

정책연구

전남 - (0103)

해조류 가공과 기능성 물질 개발 연구

(Development of value-added products and functional
food materials using seaweeds)

주관연구기관

목포대학교

과학기술부

제 출 문

과 학 기 술 부 장 관 귀 하

본 보고서를 “해조류 가공과 기능성 물질 개발 연구” 최종보고서로 제출합니다.

2004 년 9 월 18 일

- 주관연구기관명 : 국립목포대학교
- 연구기간 : 2001. 7. 1 ~ 2004. 9. 18
- 주관연구책임자 : 김 정 목
- 참여연구원
 - 연구원 : 임종환 (목포대학교)
 - 연구원 : 정순택
 - 연구원 : 박양균
 - 연구원 : 강성국
 - 연구원 : 김선재
 - 연구원 : 김동한
 - 연구원 : 박재인 (강원대학교)
 - 연구원 : 김창혁

- 목 차 -

제 1 장. 서 론	42
제 1 절. 연구의 필요성	42
가. 해조류의 생산 및 이용현황	42
나. 해조류의 가공적인 측면	42
다. 해조류의 기능성 연구 측면	43
라. 해조류의 산업적 소재개발 측면	43
제 2 절. 국내·외 관련기술의 현황과 문제점	44
제 2 장. 연구목표 및 내용	46
제 1 절. 연구목표	46
제 2 절. 연구개발 추진체계	46
가. 연구협조체계	46
나. 추진방법 및 전략	47
다. 연구팀 편성표	47
제 3 절. 세부과제별 연구내용	48
가. 주관연구기관 (목포대학교)	48
나. 공동연구기관 (강원대학교)	51
제 3 장. 해조류 가공과 기능성 물질 개발 연구	54
제 1 절 추출조건에 따른 해조류의 알긴산 수율과 점도	55
제 2 절 알긴산 분해 세균의 분리와 <i>Vibrio alginolyticus</i> 에 의한 Alginate lyase의 정제 및 특성	68
제 3 절 황 흡착 알긴산의 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 성장에 미치는 영향 및 항 돌연변이 작용	92
제 4 절 Use of Exo-polygalacturonase to Improve Extraction Yields of Alginic Acid from Sea Mustard (<i>Undaria pinnatifida</i>)	100
제 5 절 미역의 Fucoxanthin 색소추출 및 특성연구	107
제 6 절 미역귀를 이용한 잼의 제조 및 품질특성	118

제 7 절	해조류 추출물을 이용한 젤리 제품의 개발	130
제 8 절	해조 분말과 추출물을 이용한 된장과 간장의 개발	148
제 9 절	해조류 분말과 추출물을 첨가한 쌀 압출성형물의 특성	168
제 4 장.	(제 2 세부과제) 해조로부터 산업화소재 개발 및 응용연구	187
제 1 절	풀가사리를 이용한 생분해성 필름의 제조	188
제 2 절	CaCl ₂ 처리에 의한 알긴산 필름의 물성개선	198
제 3 절	수분저항성 알긴산 필름의 물리적 및 기계적 특성	210
제 4 절	지방산과 CaCl ₂ 처리에 의한 알긴산 필름의 수분저항성 증진	229
제 5 절	해조분말을 이용한 생분해성 필름의 제조	248
제 6 절	방사선 조사에 의한 알긴산 용액의 저분자화	261
제 7 절	유기산에 의한 알긴산의 저분자화	273
제 8 절	방사선 조사에 의한 분말상태 알긴산의 저분자	281
제 9 절	알긴산을 이용한 어유의 미세 캡슐화	289
제 10 절	해조소금의 성분 특성	300
제 11 절	소금의 종류를 달리한 고추장의 발효 특성	310
제 12 절	해조류를 첨가한 두부의 품질 특성과 저장성	327
제 13 절	해조소금의 제조 및 특성	343
제 5 장.	(제 3 세부과제) 해조류의 생물학적 생체 이용성 조사 및 사료화 연구	354
제 1 절	기능성 사료첨가제로서 해조류 및 해조부산물의 가치 및 생물학적 생체이용성 평가	355
제 2 절	해조류 유래 fucoidan의 기능성 평가 및 농가수준 배합프로그램 확립	372
제 3 절	해조류 가공 폐자원의 비료화	399
제 6 장.	연구관련 실적	421
제 7 장.	결론	427

- 표 목차 -

제 3장 제 1절

Table 1. The yields of alginate manufactured by different extraction methods from three seaweeds 59

Table 2. The color of alginate manufactured by various extraction methods 60

Table 3. Molecular weight of *Hizikia fusiforme* alginates manufactured by different extract methods 62

Table 4. Flow behavior parameters of WSA and from *Hizikia fusiforme* 65

제 3장 제 2절

Table 1. Media for the isolation of alginate degradation bacteria 69

Table 2. The alginate degrading ability of the isolated strains 77

Table 3. Characteristics of *Vibrio alginolyticus* AL-K18 isolated from sea growing water 80

Table 4. The optimum conditions for the *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content 85

Table 5. Purification of the alginate lyase produced by *Vibrio alginolyticus* AL-K18 87

Table 6. Alginolytic activity on several polysaccharides of alginate lyase from *Vibrio alginolyticus* AL-18K 91

제 3장 제 3절

Table 1. Mutagenicity of S-alginate from *Hizikia fusiforme* to

Salmonella Typhimurium TA 98 and TA 100 97

Table 2. Antimutagenicity of S-alginate from *Hizikia fusiforme* to *Salmonella Typhimurium* TA 98 and TA 100 97

제 3장 제 4절

Table 1. Effect of EPG treatment on alginic acid extraction in sea mustard 105

제 3장 제 5절

Table 1. Fucoxanthin content extracted from *Underia pinnatifida* 111

제 3장 제 6절

Table 1. Proximate composition of sea mustard stem and sporophyll 120

Table 2. The yield of several alginates obtained from *Undaria pinnatifida* 121

Table 3. Sensory evaluation of the sea mustard sporophylls jam 126

제 3장 제 7절

Table 1. Comparison of the jelly made with different kinds of factor 133

Table 2. Proximate composition of seaweeds extracted 134

Table 3. Experimental combinations and data under various conditions of agar(I), citric acid(II), brix(III) and their responses 135

Table 4. Color values of seaweeds jelly 136

Table 5. Sensory evaluation of seaweeds jelly 137

Table 6. Quantity of fresh sea mustard extract 140

Table 7. Proximate composition of fresh sea mustard extracted	140
Table 8. Experimental combinations and data under various conditions of fresh sea mustard jelly	141
Table 9. Color values of fresh sea mustard jelly	142
Table 10. Sensory evaluation of fresh sea mustard jelly	143

제 3장 제 8절

Table 1. 해조간장의 제조배합비	150
Table 2. Proximate analysis of Doenjang fermented for 90 days	153
Table 3. Mineral content of Doenjang fermented for 90 days	154
Table 4. The pH, ORP, acidity, reducing sugar, total sugar, amino type nitrogen of Doenjang fermented for 90 days	156
Table 5. Hunter's color values of Doenjang fermented for 90 days	156
Table 6. Sensory evaluation of Doenjang fermented for 90 days	157
Table 7. Proximate composition of sea tangle and sea mustard	158
Table 8. Change of color during the fermentation	162
Table 9. Results of sensory evaluation of seaweed added soy sauce	163

제 3장 제 9절

Table 1. Proximate composition of raw material	171
Table 2. Browning degree of different concentrations of sea tangle and brown seaweed	172
Table 3. Browning degree of different Powder of sea tangle and brown seaweed	172
Table 4. Shear force of different concentrations of sea tangle and brown	

seaweed	173
Table 5. Shear force of different powder of sea tangle and brown seaweed	173
Table 6. Expansion ratio of different concentrations of sea tangle and brown seaweed	174
Table 7. Expansion ratio of different powder of sea tangle and brown seaweed	174
Table 8. Color value of different concentrations of sea tangle and brown seaweed	175
Table 9. Color value of different powder of sea tangle and brown seaweed	175
Table 10. Water absorption of different concentrations of sea tangle and brown seaweed	176
Table 11. Water absorption of different powder of sea tangle and brown seaweed	176
Table 12. Sensory characteristics of the snacks prepared with extracts of sea tangle and brown seaweed	177
Table 13. Expansion ratio, water absorption and texture of sea tangle extruded snack at various temperature, moisture and ratio of mix of rice powder and sea tangle powder	179
Table 14. Change of color values of sea tangle extruded snack at various temperature, moisture and ratio of mix of rice powder and sea tangle powder	181
Table 15. Sensory evaluation of sea tangle extruded snack at various extrusion condition	183

제 4장 제 1절

Table 1. Proximate composition of glue plants	192
Table 2. Film-forming ability of glue plants	192
Table 3. Mechanical properties of glue plant and carrageenan films	194

Table 4. Water vapor permeability (WVP) and water solubility (WS) of glue plant and carrageenan films	194
---	-----

Table 5. Hunter color values and total color difference (ΔE) of glue plant and carrageenan films	195
--	-----

제 4장 제 2절

Table 1. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of alginate films	203
--	-----

Table 2. Water vapor permeability (WVP) of alginate films	204
---	-----

Table 3. Water solubility of alginate films prepared by immersion determined at 25 and 80°C	205
---	-----

Table 4. Change in swelling ratio (SR) of Na-alginate films prepared by immersion method	206
--	-----

제 4장 제 3절

Table 1. Hunter L, a, and b values and total color difference (E) of alginate films	217
---	-----

Table 2. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of alginate films	218
--	-----

Table 3. Thickness and water vapor permeability (WVP) of alginate films	219
---	-----

Table 4. Water solubility (WS) of alginate films at 25°C and 80°C	222
---	-----

제 4장 제 4절

Table 1. Thickness and surface color of the alginate-based films	235
--	-----

Table 2. Effect of fatty acid and CaCl ₂ treatment on the BET monolayer moisture content of the alginate-based films	243
---	-----

제 4장 제 5절

Table 1. Proximate analysis of various marine algae	253
Table 2. Surface color of marine algae powder films	254
Table 3. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of marine algae powder films	255
Table 4. Water vapor permeability (WVP) of marine algae powder films	256
Table 5. Water solubility of marine algae powder films	257

제 4장 제 6절

Table 1. Equations for dose rate of γ -irradiation, intrinsic viscosity, molecular weight of alginate	269
---	-----

제 4장 제 7절

Table 1. Color of alginate solution in various pH conditions	278
Table 2. Color of alginate solution in various temperature conditions	278
Table 3. Effects of molecular weight of alginate according to different pH, temperature and organic acid	279

제 4장 제 9절

Table 1. Process conditions of fish oil microspheres prepared by emulsion method	291
---	-----

제 4장 제 10절

Table 1. Proximate composition of seaweeds	302
Table 2. Mineral composition of seaweeds	303
Table 3. Physicochemical characteristic of salts	303

Table 4. Mineral contents of salts	304
Table 5. Physicochemical characteristic of various seaweed salts	304
Table 6. Mineral composition of various seaweed salts	305
Table 7. Effect of salt concentration on physicochemical characteristics] of sea mustard salts	306
Table 8. Effect of salt concentration on mineral composition of sea mustard salts	306

제 4장 제 11절

Table 1. Mixing ratio of raw materials for preparation of <i>kochujang</i>	313
Table 2. Effect of different kind of salts on the color values of <i>kochujang</i> during fermentation at 20°C	316
Table 3. Effect of different kind of salts on the sodium chloride, total nitrogen, and total sugar contents of <i>kochujang</i> during fermentation at 20°C	318
Table 4. Effect of different kind of salts on the amino and ammonia nitrogen contents of <i>kochujang</i> during fermentation at 20°C	322
Table 5. Effect of different kind of salts on the sensory evaluation of <i>kochujang</i> aged for 12 weeks	323

제 4장 제 12절

Table 1. Effect of seaweed concentration on prepared of tofu coagulated with magnesium chloride	330
Table 2. Effect of seaweeds concentration on physicochemical characteristics of tofu coagulated with magnesium chloride	331
Table 3. Effect of various coagulant on prepared of tofu	332

Table 4. Effect of various coagulant on physicochemical characteristics of tofu	332
Table 5. Comparison of tofu prepared from soybean milk and seaweeds	333
Table 6. Comparison of physicochemical characteristic of tofu prepared from soybean milk and seaweeds	334
Table 7. Comparison of mineral contents of tofu prepared from soybean milk and seaweeds	334
Table 8. Sensory evaluation of tofu prepared from soybean milk and seaweeds	335
Table 9. Changes in turbidity of soaking solutions of tofu during storage at 30°C	336
Table 10. Changes in pH of soaking solutions and tofu during storage at 30°C	336
Table 11. Changes in titratable acidity of soaking solutions and tofu during storage at 30°C	337
Table 12. Changes in oxidation-reduction potential of soaking solutions and tofu during storage at 30°C	337
Table 13. Changes in amino nitrogen content of soaking solutions and tofu during storage at 30°C	338
Table 14. Changes in bacterial counts of soaking solutions and tofu during storage at 30°C	339

