

## 미생물을 이용한 미역폐기물의 저장 및 알긴산염 저분자화

안 성 준·김 영 숙\*·박 권 필  
순천대학교 화학공학과, \*순천대학교 생물학과  
(2003년 12월 5일 접수; 2004년 3월 15일 채택)

### Storage of Waste-Brown Seaweed and Degradation of Alginate Using Microorganism

Seong-Jun Ahn, Young-Sook Kim\* and Kwon-Pil Park

Dept. of Chem. Eng., Suncheon University, Suncheon 540-742, Korea

\*Dept. of Biology, Suncheon University, Suncheon 540-742, Korea

(Manuscript received 5 December, 2003; accepted 15 March, 2004)

We studied a storage of waste-brown seaweed at room temperature and degradation of alginate in seaweed by microorganism DS-02.

The seaweeds, mixed with 5.0 wt% DS-02 and sealed in vinyl package without any other treatment, could be stored longer than 1 year without spoilage at room temperature.

During the storage process, the alginate of seaweed was decomposed by enzyme of DS-02 and the molecular weight of alginate decreased to about 1/10 of initial quantity. DS-02 grew as fast as it had maximum weight after 24 hour culture and its enzyme had a maximum activity of alginate degradation at 40°C. The seaweed sample became particles in DS-02 culture solution and the M.W of alginate decreased to about 1/10 of initial value after 24 hour decomposition. The effect of alginate degradation with DS-02 was similar to that of degradation with 3.0 M HCl solution for 24 hour.

Key Words : Alginate, Microorganism, Degradation, Waste-seaweed, Storage

#### 1. 서 론

미역은 채취과정에서 폐기되는 부분이 많아 환경 오염을 유발할 가능성이 다른 해조류보다 높다. 미역을 바다에서 채취할 때 미역의 밑 부분을 잘라서 그대로 바다에 버리고 또 육상에서 가공 중에도 많은 부분이 폐기물로 버려지고 있기 때문이다. 바다에 폐기되는 미역의 양은 전체미역의 약 40~60%로 우리나라에서만 14~21만톤이 매년 남해안에 폐기되어 바다 오염과 미역의 좁쌀병 등을 발생시키는 원인이 되고 있다. 미역폐기물을 바다에서 수거하지 않고 바다에 버리는 것은 미역폐기물을 수거해 와도 육상에서 활용할 방법이 없어 또 다른 환경오염을 만들기 때문이다. 폐기되는 미역의 밑 부분은 줄기와 약간의 포자엽, 뿌리, 잎들을 포함하나 식용으로

이용되는 미역 잎과 그 조성이 비슷해<sup>1)</sup> 여러 용도로 활용할 수 있다(미역은 전체가 엽상체지만 부위에 따라 그 성질이 약간 다르므로 일반적으로 사용되듯이 잎, 줄기, 포자엽, 뿌리라고 하였다).

미역 폐기물은 가축의 사료 또는 유기질비료와 같은 저가 제품의 원료로 이용될 수 있을 뿐만 아니라 건강식품<sup>2-5)</sup>과 중금속 이온의 흡착제<sup>6-9)</sup> 등 고부가가치 제품으로도 이용될 수 있다. 식용 미역뿐만 아니라 미역폐기물도 활용도를 높이기 위해서는 바다에서 채취 후 1~2일 내에 부패가 되지 않게 처리해 주어야 한다. 식용미역은 장기간 저장하기 위해 즉시 건조하거나 염장하여 저온 보관한다. 미역의 건조는 미역의 겉에 묻어 있는 점액물질 때문에 건조속도가 매우 느려 2~3개월의 짧은 기간 내에 채취되는 많은 양의 미역을 건조처리하기 위해서는 대단위 건조시설이 필요하고 또 이 시설의 연중 가동시간이 짧다는 문제점이 있다. 소규모 건조시설로 많은 양의 미역폐기물을 처리하기 위해서는 저장 후 1년 내

