

우렁쉥이 껍질 중 황산화다당의 기능적 특성

이강호 · 최병대* · 홍병일 · 정병천 · 육지희** · 정우진**

부경대학교 식품공학과, *경상대학교 식품공학과 · 해양산업연구소, **천안외국어대학 식품유통과

Functional Properties of Sulfated Polysaccharides in Ascidian (*Halocynthia roretzi*) Tunic

Kang-Ho LEE, Byeong-Dae CHOI*, Byeong-II HONG, Byung-Chun JUNG,
Ji-Hee RUCK** and Woo-Jin JUNG**

Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Department of Food Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea

**Department of Food Marketing, Chonan College of Foreign Studies, Chonan 330-180, Korea

Functional properties such as anti-blood coagulation, angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity, fat binding capacity, foaming properties, emulsifying properties and chemical components of sulfated polysaccharides isolated from ascidian tunics were investigated. The sulfated polysaccharide mainly consisted of sulfate, uronic acid, protein, and chondroitin sulfate, among which chondroitin sulfate showed higher concentration while sulfate and uronic acid did lower. Compositional monosaccharides were arabinose, xylose, glucose, galactose, glucuronic acid, N-acetylgalactosamine and N-acetylglucosamine. Especially, galactose content was dominant among them. And emulsifiability and foaminess of the sulfated polysaccharide was higher than the control group. Anti-blood coagulation of sulfated polysaccharide showed with respect to APTT (Activated partial thromboplastin time). ACE inhibitory activity showed about 16.7%.

Key words: ascidian tunic, sulfated polysaccharides, functional properties

서 론

우렁쉥이 (*Halocynthia roretzi*)의 껍질 구성은 종류에 따라 차이가 있지만, 기질, 소섬유, 유리세포의 3부분으로 이루어져 있다. 우렁쉥이의 껍질에 관한 연구로는 Anno 등 (1974)이 껍질에서 chitin sulfated-like polysaccharide를 분리하였으며, Albano와 Paulo (1983)는 몇종의 미생류의 껍질에서 척추동물의 연골에 존재하는 sulfated glycosaminoglycan과 유사한 sulfated glycan을 추출하였다. 또한 Mauro et al. (1989)은 흰명게 (*Styela plicata*) 껍질에서 sulfated glycan을 추출하여, sulfated glycan이 구조 유지에 필수적인 것이라고 보고하였다. 한편, 해조류나 척추동물에 존재하는 sulfated-polysaccharide류는 항혈액응고 효과가 있으며, 이밖에 항암 및 항돌연변이 효과가 있는 것으로 알려져있다.

Li와 Lian (1988)은 해삼 (*Stichopus japonicus*)에서 혈소판 응집에 주요인이 되는 산성 점액성 다당류 (acidic mucopolysaccharide)를 추출하였으며, Okutani (1977)는 오징어 갑골에서 당단백질을 분리하여 sarcoma-180 에 대한 항암활성을 보고하였다. 최근 당생물

학은 선진 각국에서 당체에 대한 구조해명과 산업계로의 응용기술이 실용화 단계에 있다 (Taguchi, et al., 1994).

따라서 본 연구에서는 우렁쉥이 껍질에서 황산화다당을 분리하여 이들의 화학조성과 항혈액응고능 등의 몇가지 기능성을 살펴보았다.

재료 및 방법

재 료

1997년 6월 경에 통영부근 양식장에서 3년생 우렁쉥이를 채취하여 육과 껍질을 분리한 후, 껍질을 수회 수세한 다음 열풍건조하여 100 mesh로 마쇄한 것을 동결고에 보관하면서 시료로 사용하였으며, 황산화다당은 전보 (Lee et al., 1998)와 같이 고온, 고압처리에 의해 추출하였다.

황산기, 황산콘드로이틴 및 Uronic acid의 분석
추출된 황산화다당의 황산기의 함량은 Dodgson과 Price (1962)의 방법에 따라 측정하였고, 황산콘드로

본 논문은 1997년도 한국학술진흥재단에서 시행한 지방대육성과제 지원에 의해 수행된 연구 결과의 일부임

이틴의 함량은 비색정량법 (Yabe et al., 1987)으로 측정하였다. 즉, 시료용액 1 ml에 alcian blue용액 0.2 ml를 가해 20분정도 방치한 후 원심분리 (1,250×g, 5 min)하여 침전물을 취하고 이를 증류수로 수세한 후 다시 원심분리 하였다. 침전물을 monoethanolamine 10 ml로 용해시켜 615 nm에서 흡광도를 측정하였다. Uronic acid의 함량은 Knutson과 Jeanes (1968)의 방법에 따라 분석하였다.

