

초음파에 의한 carrageenan 저분자화의 최적 조건

김상무 · 박성민* · 최현미* · 이근태*
 강릉대학교 해양생명공학부, *부경대학교 식품공학과

Optimal Processing Parameters of Low Molecular Weight Carrageenan by Ultrasound

Sang-Moo KIM*, Seong-Min PARK, Hyeon-Mee CHOI and Keun-Tai LEE

Faculty of marine Bioscience and Technology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea

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

The carrageenans are linear, sulfated polysaccharides extracted from various species of the *Rhodophyta* (marine red algae). The carrageenan backbone is based on a repeating disaccharide sequence of β -D-galactopyranose residues linked glycosidically through position 1 and 3, and α -D-galactopyranose residues linked glycosidically through position 1 and 4. Carrageenans are typical food polysaccharides in that food applications overwhelmingly dominate their end uses. Other applications, however, including cosmetics, pharmaceuticals, industrial suspensions and paints are also of importance. But, because of its high degree of gelling and viscosity with low solubility, carrageenan is limited to use beyond 0.03% as food additives. Response Surface Methodology was applied for optimizing the processing parameters of ultrasound treatment in order to produce low-molecular-weight carrageenan. The use of ultrasound significantly reduced viscosity of λ -carrageenan solutions. Optimal parameters for ultrasound reduction of carrageenan molecular weight were: temperature, 10°C; ultrasound intensity, 121.64 W/cm²; carrageenan concentration, 2%; treatment time, 40 min. As the gel permeation chromatogram of dextran standards (M.W.= 500,000; 260,000; 167,000; 71,400; 42,000) and ultrasound treated carrageenan, the molecular weight of ultrasound treated carrageenan were approximately 200,000 (peak 1) and 60,000 (peak 2), respectively.

Key words: λ -carrageenan, low-molecular-weight, ultrasound, viscosity

서 론

우리 나라 연안은 난류 및 한류가 교차되는 특성을 가지고 있어 해조의 종류도 다양하고 그 양이 풍부하여 옛날부터 해조를 식용, 효료, 약용, 사료 및 비료 등으로 널리 이용하여 왔다. 해조류를 구성하고 있는 성분들의 함량은 탄수화물이 가장 많고, 무기질, 단백질, 지질의 순이다. 해조 다당류 중에서 carrageenan은 홍조류인 돌가사리과 (*Gigartinales*)의 돌가사리류 (*Gigartina* spp.), 진두발류 (*Chondrus* spp.) 및 끈적살과 (*Solieriales*)에 많이 함유되어 있는 점질성 다당류로, 분자량이 10만에서 80만 정도로 D-galactose와 3,6-anhydro-D-galactose가 α -1,3 및 β -1,4 결합을 한 구조에 황산기가 위치를 달리하여 결합된 구조를 가지고 있으며, 이 황산기의 위치에 따라 κ -, λ -, ι -, μ -, ν 및 ζ -carrageenan 등 여러 종류로 나뉘며 유제품, 제과, 육제품, 일반 가공식품 등에 첨가되어 증점제, 유화 안정제, 보수제 등으로 이용되고 있다 (Park et al, 1995).

시판되고 있는 수용성 λ -carrageenan은 상온에서 용해되는데 시간이 많이 소요되며, 알콜류가 포함되어 있는 용매에는 잘 녹지 않고, 침전을 일으키는 특성이 있으며 또한 λ -carrageenan의 농도가 높아짐에 따라 필요 이상의 강한 점성을 갖게 된다. 따라서 λ -carrageenan의 특성을 유지하면서 점성이나 gel형성능을 적절하게 조절하고 용해성을 향상시키면 필요에 따라 첨가량의 범위를 제한하지 않아도 되고, 식품 제조시 식품의 점성이나 gel 형성능을 인위적으로 조절할 수 있다면 그 이용범위는 훨씬 광범위해 질 것으로 판단된다.

