

# 알송이 모자반(*Sargassum confusum* C. Agardh) 알긴산 분해 조효소 분해물의 알코올 침전에 의한 기호성 증진 효과

나현식 · 김동현 · 이하영 · 유현지 · 박미성 · 우가은 · 조미정<sup>1</sup> · 안동현\*

부경대학교 식품공학과/식품연구소, <sup>1</sup>부경대학교 기초과학연구소

## Palatability-Enhancing Effect of the Alcohol Precipitate of *Sargassum confusum* C. Agardh Extracts Using an Alginate-degrading Crude Enzyme

Hyun-Sik Nah, Dong-Hyeon Kim, Ha-Young Lee, Hyun-Ji Yoo, Mi-Sung Park, Ka-Eun Woo, Mi Jeong Jo<sup>1</sup> and Dong-Hyun Ahn\*

Department of Food Science and Technology and Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

<sup>1</sup>Institute of Basic Sciences, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

This study investigated the physicochemical properties and palatability-enhancing effects of the alcohol precipitate, in the enzymatic extracts of *Sargassum confusum* C. Agardh (SC), obtained using the crude enzyme of *Shewanella oneidensis* PKA 1008. We analyzed the oligosaccharides recovered from the alcohol precipitate using a thin-layer chromatography for SC-degrading extracts, pH, color, reducing sugar, and viscosity. Thin-layer chromatography showed that after treating with the crude enzyme for 60 h, the polysaccharides were degraded into tetramers, dimers, and trimers and pH increased in the alcohol precipitate (EtOH Sedi). In terms of color, the redness and yellowness of alcohol precipitate/supernatant (EtOH Sedi+Super) and the brightness of EtOH Sedi were the highest among enzyme treated for 0 h and 60 h, EtOH Sedi, and EtOH Sedi+Super. In the reducing sugar analysis, EtOH Sedi showed the lowest value of 13.63 µg/mL, and the lowest viscosity of 1.13. In terms of the sensory evaluation, EtOH Sedi+Super showed the highest value with respect to the overall preference. These results suggest that the crude enzyme of *S. oneidensis* PKA 1008 is effective at degrading polysaccharides, and its recovery increases the palatability of the alcohol precipitate.

Keywords: Alcohol precipitation, Alginate-degrading crude enzyme, Palatability-enhancing effect, *Sargassum confusum* C. Agardh, *Shewanella oneidensis* PKA1008

### 서 론

해조류는 서식 환경에 따라 갈조류, 녹조류, 홍조류로 분류가 되는 다세포 생물로, 전 세계에 약 200종의 해조류가 서식하고 있으며, 다양한 생리활성물질과 새로운 효소 등을 가지고 있다 (Bae et al., 2012). 해조류는 매우 다양하고 풍부하여 기능성 성분 연구가 꾸준히 진행되고 있으며, 한국, 일본, 중국 등과 같은 동아시아뿐만 아니라 서아시아, 남아프리카, 유럽 등 다양한 나라에서 식품으로 소비되고 있으며, 화장품, 비료 산업 등에도 이용되고 있다(Chapman, 1980; Murai et al., 2021). 알송이 모

자반(*Sargassum confusum* C. Agardh)은 갈조류의 하나로 전 연안에 서식하고 있는 모자반으로 이를 이용한 연구가 많이 진행되고 있다. 알송이 모자반 유래 fucoidan을 이용한 항산화 연구, 알긴산과 같은 polysaccharide를 이용한 항비만 및 항암 연구를 통해 생리활성 물질 연구가 보고되었고, 산업적 측면에서 방오 제재 개발 연구가 보고된 바 있다(Ganti et al., 2006; Liu and Meng, 2015; Yang et al., 2019; Jayasinghe et al., 2022). 알긴산은 다시마(*Saccharina japonica*), 미역(*Undaria pinnatifida*), 모자반(*Sargassum fulvellum*) 등과 같은 갈조류의 세포 벽을 구성하고 있는 다당류로, 현재 식품산업, 의료산업, 화장

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5831 Fax: +82. 51. 629. 5824

E-mail address: dhahn@pknu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0204>

Korean J Fish Aquat Sci 56(2), 204-211, April 2023

Received 30 January 2023; Revised 1 March 2023; Accepted 14 April 2023

저자 직위: 나현식(대학원생), 김동현(대학원생), 이하영(학부생), 유현지(학부생), 박미성(대학원생), 우가은(대학원생), 조미정(전임연구원), 안동현(교수)

품 산업 등 다양한 상업적 분야에서 이용되고 있다(Park and Park, 1994). 뿐만 아니라, 일부 연구에서 알긴산이 인체의 중금속 배출, 콜레스테롤 억제, 항암 활성 등이 있다고 보고된 바 있다(Cho et al., 2003). 하지만 알긴산을 사용함에 있어 알긴산의 농도가 증가할수록 점도와 용융점이 높아지기 때문에 산업적 이용에 제한적이다(Cho et al., 2003). 이러한 문제를 해결하기 위하여, 물리화학적 방법인 산 또는 염기 처리, 고온 고압 처리, 방사선 처리 등을 이용하여 알긴산을 저분자화 시킨다(Uo et al., 2006; Kim et al., 2010; Xu et al., 2021). 물리화학적 처리방법은 처리시간이 짧고 간단하지만, 해조류 유래 다당류는 산이나 알칼리에서 상대적으로 안정적이기 때문에, 화학적 처리를 통해서 알긴산을 저분자화 시키는데 어려움이 있다.