조성당 분석

조성당분석은 Chaplin (1982)의 방법에 따라 시료를 methanolic HCl과 methyl acetate (4:1, v/v) 혼합용액을 teflon sealed cap tube에 넣고 질소로 충전하여, 70 °C의 oven에서 약 10분간 방치한 후 혼합용액 유실여부를 확인한 뒤, 마개를 단단히 막아 16시간동안 methanolysis를 시켰다. 냉각한 후 재증류시킨 2-methyl-2-propanol (t-butyl alcohol)을 20% (v/v)농도로 첨가하여 진탕한 후 질소로 농축시켰다. 이어서 소량의 dry methanol : pyridine : acetic anhydride (10 : 1 : 1, v/v/v)을 가하여 15분간 방치 후, 질소로 농축하고 P₂O₅로 완전히 건조하였다. 계속해서 dry pyridine + hexamethyldisilazane + trimethylchlorosilane (10 : 2 : 1, v/v/v) 혼합용액을 가하고 30초동안 맹렬히 진탕한 뒤 1시간동안 방치하여 TMS (trimethylsilylation)화 시켰다. 그리고, 다시 질소로 농축시킨 다음 재증류된 hexane에 녹여 GLC분석을 행하였다. 구성당의 확인은 표준시약의 크로마토그램의 retention time을 비교하였다. 시료의 정량은 내부표준물질 (myo-inositol)과 표준시약을 시료와 동일하게 TMS화하여 농도별 상대적 면적비를 구하여 환산하였다.

지방흡수력, 포말성, 유화능

황산화다당의 지방흡수력은 Lin 등 (1974)의 방법에 따라 측정하였고, 포말성과 포말안정성은 Johnson과 Breke (1983) 및 Watanabe et al. (1981)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료 1% 분산액 20 ml을 수조에서 20분 동안 25°C로 가열하여 온도를 유지시킨 다음 균질기 (Ace-Homogenizer AM-7)로 10,000 rpm에서 교반하여 균질화시켰다. 이 균질액을 250 ml의 메스실린더에 즉시 옮긴 다음 30초 후에 거품량과 분리된 물층의 부피를 측정하여 포말성을 계산하였다. 포말안정성은 포말된 각 시료를 250 ml의 메스실린더에 옮긴 다음 25°C에서 30분간 정지시키고, 남아 있는 물층을 측정하여 포말안정성을 계산하였다. 한편, 유화성과 유화안정성은

Wang과 Kinsella (1976)의 방법에 따라 측정하였다.

항혈액응고능 및 ACE저해능

항혈액응고능 측정은 정상인의 정맥혈 4, 5 ml를 채취하여 0.5 ml의 sodium citrate (3.8%)용액과 혼합한 다음, 700×g에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 활성트롬보플라스틴 시간 (Activated partial thromboplastin time, APTT) 측정은 혈장 100 μl에 시료 용액 10 μl를 넣고 교반한 후 37°C 항온수조에서 1분간 가온하였다. 여기에 100 μl actin을 첨가한 후 다시 37°C 항온수조에서 2분간 가온하였다. 2분이 되는 순간 미리 37°C로 가열하여 둔 20 mM CaCl₂ 100 μl를 넣음과 동시에 응고 시간을 측정하였다. 대조시료는 heparin을 희석하여 항혈액응고 시간을 동일하게 측정하였다. 프로트롬빈 시간 (Prothrombin Time, PT) 측정은 37°C 항온수조에서 1분이상 미리 가온하여 둔 thromboplastin, C 200 μl에 37°C에서 미리 1분 이상 가온하여 둔 혈장과 시료용액 혼합액 (혈장 : 시료용액 = 10 : 1) 100 μl를 가함과 동시에 응고 시간을 측정하였다. 한편, ACE 저해능은 두가지 방법으로 실험하였는데, 먼저 Cushman과 Cheung (1970)의 방법은 일정농도의 시료용액 100 μl에 ACE 조효소액 100 μl 및 0.1M sodium borate buffer (pH 8.3) 200 μl를 가한 후 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. 여기에 기질로써 Hippuryl-His-Leu 용액 (25 mg/2.5 ml sodium borate buffer) 100 μl를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl을 300 μl 가하여 반응을 정지시켰다 (공시험은 시료용액 대신에 증류수를 사용하였으며, 대조구는 1 N HCl 300 μl를 가한 다음 ACE 조효소액 100 μl를 가하였다). 여기에 ethyl acetate 1.5 ml를 가하여 15초간 vortex한 후 700×g에서 5분간 원심 분리시켜 상층액 1 ml를 취하였다. 이것을 완전히 건조시킨 후 증류수 3 ml를 가하여 용해 시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가 전후 활성의 백분율로써 ACE 저해효과를 나타내었다. 또한, TNBS (trinitrobenzene sulfonate)를 이용한 방법 (Matui et al., 1992)은 시료용액 100 μl에 50 μl의 Hippuryl-His-Leu 용액 (2.5 mM in borate buffer containing 200 mM NaCl, pH 8.3)을 넣은 다음 5배 희석시킨 ACE 조효소액 50 μl를 넣어 37°C에서 1시간 반응시켰다. 반응 정지 시약으로 0.5M HCl 250 μl 첨가한 후 Kolthoff buffer (0.1M Na₂HPO₄ : 1.0N NaOH = 1 : 2) 250 μl을 넣은 다음, TNBS solution 25 μl 넣고 20분간 반응시켰다. 여기에 sulfite (4 mM Na₂SO₃ in 0.2M NaH₂PO₄)를 넣은 후 416 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해효과를 산출하였다.

