

식품소재로서의 한천올리고당의 이화학적 특성

김봉조 · 송창문* · 하순득 · 황선희 · 김학주 · 배승권 · 공재열
부경대학교 식품생명공학부, *대상(주)

Physicochemical Properties of Agarooligosaccharides for Using as Food Stuffs

Bong-Jo Kim, Chang-Moon Song*, Soon-Duck Ha, Sun-Hee Hwang,
Hak-Ju Kim, Seoung-Kwon Bae and Jai-Yul Kong

Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University, *Daesang Co., Ltd.

Abstract

A marine bacterium *Bacillus cereus* ASK202 showing a high agar degrading activity, was incubated in the culture medium containing agar. After incubation for 30 hr, the productivity of agarase in the culture broth reached to maximum value (160.8 units/L). As the results of TLC and HPLC analysis, agarooligosaccharides (degrees of polymerization 2, 4 and 6) were produced from the hydrolysis of agar by using the crude agarase. Physical and chemical properties of agarooligosaccharides were compared with the manufactured products of other oligosaccharides (fructooligosaccharide; isomaltooligosaccharide; maltotetraoligosaccharide) and agarooligosaccharides showed higher viscosity, higher contents of oligosaccharides, higher stability at low pH's and higher temperatures, and lower sweetness than other oligosaccharides.

Key words : *Bacillus cereus*, agarase, agarooligosaccharide, food stuff

서 론

올리고당(oligosaccharides)은 단당이 glycoside 결합에 의해 탈수축합된 중합도 2~10(분자량은 300~2000 가량)의 소당류에 대한 총칭이며, 구성당의 종류에 따라 크게 homooligosaccharides와 heterooligosaccharides로 구분된다⁽¹⁾. 이러한 올리고당은 지금까지 사용되었던 기존 당류의 과다섭취에 의해 충치, 비만, 성인병 발생의 문제점이 제기되자, 이를 예방하기 위한 대체 감미료로서 주목받기 시작하였다⁽²⁾. 특히 올리고당은 저칼로리성, 충치균에 대한 비발효성과 같은 특성 외에도 bifidobacteria와 같은 장내 유용세균의 증식인자로 작용함과 동시에 장내유해세균의 증식억제인자로 작용함에 따라 유해 대사물의 감소, 변비의 방지, 간 기능 보호, 혈청 콜레스테롤의 감소, 혈압의 감소, 혈당치 개선작용, 항암효과 등과 같은 인체의 건강을 유

지하고 질병을 예방하는 기능성 식품소재로서 각광을 받게 되었다⁽³⁾. 이에 일본을 중심으로 다양한 기능성 올리고당이 개발됨에 따라 최근에는 올리고당이라고 하면 기능성 올리고당을 지칭하는 것으로 인식하게 되었다. 따라서 현재 올리고당에 관한 연구 및 제품개발은 이러한 기능성에 초점을 맞추어 진행되고 있으며, 식품산업에서는 음료, 제빵, 제과, 유아식 요구르트, 후식용 유제품 등에 널리 이용되고 있다⁽⁴⁾. 더우기, 최근 들어 국민 식생활이 향상되고 건강에 대한 관심도가 증대됨에 따라 기능성 올리고당의 수요가 매년 증가하고 있으며, 새로운 기능성 올리고당의 신물질 개발 및 이를 이용한 다양한 제품개발에 관한 연구가 식품산업을 중심으로 활발히 진행되고 있다⁽⁵⁾.