반면, Uo et al. (2006)는 효소를 이용한 가수분해 방법을 통해 생산된 알긴산 올리고당이 산업적으로 자주 이용되고 있다고 보고하였다. Alginase (알긴산 분해효소)는 해수나 해저 토양에 서식하는 다양한 종의 미생물에서 그 활성이 확인되었다(Kennedy et al., 1992; Joo et al., 1995; Kim et al., 2007). 이전 연구에서 Sunwoo et al. (2013)은 녹조류인 구멍갈파래(*Ulva pertusa*)에서 *Shewanella oneidensis* 계통의 균주를 얻었으며, 이 균주의 조효소액을 알긴산에 처리하였을 때 알긴산을 분해시키는 *Shewanella oneidensis* PKA 1008를 보고하였다. 알긴산 분해 효소에 의해 제조된 알긴산 올리고당은 항비만 효과(Park et al., 2015), 항염증 효과(Lee et al., 2021, 2022) 및 면역증진 효과(Park et al., 2017)가 보고되었다.

해조류 유래 알긴산은 근래에 와서 보습성, 점착성, 겔 형성력 등의 특성을 이용해서 의약 및 식품 산업에 널리 활용되면서 추출 방법 개선에 다양한 연구가 진행되고 있다(Park et al., 2007). 이에 알긴산과 같은 다당류 및 올리고당을 회수하기 위해 사용되는 방법으로는 알코올 침전, 알칼리 침출, 효소 처리, 전자파 추출, 초음파 추출, 진공 추출 등이 사용된다. 그 중 알코올 침전 방법은 저비용, 무독성, 안정적으로 다당류를 회수할 수 있는 방법으로 많이 사용이 된다(Liu and Huang, 2019). 한편, 해조류를 이용하게 될 경우 해조류가 가지는 고유의 색깔, 냄새 때문에 기호도가 저하되는 문제가 발생하기도 한다.

이를 바탕으로 본 연구에서는 알긴산 분해효소를 생산하는 *S. oneidensis* PKA 1008의 조효소액을 알송이 모자반에 처리하여 저분자화된 효소 분해물을 얻은 후, 알코올 침전을 통해 회수하였다. 이를 이용하여 조효소액 처리 전, 후, 알코올 침전물 및 상층액의 관능 평가를 통해 색과 냄새를 평가하였으며, 알코올 침전을 통해 저분자화 된 알긴산이 가지는 기호성 문제(색, 냄새)를 개선하는 방법을 연구하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시험 균주

실험에 사용한 균주는 부산시 해운대구 송정 인근 해역에서

분해가 진행중인 녹조류 구멍갈파래(*U. pertusa*)로부터 획득한 *S. oneidensis* PKA 1008 (Sunwoo et al., 2013) 균주를 이용하였다.

### 실험 재료

본 연구에서는 부산시 해운대구 송정동 인근 해역에서 2009년에 채취한 알송이 모자반(*S. confusum* C. Agardh)을 사용하였다. 채취한 알송이 모자반은 담수로 깨끗이 수세하여 24시간 동안 자연건조 하였다. 자연 건조된 알송이 모자반은 가위로 잘게 자른 후 동결건조기(HyperCOOL 8080; Gyrozen Co., Daejeon, Korea) 사용 방법에 따라 3일 동안 동결건조하여 분말화 및 진공포장하고 -20°C에서 보관하였다.

### 조효소액의 제조

Sunwoo et al. (2013) 연구에서 보고한 바와 같이 *S. oneidensis* PKA 1008 유래 알긴산 분해 조효소는 1시간 반응 시 1.001 g/L의 환원당을 생성하는 것으로 보고되었다. *S. oneidensis* PKA 1008을 알긴산을 분해하는데 최적 배양 조건인 2% NaCl을 첨가하고 pH 9로 맞춘 Marine broth (MB) (BD Difco; Franklin Lakes, NJ, USA)에 30°C에서 24시간 조건으로 배양하였다. 이후 4°C에서 10,000 g로 30분간 원심분리(Supra 30K; Hanil Science Co., Gimpo, Korea)하여 상층액을 조효소로 사용하였다.

### 알송이 모자반 분해물의 제조

10 mM sodium phosphate buffer (pH 9)를 사용하여 알송이 모자반 분말을 50 mg/mL 농도로 제조하였다. 이때, *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액의 최적 pH 9를 맞추기 위해 1 N NaOH (Samchun Chemical Co., Gyeonggi-do, Korea)를 이용하였다. 알송이 모자반은 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액과 1:1 (vol/vol)로 혼합하였으며, 전체 부피의 0.02% sodium azide (Junsei Chemical Co., Tokyo, Japan)를 첨가하여 다른 미생물오염을 방지하였다(Léa et al., 2017). 알송이 모자반-조효소액 혼합물은 30°C에서 0 및 60시간 동안 교반하면서 반응시키고, 반응이 종료 후 100°C 물에 10분간 처리 후 냉각하여 효소를 불활성화시켰다. 그 후 4°C에서 10,000 g로 10분간 원심분리하여 얻은 상층액은 4°C에서 냉장 보관하였다. 반응시간 별 시료는 각각 Enzyme 0 h 및 Enzyme 60 h로 표시하였다.