제 4장 제 13절

Table 1. Effect of incineration temperature on physicochemical characteristic of seawater salts	345
Table 2. Effect of incineration temperature on physicochemical characteristic of seaweed salts	346
Table 3. Effect of incineration temperature on mineral composition of seawater salts	347

Table 4. Effect of incineration temperature on mineral composition of seaweed salts	347
Table 5. Effect of incineration time on physicochemical characteristic of seaweed salts	348
Table 6. Effect of incineration time on mineral composition of seaweed salts	349
Table 7. Effect of seawater addition time on physicochemical characteristic of osmosis seaweed salts	350
Table 8. Effect of seawater addition times on seaweed salts in physicochemical characteristic of osmosis remained seaweed	351
Table 9. Effect of seawater addition time on mineral composition of osmosis seaweed salts	351
Table 10. Effect of seawater addition times on seaweed salts in mineral composition of osmosis remained seaweed	352
제 5장 제 1절, 2절	
Table 1. Operating condition of Gas chromatography	356
Table 2. Chemical composition of marine algae	361
Table 3. Amino acid compositions of marine algae	362
Table 4. Chemical composition of marine algae(East sea)	363
Table 5. Amino acid compositions of marine algae (East sea)	364
Table 6. Changes of chemical compositions by fermentation in marine algae	364
Table 7. Changes of fatty acid compositions by fermentation in <i>Undaria pinnatifida</i> and corn mixture	365
Table 8. Weight gain of broiler chicks challenged with 10^6 cfu/ml <i>Salmonella typhimurium</i>	368

Table 9. Formulation of the basal diet for the experiment	375
Table 10. Effect of fucoidan and sea weed supplementation on layer performance	377
Table 11. Effect of fucoidan and sea weed supplementation on egg quality, yolk pigmentation and yolk cholesterol content	378
Table 12. Formulation of the basal diet for the experiment	380
Table 13. Effect of feed additives on growth performance of broiler chick	382
Table 14. Effect of feed additives on intestine length of broiler chick	383
Table 15. Effect of feed additives on intestine weight of broiler chick	384
Table 16. Effect of feed additives on Cecum weight of broiler chick	384
Table 17. Effect of feed additives on Crop weight of broiler chick	385
Table 18. Effect of feed additives on Digestivity of broiler chick	386
Table 19. Effect of feed additives on Amino acid digestivity of broiler chick	387
Table 20.Changes of Intestinal villi height of broiler chick	388
Table 21. Changes of viable cell count of <i>S. typhimurium</i> in broiler chick	389
Table 22. Formula and chemical composition of the basal diet	391
Table 23. Effects of various fucoidan sources on growth performance of broiler chicks	394
Table 24. Effects of various fucoidan sources on organic weight of 3 wks old broiler chicks	395
Table 25. Effects of various fucoidan sources on organic weight of 6 wks old broiler chicks	395
Table 26. Effects of various fucoidan sources on microbial count in broiler's cecum(log No. cfu/mL)	396

Table 27. Effects of various fucoidan sources on nutrient digestibility of experimental diets in broiler chicks	398
--	-----

제 5장 제 3절

Table 1. Characteristic of material	400
Table 2. Characteristics of materials	401
Table 3. Mixture composition and characteristics	402
Table 4. Characteristics of final products	405
Table 5. Mixture composition	406
Table 6. Characteristic of material	406
Table 7. Characteristics of final products	407
Table 8. Mixture composition	411
Table 9. Characteristics of materials	411
Table 10. Characteristics of final products	412

- 그림 목차 -

제 3장 제 1절

Figure 1. Effect of Na_2CO_3 concentration on the extraction of alginate by AASA method from <i>Laminaria religiosa</i>	60
Figure 2. Effect of H_2SO_4 concentration on the extraction of alginate by AASA method from <i>Laminaria religiosa</i>	62
Figure 3. Shear stress as a function of shear rate for WSA solution from <i>Hizikia fusiforme</i>	64
Figure 4. Shear stress as a function of shear rate for ASA solution from <i>Hizikia fusiforme</i>	64
Figure 5. Shear stress as a function of shear rate for 2% alginate solution from <i>Hizikia fusiforme</i> and commercial product	65

제 3장 제 2절

Figure 1. Procedure for bacteria identification by Bio-Log System	71
Figure 2. Procedure for purifying the alginate lyase from <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18	74
Figure 3. Standard curve for determination of reducing sugar	77
Figure 4. Changes in the viscosity of alginate medium by <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18	78
Figure 5. Changes in the reducing sugar contents by <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18 in alginate medium	78

Figure 6. Effect of sodium alginate concentrations on <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18 growth and reducing sugar content	81
Figure 7. Effect of peptone concentrations on <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18 growth and reducing sugar content	81
Figure 8. Effect of NaCl concentrations on <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18 growth and reducing sugar content	82
Figure 9. Effect of pH on <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18 growth and reducing sugar content	83
Figure 10. Effect of temperature on <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18 growth and reducing sugar content	84
Figure 11. Effect of incubation time on <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-K18 growth and reducing sugar content	84
Figure 12. Q-Sepharose anion-exchange chromatogram of salted out fraction by saturated ammonium sulfate solution on the range of 40-60%	86
Figure 13. Phenyl Sepharose CL-4B chromatogram of the Na-alginate positive fraction obtained by the Q-Sepharose anion-exchange chromatography	87
Figure 14. SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis of purified alginate lyase from <i>Vibrio alginolyticus</i> AL-18K	88
Figure 15. Effects of pH on the activities of partially purified alginate lyase. The used buffers in the reaction mixtures were 0.1 M sodium acetate-acetate	89
Figure 16. Effects of reaction temperature on the activities of partially purified alginate lyase	90

Figure 17. Heat stability of partially purified alginate lyase 90

제 3장 제 3절

Figure 1. Effect of the S-alginate on the growth of *Lactobacillus acidophilus* in MRS broth and peptone water at 35°C. (Values represent from 2 separate experiments) 96

제 3장 제 4절

Figure 1. Temperature-related changes of alginic acid extraction yield with EPG treatment at pH 7.0 for 24 hours 102

Figure 2. The pH-related changes of alginic acid extraction yield with EPG treatment at 30°C 103

Figure 3. Time-related changes of alginic acid extraction yield with EPG treatment at 30°C at pH 7.0 104

제 3장 제 5절

Figure 1. Flow diagram for the preparation of fucoxanthin from *Underia pinnatifida* 109

Figure 2. Elution profiles of fucoxanthin by silica gel column chromatography 112

Figure 3. Visible absorption spectra of fucoxanthin isolated from silica gel column chromatography 112

Figure 4. HPLC chromatogram of fucoxanthin by silica gel column chromatography 114

Figure 5. HPLC chromatogram of cleavage products formed by autoxidation of fucoxanthin. Fucoxanthin was solubilized at 50 μM in liposomal suspension of 5 mM dimyristoylphosphatidylcholine and incubated at 37°C for 24 hr	114
--	-----

제 3장 제 6절

Figure 1. Effect of sugar on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam	122
--	-----

Figure 2. Effect of sugar on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam	122
--	-----

Figure 3. Effect of HM pectin on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam.	124
--	-----

Figure 4. Effect of citric acid on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam	124
--	-----

Figure 5. Effect of organic acids on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam	125
--	-----

Figure 6. Effect of sodium citrate on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam	125
---	-----

제 3장 제 8절

Figure 1. 해조된장과 간장의 제조공정	151
--------------------------------	-----

Figure 2. Change of pure extract content during the fermentation	158
--	-----

Figure 3. Change of amino-nitrogen during the fermentation	159
--	-----

Figure 4. Change of total nitrogen content during the fermentation	160
--	-----

Figure 5. Change of pH content during the fermentation 161

제 4장 제 3절

Figure 1. Moisture sorption isotherms of alginate films 223

Figure 2. Water solubility and swelling ratio of the alginate films prepared by immersion in 3g/100mL CaCl₂ solution for 5min 224

제 4장 제 4절

Figure 1. SEM micrographs displaying the effect of fatty acids and CaCl₂ treatment of the alginate-based films 236

Figure 2. Effect of fatty acid CaCl₂ treatment on TS of the alginate-based films 237

Figure 3. Effect of fatty acid CaCl₂ treatment on elongation at break (E) of the alginate-based films 238

Figure 4. Effect of fatty acid CaCl₂ treatment on WVP of the alginate-based films 240

Figure 5. Effect of fatty acid CaCl₂ treatment on WS of the alginate-based films 234

Figure 6. Moisture sorption isotherms of alginate-based films 242

제 4장 제 5절

Figure 1. Preparation of alginate solution using irradiation 263

Figure 2. The viscosity properties of alginate solution as affected y alginate concentrations before γ -irradiation treatment	265
Figure 3. Changes in extent of degradation of alginic acid with dose of γ -irradiation	266
Figure 4. Changes in reduced viscosity of alginate solution γ -irradiated at different dose	266
Figure 5. Changes in intrinsic viscosity of alginate solution γ -irradiated at different doses	267
Figure 6. Universal calibration curve of the GPC chromatogram	268
Figure 7. Changes in molecular weight of alginate solution γ -irradiated at different doses	268
Figure 8. Changes in intrinsic viscosity and molecular weight due to the dose rate of γ -irradiation	270
Figure 9. Effects of molecular weight on the intrinsic viscosity of γ -irradiation alginate	270

제 4장 제 7절

Figure 1. Changes in apparent viscosity with different pH at 10 rpm	275
Figure 2. Changes in apparent viscosity with different temperature at 10 rpm	275
Figure 3. Changes in apparent viscosity with different organic acid	276
Figure 4. Turbidity of 1%(g/g) alginate solution with different pH	277
Figure 5. Turbidity of 1%(g/g) alginate solution with different	

temperature 277

제 4장 제 8절

Figure 1. Changes in reduced viscosity of alginate powder
γ-irradiation at different doses 284

Figure 2. Changes in intrinsic viscosity of alginate solution
and solid form treated with γ-irradiation at different doses 284

Figure 3. Linearized plot between intrinsic viscosity and
γ-irradiation dose rate 285

Figure 4. Effects of γ-ray dose rate on the molecular weight
of alginate 286

Figure 5. Linearized plot between molecular weight and
γ-irradiation dose rate 286

Figure 6. Effects of the molecular weight on the intrinsic viscosity of
γ-irradiated alginate solution and solid form 287

제 4장 제 9절

Figure 1. Emulsion method for the preparation of
alginate microspheres 290

Figure 2. Schematic diagram for the analysis of encapsulation
yeid by 3% copper(II) acetate colorization 292

Figure 3. Scanning curve for the determination maximum absorption
wavelength of core material 293

Figure 4. Standard curve for the calculation of the yield of micro-

encapsulation by 3% copper(II) acetate colorization	293
Figure 5 .Effects of microencapsulation yield on the concentration of calcium chloride	294
Figure 6. Effects of microencapsulation yield on the concentration of sodium alginate	295
Figure 7. Effects of microencapsulation yield on the concentration of core material	296
Figure 8. Effects of microencapsulation yield on the concentration of emulsifier	297
Figure 9. Yield of microencapsulation prepared by the low-molecular alginate γ -irradiated	298

제 4장 제 10절

Figure 1. Comparison of some kinds of salt viewed in the scanning electron microscope ($\times 1,800$)	307
---	-----

제 4장 제 11절

Figure 1. Effect of different kind of salts on the viable cell counts of microorganism of <i>kochujang</i> during fermentation at 20°C	314
Figure 2. Effect of different kind of salts on the amylase activities of <i>kochujang</i> during fermentation at 20°C	315
Figure 3. Effect of different kind of salts on the protease activities of <i>kochujang</i> during fermentation at 20°C	315
Figure 4. Effect of different kind of salts on the total color	

difference value and consistency of *kochujang* during
fermentation at 20°C 317

Figure 5. Effect of different kind of salts on the moisture content
and water activity of *kochujang* during fermentation at 20°C 319

Figure 6. Effect of different kind of salts on the pH and titratable
acidity of *kochujang* during fermentation at 20°C 319

Figure 7. Effect of different kind of salts on the ORP of *kochujang*
during fermentation at 20°C 320

Figure 8. Effect of different kind of salts on the reducing sugar
and alcohol contents of *kochujang* during fermentation at 20°C 321

제 5장 제 1절, 2절

Figure 1. Extraction procedure of crude fucoidans from dried brown algae 357

Figure 2. Yields of crude fucoidans extracted from marine algae 366

Figure 3. Photographs of inhibition zones produced by crude fucoidan 367

Figure 4. Growth of bacteria at various concentration of fucoidan
extracted from dried brown algae(*in vitro* phase) 367

Figure 5. The number of *Salmonella typhimurium*(*in vivo* phase) 369

Figure 6. Effect of feed additives on height of intestinal villi of 10 day
old broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium* on
day 3 after hatch 370