Corresponding Author : Kwon-Pil Park, Dept. of Chem. Eng., Suncheon University, Suncheon 540-742, Korea  
Phone : +82-61-750-3584  
E-mail : parkkp@suncheon.ac.kr

내 건조기를 가동하면 되나 미역폐기물을 사료용이나 비료용과 같은 저가 제품으로 활용하기 위해서는 저장방법을 염장, 저온 저장보다 경제적인 방법을 찾아야 한다. 그래서 본 연구자들은 미역을 염장하지 않고 습윤상태에서 장기간 상온저장 하는 방법을 개발하는 것이 비용절감에 필수적임을 알고 미생물을 이용한 미역 폐기물의 상온저장방법을 연구하게 되었다. 그리고 미역의 섬유소인 알긴산은 혈청 지질조성의 개선효과 등 그 기능성과 관련하여 많은 보고들이 있는데, 흰쥐에 알긴산을 급이한 실험에서 Tsuji 등<sup>10)</sup>은 알긴산이 혈청 및 간장지질의 콜레스테롤 농도를 현저히 감소시킨다고 하였으며 Ikedami 등<sup>3)</sup>은 알긴산은 소장내 담즙분비량의 증가와 소화기관의 증대 효과가 있다고 하였고, Kimura 등<sup>5)</sup>은 알긴산이 흰쥐의 분변중 나트륨의 배설을 증가시킨다고 하였다. 미생물에 의해 미역폐기물을 저장하는 과정에 미생물의 효소에 의해 미역의 알긴산염이 저분자화되는 효과가 있음을 보여 본 연구에서 미생물에 의한 미역의 저분자화에 대해서도 검토하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 균주 분리 및 배양

남해안 여수지역에서 썩 시료를 채취하여 멸균증류수에 풀어 정지시킨 후 흡 성분을 침전시키고 상부의 용액을 분리하였다. 분리 용액을 해수와 peptone 그리고 yeast extract 등이 혼합된 배양액에 넣고 30℃에서 1일 배양하였다. 이 배양액 0.2ml를 marine agar(DIFCO™ Marine Agar 2216)고체배지에 옮기고 4~5종의 미생물 중에서 해조류를 분해하는 균 DS-02를 확인하고 이 균을 순수 분리하였다.

해수 1000ml에 peptone 5g과 yeast extract 1g을 투입하고 용해 후 멸균처리한 용액을 분리균주 DS-02의 배양액으로 사용하였다.

### 2.2. 저장 및 알긴산염 추출

미역폐기물시료는 3월에 고흥지역에서 채취한 것으로 1~2 cm 크기로 절단해 사용하였다. DS-02균 배양액을 미역폐기물시료 460~470g의 5 wt.% 넣고 시료와 혼합하여 PP(polypropylene) 포장지에 밀봉한 봉지 10개를 부패가 용이한 상대습도 80%, 온도 30℃의 항온항습조에 저장하였다.

시료로부터 알긴산염(sodium alginate) 추출과정<sup>6)</sup>은 다음과 같다. 저장 후 미역시료를 탈수하고 5% 염산수용액에서 1시간 교반하여 산세척하고 증류수로 pH 7이 될 때까지 세척하였다. 세척한 시료를 3% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 수용액에 넣고 60℃에서 초음파 진동(BRANSON ULTRASONIC Co, 3210, 47 kHz)을

이용해 미역 시료 중에서 알긴산염을 용액 중으로 추출한 후 여과하여 탈알긴산염(dealginat)을 제거하고, 알긴산염 용액에 에탄올을 가해 부상하는 알긴산염을 회수해 60℃에서 건조하였다.