결과 및 고찰

황산화다당의 화학성분 및 조성당

황산화다당의 화학성분 중 황산기, 황산콘드로이틴, uronic acid 및 GLC분석에 의한 조성당의 함량은 Table 1과 같다. 황산기 함량은 2.3% 정도 였는데, Rodolpho와 Paulo (1983)는 몇몇 미색류 껍질에서 추출한 황산기의 함량은 0.75~1.39 mol (sulfate mol/ total sugar)였다고 보고하였고, Anno등 (1974)은 우렁쉥이 껍질의 황산기 함량은 26.5%로 보고하고 있어, 본 실험 결과보다 약 10배 정도 많은 것으로 나타났는데, 이와같은 함량의 차이는 서식지에 따른 차이 외에 실험방법에 따른 차이도 생각할수 있으나 정확한 원인에 대해서는 계속해서 많은 연구가 필요하리라 생각되었다. 한편, 해조류의 sulfate 다당인 fucoidan의 경우 열수추출한 다시마의 황산기 함량은 53.0%, 톳은 30%이라 하였으며 (Nishino et al., 1991), 산성조건으로 추출한 톳은 22.7%, 모자반이 17%라 하였고 (Nishino and Nagumo, 1987), 국내산 3종류 해삼은 0.9~1.2%였다고 보고되고 있어 (Ryu et al., 1997), 국내산 우렁쉥이의 껍질의 sulfate 함량은 다시마 등의 해조류 보다는 적은 반면, 극피동물인 해삼보다는 많은 것으로 나타났다. 또한, carbozole assay에 의한 uronic acid의 함량은 5.6% 정도 검출되었으며, 황산콘드로이틴은 25.7%를 나타내었는데, 이 방법의 신뢰도를 알아보기위하여 표품인 chondroitin 4-sulfate를 실험한 결과 거의 95% 이상으로 정량되어 비교적 정확한 방법임을 확인하였다. 한편, 황산화다당의 조성당을 분석한 결과, 5탄당으로는 arabinose와 xylose가 소량 검출되었고 (0.2~1.2%), 6탄당으로는 glucose와 galactose가 검출되었는데, glucose는 arabinose와 xylose보다는 다소 많았으나 2.1% 이하였다. 한편 galactose의 함량은 특이적으로 50% 이상 검출되었고, hexosamine으로는 N-acetylglucosamine 및 N-acetylgalactosamine이 검출되었다. 전반적으로 N-acetylgalactosamine 함량이 15% 내외로 많았고, N-acetylglucosamine은 9.4% 검출되었으며, uronic acid로는 D-glucuronic acid가 10% 이상 검출되었다. Anno et al. (1974)은 우렁쉥이 껍질에는 glucosamine 함량이 39.5%이고 galactosamine은 5.7%였다고 보고한 반면, Rodolpho와 Paulo (1986)는 흰명게 (*Styela plicata*) 껍질에서 분리한 황산화다당은 고분자 획분에서 특이적으로 galactose 함량이 85% 정도로 대부분을 차지하였고, 두개의 저분자 획분에는 galactose와 glucose가 20~57% 정도이고 hexosamine이 23%와 40%이며, 그 중 glucosamine이 약 85%였다고 보고하였다. 이상에서와

같이 본 연구의 결과는 흰명게의 고분자획분과 유사하게 galactose의 함량이 특이적으로 많음을 알수 있었다.

