률은 감소하였다. 단세포화를 위한 EPG의 반응 최적 pH는 일반적으로 산성(pH 5)으로 보고되어 있으나, 사과박에서의 불용성 펙틴에 대한 반응은 중성에서 최적을 나타내어 기질에 대한 효소의 반응 기작이 다소 차이가 있음을 보였다.



**Fig. 2. Effect of pH on the extraction of soluble pectin from WAIP by exo-polygalacturonase (EPG) at 36°C with 40 hr of reaction.**

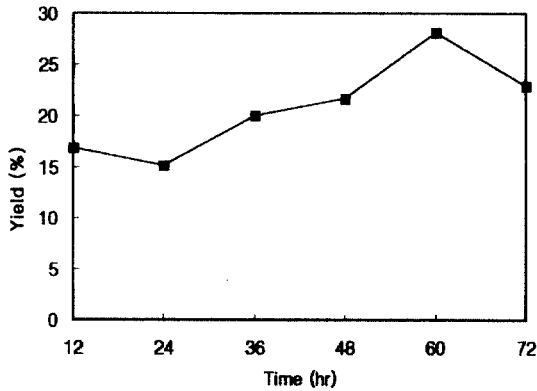


Fig. 3. Effect of reaction time on the extraction of soluble pectin from WAIP by exo-polygalacturonase (EPG) at 36°C, pH 7.

효소 반응 시간의 영향을 조사하기 위하여 pH를 7로 고정하고 그 외의 조건은 Fig. 2와 같이 하면서 반응시간을 변화시켜 EPG의 펙틴 추출에 대한 영향을 조사하였다(Fig. 3). 반응시간이 증가하면서 추출되는 펙틴의 양도 증가하여 60시간의 반응에서 28.1%로 가장 추출률이 높았으며, 그 이상의 시간에서는 감소하였다. 이는 추출된 펙틴이 EPG에 의하여 부분적으로 분해되는 것으로 추측된다.

반응온도에 따른 EPG의 영향을 조사하기 위하여 반응시간은 60시간으로, 반응 pH는 7.0으로 고정하고 그 외의 조건은 Fig. 2와 같이 하면서, 온도를 변화시키면서 펙틴 추출률을 측정하였다(Fig. 4). 본 연구에서 조사한 30°C에서 70°C까지의 온도 범위에서 온도의 영향은 비교적 적었으며, 45°C에서 27.1%로 가장 추출률이 높았다. 온도에는 효소의 안정성과 기질의

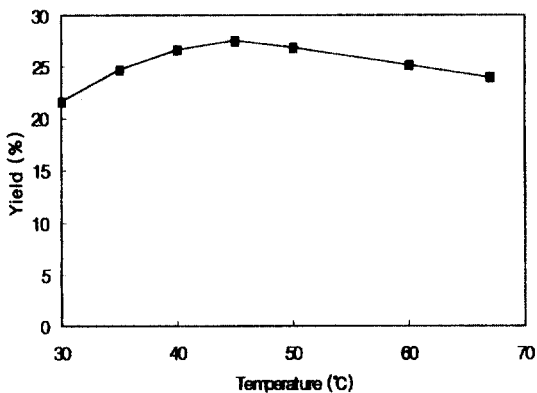


Fig. 4. Effect of reaction temperature on the extraction of soluble pectin from WAIP by exo-polygalacturonase (EPG) at pH 7 with 60 hr of reaction.

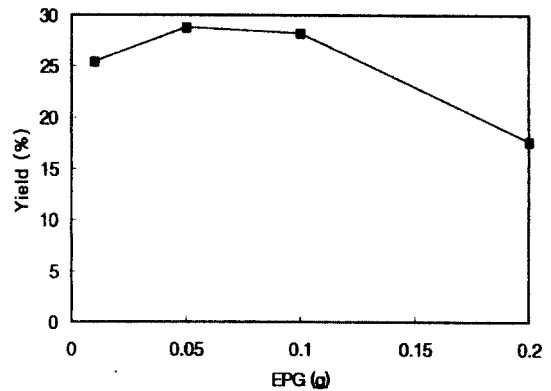


Fig. 5. Effect of the ratio of EPG to WAIP on the extraction of soluble pectin at 45°C, pH 7 with 60 hr of reaction.

Table 2. Comparison of the yields for the concentration ratio of WAIP and EPG in enzymatic extraction

Concentration of WAIP (%)	Concentration of EPG (%)	Yield (%)
2.0	0.100	5.0
1.0	0.050	31.0
0.5	0.025	20.8

안정성, 그리고 효소의 반응속도가 인자로 작용하며, 이들의 복합적 연관작용 결과 45°C에서 최적 조건이 형성됨을 알 수 있었다.