### 2.3. 분석

알기네이트의 분자량은 시료를 0.1M NaNO<sub>3</sub> 수용액에 용해시켜 ultrahydrogel column이 들어 있는 Waters GPC(Gel Permeation chromatography) System (Alliance 2690 + 2414 RI System)에서 0.9ml/min 유속하에 분석하였으며, pullulan standard(M.W.: 5,900~788,000)를 이용하였다. Fig. 1은 알긴산염 분자량 측정을 위해 pullulan standard를 이용하여 얻은 GPC 검량곡선이다. 본 실험의 알긴산염 분자량 범위인 10,000~300,000을 포함하고 전 분자량 범위에서 직선을 이루고 있어 검량곡선으로 사용하기에 적합함을 보였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 균 성장 곡선

배양액을 500ml 삼각 플라스크에 넣고 marine agar 고체배지에서 약 0.001g의 균을 옮겨 넣은 후 30℃, 150 rpm으로 교반하여 균을 배양하였다. 일정 시간동안 균 배양 후 원심분리기에서 4℃, 10,000 rpm으로 균을 원심분리시키고 배양액 중에 남은 균을 다시 여과(filter paper pore : 0.45 μm)하여 분리한 균을 각각 60℃에서 건조하여 균 무게를 측정해 그린 성장곡선을 Fig. 2에 나타내었다. 1일까지 무게가 증가하다 1일 이후 감소하는 경향을 보이고 있다. 배양 시 삼각플라스크입구를 멸균순으로 막아 공기주입이 원활하지 않은 것이어서 충분한 호기성 조건으로 실험했을 때 그 변화를 보기 위해 산소를

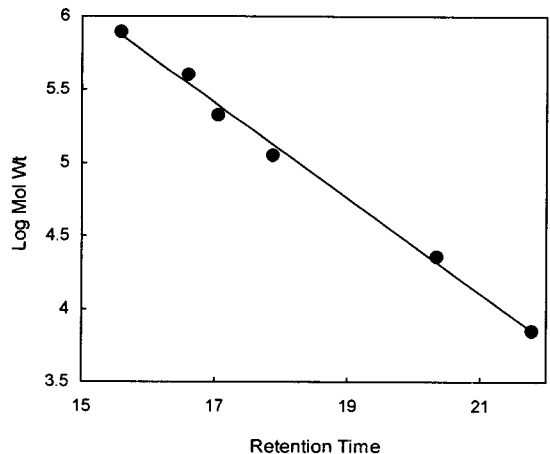


Fig. 1. GPC calibration curve constructed with Pullulan standard(M.W.: 5,900~788,000).

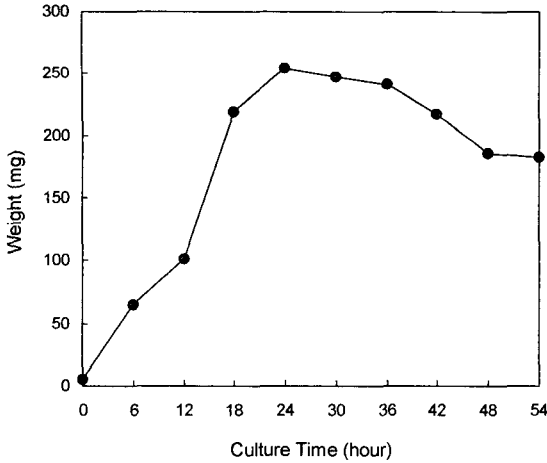


Fig. 2. Growth curve of DS-02 microorganism.

10ml/min 유속으로 공급하며 배양한 결과 균 무게가 약 18 시간에 최고가 되어 호기성조건에서 증식이 더 잘됨을 보였고 산소를 공급하면 균이 멎치는 현상도 있었다.