### 알송이 모자반 분해물의 저분자화

알송이 모자반은 10 mM sodium phosphate buffer (pH 9)를 이용하여 50 mg/mL 농도로 제조하고, *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액을 1:1 (vol/vol)로 첨가하여 조효소액의 활성이 가장 높게 나타난 온도인 30°C에서 0 및 60시간 동안 반응시켰다(Sunwoo et al., 2013). 효소 불활성화를 위해 100°C 물에 10분간 처리한 후, 10,000 g, 4°C, 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 알송이 모자반 분해물은 99.5% 에탄올과 1:10 (vol/

vol)로 혼합하여 2개의 반응조를 만들어 24시간 동안 4°C에서 냉장 보관하였다. 이후 10,176 g, 4°C에서 30분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 첫번째 반응조에서 얻은 침전물은 초순수를 넣어 50 mg/mL로 용해시킨 알송이 모자반 효소분해물 알코올 침전액(EtOH Sedi)으로 제조하였다. 두번째 반응조에는 분리한 상층액을 동결건조 시켜 초순수를 이용하여 50 mg/mL로 용해시킨 후, 침전물에 첨가하여 50 mg/mL의 알송이 모자반 효소분해물 알코올 침전물-상층액(EtOH Sedi+Super)을 제조하였다.

조효소액과 0 및 60시간 동안 반응시킨 알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물은 동결 건조한 뒤, 20 mg/mL로 용해시킨 후, 4.1배의 ethanol (EtOH)을 첨가하여 4°C에서 12시간 동안 반응시켜 조당을 추출하였다. 4°C에서 7,500 rpm, 30분간 원심분리하여 상층액을 제거하고, 침전물은 에탄올을 완전히 제거한 후 초순수를 이용하여 50 mg/mL로 용해시켰다. 알송이 모자반 분해물의 저분자화를 확인하기 위해 thin-layer chromatography (TLC)로 분석하였다(Lee et al., 2021). TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> plate (Merck Millipore, Darmstadt, Germany)에 각각의 시료를 5 µL씩 spotting한 후, 전개 용매 1-butanol (Junsei Chemical Co.):methanol (SK Chemicals DAEJUNG, Ulsan, Korea):water (4:1:2 vol/vol/vol)를 이용하여 전개하였다. 전개 후 10% 황산 첨가 에탄올 용액을 분무하여 110°C에서 30분간 회화하였다. Standard mixture는 cello-oligosaccharide를 사용하였으며, glucose (Junsei Chemical Co.)와 cellobiose, celotriose, cellotetraose 및 cellohexaose (Megazyme Co., Wicklow, Ireland)를 구입하여 사용하였다.

### pH 및 색도 측정

pH는 pH meter (HM-30V; TOA, Kobe, Japan)를 사용하여 알송이 모자반 효소분해물 및 알코올 침전물의 pH를 측정하였다. 모든 시료는 5회 반복 측정 후, 평균값을 구하였다.

알송이 모자반 효소분해물 및 알코올 침전물의 색도는 색차계(JC801; Color Technosystem Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 명도(L\*-value, lightness), 적색도(a\*-value, redness) 및 황색도(b\*-value, yellowness)를 측정하였다. 표준색판의 값은 L\*=98.56, a\*=0.23, b\*=0.19이며, 모든 시료는 6회 반복 측정 후, 평균값을 구하였다.

### 환원당 및 점도 측정

환원당은 Somogyi-Nelson (Nelson, 1994)법을 참조하였으며, UV 분광광도계(Genesys 10S UV-Vis; Thermo Fisher Scientific Co., Madison, WI, USA)로 520 nm에서 흡광도를 측정하여 작성한 표준당(glucose) 검량 곡선으로 환원당 함량을 정량하였다. 환원당 검량 곡선은 1 mg/mL glucose를 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL의 농도로 희석한 후 환원당을 측정하여 도출하였다. 점도 측정은 점도계(LVLTVD-II; Brookfield Co., Middleboro, MA, USA)를 사용하여 점도 변화를 측

정하였다. Steven and Levin (1976)의 방법을 참고하여 40 cP spindle를 사용하고 25°C, 60 rpm으로 3회 반복 측정하였다.

### 관능 평가

훈련이 잘 된 10명의 학생 panel을 선정하여 관능 평가를 진행하였다. 평가대상은 알송이 모자반 효소분해물 및 알코올 침전물 4종류(Enzyme 0 h, Enzyme 60 h, EtOH Sedi, EtOH Sedi+Super)로 하였다. 평가항목은 색(lightness), 색(clearness), 냄새(abnormal), 냄새(preference), 전체적 선호도(preference)로 총 5가지 항목에 대해 각각 9점 척도로 평가하였다. 9점 척도 중 1점은 매우 나쁘거나 낮음, 9점은 매우 좋거나 강함으로 표시하였으며 10명의 panel이 제출한 평가표를 바탕으로 각 항목별로 평균값을 구하였다. 참여 학생 panel은 부경대학교 기관생명윤리위원회의 승인(1041386-202110-HR-53-02)을 받아서 평가를 수행했다.

### 통계 처리

실험을 통해 도출된 결과에 대한 통계 분석은 SAS program (ver. 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 실험 처리된 값의 평균값을 분산분석을 실시한 후, Duncan's multiple range test법으로 P<0.05 수준에서 항목 간 유의적인 차이를 검증하여 판별하였다.