WAIP에 대한 EPG의 적정 첨가량을 조사하기 위하여 pH 7, 반응시간 60시간, 반응온도 45°C에서 효소량을 변화시키면서 추출된 펙틴의 양을 조사한 결과, WAIP 1 g에 대하여 0.05 g의 EPG가 작용할 때, 즉 기질과 효소의 비가 20:1 (w/w)일 때 가장 많은 수용성 펙틴을 회수할 수 있었다(Fig. 5). 한편, 반응용액에서의 고형분의 비율이 펙틴의 추출에 미치는 영향을 조사하기 위하여 기질과 효소의 비를 20:1로 유지하면서 농도만을 변화하면서 측정한 결과(Table 2), 지금까지 수행하였던 바와 같이 반응용액에서 기질인 WAIP를 1% 첨가하고 효소를 0.05% 가하였을 때 31.0%의 펙틴이 추출되어 가장 수율이 높았다.

#### 추출된 펙틴의 특성 조사

추출된 펙틴의 순도를 galacturonic acid 함량으로 측정한 결과, 산 추출물의 경우 75.7%였고 효소의 경우 80.1%로 산 추출물보다 순도가 높았다(Table 3). EPG를 이용하여 펙틴을 추출한 경우에는 사과박의 불용성 펙틴층의 galacturonan 부분에 선택적으로 작용하여 펙틴을 유리시키므로, 불순물인 cellulose나 hemicellulose

Table 3. Comparison of purity, methoxyl content, viscosity on extracted pectins

	Purity (%)	Methoxyl content (%)	Intrinsic Viscosity ( $[\eta]$ )	Average Molecular Weight <sup>3)</sup>
ASP <sup>1)</sup>	75.7	2.44	1.559	$7.66 \times 10^4$
ESP <sup>2)</sup>	80.1	6.36	0.430	$1.50 \times 10^4$

<sup>1)</sup>Acid soluble pectin.

<sup>2)</sup>Enzyme soluble pectin obtained by EPG.

<sup>3)</sup>Molecular weights were calculated from intrinsic viscosity.

가 적게 추출되어 순도가 높게 나온 것으로 추측된다. 최<sup>7)</sup>의 결과에 의하면 hemicellulase를 이용하여 사과와 펙틴을 추출하였을 때 12.5%의 순도를 보였다고 하였으며, 이에 비해 본 연구에서 이용한 EPG는 펙틴의 추출에 선택성이 높음을 알 수 있다.

펙틴의 galacturonic acid 부분에 에스테르결합되어 있는 methoxyl기는 펙틴의 응용에 대해 큰 영향을 미친다. 이론적으로 펙틴의 모든 galacturonic acid가 methoxyl기와 결합되어 있으면 16.32%의 methoxyl 함량을 나타내며, 일반적으로 7% 이상의 methoxyl 함량인 펙틴은 고 methoxyl 함량 펙틴으로 분류되어 식품에 널리 이용된다. 본 연구의 경우, 산 추출물의 경우 2.44%의 methoxyl 함량으로 나타났고 효소 추출물의 경우 6.36%로 약 4% 높게 나타났다. 최<sup>7)</sup>의 hemicellulase에 의해 추출된 펙틴은 5.66%의 methoxyl 함량을 나타낸 것에 비해 본 연구의 EPG는 methoxyl 함량에 영향을 덜 미쳤다고 볼 수 있으며, 식품 응용에 대한 가능성을 높게 시사한다. 따라서 향후 조효소 형태의 EPG가 아니라 보다 높은 순도의 EPG를 이용하면 산업적인 응용성이 뛰어난 펙틴을 얻을 수 있을 것이다. 한편, 추출된 펙틴의 고유점도를 측정하여 평균 분자량을 산출한 결과, 산 추출 펙틴은  $7.66 \times 10^4$ 이며 효소로 추출된 펙틴은  $1.50 \times 10^4$ 으로 나타났다.