한편, 한천은 오래 전부터 식품첨가물, 의약품, 화장품, 가축사료 및 공업원료 등으로 널리 이용되고 있는 대표적인 해조류 유래 다당으로, 국내의 경우에는 해마다 그 생산량이 약 3,600 ton(약 50억원 상당)에 이르고 있어 비교적 풍부한 수산자원의 하나라고 할 수 있다⁽⁶⁾. 그러나, 실제 한천의 이용현황에 있어서는 전체 생산량의 약 6.5% 정도만이 단순가공처리되어 값싼 원료로 사용되어질뿐 많은 양이 방치되고 있는 실

Corresponding author : Jai-Yul Kong, Faculty of Food Science & Biotechnology, Pukyong National University, 599-1 Daeyeon-Dong, Nam-Gu, Pusan 608-737, Korea.
Tel & Fax : 82-51-620-6181
E-mail : Kongjy@mail.pknu.ac.kr

정이다. 특히, 시약용이나 의약용으로 사용되고 있는 고가 제품의 경우에는 오히려 수입에 의존하고 있어, 국내 연안에서 대량생산되는 한천의 새로운 용도개발을 통한 부가가치 향상에 관한 연구가 크게 요구되고 있다⁽⁷⁾.

따라서 본 연구에서는 비교적 풍부한 국내 수산자원임에도 불구하고 그 이용도 및 부가가치가 낮은 한천으로부터 효소적 가수분해에 의해 생성된 한천올리고당에 대하여 기능성식품소재로서의 용도개발과 제품화를 목적으로, 한천 고분해능을 지닌 해양세균으로부터 한천분해효소를 분리한 후, 기질인 한천으로부터 생성되는 한천올리고당에 대하여 식품소재로서의 이용에 필요한 각종 특성을 제품화된 각종 올리고당과 비교 검토하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 배양조건

우리나라의 남해안으로부터 분리되어 뛰어난 한천분해능을 지닌 해양세균 *Bacillus cereus* ASK202 균주를 실험에 사용하였다. 본 균주는 증류수 1L당 NaCl 50.0 g, KCl 0.7 g, MgCl₂ · H₂O 10.6 g, CaCl₂ 1.1 g, Na₂SO₄ 3.9 g, NH₄NO₃ 1.0 g, NaHCO₃ 0.2 g, K₂HPO₄ 0.01 g, Tris-base 6.08 g/pH 7.8의 인공해수에 agar 30.0 g과 yeast extract 20.0 g이 첨가된 MMM (Modified Marine Medium) 배지를 사용하여 25°C, 180 rpm에서 30시간 배양하였다⁽⁷⁾.

한천분해효소를 이용한 한천올리고당의 제조

균주의 배양액에서 한천분해효소 분리 및 분리된 효소를 이용하여 기질인 한천으로부터 실험에 이용한 한천올리고당의 제조과정을 Fig. 1에 나타내었다.

한천올리고당의 TLC 분석

기질인 한천으로부터 효소분해에 의해 생성되는 올리고당에 대하여 박층크로마토그래피(TLC)를 사용하여 분석하였다. 이때 사용된 전개판은 Merck사의 Kieselgel 60 plate를 사용하였으며, 전개용매는 n-butanol, acetic acid, water를 2:1:1의 부피비로 섞어 사용하였다. 전개판은 ethanolic sulphuric acid(375 ml of ethanol plus 100 ml of conc. sulphuric acid) 시약을 처리하여 건조시킨 후 0.2%(w/v) naphthoresorcinol solution(naphthoresorcinol in ethanol)를 도포한 후 110°C에서 10분간 가열한 후 발색된 한천올리고당을 확인하였다⁽⁸⁾. 표준물질로는 Sigma사의 neoagarbiose,

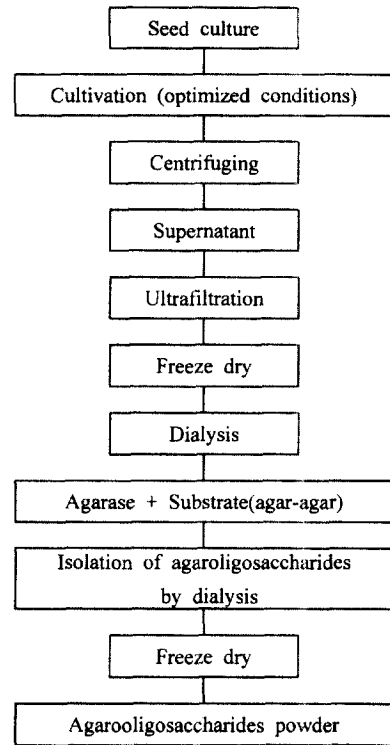


Fig. 1. Isolation and manufacture procedures of agarooligosaccharides.

neoagarotetraose, neoagarohexaose를 사용하였다.