Figure 7. Photographs of intestinal villi of 10 day old broiler chicks
challenged with *Salmonella typhimurium* on day 3 after hatch 370

Figure 8. Scanning electron micrographs of intestinal villi of 10 day old broiler chicks	371
Figure 9. Scanning electron micrographs of cecal surface of 10 day old broilers challenged with <i>S.typhimurium</i> on day 3 after hatch(Control)	371
Figure 10. Changes of viable cell count of Intestinal bacteria of broiler chick	387
Figure 11. Photographs of Intestinal vikki of broiler chick	388
Figure 12. Viable cell count of <i>S. typhumurium</i> in broiler chick	389
Figure 13. Scanning electron micrographs of intestinal villi prepared from broilers	397
Figure 14. Micrographs of intestinal villi prepared from broilers (HE stain)	397

제 5장 제 3절

Figure 1. Change of NH ₄ -N (A: As-fed, B: DM basis)	403
Figure 2. Change of PO ₄ ³⁻ (A: As-fed, B: DM basis)	404
Figure 3. Change of moisture contents	404
Figure 4. Change of TC (A: As-fed, B: DM basis)	404
Figure 5. Change of TKN (A: As-fed, B: DM basis)	407
Figure 6. Change of temperature	408
Figure 7. Change of moisture contents	409

Figure 8. Change of TC	409
Figure 9. Change of TKN	409
Figure 10. Change of NaCl	410
Figure 11. Characteristics of product	410
Figure 12. Processing of final product	410
Figure 13. Change of TC	413
Figure 14. Change of TKN	414
Figure 15. Change of NaCl	414
Figure 16. Change of E.C	415

요 약 문

I. 과제명

해조류 가공과 기능성 물질 개발연구

II. 연구개발 목적 및 중요성

1. 연구개발의 목적

우리나라의 연안에서는 매년 60만톤 이상의 해조류가 생산되고 있는데, 주요 해조 자원으로는 김, 우뭇가사리 등의 홍조류, 미역, 다시마, 툇 등의 갈조류 및 파래와 같은 녹조류 등과 같은 다양한 해조류가 생산되고 있다. 이들 해조자원 중 김, 미역, 다시마 등은 인공양식에 의해 안정적으로 생산되고 있다. 이들 해조류는 오래전부터 식용으로 이용되어 왔으며 상당량이 수출되어 왔으나 대부분이 건장품이나 염장품과 같은 단순가공에 의해 주로 생산되므로 부가가치가 낮고 소비확대에 문제점이 있었다.

따라서 국내에서 생산되는 양식 해조류나 미이용 해조 자원의 부가가치 증진과 소비확대를 위하여 이들 해조류를 이용하여 다양한 품질 특성을 갖는 가공식품을 개발하고, 해조류를 이용한 산업 자원화와 사료화를 통하여 낙후된 국내 해조 가공산업의 기술기반 확충은 물론 양식 해조류의 가공 이용에 따른 부가가치 제고와 이에 따른 양식 어민의 소득 증대 및 건강기능성 특성을 갖는 해조류의 소비확대에 의한 국민건강 증진에 기여할 수 있을 것이다.

본 연구과제의 주 목적은 다음과 같다.

- 김, 미역, 다시마, 툇 등 해조류의 지속적인 생산기반 확보와 서남 해안권을 중심으로 한 해조가공분야의 중점 육성

- 해조류 성분의 건강 및 기능특성의 연구를 통하여 건강지향적 식량자원의 개발과 새로운 생물자원의 확보

- 전남지역의 주요 생산품인 해조류의 이용성 증대와 이를 통한 서남권 생물산업의 기반 조성

2. 연구개발의 중요성

전남 서남 해안 지역은 국내 최대의 해조류 생산지로서 전국 총생산량의 93%를 점유하고 있으며, 특히 다시마는 93%, 미역은 98%, 김은 77%, 툇은 100%, 파래는 45%가 이 지역에서 생산되고 있다. 뿐만 아니라 전남의 진도, 완도, 신안, 해남 일대에 대규모의 해조 양식장이 조성되어 이 지역에 해조류의 양식장 및 가공시설, 제조업체 등이 밀집되어 있다.

반면에 해조류는 40--65%의 탄수화물을 함유하고 있으며, 그 구조가 육상식물과는 다른 독특한 구조를 갖고 있다. 이들 해조류의 식이섬유는 장의 활동을 원활하게 하고, 식염이나 중금속의 배출작용, 혈중 콜레스테롤의 저하 작용, 혈액응고억제작용 및 항암효과가 있는 것으로 알려져 있다. 특히 미역, 툇, 모자반, 다시마 등과 같은 갈조류에는 alginic acid, laminarin, mannitol, fucoidan 등이 다량 함유되어 있어 이들이 혈중 콜레스테롤 저하, 혈압강하, 혈전용해효과 등이 있음이 알려져 있고, 참김, 풀가사리, 얼룩도박 등과 같은 홍조류에는 agar-agar, carrageenan, porphyran 등이 있어 항혈액응고와 항변이원성 효과가 있음이 알려져 있다.

이와 같이 해조류는 가공 및 생물자원으로서의 개발 잠재력이 무한함에도 불구하고 그 생물학적 유용성을 활용하여 소비를 뒷받침할 수 있는 연구가 미약하며, 국내의 해조가공업체 대부분이 연세하여 자체 연구개발 능력이 부족한 실정이다. 해조류는 생물상태로는 유통이 매우 취약하여 가공이 필수적이나 건제품이나 염장품 등 단순가공품으로 생산되고 있어 품질의 고급화, 다양화 및 편의성을 추구하는 현대 소비자들의 욕구를 충족시켜주지 못하고 있는 실정이다. 또한 최근 해조류 및 가공제품의 주요수출국인 일본에 대한 수출이 저가의 중국산 해조제품과의 가격 경쟁으로 매년 감소하고 있으며, 고부가가치 제품의 생산기술이 미약하여 국제 경쟁력을 상실하고 있는 실정이다. 뿐만 아니라 단순가공에 따른 해조가공 부산물이 그대로 해양에 투기되어 해양오염을 유발하고 있다.

따라서 현재 과잉 생산되고 있는 해조류의 내수 증진 및 가격의 안정화 방안의 마련이 시급히 요구되고 있는데, 이를 위하여 일시 다확성의 해조류를 연중 유통, 가공할 수 있는 가공방법의 개발이 필요하며, 수출경쟁력 우위의 고부가가치 상품의 개발을 위해 체계적인 연구가 필요하다. 또한 해조가공 부산물이나 미이용 해조자원의 이용성 제고를 위하여 이들을 소재로 하여 생분해성 포장재를 개발하거나 사료화 연구를 통하여 해양오염을 방지하고 재자원화 하는 연구가 필수적이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

(제 1 세부과제) 해조류가공과 기능성물질 개발연구

목 표	내 용	연구 범위
해조성분에서의 유용색소의 추출과 이용	○ 갈조류로부터 천연 색소의 추출 및 특성 연구	- 갈조류 carotenoids 및 유도체의 항산화능 조사 - 갈조류 carotenoids 및 유도체의 과산화지질 생성 억제능 조사 - 인공세포막에서의 갈조류 carotenoids 및 그 유도체의 동태 해석
해조류로부터 기능성 물질의 추출 및 특성 연구	○ 갈조류의 식이섬유 Alginate 함량 조사	- 최적추출조건 확립 - 특정추출법에 의한 추출물의 수율 조사
해양유래 미생물로부터 생산되는 알긴산 분해효소 및 올리고 알긴산의 특성 연구	○ Alginate 분해미생물로부터 alginate lyase의 특성연구	- 해양생물소재에서 균주 탐색 - 최적세균 분리배지 - 효소 분리 및 정제 - 효소활성 측정과 pH, 온도, 시간에 대한 최적조건 확립
알긴산 및 올리고 알긴산과 금속염의 반응에 따른 유도체의 기능적 특성 연구	○ Ag, S을 이용하여 저중합도의 올리고당 유도체 제조 및 기능성 연구	- 금속염 (Ag, S)이 함유된 저분자 유도체들의 Mutagenicity 측정 - Bifidobacterium의 활성화에 대한 저분자 유도체들의 효과
해조류 소재로부터 가공식품의 개발	○ 올리고 알긴산을 이용한 기능성 젤리제품의 개발 ○ 복합해조류를 이용하여 압출 성형 방식에 의한 스낵제품의 개발 ○ 해조류를 이용한 장류제품의 개발	- 색가 및 물성 및 관능적 특성 조사 - 해조제품의 성분 조사 안정성 연구 - 건조해조제품의 이화학적 특성 연구

(제 2 세부과제) 해조류 산업화 소재의 응용연구

목 표	내 용	연구 범위
Alginate의 저분자화 및 alginate의 이용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 방사선 조사에 의한 oligo-alginate를 제조하기 위한 최적의 공정 개발 ○ Alginate를 미세캡슐 피막제로의 이용성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - alginate 분말에 직접 방사선조사를 하여 alginate를 저분자화하고, 분자량 측정과 분자량 분포를 조사하고 그 특성을 조사 - alginate를 이용한 식품성분의 미세캡슐화 방법 개발
해조분말을 이용한 생분해성 포장재 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 해조분말(미역, 다시마)를 이용한 수분저항성의 포장재 제조의 최적조건 확립 ○ 해조분말을 이용한 생분해성 식품포장용기 개발 ○ 해조분말을 이용한 생분해성 포장재 제조용 master batch 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 1 차년도에 개발된 alginate를 기초로 하는 포장재의 CaCl₂ 처리에 의해 수분저항 특성을 증진시키는 방법의 최적 조건 확립과 특성 및 응용성 연구 - compression molding 방법에 의해 해조분말을 이용한 생분해성 식품포장용기를 제조하고 위의 방법으로 수분저항 특성을 부여하여 식품포장용기로의 이용성을 증진 - alginate 및 해조분말과 기타 생분해성 소재를 혼합하여 해조분말 도는 해조성분을 이용하는 최적의 생분해성 포장재 제조를 위한 원료 배합비 및 제조방법 개발
미역과 다시마를 이용한 해조소금의 제조 조건 확립 및 품질향상	<ul style="list-style-type: none"> ○ 해조소금 제조시 처리조건, 회화온도와 회화시간에 따른 해조소금의 품질 특성과 개선 방안연구 	<ul style="list-style-type: none"> - 제조된 해조소금을 ICP를 이용하여 무기물 분석과 수율, pH, ORP, 색도, NaCl 함량, 표면구조를 비교 검토

(제 3 세부과제) 해조류 생물학적 소재의 개발

목 표	내 용	연구 범위
<p>사료화를 위한 해조 영양 성분 및 기능성 조사</p>	<p>○ 해조류 사료화에 필요한 적절한 가공방법의 확립</p>	<p>- 건조 및 분쇄방법 : 건조전후의 분쇄과정 비교와 영양 손실을 비교 - 가공방법에 따른 영양소 증진 효과 검증</p>
	<p>○ 계절에 따른 해조류의 영양학적 품질 특성 확립</p>	<p>- 일반성분 분석 (단백질, 지방, 섬유소, 회분 및 에너지 함량) - 아미노산, 지방산 분석, 특수무기질 분석</p>
	<p>○ In vitro 실험에 의한 기능성 항병효과</p>	<p>- 장내 미생물에의 효과 조사 - 병원성균 소멸 효과 조사 - 면역능에의 효과 조사</p>
<p>해조류 및 해조부산물의 생물학적 생체 이용성 조사 및 사료첨가 수준 확립</p>	<p>○ 해조류 및 부산물의 가공에 대한 생물학적 생체 이용성 검토</p>	<p>- 단백질 및 에너지 이용성 검토 - 생체내 아미노산 이용성 검토 - 비타민 이용성 검토 - Ca과 P의 생체 이용성 검토</p>
	<p>○ 브로일러 및 산란계에 대한 해조류 적정 첨가 수준 결정</p>	<p>- 브로일러의 사양시험 - 증체량, 사료섭취량, 사료효율 - 육질평가: 혈중 중성지방 및 인지질, 육색비교 - 장기 중량에 미치는 영향 - 산란계의 사양시험 - 증체량, 사료섭취량, 사료효율 - 난질평가: 혈중 및 난중 콜레스테롤 함량, 산란율, 난각, 난백고, 난황착색도 평가 - 요도란 생산 가능성 검토 및 외국 요도란과 비교</p>
	<p>○ 가공 폐액내 유효 성분 분석 및 소규모형 퇴비화 가능성 타진</p>	<p>- 유효 성분 검출 - Ca, P, K, N 함량 분석 - 소규모형 퇴비화 가능성 타진 - 부숙조건 확립 및 영양소 함량 측정 - 비료 가치의 평가 - 초지 경작 시험</p>
<p>실제농가 수준의 배합 프로그램 개발 및 사양방법 확립 (브로일러 및 산란계)</p>	<p>○ 컴퓨터 프로그램을 이용한 농가 자가 배합형 배합비율의 제시 ○ 농가단위 생산물의 영양적 특질 및 육질 특성 평가</p>	<p>- 근육내 아미노산 함량 조사 - 근육내 지방산 및 콜레스테롤 함량 조사 - 사양성적 평가 - 경제성 분석을 통한 사료 가치 평가</p>
	<p>○ 해조가공 폐기물의 퇴비화</p>	<p>- 해조가공 폐자원을 활용한 유기질 비료 생산</p>

IV. 연구개발 결과

1) 제 1 세부과제

○ 해조성분에서의 유용색소(Fucoxanthin)의 추출과 부위별 함량 및 분광학적인 특성을 살펴보았으며 해조류로부터 Alginate의 함량 조사와 최적추출조건 확립에 대한 연구를 수행하여 AASA(Acid alkali soluble alginate) 추출방법에서 3% Na₂CO₃ 농도와, H₂SO₄의 농도 0.4 N에서 가장 높은 수율을 나타냈다.