## 요 약

사과박에서 WAIP의 함량은 32.5%로 추출되었으며, 산처리를 통한 펙틴 추출수율은 약 8%로 나타났다. EPG는 불용성의 프로토펙틴을 수용화시켜 펙틴을 생산하는 효소로 최적조건인 높은 수율을 나타낼 수 있기 때문에 EPG를 이용하여 펙틴추출 조건을 pH, 시간, 온도, 효소 첨가량 등을 조사하였다. 먼저 최적조건을 조사한 결과 pH 7, 60시간, 45°C로 그 추출물은 27.1%로 측정되었다. 펙틴의 순도를 측정된 결과 산 추출 펙틴은 75.7%이었고, 효소를 이용하여 추출한 펙틴은 80.1%로 나타났다. 또한 methoxyl 함량을 측정된 결과 산 추출 펙틴은 2.44%, 효소 추출

펙틴은 6.36%로 저 methoxyl 펙틴으로 나타났다. 따라서 효소 추출물의 경우 저 methoxyl 펙틴으로 설탕을 전혀 첨가하지 않아도 2가 이상의 금속이 존재하면 겔의 망상구조를 만들 수 있으므로 저 칼로리 식품에 대한 젤화제로서 이용이 기대된다.

## 감사의 글

이 논문은 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업 연구비 지원에 의한 연구결과의 일부로서, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Rombouts, F. M. and Pilnik, W.: Utilization of pectic enzymes in food production. *Dev. Food Sci.* **2**, 264-268 (1979)
- Sakai, T., Sakamoto, T., Hallaert, J. and Vandamme, E. J.: Pectin, pectinase and protopectinase; production, properties and applications. *Adv. Appl. Microbiol.* **39**, 213-294 (1993)
- John, M.A. and Dey, P.M.: Postharvest changes in fruit cell wall. *Adv. Food Res.* **30**, 139-193 (1986)
- May, C.D.: Pectins. In *Thickening and Gelling Agents for Food*, Imeson, A.(ed.), Blackie Academic & Professional, New York, p.124-152 (1992)
- Kang, H.J. and Song, Y.S.: Dietary fiber and cholesterol metabolism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**(2), 358-369 (1997)
- Renad, C.M.G.C., Voragen, A.G.J., Thibault, J.F. and Pilnik, W.: Extraction of insoluble pectin by chemical means. *Carbohydr. Polym.* **40**, 9-25 (1990)
- Choi, D.W.: A study on pectin extraction from apple cell wall by enzyme. *Korean J. Food Nutr.* **9**(4), 413-418 (1996)
- Lee, S.C., Yuk, H.G. and Hwang, Y.I.: Recovery yields of protopectinase depending on treatments organic solvents. *Agric. Chem. Biotechnol.* **40**(2), 107-111 (1997)
- Lee, S.C., Ko, B.S., Kim, H.M., Kim, K.W. and Hwang, Y.I.: Isolation of *Rhizopus* sp. R2 producing protopectinase and optimum condition for preparing single cells from potato tissues. *Korean J. Microbiol.* **33**(2), 131-135 (1997)
- Sakai, T. and Okushima, M.: Purification and crystallization of a protopectin-solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*. *Agric. Biol. Chem.* **46**, 667-676 (1982)

11. Sakai, T. and Yoshitaka, S.: Purification and some properties of a protopectin-solubilizing enzyme from *Galactomyces reessii* strain L. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1941-1950 (1984)
12. Sakai, T., Okushima, M. and Yoshitaka, S.: Purification, crystallization and some properties of endopolygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1951-1961 (1984)
13. Sakai, T., Hours, R. and Nakamura, T.: Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J. Food Sci.*, **60**, 468-472 (1995)
14. Lee, S.C., Ko, B.S., Lee, D.H. and Hwang, Y.I.: Cell separation of vegetable tissues by protopectinase. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**(3), 430-435 (1997)
15. Mitsui, T., Hashimoto, N., Deguchi, K., Hirano, M. and Igaue, L.: Isolation of plant mesophyll protoplasts with an endo-polygalacturonase from *Trichosporon penicillatum*. *Plant Tissue Cult. Lett.*, **7**, 14-18 (1990)
16. Suzuki, H., Abe, T., Urade, M., Nisizawa, K. and Kuroda, A.: Nature of the macerating enzymes from *Rhizopus* sp. *J. Ferment. Technol.*, **45**, 73-85 (1967)
17. Blumenkrantz, N. and Asboe-Hansen, G.: New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Biochem.*, **54**, 484-489 (1973)
18. 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**, 597-599 (1986)
19. Launay, B., Doublier, J. L. and Cuvelier, G.: Flow properties of aqueous solutions and dispersions of polysaccharides. In *Functional properties of food macromolecules*, Mitchell, J. R. and Ledward, D. A.(eds.), Elsevier Applied Science Publishers, New York, p.6 (1986)

---

(1998년 7월 27일 접수)