저분자 carrageenan제조에는 산 및 효소에 의한 분해, 미생물이 분비하는 효소를 이용하는 방법 등 여러 가지 방안이 고려될 수 있으나 현재까지 뚜렷한 기술이 마련되어 있지 않은 실정이며

최근에 발표된 Takeuchi 등 (1994) 및 Joo 등 (1995)의 미생물이 분비하는 효소를 이용하여 알긴산의 저분자화를 연구한 방법 외에는 저분자 carrageenan의 제조에 관한 연구는 찾아보기 힘들다. 따라서, 본 연구에서는 초음파의 가장 큰 특성중의 하나인 중합체 분해 (polymer degradation) 성질을 이용하여 저분자 carrageenan을 제조하였다. 초음파 (ultrasound)는 의약, 어로, 군사, 식품산업 등 여러 분야에서 이용되고 있으며, 적용되는 분야에 따라 초음파 (고강도, 저강도)의 특성은 조금씩 다르다. 고강도 초음파가 나타내는 특성들은 가열, 동공효과 (cavitation effect), Structural effect, Compression and Rarefaction 및 Turbulence 등이 있으며, 이중 가장 특이한 Mechanism은 동공효과이다. 즉, 고강도의 초음파는 액체 내에서 초당 수 백에서 수 천만개의 아주 작은 공기방울 (microbubbles)을 생성하는데, 이 방울들이 생겨나고 깨어지면서 주위에 엄청난 힘을 가하게 되어 반응촉진 및 주위 물질의 파괴 현상을 가져오는데 이 현상을 초음파의 동공효과 (cavitation effect)라고 한다 (Floros and Liang, 1994). λ -carrageenan 고유의 특성을 유지하면서 향후 용해성 향상을 위한 기초자료로 활용하기 위해 초음파를 이용하여 λ -carrageenan을 저분자화시키는 최적조건을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 연구에 사용한 κ -, λ -carrageenan은 돌가사리 (*Gigartina aciculata* 및 *Gigartina pistillata*)로부터 추출 정제된 것으로 Sigma Product (Sigma, USA)로부터 제품을 구입하여 실험에 이용하였다.

2. λ-carrageenan 용액의 초음파 처리

Sonicator (Misonix, NY, USA)로 초음파를 발생시켜 κ- 및 λ-carrageenan 의 분자량을 감소시켰으며, 이 때 초음파 처리조건 의 설정은 Box and Behnken (1960)의 반응표면분석방법 (Response Surface Methodology)을 기초로 하고, 용액의 온도 (T), 초음파 처리시간 (t), 용액의 농도 (C), 초음파의 강도 (I)를 각각 독립변수로 하여 각 조건의 범위는 예비 실험결과를 통해 설정 하였다. 또한 초음파 처리시의 용액 내의 온도 조절은 Lauda circulator (Wobser GMBH & Co, Germany)로 조절하였으며, 초 음파는 pulse on time을 3분, pulse off time을 30초로 하였고, 용액의 용량은 예비 실험을 통하여 초음파의 처리효과가 가장 좋은 10 ml로 하였다.

3. λ-Carrageenan 용액의 겔보기 점도 측정

초음파 처리 전,후의 λ-carrageenan 용액의 겔보기 점도는 원추 평판형 (Cone and plate) 회전점도계 (Brookfield DV- II+ C/P, USA)를 사용하여 측정하였다. 즉, 0.1% carrageenan 용액 2ml를 사용하여 25°C에서 회전속도를 0.3rpm에서 100rpm까지 바꾸어 가 면서 측정하였다.

4. 초음파 처리조건 의 최적화 방법

초음파 처리에 영향을 미치는 변수들-온도 (T), 초음파 처리 시간 (t), 용액의 농도 (C), 초음파 강도 (I)-에 따른 분자량 감소 의 변화를 조사하였다. 이 때 초음파 처리 효율은 시료의 점도에서 초음파 처리후의 점도를 감하여 이것을 시료의 점도로 나누어 이 의 백분율로 아래와 같이 나타내었다.

$$\text{초음파 처리 효율 } E(\%) = \frac{V_0 - V_t}{V_0} \times 100$$

여기서 V_0 는 시료의 점도, V_t 는 초음파 처리 후의 용액의 점도를 나타낸다. 이에 따라 초음파 처리 효율과 각 변수간에 상관 관계를 나타내는 반응 표면 모형을 설정한 후, 이 모형에 의해 초음파 처 리 조건을 결정하였다. 이 때 최적 초음파 처리 조건은 점도의 저 하가 가장 많이 일어나는 조건으로 결정하였다. 즉 중심합성계획 법에 의해 설정한 각 변수들의 조건을 Table 1에 따라 초음파 처 리한 후 용액의 점도를 측정하여 이를 종속변수로 하고 각 변수 들을 독립변수로 하여 다음의 과정을 행하였다.