## 결 과

### 알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물의 저분자화

먼저, 알송이 모자반 분말과 조효소액의 최적 반응시간을 측정하기 위하여 알송이 모자반 분말에 10 mM phosphate buffer (pH 9)를 혼합하여 50 mg/mL의 시료를 제조하였다. 제조한 시료와 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액을 1:1 (vol/vol)로 혼합하여, 효소분해 최적 온도인 30°C에서 최대 72시간까지 반응시켰으며, 반응 3, 6, 12, 24, 48, 60 및 72시간 후에 환원당을 측정하였다. *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액 처리 후에 시간이 경과함에 따라 환원당이 증가하여 올리고당이 증가함을 알 수 있는데, 조효소액 반응 60시간 후에 가장 많은 환원당이 존재하였으며 이를 가장 최적의 분해 시간이라고 사료되어 알송이 모자반 분말과 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액 반응 조건을 60시간으로 사용하였다(data not shown). 이어서 알송이 모자반 효소분해물 내에 존재하는 다당류를 회수하는 방법 중 하나인 알코올 침전법을 이용하였다(Xu et al., 2014). 60시간 동안 반응시킨 알송이 모자반 효소분해물은 1:10 (vol/vol)으로 99.5% 알코올에 침전시킨 후 침전물을 초순수를 이용하여 50 mg/mL로 용해시킨 용액(EtOH Sedi)을 제조하였다. 다당류는 알코올 침전법에 의해서 침전되어 모여지게 되고, 효소분해물 내 존재하는 환원당의 경우 상층액에 일부 남아 있게 되는데, 이러한 환원당을 사용하기 위해, 알코올 침전 후 동결 건조한 상층액을 50



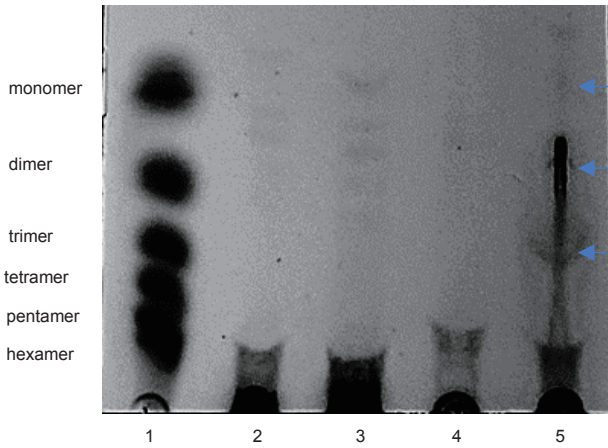


Fig. 1. TLC analysis of enzymatic extracts of *Sargassum confusum* C. Agardh by crude alginate degrading enzyme. Reaction time: lane 1, standard; lane 2, Enzyme 0 h; lane 3, Enzyme 60 h; lane 4, EtOH Sedi; lane 5, EtOH Sedi+super. TLC, Thin-layer chromatography.

mg/mL로 용해시킨 용액을 침전물에 50 mg/mL의 농도로 용해시킨 용액(EtOH Sedi+Super)을 제조하였다.

알송이 모자반의 조효소액 반응 전(Enzyme 0 h), 60시간 반응 후(Enzyme 60 h), 알코올 침전(EtOH Sedi) 및 알코올 침전물-상층액(EtOH Sedi+Super)의 저분자화를 확인하기 위하여 TLC 분석을 실시하였다. 그 결과(Fig. 1), 60시간 효소 분해물(lane 3)에서 저분자화가 일어나 밴드가 여러 개 존재하는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 Zhu et al. (2016)의 연구에서 *cellulphaga* sp. NJ-1이 생산하는 알긴산 분해효소를 이용하여 알긴산이 분해된 시간 별 시료를 TLC 분석한 결과 반응 3시간 부터 분해가 시작되어 tetramers, dimers 및 trimers로 분해된다고 보고한 결과와, Wong et al. (2000)의 연구에서 알긴산 분해효소가  $\beta$ -elimination에 의해 alginate를 분해시켜 불포화 알긴산 올리고당을 생성한다고 보고한 결과와 유사하게 나타났다. 분해 산물이 비슷하지만 약간의 차이가 있는 점은 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액의 알긴산 분해효소가 알긴산을 분해처리하는 방식의 차이로 보인다. 따라서 알송이 모자반에 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액을 처리한 결과  $\beta$ -elimination

에 의해 다당류가 저분자화 되었음을 알 수 있었다. 또한, 효소 분해물을 알코올 침전 시켜 회수한 분해물에서도 알긴산이 분해된 형태인 monomer, dimer 및 trimer가 존재하는 것을 확인하였다.

### 알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물의 pH 측정

알송이 모자반 분말에 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액을 처리하고 반응 전(Enzyme 0 h), 반응 후(Enzyme 60 h), 알코올 침전물(EtOH Sedi), 알코올 침전물-상층액(EtOH Sedi+Super)의 특성을 파악하기 위하여 pH 측정 결과를 Table 1에 나타내었다. EtOH Sedi에서 pH 8.30로 가장 높았고, Enzyme 60 h에서 pH 7.51로 가장 낮은 pH값을 보였다(Table 1). 이러한 결과는 Park et al. (2017) 및 Xu et al. (2020)의 큰잎모자반과 미역뿌리 및 참모자반의 추출물에 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액을 첨가한 후 시간이 지남에 따라 pH가 감소하는 결과와 유사하다. *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액은 알긴산을 분해할 수 있는 효소적 기능이 있어, 알긴산의  $\beta$ -1,4-glycosidic 결합이 분해되어 polymannuronate가 생성되는데(Kim et al., 2011), 시간이 지남에 따라 polymannuronate가 많이 생성되어 pH가 감소하였다고 볼 수 있다. 한편, 미생물의 오염 및 성장을 pH의 감소의 원인으로 들 수 있지만 효소 추출물 제조 시 0.02% sodium azide의 첨가로 미생물의 오염 및 성장에 의한 pH의 감소 효과는 미미하다고 사료된다(Léa et al., 2017).