### 3.2. 저장

Fig. 3에 2일간 배양한 DS-02균 배양액 5%를 미역폐기물에 혼합한 후 밀봉해 항온항습조에 저장 후 1년이 지난 시료와 DS-02배양액을 넣지 않고 같은 방법으로 처리한 시료를 비교한 사진이다. 배양액을 넣은 시료는 육안으로 보았을 때 부패현상(곰팡이, 액화)이 없었고, 손가락으로 시료를 누르면 끊어지는 현상이 있어 미역섬유소인 알긴산의 저분자화에 따른 것으로 생각되었으며 또 가스 발생이 없어 포장내부의 부피가 처음상태를 유지했고, 개봉했을 때 미역냄새가 나는 등 이런 현상들을 종합해 볼 때 저장기간 중 부패가 없었던 것으로 판단할 수 있었다. 그러나 배양액을 넣지 않고 포장한 시료는 5일

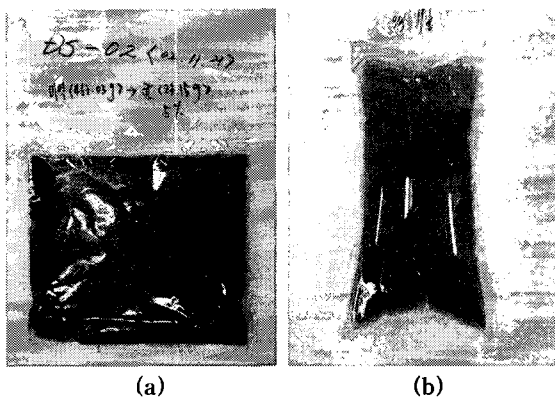


Fig. 3. Photograph of seaweed samples after 1 year storage a)with DS-02 b) without DS-02.

이후부터 가스가 발생해 Fig. 3에 보이는 것처럼 봉지가 팽팽하게 부풀어 오르고 봉지를 개봉했을 때 역한 냄새가 나 부패했음을 보였다.

배양액을 넣은 후 상온에서 저장한 미역폐기물의 줄기와 잎부분에서 추출한 알긴산염들의 분자량을 각 저장시간별로 분석한 결과를 Fig. 4에 나타냈다. 초기의 수평균분자량(number-average molecular weight,  $M_n$ )은 잎과 줄기 각각 262,000과 277,000이었으나 12주 후 그 분자량은 35,000정도로 감소함을 보이고 있다. DS-02균에서 알긴산염을 분해하는 효소인 alginate lyase가 미역잎과는 처음부터 접촉이 잘 되어 분자량 감소가 1주 후에 100,000이하로 감소함을 보이나 줄기의 경우는 잎에 비해 줄기의 표면이 딱딱하고 줄기가 두꺼워 줄기내부까지 효소가 확산해 들어가기 어려워 초기 1-2주에는 분해속도가 느리나 줄기의 겉부분이 분해되어 효소의 통과가 원활해진 이후에는 빠르게 알긴산염 분해가 이뤄져 12주가 지난 후에는 잎과 비슷한 정도의 분자량을 갖음을 Fig. 4에 보이고 있다.

### 3.3. 저분자화

미역중의 알긴산은 분자량이 약 200,000~300,000인 고분자물질인데 저분자화시키면 용해도 및 담즙산 결합능을 현저히 증가시키고<sup>11)</sup> 실험동물의 간장 지질 조성을 생리적으로 개선하는 효과가 현저히 증가함<sup>12)</sup>을 보여 본 실험에서 미생물에 의한 알긴산의 저분자화에 대해 검토하였다.

약 2 cm로 절단한 미역잎을 멸균하여 DS-02 배양액에 넣고 교반하면 1일 후부터 미역 잎이 분해되어 작은 입자가되었다. Fig. 5는 2일 배양한 DS-02배