한천 올리고당의 HPLC 분석

생성 올리고당의 성분분석은 Aminex HPX-42A(300 mm×7.8 mm, Bio-Rad, U.S.A) column이 장착된 HPLC를 사용하였으며, 검출기로는 RI-4 refractive index detector, 이동상으로 초순수증류수(18 megaohm·cm)를 사용(0.8 mL/min)하였고, column 온도는 80°C로 일정하게 유지하였다. 또한 정성분석을 위해서 CLC-NH₂(200 mm×4.6 mm, Shimazu, Japan) column을 사용하였으며, 검출기로는 RI-4 refractive index detector, 이동상으로 Acetonitrile : H₂O = 73 : 27(w/w %)을 사용(1.0 mL/min)하였고, column 온도는 실온(25°C)으로 일정하게 유지하였다⁽⁹⁾.

한천올리고당의 물리·화학적 특성

본 실험에서 얻어진 한천올리고당과 (주)대상에서 생산된 세 종류의 올리고당(FO, fructooligosaccharide; IMO, isomaltooligosaccharide; G4, maltotetraoligosaccharide)을 이용하여 다음과 같은 물리·화학적 특

성을 조사하였다⁽¹⁰⁾.

점도 측정

고형분을 기준으로 35 Brix, 75 Brix 농도의 올리고당 용액에 대하여 그 점도를 온도별(25, 30, 40, 50, 60°C)로 조사하였다. 점도계는 Brookfield LVDV II+ 를 이용하였고, spindle은 # 4, 60 rpm, UL adapter를 사용하여 측정하였다.

내산 · 내열성

동결건조시킨 분말 상태의 한천올리고당을 이용하여 고형분 농도 10%의 용액을 조제한 후, pH를 3, 4로 조정하고 상온 및 60~140°C(20°C간격)에서 각각 15분간 유지시킨 후 급냉하여 잔존하는 올리고당의 함량 변화를 위에 기술한 대로 HPLC(Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 잔존율은 아래와 같이 원료 당액의 올리고당의 함량을 100으로 하여 열처리한 당액 내에 함유된 올리고당의 함량을 환산하여 구하였다⁽¹⁰⁾.

열처리 후의 올리고당의 함량

$$\text{잔존율(Stability)} = \frac{\text{원료 당액의 올리고당의 함량}}{\text{상대 감미도}} \times 100$$

올리고당의 감미도는 20°C에서 설탕을 10%(w/v) 농도로 조제하여 측정시 설탕의 감미도를 100으로 기준하여 상대감미도로서 측정하였다. 한천올리고당 및 다른 당류들을 10%(w/v) 용액으로 만든 후 훈련된 15명의 panelist들에 의해 이들 당류의 감미도를 상대비교하였다.

결과 및 고찰

최적 조건 하에서의 균주배양 및 한천분해효소의 생산

최적 배양조건하에서 *Bacillus cereus* ASK202를 배양하며 시간 경과별로 배양액을 채취하여 균체성장량, 단백질량 및 한천분해효소 생산량을 측정하였다. 균체량이 증가하기 시작하는 배양 9시간 경과 후부터 효소활성과 단백질량은 상대적으로 증가하였다. 이어서 균체의 대수증식기 말기, 배양 18시간부터 효소활성이 증가하기 시작하여 30시간 경과 후 최대의 한천분해효소 활성을 나타내었다(Fig. 2). 상등액에 존재하는 단백질량은 배양 42시간 이후 서서히 감소되어 균체량 및 효소활성도는 배양 72시간 경과 후에도 일정