○ 톳으로부터 산·알칼리(AASA) 방법으로 추출한 알긴산에 인위적으로 sulfate를 흡착 *Lactobacillus acidophilus*를 접종한 후 배양하면서 유산균의 성장에 대한 영향을 살펴 본 결과 모든 농도에서 이들 배지에 S-alginate를 첨가한 것이 유산균의 성장을 증가시켰으며, Ames test를 통해서 S-alginate는 돌연변이성을 전혀 나타내지 않았고, 항 돌연변이성은 직접변이원에 대하여 TA98균주는 14-19%, TA100균주에 대해서는 12-17%까지의 억제율을 보였으며 2%의 S-Alginate가 가장 높은 억제율을 나타내었다.

○ 해양유래 미생물로부터 생산되는 알긴산 분해효소 및 특성을 연구하기 위해 해양생물 소재에서 균주 탐색한 결과 알긴산 분해력이 높은 3가지 균주(*Vibrio alginolyticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella planticola*)를 분리 동정하였으며 이중 가장 큰 활성을 나타낸 *Vibrio alginolyticus* AL-K18를 대상으로 생산하는 효소의 특성을 연구하였다. SDS-PAGE를 통해 효소의 분자량은 57kDa과 67kDa이었으며 최적 pH와 온도는 각각 8.5와 35°C이었다.

○ 미역에서 알긴산 추출의 효율을 증대시키기 위하여 Exo-polygalacturonase(EPG)를 이용하였는데 효소의 최적 작용 pH와 온도, 시간은 각각 7.0, 30°C, 24시간이었다. EPG의 사용은 일반적으로 알긴산 추출에 사용되는 강산 또는 강알칼리로 인한 오염을 감소시킬 수 있는 방안일 수 있다.

○ 미역의 부위 중 알긴산 함량이 높게 함유된 것으로 알려진 미역귀를 이용하여 미역 잼을 제조하였고, 김, 미역, 다시마의 물 추출물을 이용하여 물성이 우수하고 관능성적도 양호한 젤리를 제조하였다. 해조류 젤리를 상품화하는데 있어, 해조류가 갖는 해조취와 젤리색소의 안정화가 상품화의 요소로 대두되어 이를 차폐할 방안도 개발하였다.

○ 미역, 다시마, 멸치의 여러 성분과 된장과 간장의 영양 및 기능성이 향상된 제품을 개발하고자 미역, 다시마, 멸치 분말을 된장과 간장 제조 시 첨가한 후 발효 숙성하여 제품의 이화학적 특성, 품질특성 및 관능특성을 분석하여 우수한 품질의 제품을 개발하였고 2건의 특허 출원을 하였다.

○ 쌀 고유의 고소하고 부드러운 맛과 영양에 다시마와 미역의 독특한 풍미와 기능성을 부여한 스낵을 제조함으로써 해조류의 이용성 증진을 위해서 미역과 다시마의 농축액과 분말을

쌀가루와 혼합하여 압출성형방식에 의한 스낵제품의 개발하였다.

2) 제 2 세부과제

○ 알긴산 필름의 물성을 증진시키기 위하여 CaCl_2 를 필름용액에 직접 첨가하는 방법과 일단 필름을 제조한 후 필름을 CaCl_2 용액에 침지하여 처리하는 두 가지 방법을 사용하여 알긴산 필름을 제조한 결과 수분에 저항성이 강한 필름을 제조할 수 있었다.

○ 해조분말을 이용하여 산·알칼리 병용법으로 알긴산을 추출하고 필름의 물성 증진을 위하여 두 가지의 CaCl_2 처리방법을 적용하여 생분해성 필름을 제조해 본 결과 사용된 해조분말 (미역 잎, 미역줄기, 미역귀, 다시마, 톳) 중 톳을 제외하고는 모두 필름이 제조되었으며 이들 해조필름의 인장강도, 투습도, 수분용해도와 같은 필름의 물성이 순수한 알긴산으로 제조한 필름의 물성에 비해 떨어지나 본 연구의 결과는 미이용 해조분말이나 해조가공 부산물로 얻어지는 해조분말을 이용하여 새로운 생분해성 포장소재로 사용할 수 있는 가능성이 있음을 나타냈다.

○ 알긴산은 상온에서 용해 시간이 길고, 농도의 증가에는 고점도 특성을 보임에 따라 그 사용에 제한이 되고 있으므로 이러한 단점들을 해결하기 위해 저분자 알긴산의 필요하며 이의 제조를 위해 유기산과 방사선을 이용하여 저분자화 하였다.

○ 저 분자화된 Alginate를 이용하여 내부물질을 포집하며 점도가 높은 고지방식품(정제 어유)을 캡슐화하는 미세캡슐화 방법이 가능하였다.

○ 해조류와 소금물을 이용하여 해조소금을 제조하고 이화학적 특성과 무기성분을 비교한 결과 해조류의 회분함량은 미역이 많았고 김이 적었으나 무기성분으로 미역은 Na 함량이 많은 반면 다시마와 톳은 K와 Ca 함량이 많았다. 해조소금을 SEM에 의해 표면 관찰 한 바 소금의 외형이 작고 특징적인 결정구조를 보였다.

○ 천일염, 제제염, 해조소금, 죽염을 사용하여 고추장을 제조하고 숙성중의 품질특성을 조사하여 사용한 소금의 종류에 따른 영향을 조사한 결과 점조성은 해조소금 첨가구에서 높았으며 전체적인 기호도에서도 죽염과 해조소금 고추장이 양호하였다.

○ 다시마와 함초 마쇄물을 두유에 혼합하여 제조한 두부의 품질특성과 저장성을 연구한 결과 해조류를 첨가하여 두부를 제조하여 다당류나 무기질 등 영양적인 기능성을 향상시킬 수 있었다.

3) 제 3 세부과제

○ 해조류의 일반성분 및 아미노산 함량을 분석한 결과 사료첨가제로서 충분한 가치가 있었으나, 다량의 염분 함량으로 인하여 그 가치가 평가 절하되었다. 따라서 해조류의 사

료적 가치를 증진시키기 위하여 발효처리를 하였으며, 그 결과 기능성 영양소(불포화지방산)가 증가되는 효과가 있었다.

○ 해조류가 함유한 천연물질의 기능성을 평가하기 위해 다당류인 fucoidan을 추출한 결과, 병원성 미생물인 Salmonella균에 대한 길항효과가 인정되었으나, 높은 추출비용으로 사료첨가제로서의 경쟁력이 없기 때문에 저비용 fucoidan의 추출방법으로 열수추출 방법을 이용하였으며 열수추출물의 건조비용을 절감하기 위하여 illite에 fucoidan 용액을 흡착한 후, 건조시키는 방법에 대하여도 검토하였다. 그 결과 열수추출 fucoidan과 illite에 흡착시킨 fucoidan을 브로일러에 급여 시험한 결과 증체량, 사료효율이 우수한 것으로 나타났다. 뿐만 아니라, villi의 성장, 장내 미생물에 대한 항균능력 및 영양소 이용성이 향상되었다.

○ 한편 해조류 및 해조 가공 폐자원의 비료화 가능성을 타진한 결과, 유기용매로 추출한 가공부산물은 강한 산성 및 질소와 인 함량이 부족하여 비료화하기에는 어려울 것으로 판단되지만, 열수추출 가공부산물의 경우에는 TKN 함량을 높일 수 있고, C/N ratio를 감소시킬 수 있으며, 토양의 buffer로서 가치가 있는 것으로 검토되어, 열수추출 해조부산물을 펠릿 가공을 통한 친환경 완효성 비료로서 만들 경우 유용할 것으로 판단되었다.

S U M M A R Y

I . Project Title

Development of Value-Added Products and Functional Food materials Using Seaweeds

II . Objective and Significance of the Research & Development

1. Objective of the Research

There are produced more than 600,000 tons of seaweeds every year along the coast of the Korea. The main seaweed resources are red algae (laver, agar-agar), brown algae (sea mustard, tangleweed, seaweed fusiforme), and green algae (green laver). The laver, sea mustard, and tangleweed maintain stability in the output and has been exported as a simple product processing through drying or salting. It was evaluated the low value-added products and limited the expansion for the consumption of seaweeds. Therefore, there are needed the scheme to promote the consumption of seaweeds. The development of value-added products, finding functional properties from seaweeds, development the functional feed for animal using seaweed by-products, and utilization of unused algae for food or other industrial uses will increase fisherman's income as well as serve as an aid for the people health due to its functional properties.

The main purposes of this research are 1) to establish a foundation of seaweed production, 2) to bring up a hub of seaweed processing industry for the south-west coast region in Korea 3) to secure new foodstuffs having functional properties for human health 4) to promote the utilization of seaweeds by new products development and then to support the food industry in Chonnam province.

2. Significance of the Research

Chonnam province, south-west coast area, of Korea is producing 93% of total amounts of seaweeds. The tangleweed, sea mustard, laver, seaweed fusiforme, and green laver are produced as much as 93%, 98%, 77%, 100%, and 45%, respectively. Also, Jindo, Wando, Sinan, and Haenam areas have large seaweed cultivation facilities and exist processing industries.

The seaweeds contains 40-60% carbohydrate and structurally different compared with land plant. The dietary fiber from seaweeds has been known the function of facilitating the bowel movement, excretion the heavy metal in the body, lowering the blood cholesterol level, anti-coagulant of blood, and anticancer. Especially, brown algae including sea mustard, seaweed fusiforme, gulfweed, and tangleweed contains alginic acid, laminarin, mannitol, fucoidan which are lowering the blood cholesterol level, lowering blood pressure, and fusion of blood clot. Agar-agar, carrageenan, and porphyran compound in red algae are known to antimutagenicity and anticoagulant function.

In spite of potential of seaweed as a main bio-resource, there are lack of research to facilitate the consumption with its functional properties and consumers are unsatisfied with simple processing products. In the aspect of seaweed export to Japan, the domestic seaweed can't compete with China product in the competitive pricing. Also, the seaweed by-product dump into the sea and cause pollution of the seawater.

Therefore, development of new processing technique and systematic research for value-added products are needed for domestic requirements. Using by-product of seaweed and unexploited seaweed are needed to development of bio-degradable food packaging material and functional feed for animal.

III. Contents and Scope of the Research

(Subproject #1) Seaweed Processing and Development of Functional Materials

1. Comparison of alginic acid yields and viscosity by different extraction conditions

from various seaweeds (*Laminaria religiosa*, *Hizikia fusiforme*, and *Undaria pinnatifida*)

2. Purification and characterization of alginate lyase from *Vibrio alginolyticus*
3. The antimutagenic activity of sulfated alginate and its effect on the growth of *Lactobacillus acidophilus*
4. Exo-polygalacturonase Improves Extraction Yields of Alginic Acid from Sea Mustard (*Undaria pinnatifida*)
5. Characteristic and Extraction of Fucoxanthin Pigment in *Undaria pinnatifida*
6. Preparation and Quality Characteristics of Jam using *Undaria pinnatifida* (Sporophyll)
7. Development of jelly manufacture using seaweed extracts
8. Improvement of the quality of traditional *Doenjang*(fermented soybean paste) and *Ganjang*(fermented soybean sauce) with the sea tangle, sea mustard, or anchovy powder
9. Properties of Rice Extrudates with the Powder and Extracts of Seaweeds

(Subproject #2) Development of Industrial Materials from Seaweeds and Their Application

1. Preparation of biodegradable films using glue plants
2. Modification of na-alginate films by CaCl₂ treatment
3. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate
4. Increase in moisture barrier properties of alginate-based films by composting with fatty acids and CaCl₂ treatment
5. Preparation of Bio-degradable films using various marine algae powder
6. Degradation of alginate by γ -irradiation in aqueous solution
7. Degradation of alginate by organic acid hydrolysis
8. Degradation of alginate by γ -irradiation in solid form
9. Microencapsulation of fish oil by sodium alginate
10. Characteristics of seaweed salts prepared with various seaweeds
11. Fermentation characteristics of Kochujang prepared with various salts

12. Quality characteristics and shelf-life of Tofu prepared by addition of seaweeds
13. Preparation of seaweed salt and its characteristics

(Subproject #3) Biological Utilization of Seaweeds and Development of Feed

1. Evaluation of the values of seaweed as a functional feed for animal and examination of the metabolic function of natural materials and the feasibility of composting of seaweed byproduct.
2. Extraction of fucoidan and evaluation of its functional properties to broiler
3. Development of animal feed and organic fertilizer by using fucoidan extraction and co-composting of seaweed byproduct

IV. Results of the Research

(Subproject #1)

○ Fucoxanthin might be cleaved to a series of cleavage products under the oxidative condition in liposomal suspension. Alginates were extracted from the *Laminaria religiosa*, *Undaria pinnatifida*, and *Hizikia fusiforme* by using four different extraction methods and compared the yields of alginate. Acid-alkali soluble alginate(AASA) extraction method from *Undaria pinnatifida* resulted in the best yield of alginate among the seaweeds. The optimal condition for extracting alginate from *Laminaria religiosa* was 0.4 N H₂SO₄ and 3% NaCO₃ concentrations at the AASA extraction method.