### 알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물의 색도

알송이 모자반의 시간 별 분해물 및 알코올 침전물의 색도를 측정된 결과는 Table 2와 같다. 색도 측정 결과, EtOH Sedi+super의 적색도(a\*) 및 황색도(b\*)는 각각 11.55, 62.68

Table 1. Changes in pH of enzymatic extracts of *Sargassum confusum* C. Agardh with incubation time

Treatment	pH
Enzyme 0 h	8.24±0.01 <sup>b1</sup>
Enzyme 60 h	7.51±0.01 <sup>d</sup>
EtOH Sedi	8.30±0.01 <sup>a</sup>
EtOH Sedi+Super	7.95±0.01 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column (a-d) bearing different superscript in samples are significantly different (P<0.05).

Table 2. Changes in color value of enzymatic extracts of *Sargassum confusum* C. Agardh with incubation time

Treatment	L*	a*	b*	$\Delta E$
Enzyme 0 h	49.40±0.08 <sup>c</sup>	9.82±0.12 <sup>c</sup>	43.83±0.26 <sup>c</sup>	67.39±0.08c
Enzyme 60 h	34.90±0.18 <sup>d</sup>	11.13±0.16 <sup>b</sup>	32.01±0.20 <sup>d</sup>	72.82±0.10b
EtOH Sedi	68.79±0.05 <sup>a</sup>	3.70±0.10 <sup>d</sup>	53.09±0.09 <sup>a</sup>	62.26±0.05d
EtOH Sedi+Super	57.89±0.15 <sup>b</sup>	11.55±0.08 <sup>a</sup>	62.68±0.11 <sup>b</sup>	76.43±0.13a

<sup>1</sup>Means in the same column (a-d) bearing different superscript in samples are significantly different (P<0.05). L, Whiteness; a, Redness; b, Yellowness.

으로 가장 높았으며, EtOH Sedi의 명도 (L\*)가 68.79로 가장 높았다. EtOH Sedi의 적색도(a\*)가 3.70으로 가장 낮은 값을 나타내었고, Enzyme 60 h의 명도 (L\*), 황색도(b\*)가 각각 34.90, 32.01로 가장 낮은 값을 나타내었다(Table 2). 갈조류는 광합성 색소인 chlorophyll a와 c를 가지고 있고, xanthophyll과 β-carotene을 가지고 있다. 또한 조류에는 카로티노이드계 색소인 fucoxanthin을 함유하고 있어 갈조류 특유의 빛깔을 띠게 된다(Lee et al., 2007; Mohamed et al., 2011). 이러한 색상은 건조 및 가공, 저장의 과정을 거치면서 갈변 현상을 일으켜 전반적으로 어두운 색을 띠게 만들어 해조류의 색에 크게 영향을 미치게 된다(Han et al., 1984; Shin et al., 1998). Kim et al. (2012)의 연구에서 tea fungus에서 유래된 gluconacetobactor 속을 다시마 추출물에 접종하여 발효시킨 후 색도 측정결과에 따르면 L\* 값은 92.17~99.17로 매우 높은 투명성을 보였고, a\* 값은 매우 낮은 값을 나타낸다고 보고하였다. 따라서, 시간이 지남에 따라 해조류 분해물의 색도의 변화는 알송이 모자반에서 유래되는 색소의 영향이 가장 크게 작용했을 것이라고 사료된다.

**알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물의 환원당 및 점도**

알송이 모자반의 시간 별 분해물 및 알코올 침전물의 환원당과 점도를 측정하였다. Table 3에서와 같이, 환원당의 경우 Enzyme 0 h에서 103.73 µg/mL로 측정되었고, EtOH Sedi의 환원당 함량이 13.63 µg/mL로 가장 낮게 나타났다. 알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물의 점도는 Enzyme 0 h에서 1.85 cP로 가장 높은 값을 보였으며, EtOH Sedi의 점도가 1.13으로 가장 낮은 값을 보였다. Sunwoo et al. (2013)의 연구에서 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액과 알긴산을 배양하였을 때 시

Table 3. Changes in reducing sugar and viscosity of enzymatic extracts of *Sargassum confusum* C. Agardh with incubation time

Treatment	Reducing sugar (µg/mL)	Viscosity (cP)
Enzyme 0 h	103.73±0.05 <sup>c1</sup>	1.85±0.01 <sup>a</sup>
Enzyme 60 h	199.12±0.18 <sup>a</sup>	1.77±0.01 <sup>b</sup>
EtOH Sedi	13.63±0.05 <sup>d</sup>	1.13±0.01 <sup>d</sup>
EtOH Sedi+Super	134.12±0.10 <sup>b</sup>	1.28±0.02 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column (a-d) bearing different superscript in samples are significantly different (P<0.05).