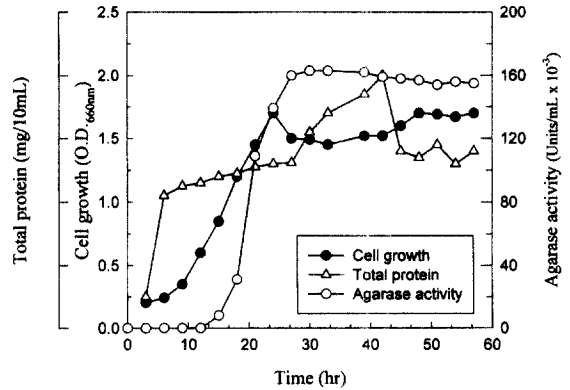


Fig. 2. Time courses of cell growth and agarase production in culture broth. *Bacillus cereus* ASK202 was cultivated under optimized conditions.

한 수준으로 유지되었으나, 배양과정 중에 pH의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과, 최적 배양배지 30시간에서 생산된 한천분해효소 생산량은 160.8 units/L였다. 기존에 보고된 미생물이 생산하는 한천분해효소 생산량과 비교한 결과, *Vibrio* sp. strain JT0107 (66.0 units/L)⁽¹¹⁾, *Pseudomonas* sp. PT-5(4.5 units/L)⁽¹²⁾, 그리고, *Pseudomonas* like bacterium(46.5 units/L)⁽¹³⁾과 비교해 볼 때, 본 실험에 사용된 *Bacillus cereus* ASK202(160.8 units/L)⁽⁷⁾ 균주는 기존에 보고된 다른 미생물 보다 약 2.4~35.0배 가량 한천분해효소 생산능이 뛰어난 것으로 나타났다.

TLC를 이용한 올리고당의 분석

한천으로부터 효소분해에 의해 생성된 반응물에 대하여 TLC를 이용하여 올리고당의 생성 유무를 확인하였다. 그 결과 생성물에 대하여 표준한천올리고당의 R_f값과 비교한 결과, 중합도 2당, 중합도 4당 그리고, 중합도 6당이 주로 생성됨을 확인하였다(Fig. 3). 그리고, *Bacillus cereus* ASK202가 생산하는 agarase는 기질인 한천의 α-1,3 결합, β-1,4 결합으로 되어있는 구조에서 β-1,4 결합만 선택적으로 분해하는 것으로 효소분해산물을 조사한 결과⁽¹⁵⁾, 확인되었으며 이 결과로 *Bacillus cereus* ASK202가 생산하는 agarase는 β-agarase인 것으로 확인되었다⁽¹⁵⁾.

HPLC를 이용한 올리고당의 분석

β-agarase를 이용하여 한천기질과 반응한 결과, 효소의 가수분해로 생성되는 한천올리고당은 주로 중합도 6당, 4당, 2당이 생성되었으며, 생성물 중 주 생성물은 중합도 4당이었고, 부생성물은 중합도 6당과 2당이었

Fig. 3. TLC analysis of enzymatic hydrolysis products from agarose (L), neoagarohexaose (M) and neoagarotetraose (N). Samples taken at 10 min were analyzed by TLC. Lane A, galactose; B, neoagarobiose(DP2); C, neoagrotetraose(DP4); D, neoagarohexaose(DP6) represent the standard sugars.

다(Fig. 4). 효소와 기질의 반응 시간을 오래 지속하여 반응하면 최종산물인 중합도 2당이 생성됨을 확인하였다⁽¹⁴⁾.