황산화다당의 지방흡수력, 포말성 및 유화능

황산화다당의 지방흡수력과 포말성 및 유화능은 Table 2와 같다. 지방흡수력은 우렁쉥이 건조분말이 320%였고, 추출된 황산화다당의 지방흡수력은 대략 280% 정도로 대조구인 chitin과 chitosan에 비하여 다소 떨어졌다.

Table 1. Contents of sulfate, uronic acid, protein and chondroitin sulfate¹ in ascidian tunics, and sugar compositions of crude sulfated polysaccharides

Iteams	Crude sulfated polysaccharides
Sulfate (%)	2.3
Uronic acid (%)	5.6
Protein (%)	17.9
Chondroitin sulfate (%)	25.7
Sugar composition in monosaccharides (%) ²	
Arabinose	0.7
Xylose	0.4
Glucose	1.5
Galactose	62.3
D-glucuronic acid	10.8
N-acetylglucosamine	9.4
N-acetylgalactosamine	14.8

¹Alcian blue method.

²Calculated from GC analysis, considering to total amounts under the seven monosaccharides as 100%.

Table 2. Fat binding capacity, foaming property and emulsifying property of crude sulfated polysaccharides from ascidian tunics

	Ascidian tunic ¹	Sulfated polysaccharide ²	Chitin ³	Chitosan ⁴
Fat binding capacity (%)	320	280	530	550
Whippability ⁵	0.05	0.70	-	-
Foam stability ⁶	0.03	0.50	-	-
Emulsifying activity	-	49.2	-	-
Emulsifying stability	-	48.3	-	-

¹Dried and ground ascidian tunic

²Crude sulfated polysaccharides obtained from ascidian tunic

^{3,4}Standard chitin and chitosan (sigma co. C-7170, C-3646)

⁵Whippability=(Total volume - Drainage volume) / Initial volume

⁶Foam stability=(Initial volume - Drainage volume) / Initial volume.

Knorr (1983)는 chitin, chitosan, microcrystalline chitin 및 microcrystalline cellulose의 지방흡수력을 조사한 결과, 170~215% 범위이며 chitosan이 가장 적었고, chitin이 가장 높았다고 보고한 바 있다. 한편 포말성 및 포말안정성은 대조구인 chitin과 chitosan에서는 나타나지 않았고, 우렁쟁이 건조분말의 경우는 미미하게 나타내었으나 황산화다당의 포말성은 0.70, 포말안정성은 0.50로 비교적 우수하였다. 한편, 황산화다당의 유화능 및 유화안정성은 49.2%와 48.3% 정도를 나타내었고, 그 밖의 시료에서는 나타나지 않았다. 이와같은 유화능은 단백질의 소수성 부분에 기름입자가 결합하고, 그 표면에 다당류가 짝을 지어 수화수를 강력히 흡착하여 안전한 유화를 형성하기 때문으로 알려져 있다 (Akio, 1994). Knorr (1983)는 microcrystalline chitin의 유화성은 있었으나, chitin, chitosan의 경우 농도를 변화시키도 유화성이 없었다고 보고하고 있어 본 실험의 대조구로 사용된 chitin, chitosan의 결과와 유사하였다. 이상의 결과에서 추출된 시료와 chitin은 구조적으로 유사하나 다만, 추출된 황산화다당에는 황산기가 존재하고 있는 것으로 보고 되고 있어 (Anno et al., 1974), 황산기의 존재 유무에 따라 물성에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

항혈액응고능 및 ACE 저해능

황산화다당의 항혈액응고능과 ACE저해능의 결과는 Table 3과 같다. APTT 저지효과는 나타났으나 PT값은 약 14.5초로 일정하여 혈액응고저지 효과가 거의 없었다. APTT는 65초였는데, 항혈액응고능은 황산기함량, 분자량 및 그 구조 등에 따라 많은 차이를 나타내며, 정제도가 높다고해서 반드시 항혈액응고능이 증가하지

Table 3. Anti-blood coagulation and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition activity of crude sulfated polysaccharides in ascidian tunics

	Crude sulfated polysaccharides
Coagulation assays (sec.)	
Prothrombin time	14.5
APTT ¹	65
Method A ²	14.8
ACE inhibition (%)	
Method B ³	16.7

¹Activated partial thromboplastin time.