Table 4. Sensory test results for enzymatic extracts of *Sargassum confusum* C. Agardh

Treatment	Color (lightness)	Color (clearness)	Smell (abnormal)	Smell (preference)	Preference
Enzyme 0 h	5.00±0.71 <sup>c1</sup>	6.11±0.93 <sup>c</sup>	6.11±0.93 <sup>a</sup>	5.11±1.45 <sup>b</sup>	5.33±1.32 <sup>bc</sup>
Enzyme 60 h	2.89±0.60 <sup>d</sup>	3.89±0.93 <sup>d</sup>	5.00±1.41 <sup>a</sup>	4.67±1.50 <sup>ab</sup>	4.67±1.58 <sup>c</sup>
EtOH Sedi	8.11±0.33 <sup>a</sup>	7.89±0.78 <sup>a</sup>	5.64±1.86 <sup>a</sup>	6.09±1.87 <sup>ab</sup>	6.18±1.72 <sup>ab</sup>
EtOH Sedi+Super	6.67±0.50 <sup>b</sup>	7.00±0.87 <sup>b</sup>	6.44±1.67 <sup>a</sup>	7.00±1.58 <sup>a</sup>	7.33±1.12 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Means in the same column (a-d) bearing different superscript in samples are significantly different (P<0.05)

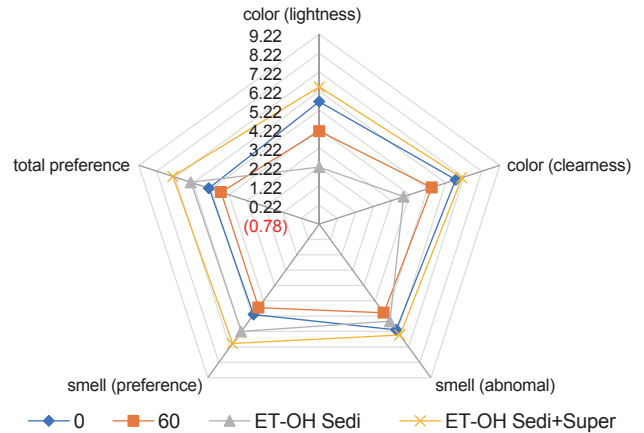


Fig. 2. Sensory test results for enzymatic extracts of *Sargassum confusum* C. Agardh. Values with different superscript within products are significantly different at (P<0.05).

간이 지남에 따라 알긴산이 분해됨에 따라 환원당함량이 증가하고 점도가 감소한다고 보고하였다. 또한, Joo et al. (1995)의 연구에서 알긴산의 효소 분해에 의한 알긴산의 환원당의 증가와 더불어 점도가 감소한다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 알송이 모자반에 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액을 처리하여 환원당과 점도를 분석한 결과 보고된 연구 결과와 같이 환원당이 증가하고 점도가 감소하였으며, 이는 알송이 모자반에 존재하는 알긴산과 같은 다당류가 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액에 의해 단당류 혹은 올리고당으로 분해되어 저분자화 되었다고 할 수 있다.

**알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물의 관능 평가 결과**

조효소액과 반응시간 별 알송이 모자반 분해물 및 알코올 침전물을 이용하여 관능 평가를 실시하였으며, 색(lightness), 색(clearness), 냄새(abnormal), 냄새(preference), 전체적 선호도(preference)로 총 5가지 항목으로 평가하였다(Fig. 2). Table 4에서와 같이, EtOH Sedi가 색(lightness), 색(clearness)에서 각각 8.11, 7.89로 가장 높은 값을 나타내었으며, EtOH Sedi+super이 냄새(abnormal), 냄새(preference), 전체적 선호도(preference) 항목에서 각각 6.44, 7.00, 7.33로 가장 높은 값을 나타내었다. EtOH Sedi의 색 평가에서 가장 높은 값을 나타낸 것은 색도를 분석한 결과에서 L값이 높게 측정된 것과 일

치한다고 볼 수 있다. 한편, 후각 평가를 나타내는 냄새(abnormal), 냄새(preference)와 전체적 선호도(preference) 부분에서 Enzyme 60 h가 각각 5.00, 4.67, 4.67으로 가장 낮은 값을 나타내었다. 따라서 알송이 모자반에 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소액을 처리하여 만든 분해물을 알코올 침전 시켰을 경우 색과 냄새가 상대적으로 완화시켜, 전체적인 선호도를 증가시키는 데 기여한다고 할 수 있다.

## 고 찰

본 연구에서는 해조류인 알송이 모자반을 *S. oneidensis* PKA 1008 조효소로 분해한 후, 효소 분해물의 알코올 침전법에 의한 기호성 개선 방법을 조사하였다. 해조류 내 존재하는 다당류 및 여러가지의 당을 이용하고자 할 때, 효소적 방법을 이용하여 분해 시킨 후 직접적으로 이용하기에는 냄새, 색 등과 같은 기호적 문제가 따르기 때문에 이러한 문제를 해결하기 위해 다양한 방법들이 제시되고 있다. 그 중 본 연구에서는 알코올 침전법을 통해서 다당류를 회수하였으며, 이와 더불어 알코올 침전법을 통해 얻어진 상층액을 활용하여 효율적으로 유용 물질을 회수하고자 하였다. 효소 분해물과 알코올 침전물의 pH, 색도, 환원당 및 점도를 측정하였으며, 기호성 개선 여부를 위해 관능 평가를 실시하였다. 해조류 이용에 있어 pH가 급격히 변할 경우 산업적 이용에 있어 품질에 영향을 미치게 되고, 일부 향장산업에서는 산성화가 될 경우 화장품의 응고에 문제가 생기기도 하는데, 본 연구에서는 효소 분해물에 비해 알코올 침전물 및 침전물-상층액이 더 높게 측정이 되었으나 급격한 변화를 보이지 않았다. 색도 분석에서는 효소 분해물보다 알코올 침전을 통해 얻은 시료들(EtOH Sedi 및 EtOH Sedi+Super)의 L\* 값이 더 높게 측정이 되었다. 환원당의 경우 효소분해물에서 가장 많이 측정이 되었으며, 알코올 침전 이후 침전물(EtOH Sedi)에서는 낮게 측정되었으나 침전물-상층액(EtOH Sedi+Super)에서 많은 양의 환원당이 측정되었다. 이는 알코올 침전법에 의해서 다당류가 침전이 되었으나, 환원당의 경우 다수가 상층액에 남아 있다고 보여진다. 점도의 경우 효소 분해물 대비 알코올 침전으로 얻은 시료의 값이 훨씬 감소 되었으며, 이는 알코올 침전법을 통해 해조류 분해물의 점도를 감소 시킴으로써 산업적 활용을 용이하게 한다고 볼 수 있다. 관능 평가를 통하여 알코올 침전법을 통해 색 및 냄새의 개선여부를 확인하였으며, 전체적인 평가 점수로 보았을 때 효소 분해물 보다 알코올 침전물-상층액(EtOH Sedi+Super)이 높은 점수를 받았다. 이러한 결과를 종합하면 해조류를 이용하기 위해 효소적 방법으로 분해 한 후, 이용 가치가 있는 물질을 회수하는 방법인 알코올 침전법을 적용 시킴으로써 해조류 이용의 근본적인 문제인 기호적 문제도 개선된다고 볼 수 있다. 또한 알코올 침전법에서 단순히 침전물만 이용하는 것이 아닌 상층액도 함께 활용함으로써 효율적인 물질 회수가 이루어지고, 산업적으로 이용가치를 더 높일 수 있다고 보여진다.