올리고당의 점도에 미치는 온도의 영향

올리고당의 각종 특성 중에서도 점도는 제품 생산 시의 공정 설계, 운전소요 에너지 등에 있어서 대단히 중요한 위치를 차지하는 물리적 특성 중의 하나일 뿐만 아니라, 제품개발 특성과 밀접한 관계를 지니고 있다. 이에 한천올리고당(AO, agarooligosaccharides)과 제품화되어 있는 올리고당 세가지(FO, fructooligosaccharide; IMO, isomaltooligosaccharide; G4, maltotetraoligosaccharide)의 온도에 따른 점도변화를 두가지 농도(35Bx, 75Bx)에서 조사하였다. 저농도인 35Bx에서는 4가지 올리고당류 모두 온도가 증가함에 따라 점도가 25 cp에서 12 cp 정도로 떨어지는 비슷한 경향을 나타내었으며, 상온에서는 한천올리고당이 상대적으로 높게 나타났다(Fig. 5-(A)).

75Bx 농도에서는 온도가 증가함에 따라 FO와 IMO는 거의 같은 점성을 유지한 반면 G4는 24°C에서 14000 cp의 높은 값을 보였으나 온도 증가에 따라 급격한 점도 감소를 보여 60°C에서는 2000 cp의 값을 보였다(Fig. 5-(B)).

한편, 한천올리고당의 경우에는 75Bx의 농도에서 다른 제품에 비하여 월등히 높은 점도 값을 보여 동일

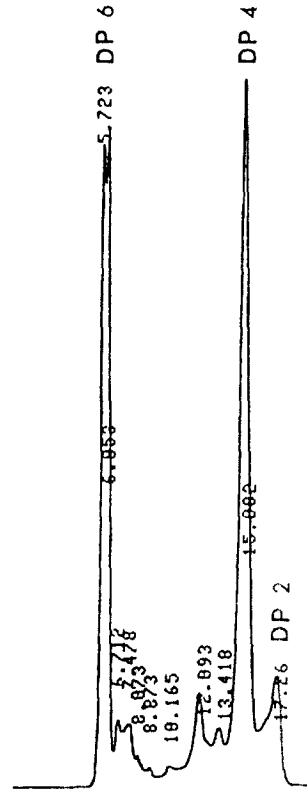


Fig. 4. HPLC pattern of the agarooligosaccharides produced by the enzymatic hydrolysis of agar. DP's refer to degrees of polymerization of the product.

한 실험조건하에서는 측정이 불가능하였다. 그러나 이러한 한천올리고당(AO)의 높은 점도는 고점성을 유지시켜야하는 식품의 첨가물로서는 매우 유리하며, 그 응용이 크게 기대된다고 할 수 있다.

올리고당의 내산·내열성

각 올리고당 용액의 pH를 3과 4로 조절하여 실온에서 15분간 유지한 후, 각 올리고당의 주요 당 조성에 관하여 HPLC를 이용하여 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 시판되고 있는 올리고당 제품 중의 실질적인 올리고당 함량은 IMO, FO, G4가 각각 33, 45, 51%로 섭취시에 체내흡수가 가능한 fructose, glucose, sucrose, maltose, maltotriose 등을 함유하고 있음이 확인되었다. 이에 비하여 본 실험에 사용된 한천올리고당 시료의 경우 실질적인 올리고당 함량이 71%로 다른 올리고당에 비해 그 값이 높을 뿐만 아니라, 체내흡수가 가능한 당류로서는 약 9.7%의 galactose만을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 따라서, 이와 같은 한