²Cushman and Cheung's method.

³TNBS (trinitrobenzene sulfonate) method.

않는 것으로 보고되어 있다 (Nishino et al., 1989). Nishino와 Nagumo (1987)는 해조다당인 fucoidan의 항혈액응고능은 황산기의 함량이 높을수록 증가한다고 하였다. 일반적으로 PT가 연장되는 경우는 혈액응고의 외인성체계 (extrinsic system)에 관여하는 응고인자가 결핍되거나 억제물질이 존재할 때 일어나며, APTT의 연장효과는 내인성체계 (intrinsic system)의 단독 혹은 복합적 결핍이나 이들 인자의 억제물질이 존재할 때 일어난다고 한다 (Jung and Lee, 1987). 이상에서 우렁쟁이 껍질의 황산화다당의 항혈액응고능은 내인성체계의 인자를 저해하기 때문으로 생각되었다. 한편, ACE저해능을 살펴본 결과 약간의 ACE저해효과가 있었으며, 채택된 실험방법에 따라 동일시료의 경우에 있어서도 저해효과가 차이가 있었는데, Cushman 과 Cheung의 방법 (14.8%)보다는 TNBS를 이용한 방법 (16.7%)이 다소 높은 값을 보였다. 일반적으로 ACE저해능을 갖는 물질은 각종 단백질 유래의 peptide나 각종의 polyphenol 화합물 등으로 각종의 음료나, 술잎이나 썩 등의 추출물 등도 효과적이었다고 한다 (Kang et al., 1995).

요 약

우렁쟁이 (*Halocynthia roretzi*)의 껍질에서 최근 다양한 생리적 기능이 알려진 황산화다당을 분리하여 화학성분과 조성당을 분석하였으며, 기능성을 살펴보았다. 황산화다당의 황산기함량은 2.3%, 황산콘드로이틴은 25.7%, 그리고 uronic acid의 함량은 5.6%였다. 조성당 분석결과, 5탄당으로는 arabinose 0.7%와 xylose가 0.4%였고, 6탄당으로는 glucose가 1.5%였으나, 특이하게 galactose의 함량이 60% 이상 검출되었다. 한편, hexosamine으로는 N-acetylglucosamine이 9.4% 및 N-acetylgalactosamine이 14.8% 검출되었으며, uronic acid로는 D-glucuronic acid가 10.8% 검출되었다. 지방흡수력은 대조구인 chitin과 chitosan에 비하여 다소 떨어졌으며, 추출한 황산화다당의 지방흡수력은 대략 280% 정도였다. 한편 포말성 및 포말안정성은 각각 0.70 과 0.50으로 비교적 우수하였다. 유화능 및 유화안정성은 49.2%와 48.3% 정도였으며, 황산화다당의 항혈액응고능은 APTT가 65초로 저지효과가 인정되었으나, PT저지효과는 없었다. ACE저해능의 측정결과, 약간의 ACE저해효과가 있었으며, 채택된 실험방법에 따라 동일시료의 경우에 있어서도 저해효과 값이 차이가 있었다.