우선 아래의 식을 사용하여 각 독립변수들을 선형변환시켜 좌 표화된 새로운 독립변수를 정의하였다.

$$x = \frac{X - X_0}{\Delta X}$$

x: 좌표화된 독립변수

X: 실제 실험에 사용되는 변수의 값

X_0 : 실제 실험에 사용되는 변수의 값의 평균값

ΔX : x의 1단위에 해당하는 X의 증분

여기서는 반응표면을 곡선으로 표현될 것이므로 2차 회귀 모형 을 사용하는 것이 옳을 것이다. 따라서 우선 다음과 같은 모형을 가정하였다.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=2}^4 \beta_{ij} x_i x_j \quad (i < j)$$

$\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$: 2차 회귀모형의 회귀상수

x_i, x_j : 좌표화된 독립변수

각 조건에서 초음파 처리에 따른 반응표면곡선을 구하여 초음파 처리효과가 가장 좋은 조건을 조사하였다. 그리고 초음파 처리의 최적화 과정에서 사용된 반응표면분석은 Statistical Analysis System (SAS Institute, Inc, 1994)의 RESEG (Response Surface Analysis by Least-Squares Regression) 과정을 사용하여 통계처리하 였다.

5. 초음파 처리한 λ-carrageenan 용액의 분자량별 핵분 수집 최적조건에서 초음파 처리한 λ-carrageenan을 분자량별로 모으

Table 1. Independent variables and experimental design levels expressed in coded and natural units on λ-carrageenan for sonication

Coded units				Independent variables			
X_1	X_2	X_3	X_4	Temp. (°C)	Intensity (w/cm ²)	Conc. (%)	Time (min)
1	1	0	0	30	121.68	1.2	30
1	-1	0	0	30	73.01	1.2	30
-1	1	0	0	10	121.68	1.2	30
-1	-1	0	0	10	73.01	1.2	30
0	0	1	1	20	97.35	1.4	40
0	0	1	-1	20	97.35	1.4	20
0	0	-1	1	20	97.35	1.0	40
0	0	-1	-1	20	97.35	1.0	20
0	0	0	0	20	97.35	1.2	30
1	0	0	1	30	97.35	1.2	40
1	0	0	-1	30	97.35	1.2	20
-1	0	0	1	10	97.35	1.2	40
-1	0	0	-1	10	97.35	1.2	20
0	1	1	0	20	121.68	1.4	30
0	1	-1	0	20	121.68	1.0	30
0	-1	1	0	20	73.01	1.4	30
0	-1	-1	0	20	73.01	1.0	30
0	0	0	0	20	97.35	1.2	30
1	0	1	0	30	97.35	1.4	30
1	0	-1	0	30	97.35	1.0	30
-1	0	1	0	10	97.35	1.4	30
-1	0	-1	0	10	97.35	1.0	30
0	1	0	1	20	121.68	1.2	40
0	1	0	-1	20	121.68	1.2	20
0	-1	0	1	20	73.01	1.2	40
0	-1	0	-1	20	73.01	1.2	20
0	0	0	0	20	97.35	1.2	30

기 위하여 Amersham Pharmacia (Uppsala, Sweden)로부터 Sepharose CL-6B (Cross-linked 6% beaded agarose, Fraction range: 10,000~1,000,000)를 구입하여 Column (φ5.0 cm×99 cm)에 충전한 후 40 ml의 Sample 용액 (초음파 처리한 carrageenan용액)을 loading하고 6 ml/h의 속도로 완충용액 (0.1M Na₂SO₄)을 흘려 보내어 Fraction Collector (Bio-Rad, Model 2110, CA, USA)로서 획분 (5 ml)을 모은 다음, 206 nm에서 Optical Density를 측정하여 peak를 분리한 다음 최고흡광도의 50% 이상을 나타내는 획분만 pooling하여 진공농축한 다음 동결건조 (SFDSM12, Samwon Freezing Engineering Co., Korea)하였다.