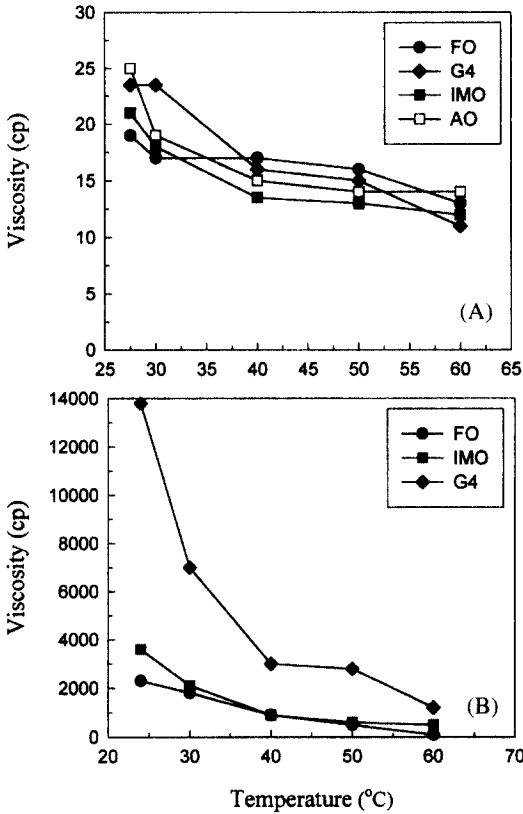


Fig. 5. Effect of temperature on the viscosity of oligosaccharide solutions. (A), 35Bx; (B), 75Bx.

천올리고당의 특성은 비교실험에 사용된 다른 올리고당 제품에 비하여 체내 흡수 가능한 당의 함량이 가장 낮으며, 반면에 올리고당류의 함량이 가장 높은 우수한 올리고당임이 확인되었다.

한편, 한천올리고당의 내산성을 알아보기 위하여 상온에서 고형분 농도 10%의 한천올리고당을 조제한 후, 용액의 pH를 7.0, 4.0, 3.0로 조정하여 상온에서 15분간 방치시킨 후 그 성분의 변화를 비교하였다 (Fig. 6). 그 결과, 주요성분인 galactose와 agarobiose, agarotetraose의 함량에는 거의 변화가 없는 것으로 나타나 한천올리고당이 높은 내산성을 가지고 있음을 확인하였다. 또한 pH 3.0과 4.0에서 상온 및 60~140°C (20°C간격)에서 온도별로 잔존 올리고당 함량을 살펴본 결과, 한천올리고당은 제품화된 다른 올리고당과 마찬가지로 큰 변화가 없는 것으로 나타나 그 열 안정성이 확인되었다 (Table 2).

올리고당의 감미도 측정

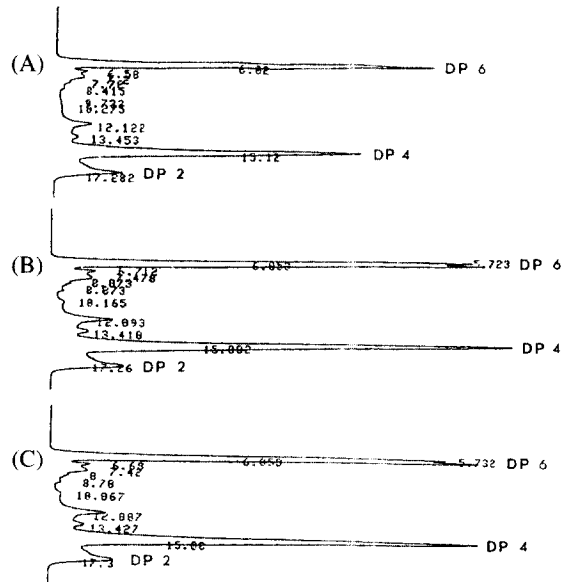


Fig. 6. HPLC patterns of the agarooligosaccharide at different pH. DP's refer to degrees of polymerization of the product. (A), pH 7.0; (B), pH 3.0; (C), pH 4.0.