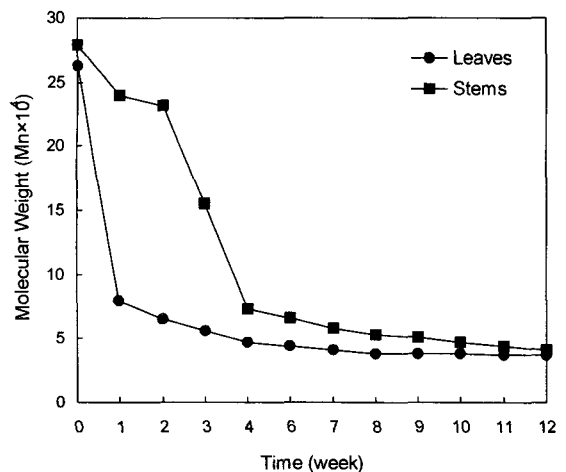


Fig. 4. Molecular weight of alginate from seaweed leaves and stems after various contact times with DS-02.

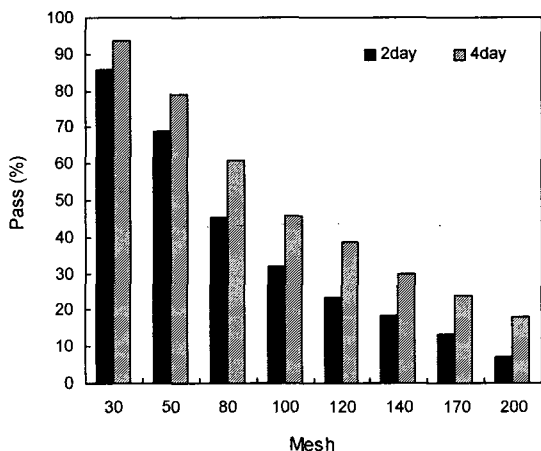


Fig. 5. Particle size distribution of seaweeds after decomposition in DS-02 culture solution.

양액 200ml에 미역잎 10g을 넣고 30℃에서 일정시간 교반한 후 여과, 건조한 미역 분말의 입자 크기분포를 나타냈다. 미역잎과 배양액의 접촉시간이 길어질수록 미역분말의 크기가 작아짐을 보이고 있다. 예를 들면 2일 분해 한 시료는 100mesh(Tyler equivalent, sieve opening : 0.149mm)를 31% 통과해 입자크기가 0.149mm보다 작은 시료가 31%임을 보였으나 4일 분해한 시료는 46%로 0.149mm보다 작은 입자가 더 많다는 것을 보인 것이다.

DS-02균 배양액에 미역잎을 넣고 일정시간 분해시킨 후 알긴산염을 추출하여 그분자량을 측정함으로써 DS-02균의 미역중의 알긴산염 분해력을 실험하였다. Fig. 6은 원심분리와 마이크로 필터로 DS-02균을 제거한 후 남은 여과액에 미역잎을 넣고 각 시간별로 분해한 후 알긴산염의 분자량을 GPC로 분석한 그림이다. 분해시간이 길어질수록 체류시간(retention time)이 길어짐을 즉 알긴산염의 분자량이 작아짐을 보이고 있다. 이 결과를 수평균분자량 값으로 Fig. 7에 나타내었고 또 DS-02균을 분리하지 않고 미역잎을 분해한 결과와 비교하였다. DS-02균이 제거된 배양액에서 약간 분해가 덜 됨을 보이고 있는데 그 원인으로 미생물 분리과정에서 효소의 활성이 감소한 것과 미역잎이 DS-02균의 alginate lyase 발생을 유도해 좀 더 많은 효소에 의한 알긴산염의 분해속도 증가에 의한 것, 두 가지로 생각되어진다.