○ The alginate extracted from *Hizikia fusiforme* by the acid alkali soluble alginate(AASA) extraction method was reacted with Na₂SO₄. Both alginate and S-alginate stimulated the growth of *Lactobacillus acidophilus* in MRS broth and peptone water medium. The addition of S-alginate to the media showed the higher bacterial numbers than alginate supplement. There was no mutagenic activity of S-alginate in the Ames test using the *Salmonella Typhimurium* TA 98 and TA100 strains. The S-alginate showed suppressive effect against 2-NF and MMS of mutagens.

○ Alginate lyase producing bacteria were screened and isolated from seawater and brown seaweeds. Among the various samples tested, three bacteria (*Vibrio alginolyticus*, *Klebsiella planticola*, *Enterobacter aerogenes*) showed highest enzyme activity. Identification of the bacteria was confirmed by Bio-log system and API test. The extracellular alginate lyase was purified from the culture of *V. alginolyticus* by ammonium sulfate precipitation, Phenyl Sepharose CL-4B and Sephadex G-100 column chromatography. The molecular weight of the lyase was estimated to be 57kDa and 67kDa by SDS polyacrylamide gel electrophoresis. The optimum pH and temperature for the enzyme activity were around 8.5 and 35°C, respectively.

○ Exo-polygalacturonase (EPG) from *Rhizopus sp.* was applied to the extraction of alginic acid from sea mustard to increase extraction yield. The optimal conditions for alginic acid extraction with EPG were: pH 7.0 at 30°C for 24 hrs. Using EPG to extract alginic acid from sea mustard should be considered a viable alternative to conventional extraction, with the advantage of reducing hazardous wastes such as strong acid and alkali solutions.

○ The sea mustard sporophyll jam prepared with combination of 60% (w/w) sugar, 0.75%(w/w) HM pectin and 0.3%(w/w) citric acid, which finally adjusted to 62 °Brix, was similar to commercial jam in gel strength. Addition of 0.08%(v/w) synthetic strawberry flavor and cinnamon flour 0.5%(w/w) to sea mustard sporophyll paste showed a good effect of masking the undesirable sea mustard flavor.

○ To improve the quality of traditional *Doenjang*(fermented soybean paste) and *Ganjang*(fermented soybean sauce), the sea tangle, sea mustard, or anchovy powder were added to soybean paste and soybean sauce. *Doenjang* prepared with fresh soybean paste added 1% sea tangle, sea mustard and anchovy powder, and matured for 90 days. *Ganjang* prepared with 20% brine solution added 10 kg *meju* and 0.3 kg~1.0 kg sea tangle or sea mustard powder, matured for 60 days. The results of this research applied for 2 patents.

○ Sea mustard and sea tangle powder and extract were added to rice powder to prepare extruded snack. The snack with seaweed extract showed better sensory score.

(Subproject #2)

○ Biodegradable films were prepared using two varieties of glue plants, i.e., *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata*, in order to increase the utilization of under-utilized seaweeds. Tensile strength(TS) of the films prepared with *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata* were 23.9 ± 4.4 and 26.6 ± 6.6 MPa, respectively, which are comparable with that of κ -carrageenan film (30.5 ± 5.2 MPa).

○ Reacting with calcium ions through immersion of alginate films in CaCl_2 solutions, water resistance increased significantly ($P < 0.05$) with increase in tensile strength(TS) and decrease in water vapor permeability(WVP) of the films. In addition, swelling ratio(SR) of the films decreased with soaking temperature without affecting water solubility(WS). Such properties of the films could be utilized to make them as a natural water-insoluble film in food and non-food applications where plastic packaging cannot be applied. They can be used as a separating layer inside heterogeneous foods to prevent moisture migration between parts having different water activities and they can also be used as coating materials for single-use coffee cups or soup bowls made of paper. Especially, the water resistant edible film coated paper cups will be a help to alleviate the environmental concerns on non-biodegradable plastic solid waste by providing opportunity to replace polyethylene coated single-use paper cups.

○ Although TS, WVP, and WS of marine algae powder films were lower than those of alginate films, they indicate potential in application as a new source of bio-degradable packaging materials. y treatment with 3% CaCl_2 solution.

○ Alginate solution was treated with γ -irradiation and organic acid to degrade in aqueous solution and measured viscosity and molecular weight. It is possible to microencapsulation of fish oil by degraded sodium alginate.

○ Seaweed salts were prepared with various seaweeds such as sea mustard, sea tangle, laver, seaweed fusiforme, and green laver and concentrated sea water, and their physicochemical properties and mineral composition were determined. Ash content of sea mustard was the highest(22.7%) with the lowest(9.8%) for laver among the seaweeds tested. Sea mustard contained high amount of Na, while sea tangle and seaweed fusiforme contained higher amount of K and Ca.

○ Effect of four different salts, sun dried salt, refined salt, seaweed-salt, and bamboo-salt, on the quality of *kochujang* was studied by measuring enzymatic, microbial and physicochemical activities of the *kochujang* during 12 weeks of fermentation period. Consistency of seaweed-salt *kochujang* was higher than the other ones. Total sugar content was higher in the seaweed-salt and the bamboo-salt *kochujangs*.

○ The tofu was developed with sea tangle(*Laminaria japonica*) and *Salicornia herbacea* addition. As the addition of *Laminaria japonica* increased, the moisture content and yield of tofu were increased but those of crude protein was decreased. In sensory evaluation, the texture, odor and overall acceptability of whole tofu coagulated with Ca-acetate were evaluated higher than those of seaweed added group, but astringent taste and beany flavor were decreased with addition of seaweeds.

(Subproject #3)

○ This study was done to evaluate the values of seaweed as a functional feed for animal, and to examine a metabolic function of natural materials and the feasibility of composting of the byproduct. Based on the analysis of composition and amino acid content, the seaweed was found to be a valuable feed supplement if salt level could be dropped. Therefore, fermentation was done to enhance the nutrient values, and by it the contents of functional nutrient such as unsaturated fatty acid was increased.

○ The fucoidan extracted from seaweed suppressed the growth of *Salmonella*. However, costs for fucoidan extraction should be down to be a competitive feed supplement. To overcome this high cost problem, heat-water extraction method was involved, and also absorption of fucoidan to illite was conducted to reduce the drying costs.

○ Feeding of fucoidan and illite-fucoidan to broiler increase body weight gain and feed conversion ratio, as well as they enhanced antibiotic activity to intestinal microorganisms, villi structure and nutrient utilization. Also, to know the feasibility of the byproducts from extraction processes as a source of organic fertilizer, co-composting with swine manure was done and the quality of final product was

analyzed. The byproduct from chemical-solvent extraction process was not suitable to composting, since it had high acidity. However, the production of relatively high quality of organic fertilizer by composting and slowly releasing organic fertilizer through pelleting of its compost were possible with the byproduct from heat-water extraction method. In final it was considered that heat-water extraction method for fucoidan extraction and co-composting of its byproduct would be a useful way to use the seaweed as a source of animal feed and organic fertilizer.

제 1 장 서 론

제 1 절 연구의 필요성

가. 해조류의 생산 및 이용현황

- 우리나라는 3면이 바다로 둘러싸여 44만 7천 m²의 수면적과 11,542 km의 해안선, 3,170여 개의 섬들이 모여 이루어진 국지적 여건으로 인하여 수산자원이 비교적 풍부함에도 불구하고 이를 이용한 기술은 낙후되어 있음
- 현재 우리나라의 남해안에서 양식되고 있는 해조류의 생산량은 1974년 211,431톤으로 전국 생산량의 86%를 차지하였으며, 최근 1999년도에는 434,443톤으로 전국의 92%를 차지하고 있음
- 전남지역은 전국 최대 해조류의 생산지 (전국 총생산량의 93%, 다시마 93%, 미역 98%, 김 77%, 툇 100%, 파래 45%)임에도 불구하고 이를 자원화하여 고부가가치 창출을 위한 연구와 기술력이 부족함
- 해조가공업체 대부분이 영세하여 자체 연구개발 능력에 한계가 있고 신기술의 접목으로 인한 새로운 부가가치 창출 능력이 결여되어 있는 실정임
- 해조가공부산물 (미역줄기 등)이 그대로 해양에 투기되어 해양오염을 유발
- 이들을 이용한 생분해성 포장재 또는 사료화를 통하여 재자원화가 요구됨

나. 해조류의 가공적인 측면

- 해조류 및 가공제품의 일본 수출은 저가의 중국 해조제품과의 가격경쟁으로 인해 국산 해조제품의 수출은 매년 감소하는 추세이며 이로 인한 국내 해조 양식 및 가공산업이 위축되고 있음
- 내수 시장에서도 해조류는 '99년도 총생산 60만톤 중 단지 10만톤 정도만 건제품, 염장품 등의 단순가공제품 위주로 가공되었음
- 일부 제품의 경우 가공제품의 품질이 열악하여 소비자들의 선호도가 낮으며, 가공성이 극히 낮아 이를 개선한 편의 가공식품으로의 개발이 요구되고 있음
- 해조류 가공연구의 취약성: 주로 어패류 및 해조류양식 관련 연구가 주류를 이루고 있으며 해조류 가공 및 기능성을 이용한 제품개발 연구는 미흡한 실정임.
- 국내의 소비수요 창출을 위하여 해양 관련 연구기관 및 대학에서도 새로운 가공기술을 이용하여 보다 적극적인 연구 개발이 필요함
- 따라서 해조류의 소비촉진 및 이로 인한 어민소득 증대를 위해서는 생리적 기능성이 부여된 새로운 해조 가공식품의 개발이 무엇보다 시급한 현안 과제로 인식되고 있음
- 해조류를 이용한 가공식품 개발 연구는 국내에서 생산되는 해조류 제품의 국제경쟁력

을 강화시킬 수 있으며, 이를 통한 새로운 부가가치의 창출 및 원료 생산 기반의 안정화에도 기여할 수 있음

다. 해조류의 기능성 연구 측면

- 신기능성 물질에 대한 시장의 잠재성이 높고 건강 지향성의 소재개발이 필요
- 현대인에게 비만, 변비, 고혈압, 심장병, 암, 기타 만성질환의 증가, 환경오염, 평균 수명의 노령화에 따른 면역기능 저하로 인해 기능성식품에 대한 관심이 증가되고 있고 이로 인한 해조류로부터 다양한 기능성 소재 탐색과 개발에 세계적으로 관심이 고조되고 있음
- 최근 해조류의 다이어트 작용, 변비치료, 항암, 항고혈압, 항혈전, 중금속 및 방사선의 체외 배출작용 등의 인체 생리 기능성에 관한 연구결과가 밝혀짐에 따라 생체조절기능을 발현할 수 있는 건강 지향적 가공제품의 개발이 요구됨
- 해조류의 생리활성 연구와 효능연구가 아직은 미진한 상태
- 해조류의 기능성 신물질 개발과 수출을 목표로 한 가공제품의 개발 연구에 대한 정책적인 집중 투자가 필요하며, 이는 우리 해조류제품의 세계화로의 기반조성에 기여할 것임

라. 해조류의 산업적 소재개발 측면

- 산업의 급속한 발달과 함께 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 환경오염 문제에 대한 인식이 점차 고조되고 있는 실정
- 환경오염 감소를 위한 청정 기술 개발로 해조류 가공 폐기물과 미이용 해조류의 처리
- 해조류에는 청정효과와 소독작용의 특성을 갖는 것이 많이 함유되어 있기 때문에 이들을 이용한 가축분의 악취저감물질의 가능성을 탐색하여 축사내 사육환경을 개선함으로써 청정 축산물 생산에 효과가 있을 것으로 판단됨
- 수입대체 사료자원으로써 값이 싸고 풍부한 해조류를 이용하면 어민들의 부가가치 향상 및 축산농민의 사료비 절약효과와 고부가가치 축산물 생산이 가능함
- 해조류를 가공하고 난 후에 생산되는 폐액에도 다양한 기능성 물질을 함유하고 있을 가능성이 있기 때문에 이에 대한 연구도 요구됨
- 해조류는 이와 같이 다양한 생리활성 효과를 갖고 있는 소재임에도 불구하고 사료적 이용방안이 개발되지 못하고 있는 실정임
- 최종가공폐기물은 여전히 다량의 유기물이 함유되어 있으므로 현행의 해양투기에 따른 해양오염을 방지하기 위하여 이의 퇴비화에 관한 연구가 필요함

제 2 절 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

미역, 김, 다시마와 같은 해조류는 전체 해조 생산량의 약 91%를 점하는 주요해조자원으로서 우리 국민 식생활에 기여하고 있을 뿐만 아니라 어민들의 주요 소득원으로 중요한 역할을 하고 있는 우리나라의 대표적인 해조자원이다.