15명으로 구성된 훈련된 panelist에 의해 한천올리고당의 감미도를 각종 당류와 비교 조사하였다 (Table 3). 그 결과, 한천올리고당은 설탕을 기준으로하여 약 1/2의 감미도를 지니고 있는 것으로 확인되었으며, panelist의 절반에 해당하는 7명이 감칠맛을 느낀 것으로 나타났다. 또한, 시판되고 있는 기존의 올리고당 제품들과 비교하여 비슷한 감미도를 지니고 있음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 최근 소비자들의 식품에 대한 기호가 저감미성을 요구하고 있는 추세를 고려하여 볼 때, 한천올리고당의 저감미도는 소비자들의 기호성에 부합하는 결과로 식품소재로서 제품개발 가능성이 높은 것으로 기대된다⁽¹⁶⁾.

요 약

한천분해능이 뛰어난 해양세균 *Bacillus cereus* ASK202를 사용하여 최적조건 하에서 배양실험을 행한 결과, 배양시간 30시간 경과시에 최대량의 한천분해효소가 생산되었으며, 그 생산량은 160.8 unit/L로 기존에 보고된 다른 균주들에 비해 한천분해효소 생산능이 뛰어남을 확인하였다. 또한, 생산된 한천분해효소를 이용하여 기질인 한천과 반응시킨 결과, 주로 중합도 2, 4, 6의 올리고당이 생성됨을 확인하였다. 그리

Table 1. Sugar compositions of agarooligosaccharide and other oligosaccharide products

	IMO		FO		G4		AO	
	pH3	pH4	pH3	pH4	pH3	pH4	pH3	pH4
Fructose	1.76	2.28	1.12	0.76				
Glucose	21.17	20.87	22.12	20.53	1.86	1.68		
Sucrose			17.66	14.79				
galactose							9.68	9.69
Maltose	11.93	11.97			6.13	6.19		
Isomaltose*	10.24	9.77						
Maltotriose	1.48	1.49			10.78	10.72		
Pannose*	16.66	16.78						
Isomaltotrose*	6.59	6.39						
Ketose*			28.14	28.75				
Maltotetrose*					50.90	51.98		
Nystose*			15.09	15.34				
1-F.F.Nystose*			2.44	0.87				
agarobiose*							39.86	39.56
agarotetrose*							30.61	31.64
Others	30.18	30.46	13.44	18.97	30.32	29.44	19.85	19.11
Total Oligosaccharides	33.49	32.93	45.66	44.96	50.90	51.98	70.47	71.21

IMO : Isomaltooligosaccharide, FO : Fructooligosaccharide, G4 : High maltotetrose, AO : Agarooligosaccharide, *Oligosaccharide

Table 2. Comparison of stability between agarooligosaccharide and other oligosaccharide products at various temperatures

Sugar(%)	Temp.(°C)	Temp.(°C)					
		control	60	80	100	120	140
pH3.0	IMO	33.49	33.18	33.23	32.76	32.22	31.00
	FO	45.66	40.03	37.80	24.46	6.46	1.73
	G4	50.90	50.77	50.70	50.40	50.12	49.99
	AO	70.47	70.02	69.85	69.77	69.52	69.36
pH4.0	IMO	32.93	32.85	32.70	29.78	29.86	29.80
	FO	44.96	48.51	47.53	43.78	45.61	37.87
	G4	51.98	50.73	51.01	50.61	50.75	50.99
	AO	71.21	71.01	70.98	70.80	70.79	70.74

IMO : Isomaltooligosaccharide, FO : Fructooligosaccharide, G4 : High maltotetrose, AO : Agarooligosaccharide

고, 한천올리고당의 물리·화학적 특성을 기존의 제품화된 각종 올리고당과 비교 분석한 결과, 고점성, 높은 올리고당의 함유율, 뛰어난 내산·내열성, 저 감미

도를 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 해양수산부 특정연구과제 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

문 헌

Table 3. Comparison of sweetness between agarooligosaccharide and other sugars

Sugars	Relative sweetness
Saccharide	100
Glucose	70
Maltose	40
Sorbitol	65
Isomaltooligosaccharide(IMO)	50
Fructooligosaccharide(FO)	60
Galactooligosaccharide(GOS)	60
High maltotetrose(G4)	30
Agarooligosaccharide(AO)	55