알긴산염 분해 효소의 열 안정성을 알아보기 위해 DS-02를 제거한 배양액에서 온도를 변화시키며 12시간 분해한 알긴산염의 분자량을 Fig. 8에 보이고 있다. 40℃까지 온도가 증가함에 따라 알긴산염 분해능이 증가하다 45℃에서는 분해전과 같은 분자

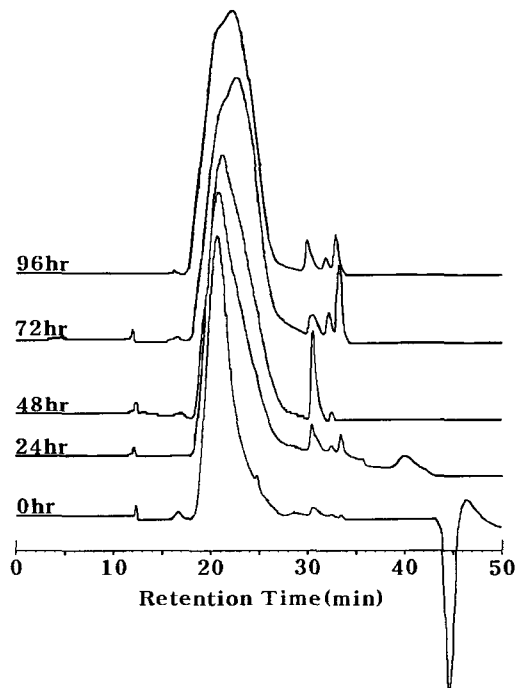


Fig. 6. GPC elution curves of alginates decomposed in culture solution without DS-02. (ultrahydrogel column, 35℃, 0.9ml/min)

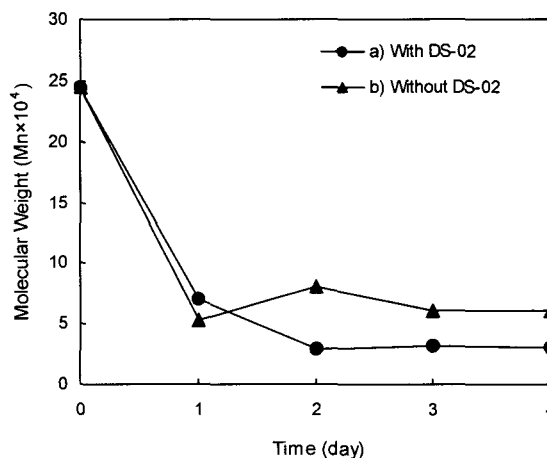


Fig. 7. Molecular weight of alginate from seaweed after degradation in culture solution a) with DS-02 b) without DS-02.

량을 보여 분해능이 없음을 알 수 있다. 즉 이 효소는 40℃정도까지 안정되어 제 기능을 보이는 비교적 높은 온도에서 안정된 효소라고 할 수 있다.

알긴산염의 저분자화 방법은 산분해<sup>13,14</sup>, 열분해, 감마선분해<sup>15</sup>, 라디칼분해<sup>16</sup> 등 여러 방법이 있다. DS-02균의 알긴산염 분해력을 산에 의한 알긴산염

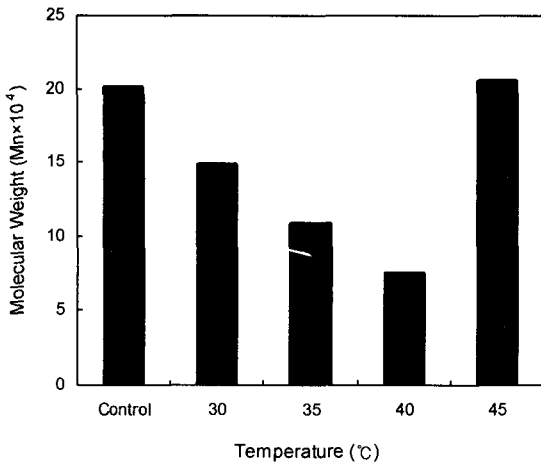


Fig. 8. Effect of temperature on the degradation of alginate after 12 hour immersion in culture solution without DS-02.