또한 GPC에 의한 분자량을 조사하기 위하여 dextran standard (Sigma, USA; Mw 500,000, 260,000, 167,000, 71,400 and 42,000 Da)을 구입하여, 위와 같은 조건하에서 GPC를 통과시킨 다음 phenol-sulfate법 (Dubois et al., 1956)에 의해 400nm에서 흡광도를 측정하여 peak를 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 초음파 처리의 최적조건 결정

중심합성계획법에 의하여 설정한 실험조건에서 처리한 κ- 및 λ-carrageenan의 점도를 측정하여 구한 초음파 처리 효율의 결과를 SAS program에 의해 회귀분석과 정준분석을 하여 저분자화에 알맞은 초음파 처리조건을 조사하였다.

κ-carrageenan의 저분자화에 있어서 4가지의 독립변수, 온도 (T, x₁), 초음파 강도 (I, x₂), 농도 (C, x₃), 시간 (t, x₄)에 따른 종속변수인 초음파 처리 효율의 상관관계를 나타내는 반응표면식을 구하면 다음과 같다.

$$y = 96.20 - 0.003x_1 + 0.032x_2 + 4.693x_3 + 0.019x_4 + 0.000186x_1^2 - 0.002x_2^2 - 2.3135x_3^2 - 0.00006x_4^2 - 0.005625x_1x_3 - 0.0000125x_1x_4 + 0.07225x_2x_3 - 0.00075x_2x_4 - 0.003875x_3x_4$$

(R²=0.834)

이와 같이 설정된 반응표면모형으로부터 κ-carrageenan의 저분자화를 위한 초음파 처리의 최적조건을 조사하였으며, 최적 초음파 처리 조건은 온도, 34.64°C; 초음파 강도, 114.7 W/cm²; carrageenan 농도, 1.314%; 처리시간, 31.89분이었다. 그러나 κ-carrageenan인 경우 1.0~1.4% 농도에서 실온에 방치하면 서서히 gel이 진행되나 초음파 처리 후에는 농도에 관계없이 gel이 형성되어 점도를 측정할 수 없어서 λ-carrageenan만을 가지고 나머지 실험을 하였다.

반응표면분석에 따른 저분자 λ-carrageenan 제조의 최적 초음파 처리조건에 대한 결과를 Fig. 1~6 에 나타내었다. Fig. 1~6 에서 Z축에 Viscosity Reduction (VR)을 표시하였으며, X 및 Y 축에는 변수들을 표시하였다. 초음파 처리온도 및 강도를 변수로 하였을 때 (Fig. 1), 온도상승에 따른 점도 감소는 없었으나 초음파 강도가 증가할수록 점도감소는 약간 증가하였다. 온도 및 λ-carrageenan 농도를 변수로 하였을 경우 (Fig. 2)에는 Fig. 1과 마찬가지로

점도감소에 대한 온도의 영향은 거의 없었으나 농도가 증가할수록 점도는 크게 감소하였다. 온도 및 초음파 처리시간을 변수로 하였을 경우 (Fig. 3), 두 변수는 λ-carrageenan의 점도에 거의 영향을 미치지 않았다. λ-Carrageenan 농도 및 초음파 강도를 변수로

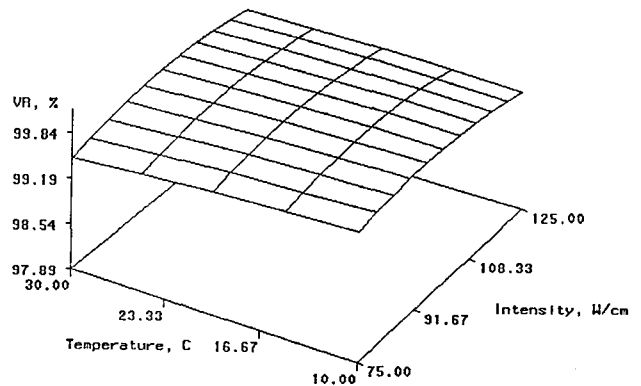


Fig. 1. Viscosity reduction of carrageenan solution treated by ultrasound as a function of temperature and ultrasound intensity.