## 사 사

본 결과물은 교육부와 한국연구재단의 재원으로 지원을 받아 수행된 3단계 산학연협력 선도대학 육성사업(LINC 3.0)의 연구결과입니다.

## References

- Bae JM, Cho EK, Kim HY, Kang SH and Choi YJ. 2012. Biological analysis of enzymatic extracts from *Capsosiphon fulvescens* using the *Microbulbifer* sp. AJ-3 marine bacterium. *J Life Sci* 22, 627-633. <https://doi.org/10.5352/JLS.2012.22.5.627>.
- Chapman VJ. 1980. *Seaweeds and Their Uses*. The Camelot Press Ltd., London, U.K., 299-300.
- Cho M, Kim BY and Rhim JH. 2003. Degradation of alginate solution by using  $\gamma$ -irradiation and organic acid. *Korean J Food Sci Technol* 35, 67-71.
- Ganti VS, Kim KH, Bhattarai HD and Shin HW. 2006. Isolation and characterisation of some antifouling agents from the brown alga *Sargassum confusum*. *J Asian Nat Prod Res* 8, 309-315. <http://doi.org/10.1080/10286020500034980>.
- Han BH, Bae TJ and Kim BS. 1984. Stability of chlorophyll during processing and storage of salted *Undaria pinnatifida*. *Korean J Food Sci Technol* 16, 71-77.
- Jayasinghe AMK, Kirindage KGIS, Fernando IPS, Han EJ, Oh GW, Jung WK and Ahn G. 2022. Fucoidan isolated from *Sargassum confusum* suppresses inflammatory responses and oxidative stress in TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -stimulated HaCaT keratinocytes by activating Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Mar Drugs* 20, 117. <http://doi.org/10.3390/md20020117>.
- Joo DS, Lee JS, Cho SY, Shin SJ and Lee EH. 1995. Changes in functional properties of alginic acid by enzymatic degradation. *Korean J Food Sci Technol* 27, 86-91.
- Joo DS, Lee JS, Park JJ, Cho SY, Ahn CB and Lee EH. 1995. Purification and characterization of the intracellular alginase from *Vibrio* sp. AL-145. *Microbiol Biotechnol Lett* 23, 432-438.
- Kennedy L, McDowell K and Sutherland IW. 1992. Alginases from *Azotobacter* species. *Microbiol* 138, 2465-2471.
- Kim JH, Kim YH, Kim SK, Kim BW and Nan SW. 2011. Properties and industrial applications of seaweed polysaccharides-degrading enzymes from the marine microorganisms. *Microbiol Biotechnol Letters* 39, 189-199.
- Kim JW, Kwon YR and Youn KS. 2012. Quality characteristics and antioxidant properties in spray-dried and freeze-dried powder prepared with powdered seaweed extracts. *Korean J Food Sci Technol* 44, 716-721. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2012.44.6.716>.
- Kim JY, Lee JA, Kim KN, Yoon WJ, Lee WJ and Park SY. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Sargassum muticum* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36, 663-



669. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2007.36.6.663>.
- Kim OJ, Lee DG, Lee SM, Lee SJ, Do HJ, Park HJ, Kim A, Lee JH and Ha JM. 2010. Isolation and characteristics of alginate-degrading *Methylobacterium* sp. HJM27. *Microbiol Biotechnol Lett* 38, 144-150.
- Léa C, Marianne Q and Benjamin M. 2017. Inhibitory effects of sodium azide on microbial growth in experimental resuspension of marine sediment. *J Microbiol Methods* 133, 62-65. <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.12.021>.
- Lee JE, Xu X, Jeong SM, Kang WS, Ryu SH, Kim HH, Kim SR, Lee GH, Kim MJ and Ahn DH. 2021. Characterization of *Sargassum patens* C. Agardh enzymatic extracts using crude enzyme from *Shewanella oneidensis* PKA 1008 and their anti-inflammatory effects. *Biotechnol Bioprocess Eng* 27, 61-69. <http://doi.org/10.1007/s12257-021-0131-0>.
- Lee JE, Xu X, Jeong SM, Kang WS, Ryu SH, Kim HH, Kim SR, Lee GH, Kim MJ and Ahn DH. 2022. Properties and anti-inflammatory effects of *Sargassum muticum* enzymatic extracts decomposed using crude enzyme from *Shewanella oneidensis* PKA1008. *Food Sci Biotechnol* 31,1299-1307. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01103-1>.
- Lee YS, Choi JB, Joo EY and Kim NW. 2007. Antioxidative activities and tyrosinase inhibition of water extracts from *Ailanthus altissima*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36, 1113-1119. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2007.36.9.1113>.
- Liu QY and Meng QY. 2005. Therapeutic effect of seaweed polysaccharide from *Sargassum confusum* on sarcoma s180 in mice and its mechanism. *Ai Zheng* 24, 1469-1473.
- Liu Y and Huang G. 2019. Extraction and derivatisation of active polysaccharides. *J Enzyme Inhib Med Chem* 34, 1690-1696. <http://doi.org/10.1080/14756366.2019.1660654>.
- Mohamed E, Dorothea B, Olivier R, Souhail B, Christophe B and Hamadi A. 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A Review. *Food Chem* 124, 411-421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>.
- Murai U, Yamagishi K, Kishida R and Iso H. 2021. Impact of seaweed intake on health. *Eur J Clin Nutr* 75, 877-889. <http://doi.org/10.1038/s41430-020-00739-8>.
- Nelson N. 1994. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 153, 375-380. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)71980-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)71980-7).
- Park H and Park K. 1994. Polymers in pharmaceutical products. In: *Polymers of Biological and Biomedical Significance*. Shalaby SW, Ikada Y, Langer R and Williams J, eds. American Chemical Society, Washington D.C., U.S.A., 2-15.
- Park MJ, Kim YH, Kim GD and Nam SW. 2015. Enzymatic production and adipocyte differentiation inhibition of low-molecular-weight-alginate. *J Life Sci* 25, 1393-1398. <https://doi.org/10.5352/JLS.2015.25.12.1393>.
- Park SH, Kim MJ, Kim GE, Park SY, Kim KBWR, Kim YJ, Cho YJ and Ahn DH. 2017. Immuno-enhancing effect of enzymatic extract of *Sargassum coreanum* using crude enzyme from *Shewanella oneidensis* PKA 1008. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 46, 919-928. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2017.46.8.919>.
- Park YK, Kang SG, Jung ST, Kim DH, Kim SJ, Pak JI, Kim CH, Rhim JW and Kim JM. 2007. Development of value-added products using seaweeds. *J Mar Biosci Biotechnol* 2, 133-141.
- Shin GM and Jung JW. 1998. The study on the role of ingredients in the white bread. *Korean J Soc Food Cook Sci* 24, 389-408.
- Stevens RA and Levin RE. 1976. Viscometric assay of bacterial alginase. *Appl Environ Microbiol* 31, 896-899. <http://doi.org/10.1128/aem.31.6.896-899.1976>.
- Sunwoo C, Kim KBWR, Kim DH, Jung SA, Kim HJ, Jeong DH, Jung HY, Kang BK, Bark SW, Lim SM, Hong YK and Ahn DH. 2013. Optimization of conditions for the production and properties of alginate-degrading crude enzyme from *Shewanella oneidensis* PKA 1008. *Microbiol Biotechnol Lett* 41, 372-378. <http://doi.org/10.4014/kjmb.1212.12002>.
- Uo MH, Joo DS, Cho SY and Min TS. 2006. Purification and characterization of the extracellular alginase produced by *Bacillus licheniformis* AL-577. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35, 231-237. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2006.35.2.231>.
- Wong TY, Preston LA and Schiller NL. 2000. Alginate lyase: Review of major sources and enzyme characteristics, structure-function analysis, biological roles, and applications. *Annu Rev Microbiol* 54, 289-340. <http://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.289>.
- Xu J, Yue RQ, Liu J, Ho HM, Yi T, Chen HB and Han QB. 2014. Structural diversity requires individual optimization of ethanol concentration in polysaccharide precipitation. *Int J Biol Macromol* 67, 205-209. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.036>.
- Xu X, Jeong SM, Lee JE, Kang WS, Kim KW, Ryu SH, Byun EH, Cho YJ and Ahn DH. 2020. Characterization of *Undaria pinnatifida* root enzymatic extracts using crude enzyme from *Shewanella oneidensis* PKA 1008 and its anti-inflammatory effect. *J Microbiol Biotechnol* 30, 79-84. <http://doi.org/10.4014/jmb.1908.08019>.
- Xu X, Jeong SM, Lee JE, Kang WS, Ryu SH, Byun EB, Kim KW, Byun EH and Ahn DH. 2021. Characterization and anti-inflammatory effects of gamma-irradiation on *Undaria pinnatifida* root water extracts. *Biotechnol Bioprocess Eng* 26, 606-611. <http://doi.org/10.1007/s12257-020-0325-x>.
- Yang CF, Lai SS, Chen YH, Liu D, Liu B, Ai C, Wan XZ, Gao LY, Chen XH and Zhao C. 2019. Anti-diabetic effect of oligosaccharides from seaweed *Sargassum confusum* via JNK-IRS1/PI3K signalling pathways and regulation of gut microbiota. *Food Chem Toxicol* 131, 110562. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110562>.

Zhu B, Chen M, Yin H, Du Y and Ning L. 2016. Enzymatic hydrolysis of alginate to produce oligosaccharides by a new purified endo-type alginate lyase. *Mar Drugs* 14, 108. <http://doi.org/10.3390/md14060108>.