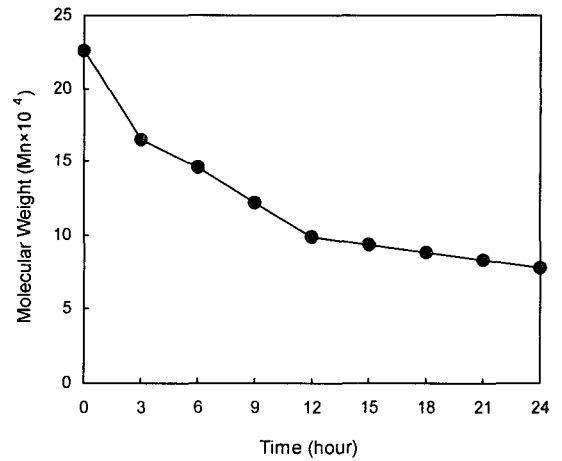


Fig. 9. Effect of reaction time on the degradation of alginate with 3M HCl solution at 30°C.

분해력과 비교해보기 위해 염산 수용액으로 미역을 분해한 실험을 수행하였다. 미역 10g을 3M 농도의 염산용액 200ml에 넣고 30°C 배양기에서 각 시간별로 교반한 후 알긴산염을 추출해 분자량을 측정된 결과를 Fig. 9에 나타내었다. Ikeda 등<sup>13)</sup>이 85% 인산수용액에서 실험한 결과처럼 분해시간이 경과함에 따라 알긴산의 분자량이 서서히 감소함을 보이고 있다. Fig. 7과 Fig. 9를 비교해 보면 DS-02 균의 알긴산염 분해력이 24시간을 기준으로 할 때 3M 농도의 염산과 거의 같음을 보이고 있다. Fig. 10에서는 염산농도에 따른 알긴산염 분해정도를 알아보기 위해 실험한 것이다. 염산 농도가 강해짐에 따라 알긴산염의 분자량이 감소함을 보이고 있다. 초산이나 구연산 등 유기산에서 실험한 Nakagawa 등<sup>14)</sup>

의 실험에서는 유기산 농도에 저분자화 정도가 영향을 거의 안 받고 분자량 분산도를 나타내는  $M_w/M_n$ (poly dispersity)이 분자량이 작아짐에 따라 작아지는 경향을 보였으나 본 실험에서 사용한 무기산인 염산실험결과는  $M_w/M_n$ 이 분자량에 영향을 별로 받지 않음을 Fig. 10에서 보이고 있어 유기산 실험결과와 다른 경향을 나타내었다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 미역폐기물을 활용하기 위해 미생물을 이용해 상온에서 미역을 저장하는 방법과 미생물에 의한 미역 중 알긴산염의 분해에 대해 검토하였다.

미역에 DS-02균 배양액 5%를 혼합해 밀봉하는 것 외의 다른 가공이나 조건 변화없이 30°C, 상대습도 80%에서 1년 이상 부패 없이 미역을 저장할 수 있었다. 저장과정 중에 미역중의 알긴산염이 DS-02균 효소에 의해 저분자화 되어 12주 후 알긴산염 분자량이 처음 분자량의 약 1/10로 감소함을 보였다. 이와 같은 저분자화 효과는 3M 염산에 의해 알긴산염을 24시간 분해하는 효과와 비슷하였다. DS-02균은 30°C에서 1일 증식 후 최고 무게를 갖는 증식 속도가 매우 빠른 균이었으며 알긴산염 분해효소는 온도 40°C에서 분해력이 제일 높음을 보여 주었다. DS-02균 배양액에서 미역을 교반해 분해하면 미역이 분말화 되었고 알긴산의 저분자화가 진행되어 24시간 후에 처음 분자량의 약 1/10까지 감소함을 보였다.