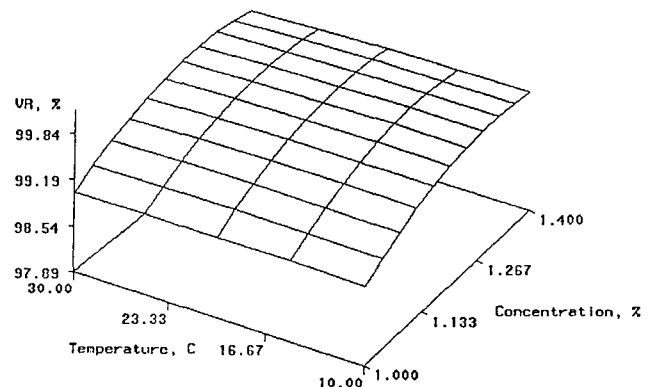


Fig. 2. Viscosity reduction of carrageenan solution treated by ultrasound as a function of temperature and concentration.

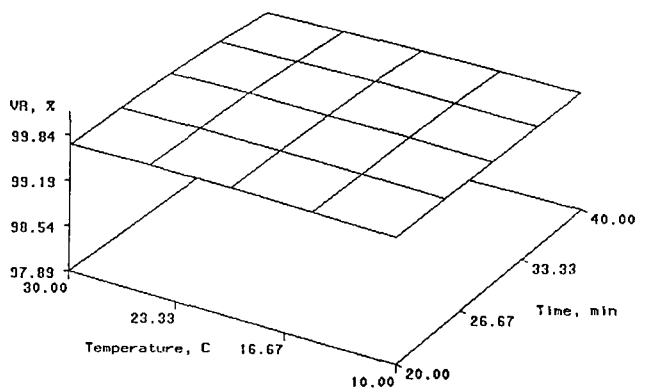


Fig. 3. Viscosity reduction of carrageenan solution treated by ultrasound as a function of temperature and time.

하였을 경우 (Fig. 4), 두 변수가 증가할수록 λ-carrageenan의 점도는 크게 감소하였으며 초음파 강도 및 처리시간을 변수로 하였을 경우 (Fig. 5), 두 변수가 증가할수록 λ-carrageenan의 점도는 약간 감소하였다. 그리고 λ-carrageenan 농도 및 초음파 처리시간을 변수로 하였을 경우 (Fig. 6)에는 처리시간의 증가에 따른 λ-carrageenan의 점도감소는 거의 없었으나 λ-carrageenan의 농도가 증가함에 따라 점도는 크게 감소하였다. 따라서, 초음파 처리에 의한 λ-carrageenan의 점도 감소에 중요한 인자는 초음파 강도, 시간, 온도, 및 농도이나, 특히 초음파 강도 및 λ-carrageenan 농도는 점도감소에 큰영향을 나타내었다.

초음파에 의한 λ-carrageenan의 저분자화에 있어서 4가지의 독립변수, 온도 (T, x₁), 강도 (I, x₂), 농도 (C, x₃), 시간 (t, x₄)에 따른 종속변수인 초음파 처리 효율의 상관관계를 나타내는 반응표면식을 구하면 다음과 같다.

$$y = 99.55 - 0.04x_1 + 0.47x_3 + 0.15x_4 - 0.04x_1^2 - 0.16x_2^2 - 0.28x_3^2 - 0.04x_4^2 + 0.08x_1x_2 - 0.01x_1x_3 - 0.08x_2x_3 - 0.12x_2x_4 - 0.05x_3x_4$$

(R²=0.988)

Where, y=점도감소 (viscosity reduction), %
 x₁=초음파 처리 온도, °C
 x₂=초음파 강도, W/cm²
 x₃=carrageenan 농도, %
 x₄=초음파 처리시간, min

초음파에 의한 저분자 λ-carrageenan의 최적 제조 조건은 온도, 10.00°C; 초음파 강도, 121.64 W/cm²; carrageenan 농도, 2.0%; 처리시간, 40분이었다.