이들 해조류는 97% 이상이 인공 양식되고 있으며 대부분이 직접 식용으로 소비되고 일부는 식품가공용 소재나 동물사료용 소재로 이용되어 왔다. 이들 해조류가 식용으로 이용되는 경우 대부분이 원료상태 또는 건조제품이나 염장제품과 같은 단순가공품의 형태로 소비되고 있는 실정이다.

해조류는 국내 소비 외에도 상당량이 수출되어 왔으며 특히 미역과 김은 툇과 함께 수출물량이 많은 주요 해조제품이나 수출이 일본에 편중되고 최근에는 수출 물량도 점차 감소하고 있는 추세이다. 이러한 국내산 해조제품의 수출 감소는 중국의 저가의 해조제품과의 가격경쟁이 심해지는데 한 가지 원인이 있다고 할 수 있으며, 이는 향후 국내 해조 양식 및 가공산업에 미치는 영향이 클 것으로 사료된다.

그 동안 국내에서 해조류는 전통적으로 식용으로 사용해 왔던 건제품, 염장품 등과 같이 단순 가공품 위주로 소비되어 왔으나 타 조미가공식품에 비해 상대적으로 기호성이 낮아 그 소비량이 증가하지 못하고 있는 실정일 뿐만 아니라 새로운 수요 창출을 위한 제품의 개발이나 새로운 가공기술의 개발에 대한 연구도 활발하게 이루어지지 않고 있는 실정이다. 따라서 현재 과잉 생산되고 있는 해조류의 소비 촉진을 통하여 어민소득 증대를 기하기 위해서는 기호성이 우수한 새로운 해조가공 식품의 개발, 기존의 가공공정의 개선, 해조류의 기능성 물질 연구, 미이용 해조자원의 이용연구 등을 통하여 해조류의 부가가치를 높이는 연구가 절실하게 요구되고 있다.

한편, 전 세계적으로 경제성장과 더불어 비만, 변비, 고혈압, 심장병 및 각종 암등이 급증하고 있고 환경오염에 따른 유해 중금속의 인체내 축적, 노령화에 따른 면역기능의 저하 및 각종 성인병 발생의 급증과 이로 인한 건강식품에 대한 관심의 고조와 같은 새로운 식품소비 수요가 증가하면서 다양한 기능성분을 다량 함유하고 있는 해조류는 유력한 건강식품의 소재로 기대되고 있다. 최근 해조류의 인체생리 기능성에 관한 국내외 전문가들의 활발한 연구수행 결과 해조류가 다이어트 작용, 변비치료, 항암, 항고혈압, 항혈전, 중금속 및 방사능 물질의 체외 배출작용 등에 효과적인 것으로 밝혀져 건강식품으로서 주목을 받고 있으나 이들 해조류가 대부분 식미가 떨어지고 가공성이 낮아 이를 해결하는 것이 시급한 것으로 알려져 있다.

따라서 국내에서 대량 생산되나 부가가치가 낮은 김, 미역, 다시마의 물성 및 식품가공적성을 개선하여 성인병, 비만방지 및 유해중금속의 체외 배출 기능 등과 같은 생체 기능성이 우수하고 기호성이 높은 건강 지향적 편의 가공 식품을 개발하므로서 해조류의

새로운 소비 수용창출이 가능할 것으로 여겨진다. 이러한 식품에 관한 연구는 국내에서 생산되는 해조류를 이용한 제품의 국제 경쟁력을 강화 시킬 수 있으며, 이를 통한 새로운 부가가치의 창출 및 원료 생산 기반의 안정화에도 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

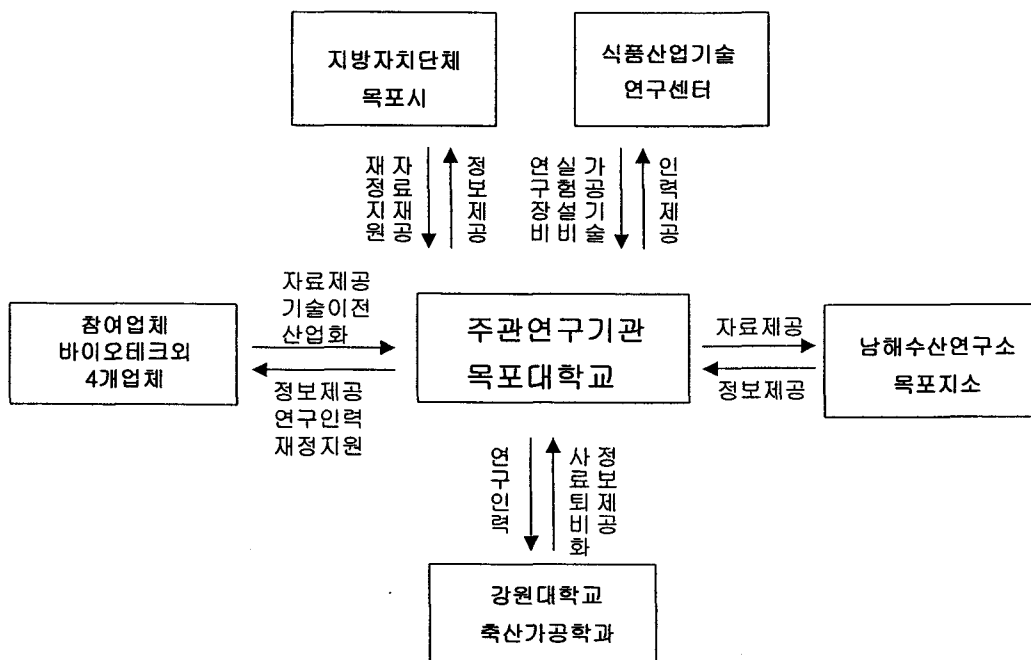
제 2 장 연구목표 및 내용

제 1 절 연구목표

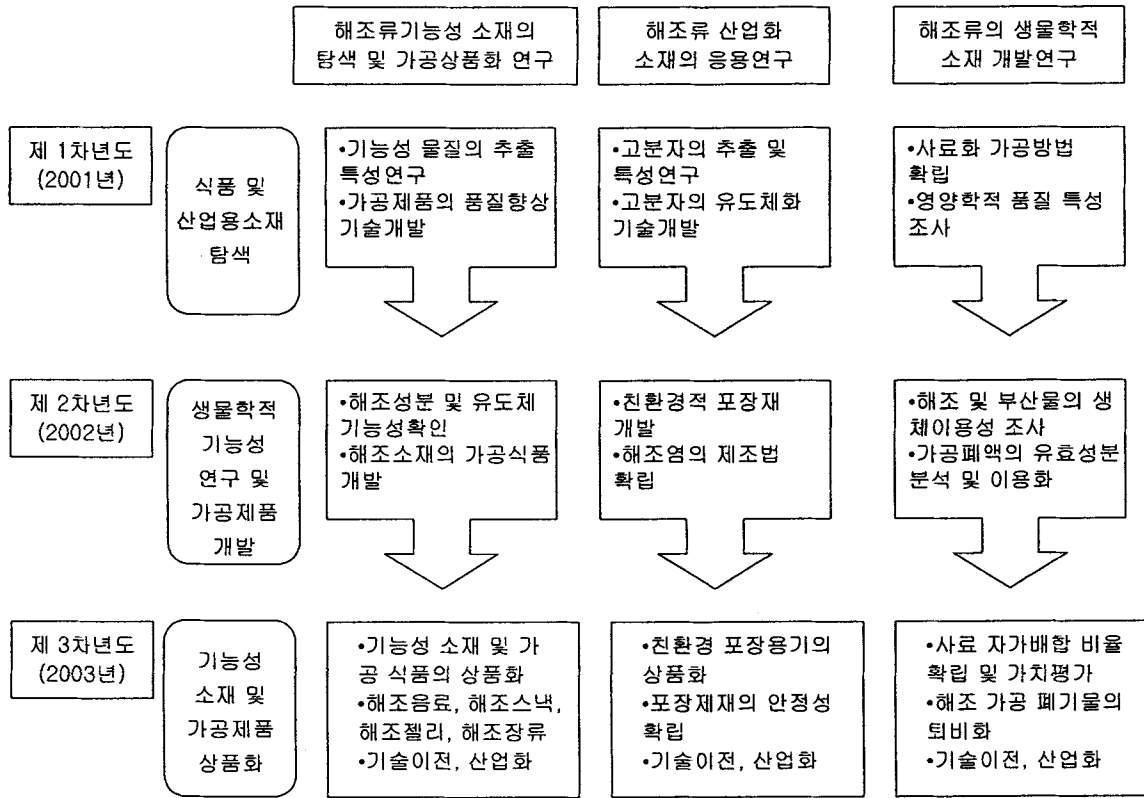
- 목포시의 21세기 국가주력사업인 생물산업의 기반조성
- 김, 미역, 다시마, 톳 등 해조류의 지속적인 생산기반 확보와 서남 해안권을 중심으로 한 해조류 가공분야의 중점육성
- 해조류와 해조류 가공식품의 건강 기능성 확인을 통하여 성인병이 많은 현대인에게 우수한 건강지향적 식량자원의 확보
- 산·학·관·연 협력체제 구축을 통하여 해조류 가공 제품의 품질향상과 새로운 해조류 가공제품의 개발 및 고부가가치 제품 창출을 통한 산업화 촉진 및 상품화
- 해조류 생산 및 가공업체에 대한 현장애로기술 지원 및 기술 지도
- 해조류의 기능성을 밝혀 부가가치를 극대화 할 수 있는 신소재개발

제 2 절 연구개발 추진체계

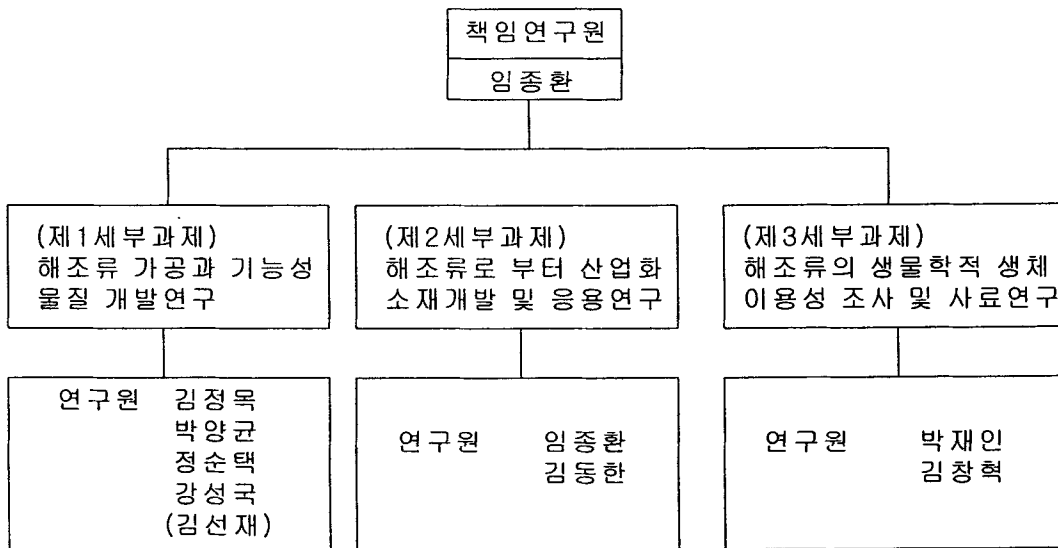
가. 연구협조체계



나. 추진방법 및 전략



다. 연구팀 편성표



제 3 절 년도별 연구세부내용

가. 주관연구기관 (목포대학교)