참 고 문 헌

- Akio, K. 1994. New functional food proteins by polysaccharide modification. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 41, 304~310 (in Japanese).
- Albano, R. M. and A. S. M. Paulo. 1983. Presence of sulfated glycans in ascidian tunic and the body wall of a sea cucumber. *Biochim. Biophys. Acta.* 760, 192~196.
- Anno, K., O. Kimiko and N. Seno. 1974. A chitin sulfate-like polysaccharide from the test of the tunicate *Halocynthia roretzi*. *Biochim. Biophys. Acta.* 362, 215~219.
- Chaplin, M. F. 1982. A rapid and sensitive method for the analysis of carbohydrate components in glycoproteins using gas-liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 123, 336~341.
- Cushman, D.W. and H. S. Cheung. 1970. Spectrometric assay and pro-properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical pharmacology*, 20, 1637~1648.
- Dodgson, K. S., R. G. Price. 1962. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochem. J.*, 84, 106~110.
- Johnson, E. A. and C. J. Breke. 1983. Functional properties of acylated pea protein isolates. *J. Food Sci.*, 48, 722~725.
- Jung, Y. S. and S. Y. Lee. 1987. Methods of clinical pathology. Yonsei univ., press. pp. 120~123 (in Korean).
- Kang, Y. H., Y. K. Park., S.R. Oh. and K. D. Moon. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 978~984 (in Korean).
- Knorr, D. 1983. Dye binding properties of chitin and chitosan. *J. Food. Sci.*, 48, 36~41.
- Knutson, C. A. and A. Jeanes, 1968. A new modification of the carbazole analysis. *Anal. Biochem.*, 24, 470~475.
- Lee, K.H., B. I. Hong, B. D. Choi, S. J. Kang, J. H. Ruck and B. C. Jung. 1998. Utilization of pigments and tunic components of ascidian as an improved feed aids for aquaculture. 1. Effective extraction methods of crude polysaccharides in ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic. *J. Korean Fish. Soc.*, 31 (3), 423~428 (in Korean).
- Li, J-Z. and E. C-Y. Lian. 1988. Aggregation of human platelets by acidic mucopolysaccharide extracted from *Stichopus japonicus* Selenka. *Thrombosis and Haemostasis*, 59, p. 4350.
- Lin, M. J. Y., E. S. Humbert. and F. W. Sosulki. 1974. Certain functional properties of sunflower meals. *J. Food Sci.*, 39, 368~371.
- Mauro S. G. P., M. A. Rodolpho, M. L. Alexander and A. S. M. Paulo. 1989. Structural heterogeneity among unique sulfated L-Galactans from different species of ascidians (Tunicates). *J. Biol. Chem.* 264, 17, 9972~9979.
- Matui T., H. Matsufuji and Y. Osajima. 1992. Colorimetric measurement of angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity with trinitrobenzene sulfonate. *Biosci. Biotech. Biochim.*, 56, 3, 517~518.
- Nishino, T., Y. Aizu and T. Nagumo. 1991. The Relation between the molecular weight and the anticoagulant activity of fucan sulfates from the brown seaweed *Ecklonia Kurome*. *Agric. Biol. Chem.*, 55, 791~796.
- Nishino, T. and T. Nagumo. 1987. Sugar constituents and blood-anti coagulant activities of fucose-containing sulfated polysaccharides in nine brown seaweed species. *Nippon Nogeikagaku kaishi*, 61, 361~367.
- Nishino, T. and G. Yokoyama, K. Dobashi, M. Fujihara, and T. Nagumo. 1989. Isolation, purification, and characterization of fucose-containing sulfated polysaccharides from the brown seaweed *Ecklonia kurome* and their blood-anticoagulant activities. *Carbohydr. Res.*, 186, 119~125.
- Okutani, K. 1977. A viscous antitumor substance obtained from a marine bacterium no. 9~12. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 42, 367~370 (in Japanese).
- Rodolpho M. A. and A. S. M. Paulo. 1986. Isolation, fractionation, and preliminary characterization of a novel class of sulfated glycans from the tunic of *Styila plicata* (Chordata Tunicata). *J. Biol. Chem.* 261, 2, 758~765.
- Ryu, H. S., J. H. Moon and J. S. Suh. 1997. Chemical compositions of glycoprotein and chondroitin sulfates from sea cucumber (*Stichopus japonicus*). *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.*, 26, 72~80 (in Korean).
- Taguchi, T., A. Seko, K. Kitajima, Y. Muto, S. Inoue, K.-H. Khoo, H. R. Morris, A. Dell, and Y. Inoue. 1994. Structural studies on novel type of pentaantennary large glycan unit in the fertilization-associated carbohydrate-rich glycopeptide isolated from the fertilized eggs of *Oryzias latipes*. *J. Biol. Chem.* 269, 8762~8771.
- Wang, J. C. and J. E. Kinsella. 1976. Functional properties of novel protein alfalfa leaf protein. *J. Food Sci.*, 41, 286~292.
- Watanabe, M., H. Toyokana, A. Shimada and S. Arai. 1981. Proteinaceous surfactant produced from gelatin by enzymatic modification evaluation for their functionality. *J. Food Sci.*, 46, 1407~1469.
- Yabe, Y., T. H. Ninomiya., T. Kashiwaba, Tatsuno and T. Okada. 1987. Determination of sodium chondroitin sulfate added in foods. *J. Food Hygiene*, 28, 13~18 (in Japanese).

1998년 4월 2일 접수

1998년 5월 16일 수리