위 상관식의 결정계수 (R²)은 0.9883로 높았으며, 유의성의 검증에서도 유의확률이 0.0000으로써 가정된 반응모형은 통계학적으로 유의하였다 (Table 2). 각 회귀상수 중 강도, 농도, 시간은 선형효과를, 강도와 농도는 순수 이차효과를 나타내었다. 그리고 초음파 처리 효율에 대한 교차곱효과는 온도와 강도, 강도와 농도 및

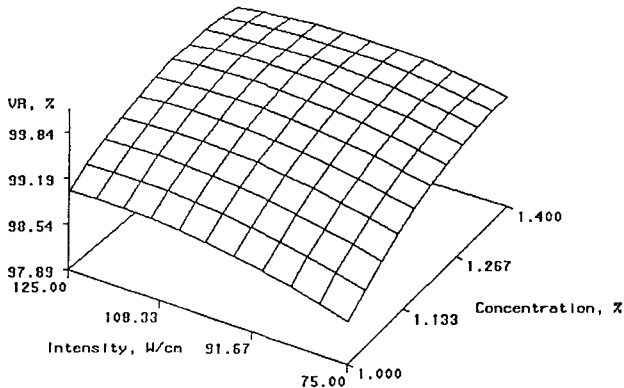


Fig. 4. Viscosity reduction of carrageenan solution treated by ultrasound as a function of ultrasound intensity and concentration.

강도와 시간의 관계에서 관찰되었다. 각 회귀상수 중 농도에 대한 회귀상수의 절대값이 가장 큰 값 (β₃=0.47)을 나타내는 것은 초음파 처리 효율에 영향을 미치는 변수 중 농도가 가장 중요한 변수라는 것을 알 수 있다. 강도에 대한 회귀상수의 절대값도 농도 다음으로 큰 값 (β₂=0.26)을 나타내고 있어 초음파 처리 효율에 농도에 이어 중요한 변수라는 것을 알 수 있다.

2. 저분자 carrageenan의 chromatography pattern 및 분자량 최적 초음파 처리조건에서 제조한 저분자 λ-carrageenan의 gel permeation chromatography의 결과를 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 7에는 나타내지 않았지만 Control λ-carrageenan은 단일 Peak를 나타내었으나 초음파로 처리한 λ-carrageenan은 2개의 peak를 나타내었다. Guild and Fillippes (1957)은 약 800만 dalton의 분자량을 가진 DNA를 초음파 처리했을 경우 500개의 단편들이 생산되었다고 하지만 λ-carrageenan은 단지 2개의 peak만을 생산하였다. 초음파 처리된 λ-carrageenan의 분자량을 확인하기 위하여 실험방법에서 서술한 바와 같이 표준품과 초음파 처리된 λ-carrageenan을 각각 GPC에 통과시킨 결과, 표준품의 경우

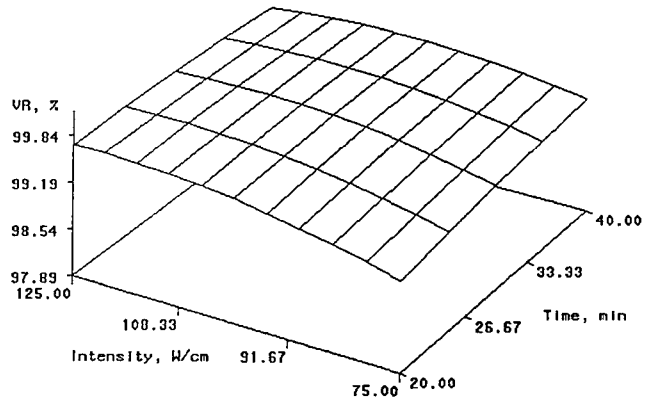


Fig. 5. Viscosity reduction of carrageenan solution treated by ultrasound as a function of ultrasound intensity and treatment time.

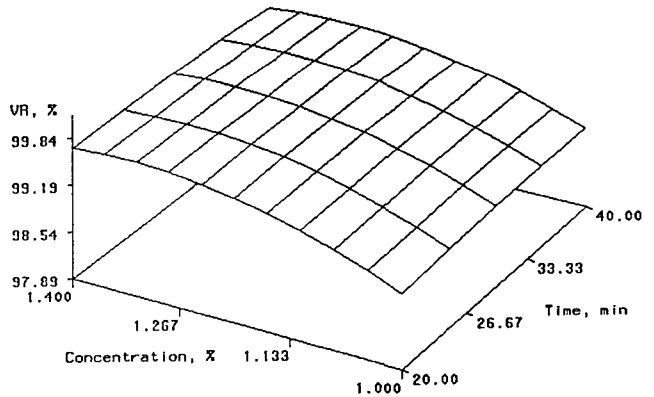


Fig. 6. Viscosity reduction of carrageenan solution treated by ultrasound as a function of concentration and treatment time.