년 도	연구 목표	연구내용 및 범위
1차년도 (2001)	해조류 유래의 식품 및 산업용 소재의 탐색과 해조가공제품의 품질향상 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> ■ 해조류로부터 기능성 물질의 추출 및 특성 연구 ○ 갈조류의 식이섬유 Alginate 함량 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 최적추출조건 및 농축방법 확립 - 습식분쇄방식에 의한 재료 전처리/건조 biomass에서 추출법 비교 - 특정추출법에 의한 추출물의 수율 조사 ○ Alginate lyase에 의한 저분자화 <ul style="list-style-type: none"> - Alginate 분해 미생물 탐색 - 해양생물소재에서 균주 탐색 - 최적 세균분리배지 선택 - API test kit와 Bio Log system을 이용한 분리 균주의 확인 ○ 갈조류로부터 천연색소의 추출, 특성연구 <ul style="list-style-type: none"> - 천연 carotenoids 색소 추출 및 분리 - 갈조류 유래 천연 carotenoids 색소의 특성 규명 - 천연 carotenoids 색소의 안정성 연구 ■ 해조가공식품의 품질향상 기술개발 ○ 건조 해조제품의 비가열 건조법 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 색가 및 물성 및 관능적 특성 조사 - 가열방법에 따른 성분 비교 연구 ○ 건조해조의 조직 및 선택 개선 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 해조제품의 성분 조사 및 안정성 연구 - 건조해조제품의 이화학적 특성 연구 ○ 건조 해조제품의 품질 특성 <ul style="list-style-type: none"> - 해조제품의 품질 특성 연구 - 해조제품의 유효성분 확인 검색 연구

년 도	연구 목표	연구내용 및 범위
2차년도 (2002)	해조류의 생물학적 기능성 연구와 해조 가공제품의 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> ■ 해조성분과 그 유도체의 기능성 탐색 ○ Alginate 분해미생물로부터 alginate lyase의 특성연구 <ul style="list-style-type: none"> - 효소 분리 및 정제 - 효소활성 최적조건과 pH, 온도에 대한 안정성 ○ 저분자화된 oligoalginate의 물리·화학적 성질분석 <ul style="list-style-type: none"> - 분자량, M/G 조성비율 ○ Sulfated Oligoalginate 유도체 제조 및 기능성 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 황이 함유된 저분자유도체들의 구조 분석 - DPPH법을 이용하여 항산화력 실험 - Bifidobacterium의 활성화에 대한 저분자유도체들의 효과 - 병원성균에 대한 생육저해효과 실험 - <i>Salmonella</i> /microsome assay를 이용한 항돌연변이원성 실험 ■ 해조류 소재 가공식품의 개발 ○ 해조류를 이용한 기능성 젤리제품의 개발 ○ 복합해조류를 이용하여 압출성형방식에 의한 스낵제품의 개발 ○ 해조류를 이용한 장류제품의 개발 ■ 해조류 자원을 이용한 생분해성 포장재 개발 ○ Alginate 필름의 제조 조건 확립 ○ 수분저항성의 생분해성 필름의 제조 ○ 해조분말을 이용한 생분해성 포장용기 개발 ○ 해조염의 제조방법 확립 ○ 해조염을 이용한 제품 개발

년 도	연구 목표	연구내용 및 범위
3차년도 (2003)	해조류를 이용한 기능성 소재 개발 및 신기능성 해조가공 식품의 상품화	<ul style="list-style-type: none"> ■ 해조류 기능성소재와 가공식품의 상품화 ○ 저분자 Alginate의 생산기법 확립 ○ 해조 및 해조성분을 이용한 기능성 젤리제품 및 해조스낵의 상품화 ○ 해조 기능성 성분이 강화된 전통 장류의 상품화 ○ 기술이전을 통한 해조류 가공업체의 수출 상품화 <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 해조류 가공 제품의 기술이전 ■ 해조류 자원을 이용한 생분해성 포장재 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 생분해성 해조필름의 제조 조건 확립 ○ 수분저항성의 생분해성 해조필름의 제조 ○ 해조분말을 이용한 생분해성 포장용기 개발 (injection molded cup) ○ 알긴산을 이용한 정제어유의 미세캡슐화 제조방법 개발 ■ 해조염 및 해조두부의 제조 <ul style="list-style-type: none"> ○ 해조염의 제조방법 확립 및 대량생산법 개발 (제품 다양화) ○ 해조두부의 제조

나. 공동연구기관 (강원대학교)

년 도	연구 목표	연구내용 및 범위
1차년도 (2001)	해조류 유래의 식품 및 산업용 소재의 탐색	<ul style="list-style-type: none"> ■ 사료화를 위한 해조 영양 성분 및 기능성 조사 ○ 해조류 사료화에 필요한 적절한 가공방법의 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 건조 및 분쇄방법 : 건조전후의 분쇄과정 비교와 영양 손실을 비교 - 가공방법에 따른 영양소 증진 효과 검증 ○ 계절에 따른 해조류의 영양학적 품질 특성 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 일반성분 분석(단백질, 지방, 섬유소, 회분 및 에너지 함량) - 아미노산 분석 (아미노산 분석기 이용) - 지방산 분석 (GC를 이용하여 불포화 및 포화 지방산 함량 분석) - 비타민 함량 (수용성 및 지용성 비타민, HPLC 이용) - 요오드, 칼슘, 인 등 특수무기질 분석 (광물질 분석기 이용) ○ In vitro 실험에 의한 기능성 항병효과 <ul style="list-style-type: none"> - 장내 미생물에의 효과 조사 - 병원성균 소멸 효과 조사 - 면역능에의 효과 조사

년 도	연구 목표	연구내용 및 범위
2차년도 (2002)	해조류의 생물학적 기능성 연구와 사료화 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> ■ 해조류 및 해조부산물의 생물학적 생체 이용성 조사 및 사료 첨가 수준 확립 ○ 해조류 및 부산물의 가금에 대한 생물학적 생체 이용성 검토 <ul style="list-style-type: none"> - 단백질 및 에너지 이용성 조사 - 생체내 아미노산 이용성 검토 - 비타민(A와 E를 중심으로) 이용성 검토 - Ca과 P의 생체 이용성 검토 ○ 브로일러 및 산란계에 대한 해조류 적정 첨가 수준 결정 <ul style="list-style-type: none"> - 브로일러의 사양시험 - 증체량, 사료섭취량, 사료효율 - 육질평가: 혈액 및 근육 중 아미노산 농도, 혈중 콜레스테롤 및 근육 중 콜레스테롤 함량 - 혈중 중성지방 및 인지질 농도, 육색 비교 - 장기중량에 미치는 영향(섬유소 성분의 이용효과) - 산란계 사양시험 - 증체량, 사료섭취량, 사료효율 - 난질평가 : 혈중 및 난중 콜레스테롤 함량, 난중, 산란율, 난각, 난백고, 난황착색도 평가 - 요도란 생산가능성 검토 및 외국 요도란과 비교 ○ 가공 폐액내 유효 성분 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 유효 성분 검출 - 무기 광물질 함량분석 - 비타민 및 아미노산 함량 분석

년 도	연구 목표	연구내용 및 범위
3차년도 (2003)	해조 기능성 소재와 해조 가공 부산물의 이용	<ul style="list-style-type: none"> ■ 실제농가 수준의 배합 프로그램 개발 및 사양방법 확립 (브로일러 및 산란계) ○ 컴퓨터 프로그램을 이용한 농가 자가배합형 배합비율의 제시 ○ 농가단위 생산물의 영양적 특질 및 육질 특성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 근육내 아미노산 함량 조사 - 근육내 지방산 및 콜레스테롤 함량 조사 - 사양성적 평가 - 경제성 분석을 통한 사료 가치평가 ■ 해조가공 폐기물의 퇴비화 <ul style="list-style-type: none"> - 해조가공 폐자원을 활용한 유기질 비료 생산

제 3 장 해조류 가공과 기능성 물질 개발 연구 (제 1 세부과제)

김 정 목 (목포대학교 식품공학과)

박 양 균 (목포대학교 식품공학과)

정 순 택 (목포대학교 식품공학과)

강 성 국 (목포대학교 식품공학과)

김 선 재 (목포대학교 식품공학과)

제 1 절 추출조건에 따른 해조류의 알긴산 수율과 점도

김 정 목 (목포대학교 식품공학과)

서 론

해조류의 성분조성을 보면 일반적으로 탄수화물의 함량이 높으며 특히 갈조류는 건물기준으로 탄수화물을 약 30~67% 까지 함유하는 특징을 보인다. 갈조류가 함유하는 다당류는 대부분이 알긴산과 laminaran 및 fucoidan 등으로 구성되어 있으며 갈조류의 알긴산 함량은 해조의 종류와 수확기에 따라 많은 차이를 보이는 것으로 알려져 있다(1). 알긴산은 갈조류의 세포막 또는 세포간 물질을 구성하는 주성분으로 β -D-mannuronic acid(M)와 α -L-guluronic acid(G)가 α -1, 4결합 또는 β -1, 4 결합한 hetero형 다당류로 알려져 있고 식품, 화장품, 의약품 산업에 광범위하게 이용되어 지고 있다. 더구나 최근 해조류의 다당류들이 여러 가지 생리활성이 있다는 연구들이 발표되면서 식이섬유로서의 콜레스테롤 저하효과와 고지혈증 예방 등의 기능성 목적으로 많은 관심을 받고 있다. 알긴산의 추출방법과 분자량(2, 3, 4), 추출방법에 따른 M과 G의 조성(5)과 물리적 성상의 차이에 관한 보고(6)도 있다. 알긴산의 함량은 해조류의 종류, 추출 방법, 시료의 처리 조건, 채취시기 등의 차이에 따라 달라지는데, 제주도산 감태, 모자반의 계절에 따른 알긴산 함량 변화(7) 및 지층이, 모자반, 미역, 곤피 줄기의 부위별 알긴산 함량(8)이 보고 되고 있다. 한편 다시마 알긴산의 가열 가수분해에 의한 저분자 알긴산의 물성과 분자량을 측정 한 것이 보고 되었고(9) 다시마에서 추출한 알긴산에 대하여 pH와 염이 점도에 미치는 영향을 분석하기도 하였다(10). 근래에 와서는 알긴산의 보수성, 점착성, 유화성, 젤 형성력 등의 특성을 이용해서 의약과 식품산업에 보다 널리 활용되면서 알긴산의 추출방법을 개선하기 위해 물리적, 화학적, 효소적인 방법들에 관한 연구들이 진행되고 있다.

본 연구의 목적은 전남지역에서 대량 생산되는 다시마, 미역, 툇에 대하여 기존의 여러 가지 추출방법에 따른 수율을 비교하고 산과 알칼리 농도 조절에 따른 최적 알긴산 추출 조건과 물성을 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

전남 완도에서 2002년 5월에 수확된 다시마(Sweet tangle, *Laminaria religiosa*)와 2월에 수확된 미역(Sea mustard, *Undaria pinnatifida*)을 완도수협을 통하여 구입하였고, 툯(Seaweed fusiforme, *Hizikia fusiforme*)은 6월경에 수확된 것을 시료로 (주)하균식품(완도, 전남)에서 건조된 것을 구입하였다. 모든 시료는 분쇄한 후 7 mesh 체를 통과시켜 실온에 보관하면서 알긴산의 실험에 사용하였다.

알긴산의 추출

준비된 해조류 시료는 Nishide등이 확립한 방법을(11) 약간 변형하여 열수 추출물(HWEM, Hot-water extractable material), 수용성 알긴산(WSA, Water soluble alginate), 알칼리 가용성 알긴산(ASA, Alkali soluble alginate)으로 추출하였다. 수용성 알긴산을 추출하기 위해서 분쇄된 시료를 증류수와 1:20 w/v의 비율로 100℃에서 4시간 교반하면서 가열한 후 nylon cloth를 이용하여 여과하였다. 잔사는 버리고 여액은 농축기를 이용하여 1/4로 농축한 후 무게비율에 맞추어 80%에탄올 (1:80 w/v)을 첨가하였다. 이들 용액을 초고속원심분리기(Ultra Centrifuge, CENTRIKON T-324, Kontron, Italy)를 이용하여 20℃에서 10분간 3,000 × g에서 원심분리 한 후 상등액은 버리고 침전물은 시료무게의 100배의 물(1:100 w/v)과 0.1 M MgCl₂용액(1:100 w/v)을 첨가하여 상온에서 30분간 교반하였다. 그런 다음 20%의 에탄올을 첨가하고 원심분리 한 후 상등액은 버리고 침전물은 에탄올과 아세톤을 1:1(v/v)로 섞은 후 이 혼합된 액을 이용하여 잔사를 세척하고 40℃ 건조기에서 24시간 건조하였다. 알칼리 가용성 알긴산은 분쇄된 시료를 증류수와 1:30 w/v의 비율로 75℃에서 30분간 교반하면서 가열한 후 nylon cloth를 이용하여 여과하였다. 여액은 버리고 잔사는 1% Na₂CO₃ 용액과 1:20(w/v)의 비율로 75℃에서 4시간 교반하면서 가열한 후 시료무게의 80배의 증류수(1:80 w/v)를 첨가하고 Whatman filter paper No. 4를 이용하여 감압여과 하였다. 잔사는 버리고 여액은 10% HCl를 이용하여 pH 2로 조절하고 20℃에서 3,000 × g 속도로 10분간 원심분리 한 후 상등액은 버리고 침전물은 시료무게의 20배의 50% 에탄올 (1:20 w/v)을 첨가하였다. 그리고 10% NaOH를 이용하여 pH 7로 중화한 후 nylon cloth를 이용하여 여과하였다. 여액은 버리고 잔사는 에탄올과 아세톤을 1:1(v/v)로 섞은 후 이 혼합액을 이용하여 잔사를 세척하고 40℃ 건조기에서 24시간 건조하여 알칼리 가용성 알긴산을 추출하여 점도측정 시료로 사

용하였다. 산·알칼리 가용성 알긴산(AASA, Acid alkali soluble alginate)은 산으로 0.2 N H₂SO₄를 알칼리로 1% Na₂CO₃ 용액을 이용한 Haug의 방법(12)을 사용하여 알긴산을 추출하였다.