*20°C, 10% saccharide solution sweetness 100

1. Yoshika, H., Fujita, K., Sakata, H., Murono, K. and Iseki, K. Development of the normal intestinal flora and its clinical significance in infants and children. *Bifidobacteria Microflora*. 10: 11-13 (1991)
2. Kim, J.R., Yook, C., Kwon, H.K., Hong, S.Y., Park, C.K. and Park, K.H. Physical and Physiological Properties of Isomaltooligosaccharides and Fructooligosac-

- charides. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 170-175 (1995)
3. Kong, J.Y. and Bae, S.K. Production of functional food stuff from marine bacterium, Abstract 64, 4rd Academic Plaza in International Food Machinery Exhibition, Makuhari, Japan (1996)
 4. Kim, B.J. Characterization of β -agarase from marine bacterium and production of agarooligosaccharides. *Ph.D. thesis*, Pukyong National Univ., Korea (1998)
 5. Kim, B.J., Kim, H.J., Ha, S.D., Hwang, S.H., Byun, D.S., Lee, T.H. and Kong, J.Y. Purification and characterization of β -agarase from marine bacterium *Bacillus cereus* ASK202. *Biotech. Lett.* 21: 1011-1015 (1999)
 6. Hwang, S.H., Ha, S.D., Kim, B.J., Kim, H.J. and Kong, J.Y. Isolation and Its Optimal Culture Condition for High Agarase-Producing Mutant. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 14: 351-357 (1999)
 7. Lee, H.W., Kim, B.J., Hwang, S.H. and Kong, J.Y. Isolation and identification of marine bacterium *Bacillus cereus* ASK202 and optimal culture conditions for the production of agarase. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 12: 228-235 (1997)
 8. Duckworth, M., and Yaphe, W. Thin-layer chromatographic analysis of enzymic hydrolysates of agar. *J. Chromatogr.* 49: 482-487 (1970)
 9. Yun, J.W., Kim, D.H., Uhm, T.B. and Song, S.K. Production of high-content inulo-oligosaccharides from inulin by a purified endo inulinase. *Biotech. Lett.* 19: 935-938 (1997)
 10. Kim, J.R., Yook, C., Kwon, H.K., Hong, S.Y., Park, C.K. and Park, K.H. Physical and physiological properties of isomaltooligosaccharide and fructooligosaccharides. *Korean J. Food. Sci. Technol.* 27: 170-175 (1995)
 11. Sugano, Y., Terada, I., Arita, M., Noma, M. and Matsumoto, M. Purification and Characterization of a New Agarase from a Marine Bacterium, *Vibrio* sp. strain JT0107. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 1549-1554 (1993)
 12. Yamaura, I., Matsumoto, T., Funatsu, M., Shigeiri, H. and Shibata, T. Purification and Some Properties of Agarase from *Pseudomonas* sp. PT-5, *Agric. Biol. Chem.* 55: 2531-2536 (1991)
 13. Malmqvist, M. Purification and Characterization of Two Different Agarose-Degrading Enzymes, *Biochimica et Biophysica Acta*, 537: 31-43 (1978)
 14. Duckworth, M. and Yaphe, W. The structure of agar (The use of a bacterial agarase to elucidate structural features of the charged polysaccharides in agar). *Carbohydr. Res.* 16: 435-445 (1971)
 15. Kim, B.J., Ha, S.D., Lim, D.J., Song, C.M. and Kong, J.Y. Production of agarooligosaccharides by using of agarase from marine bacterium *Bacillus cereus* ASK202. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 13: 524-529 (1998)
 16. Song, C.M. Properties of agarooligosaccharides for use of food stuffs. *M.S. Thesis*, Pukyong National Univ. Korea (1998)

(2000년 1월 25일 접수)