Table 2. Model coefficients^a estimated by multiple linear regression of λ-carrageenan treated by ultrasound

Factor	Coefficients
Constant	99.55
Linear	
T	-0.04
I	0.26**
C	0.47**
t	0.15**
Quadratic	
T ²	-0.04
I ²	-0.16**
C ²	-0.28**
t ²	-0.04
Crossproduct	
T×I	0.08***
T×C	0.00
T×t	-0.01
I×C	-0.08***
I×t	-0.12**
C×t	-0.05
R ²	0.9883
Probability	0.0000

^aModel on which x_1 =Temperature (T), x_2 =Intensity (I), x_3 =Concentration (C), x_4 =Time (t is $y = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=2}^4 \beta_{ij} x_i x_j$ ($i < j$))

** Significant at 0.005 level
 *** Significant at 0.05 level

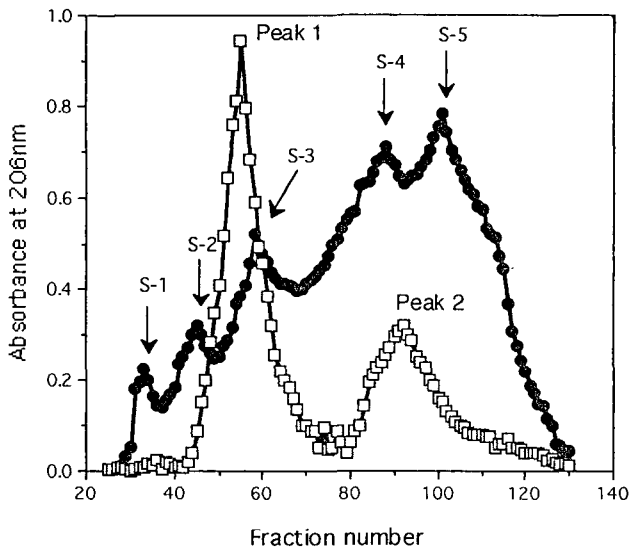


Fig. 7. Molecular weight curve of dextran and carrageenan in Sepharose CL-6B. Column, 5.0×99 cm; Eluent, 0.1 M Na₂SO₄; Flow rate, 6 mL/hr; Fraction volume, 5 mL.
 -●- Dextran standard
 -□- Sonicated carrageenan
 S-1 : M.W.=500,000
 S-2 : M.W.=260,000
 S-3 : M.W.=167,000
 S-4 : M.W.= 71,400
 S-5 : M.W.= 42,000

phenol-sulfate method에 의해 확인된 peak와 초음파 처리된 λ-Carrageenan의 206 nm에서 확인된 peak로 elution profile를 작성한 결과, 각 peak의 감도는 다소 차이가 있었는데 이것은 측정되어진 파장이 다르기 때문이라 생각되어진다. 그러나 동일한 elution volume과 time에 의해 측정되어진 것이므로 두가지의 peak의 분자량을 추정하여 본 결과 p-1의 경우 약 200,000정도였으며, p-2의 경우 약 60,000정도 이었다.

요 약

λ-carrageenan 고유의 특성을 유지하면서 용해성을 높인 저분자 λ-carrageenan을 제조하여 보다 효율적으로 식품산업에 이용하기 위하여 초음파를 이용하여 λ-carrageenan을 저분자화하는 최적조건을 조사한 결과 λ-carrageenan의 초음파 처리시 각 처리조건들과 저분자화 효과와의 상관관계를 나타내는 반응표면식을 구한 결과, carrageenan 농도와 초음파 강도가 저분자화에 미치는 주 영향인자인 것으로 나타났다. 그리고 저분자화를 위한 초음파 처리의 최적 조건은 초음파 처리온도 10℃, 초음파 강도 121.64 W/cm², 시료 carrageenan 농도 2%, 초음파 처리시간 40분이었다. λ-carrageenan 및 저분자화된 λ-carrageenan의 분자량을 조사한 결과 대조군 λ-carrageenan의 분자량은 약 250,000이었으며 초음파 처리에 따른 저분자화 된 λ-carrageenan의 분자량은 각각 p-1의 경우 약 200,000정도였으며, p-2의 경우 약 60,000정도 이었다.