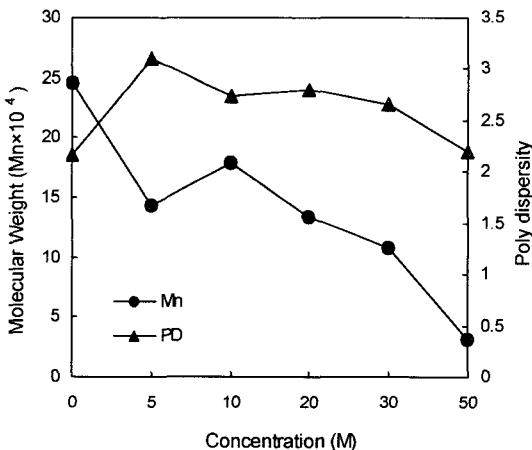


Fig. 10. Effect of HCl concentration on the degradation of alginate in seaweed at 30°C for 12 hour.

#### 감사의 글

이 논문은 2003년도 순천대학교 공과대학 학술 재

단 연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참고 문헌

- 1) Park, K. P., T. H. Kim and Y. S. Kim, 2003, Extraction of alginate from waste-brown seaweed and use of dealginate, *J. of the Environmental Sciences*, 12(1), 63-68.
- 2) Suzuki, T., K. Nakai and T. Hirano, 1993, Effects of sodium alginates rich in guluronic and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol-fed rats, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59(3), 545-551.
- 3) Ikegami, S. and S. Innami, 1990, Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats, *J. Nutr.*, 120, 353-360.
- 4) Suzuki, T., K. Nakai and T. Hirano, 1993, Digestibility of dietary fiber in brown alga, kombu, by rats, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59(5), 879-884.
- 5) Kimura, T. and K. Tsuji, 1993, Effects of the primary structure of alginate on fecal excretion of sodium in rats, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 67(8), 1177-1183.
- 6) Alderhold, D., C. J. Williams and R. G. J. Edyvean, 1996, The removal of heavy-metal ions by seaweeds and their derivatives, *Bio-source Technology*, 58, 1-9.
- 7) Williams, C. J. and R. G. J. Edyvean, 1997, Ion exchange in nickel biosorption by seaweed materials, *Biotechnol. Prog.*, 13, 424-429.
- 8) Costa, A. C. A., L. M. S. de Mesquita and Tornovsky, 1996, Batch and continuous heavy metals biosorption by a brown seaweed from a zinc-producing plant, *Minerals Engineering*, 9(8), 811-816.
- 9) Chu, K. H., M. A. Hashim, S. M. Phang and V. B. Samuel, 1996, Water science and technology proceedings of the 1996 1st international specialized conference on adsorption in the water environment and treatment process, Shirahama, Japan, November, 5-8pp.
- 10) Tsuji, E., K. Tsuji and S. Suzuki, 1975, Effect of polysaccharides on cholesterol metabolism (part 6) effect of various polysaccharides on serum and liver cholesterol levels in cholesterol-fed rats, *Eiyogaku zashi*, 33(6), 273-281.
- 11) Lee, D. S., H. R. Kim and J. H. Pyeun, 1998, Effect of low-molecularization on rheological properties of alginate, *J. Korean Fish. Soc.*, 31(1), 187-195.
- 12) Lee, D. S., T. J. Nam and J. H. Pyeun, 1998, Effect of low-molecular alginates on cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and liver in cholesterol-fed rats, *J. Korean Fish. Soc.*, 31(3), 399-408.
- 13) Ikeda, A., A. Takemura and H. Ono, 2000, Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis, *Carbohydrate Polymer*, 42, 421-425.
- 14) Nakagawa, S. and H. Okuda, 1996, Effect of Organic Acids on Decomposition of Alginic Acid, *Nippon Shokuhin Kakaku Kaishi*, 43(8), 917-922.
- 15) Nagasawa, N., H. Mitomo, F. Yoshii and T. Kume, 2000, Radiation-induced degradation of sodium alginate, *Polymer Degradation and Stability*, 69, 279-285.
- 16) Kim, K. S., M. H. Lee and S. H. Cho, 2002, Radical Degradation of Sodium Alginate, *J. Chitin Chitosan*, 7(1), 8-13.