사 사

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (971-0608-058-2) 지원 사업에 의하여 수행되었기에 지원해 준 한국과학재단에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Coombe, D.R., Parish, C.R., Ramshow, I.A. and Snowden, J.M. 1987. Analysis of the inhibition of tumour metastasis by sulfated polysaccharides. *Int. J. Cancer*, 39, 82~88.
 Crawford, A.E. 1963. A practical introduction to ultrasonic cleaning. *Ultrasonics*, 1, 65~71.
 DeFreitas, Z., J.G. Sebranek, D.G. Olson and J.M. Carr. 1997. Carrageenan effects on thermal stability of meat proteins. *J. Food Sci*, 62, 544~547.
 Dubois, M., K. Gilles, J. Hamilton, P. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350~353.
 Efmov, V.S., Usov, A.I., Ol'skaya, T.S., Baliunis, A and Roskin, M.Y. 1983. Comparative study of anticoagulant activity of sulfated polysaccharides obtained from red sea algae. *Farmkol. Toksikol.*, 46 (3), 61~67.
 Floros, J.D. and Liang, H. 1994. Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. *Food Technol.*, 48 (12), 79~84.
 Fernandes, P.B., M.P. Gon alves and J.-L. Doublier. 1994. Rheological behaviour of κ-carrageenan/Galactomannan mixtures at

- a very low level of κ -carrageenan. J. Texture studies, 25, 267~283.
- Guild, W.R. and De Filippes, F.M. 1957. Ionizing radiation and ultrasonic evidence for a minimum unit of transforming principle DNA. Biochem. Biophys. Acta, 26, 24~30.
- Hendrickx, M., C. Oombs, C. Engels, E. Van Pottelbergh and P. Tobback. 1987. Obstruction effect of carrageenan and gelatin on the diffusion of glucose. J. Food Sci, 52, 1113~1114.
- Henglein, A. 1987. Sonochemistry : Historical developments and modern aspects. Ultrasonics, 25, 6~16.
- Joo, D.S., Lee, J.S., Cho, S.Y., Shin, S.J. and Lee, E.H. 1995. Changes in Functional Properties of Alginic Acid by Enzymatic Degradation. Korean J. Sci. Technol., 27 (1), 86~91.
- Kim, S.M. and Zayas, J.F. 1991. Comparative quality characteristics of chymosin extracts obtained by ultrasound treatment. J. Food Sci., 56 (2), 406~410.
- Kim, S.M. and Zayas, J.F. 1991. Influence of ultrasound on the properties of chymosin extraction. J. Food Process. Preser., 15 (2), 89~100.
- Kim, S.M. and Zayas, J.F. 1991. Effects of ultrasound treatment on the properties of chymosin. J. Food Sci., 56 (4), 926~930.
- Park, S.H. 1995. Modern Experimental Plan Method, Response Surface Experimental Plan Method. Minyoungsa. Seoul. 521~564.
- Park, Y.H., Chang, D.S. and Kim, S.B. 1995. Fisheries processing and utilization. Hyungsul Pub., 290~293.
- Pigman, W. and D. Horton. 1970. The carbohydrate II (B). Academic press. NewYork. 555~559.
- Sung, N.K. 1994. SAS Explanation III, SAS/STAT-Regression Analysis, Response Surface Methodology. Jayuacademy. Seoul. 201~238.
- Skauen, D. 1976. A comparison of heat production and cavitation intensity in several ultrasonic cell disruptors. Ultrasonics, 14, 173~176.
- Takeuchi, T., Murata, K., and Kusakabe, I. 1994. A method for depolymerization of alginate using the enzyme system of *Flavobacterium multivolum*. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 41, 505~512.
- Wrigley, D.M. and Llorca, N.G. 1992. Decrease of *Salmonella typhimurium* in skim milk and egg by heat and ultrasonic wave treatment. J. Food Protect. 55, 678~680.
- Yoon, W.B., Kim, B.Y. and Kim, M.H. 1993. Prediction of the Rheological Property of Protein Food Gel System by Using Ultrasonic Wave. Korean J. Sci. Technol., 25 (6), 632~636.

1999년 5월 3일 접수

1999년 7월 9일 수리