알긴산 추출 수율 비교

각각의 추출방법에 따라 얻어진 알긴산 겔을 35℃ 건조기에서 24시간 건조시킨 후 다음 식에 따라 추출수율을 계산하였다.

$$\text{알긴산수율(\%)} = \frac{\text{건조중량(g)}}{\text{시료량(g)}} \times 100$$

추출된 알긴산의 색도 측정

다시마, 미역, 톳을 HWEM, WSA, ASA, AASA의 네가지 방법으로 추출한 후 건조시킨 알긴산을 blender(Waring, USA)로 분쇄하여 30 mesh 체에 통과시킨 시료를 색차계(CR-300 Minolta Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 사용하여 Hunter L(명도), a(적색도), b(황색도) 값을 측정하였다. 4가지 방법으로 얻어진 알긴산 추출물을 3회 반복 측정하여 평균값을 구하였다. 색도 측정에 사용된 표준백색판(standard plate)의 색좌표값이 L = 97.06, a = +0.04, b = 1.84 이었으며 전체적인 색차를 나타내는 ΔE(Total Color Difference)값을 아래식으로 계산하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(L - L')^2 + (a - a')^2 + (b - b')^2}$$

알칼리 농도의 변화에 따른 알긴산 추출 수율

알긴산 추출방법 중에서 수율이 가장 높은 AASA 방법을 선택해서 7 mesh 체를 통과한 건조 다시마로 알긴산을 추출하였다. 이 방법은 처음에 0.2 N H₂SO₄ 용액으로 10시간 추출을 하고 남은 잔사에 Na₂CO₃의 농도를 1, 2, 3, 5%로 각각 다르게 조절하고 10시간 추출하였을 때 얻어진 알긴산의 수율을 비교하였다.

산 농도의 변화에 따른 알긴산 추출 수율

AASA 방법에서 H₂SO₄ 용액의 농도를 0.1, 0.2, 0.4 N로 조정하고 Na₂CO₃는 1%를 기준으로 하여 다시마로부터 얻어진 알긴산의 수율을 비교하였다.

톳에서 추출한 알긴산의 분자량 측정

건조된 톳을 HWEM, WSA, ASA, AASA의 4가지 추출방법으로 각각 얻어진 alginate를

1%용액으로 만들어서 분자량을 측정하였다. 알긴산 분자량 측정을 위해 사용된 기기는 HPLC(Waters, U.S.A)를 이용하였으며 용매는 0.1 M Na₂CO₃를 사용하였다. 분자량 계산을 위한 표준물질로 polyethylene glycol(PG)과 polyethylene oxide(PEO)를 사용하였으며 이들 각각의 MW는 PG8,000, PG4,000, PG20,000, PEO 400,000, PEO600,000 Da이었다.

알긴산의 점도 측정

본 실험을 위하여 그 동안 연구가 많이 되지 않은 톳을 시료로 하여 WSA과 ASA추출방법으로 알긴산을 얻은 후 농도를 달리하여 점도측정을 하였다. 점도는 cone and plate type 회전점도계인 Brookfield viscometer (DV-II+, Brookfield Eng. Inc., U.S.A)를 사용하여 3회 반복 측정하였다. 점도 측정용 컵에 시료액을 8 mL를 넣고 No. 20 spindle을 사용하여 점도를 측정하였다. 점도 측정시 컵의 온도는 24℃를 유지하였다. 알긴산 용액의 겔보기 점도(K)는 다음의 Power law model식을 사용하여 전단속도($\dot{\gamma}$)와 측정된 전단응력(τ)의 대수관계로부터 절편에서의 값으로부터 구하였다.

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (n = \text{flow behavior index})$$

결과 및 고찰

알긴산 추출물의 수율

서로 다른 추출방법으로 다시마, 미역, 톳의 3가지 시료를 가지고 알긴산을 추출하여 수율을 알아본 결과는 Table 1에 나타내었다. HWEM 추출방법에 의한 것은 10.2~18.6%, WSA 추출방법으로는 4.7~6%의 알긴산을 얻었고, ASA 추출방법에 의해서는 22.5~38.4%, AASA 추출방법으로 얻은 알긴산은 26.5~39.6%의 함량을 나타내었다. 알긴산의 추출 수율을 서로 비교해보면 AASA, ASA, HWEM, WSA 추출법의 순으로 높게 나타났다. 미역이 ASA와 AASA 추출방법에서 알긴산함량이 각각 38.4% 및 39.6%로 가장 높게 나타났다. AASA 추출방법에서 다시마는 33.1%의 알긴산 함량을 보인 반면 톳은 26.5%의 함량을 나타내었으나 ASA 추출방법 있어서는 두 시료의 알긴산 함량은 약 22.7%와 22.5%로 차이를 보이지 않았다. 이같이 AASA 추출방법이 높은 알긴산 함량을 얻을 수 있었던 것은 추출할 때 산과 알칼리로 조제를 처리함으로써 이들이 원활하게 침투하여 알긴산 분자내 carboxyl기가 유리되고 Na이온이 결합되어 망상구조인 알긴산을 형성하게 됨으로 물에 잘 용해되어 추출이 더욱 원활해지며 H이온과 치환시킴으로 불용성 알긴산 겔을 형성시켜 석출시키게 된 것으로 사료된다.

Table 1. The yields of alginate manufactured by different extraction methods from three seaweeds

(Unit : %)

Seaweed	HWEM	WSA	ASA	AASA
<i>Laminaria religiosa</i>	13.7±0.03	6.0±0.09	22.7±0.02	33.1±0.11
<i>Undaria pinnatifida</i>	10.2±0.11	4.8±0.08	38.4±0.04	39.6±0.10
<i>Hizikia fusiforme</i>	18.6±0.01	4.7±0.05	22.5±0.03	26.5±0.05

HWEM : Hot-water extractable material.

WSA : Water soluble alginate.

ASA : Alkali soluble alginate.

AASA : Acid-alkali soluble alginate.

추출시료 색도측정

다시마, 미역, 톳을 가지고 서로 다른 추출법을 이용해서 알긴산을 추출한 후 30 mesh 체를 통과하여 얻어진 알긴산 색도는 Table 2와 같다. 다시마를 WSA 추출방법을 이용해서 제조한 알긴산의 ΔE값이 20.63으로 가장 밝게 나왔으며 반면에 톳을 이용해서 ASA 추출방법으로 얻은 알긴산의 ΔE값이 75.31로 가장 어두운 색을 나타냈다. 4가지 추출방법에서 WSA 추출방법을 제외하고 톳을 이용해서 얻은 알긴산이 모두 어두운 갈색을 띠었다. AASA 추출방법에 따라 얻은 알긴산의 색도는 다시마가 가장 밝은 색도를 나타내었으며 다음으로 미역, 톳 알긴산의 순서이었고, 모든 시료에서 ASA 추출방법에서 얻은 알긴산은 AASA방법에서 얻은 것 보다 전반적으로 어두운 갈색을 나타내었다.

알긴산의 추출법의 조건 변화

1) Alkali 농도 변화에 따른 수율 변화

다시마를 시료로 산·알칼리(AASA) 방법에서 Na₂CO₃를 1, 2, 3, 5%로 농도를 변화시켜서 알긴산을 추출한 결과는 Figure 1과 같다. 1% Na₂CO₃에서의 수율은 33.6%, 2% Na₂CO₃는 36.2%, 3% Na₂CO₃는 37.1%, 5% Na₂CO₃는 34.8%의 수율을 얻을 수 있었다. Na₂CO₃ 농도가 높아질수록 알긴산의 수율도 증가되었는데 Na₂CO₃의 5% 농도에서는 다시 알긴산의 수율이 감소하는 경향을 보였다. 이는 Na₂CO₃의 농도가 높아짐에 따라 추출 용액의 pH가 높아지면서 추출에 영향을 미치기 때문인 것으로 여겨진다.

Table 2. The color of alginate manufactured by various extraction methods

Extraction method	Seaweed	Color parameters			ΔE
		L (lightness)	a (redness)	b (yellowness)	
HWEM	LR	59.75±0.11	6.50±0.02	28.78±0.02	46.47
	UP	61.43±0.04	1.22±0.01	14.20±0.02	37.73
	HF	34.54±0.03	6.52±0.01	15.12±0.06	64.24
WSA	LR	78.50±0.04	0.18±0.00	10.85±0.02	20.63
	UP	59.48±0.03	0.50±0.05	13.00±0.06	39.21
	HF	66.35±0.46	1.66±0.06	15.76±0.06	33.76
ASA	LR	56.50±0.22	2.74±0.03	20.08±0.24	44.55
	UP	42.27±0.25	1.38±0.07	16.81±0.14	56.81
	HF	23.00±0.19	8.09±0.23	12.89±0.55	75.31
AASA	LR	79.64±0.07	0.73±0.02	17.80±0.14	23.64
	UP	62.77±0.03	0.13±0.08	19.98±0.22	38.79
	HF	46.59±0.14	7.90±0.03	22.46±0.14	55.08

LR : *Laminaria religiosa*, UP : *Undaria pinnatifida*, HF : *Hizikia fusiforme*.

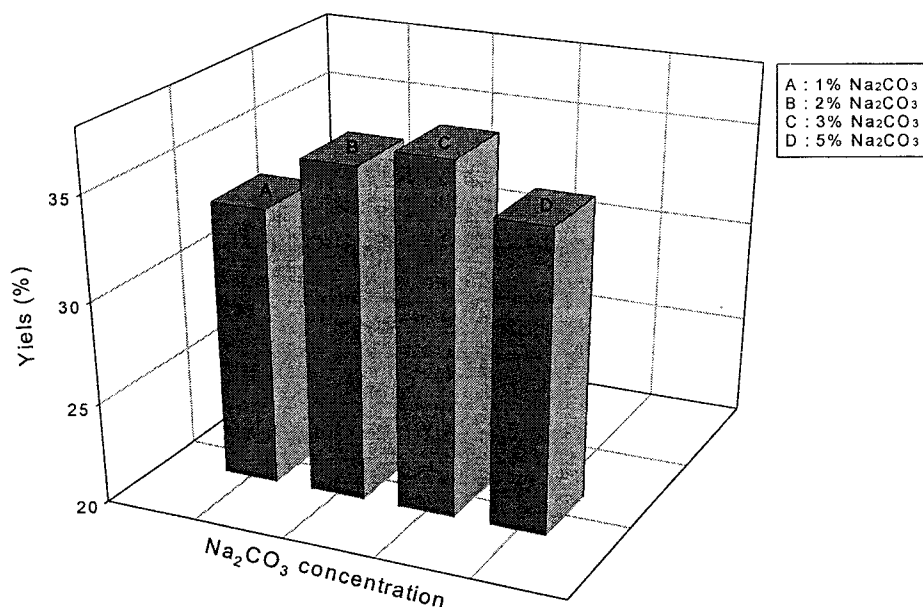


Figure 1. Effect of Na₂CO₃ concentration on the extraction of alginate by AASA method from *Laminaria religiosa*.

Haug등(10)은 pectin이 알칼리성 용액중에서 β -elimination reaction에 의해 해리되어 불포화 uronic acid 유도체로 분해되는 것처럼 알긴산도 pH 10 이상일 때 분자의 해리가 일어나 용액의 점도가 낮아진다고 하였다. 그러므로 알긴산 추출 과정 중 Na_2CO_3 의 농도가 높아짐에 따라 pH가 함께 높아져 일부 알긴산이 분해되어 석출과정에서 침전이 어려워지기 때문에 수율이 낮은 것으로 생각되었다.

2) Acid 농도 변화에 따른 수율변화

다시마를 시료로 AASA 추출방법에서 H_2SO_4 의 농도를 0.1, 0.2, 0.4 N로 변화시켜서 Figure 2와 같은 결과를 얻을 수 있었다. H_2SO_4 의 농도를 0.1 N로 사용했을 때 32.2%의 알긴산을 얻었으며 0.2 N H_2SO_4 에서는 32.6%, 0.4 N H_2SO_4 에서는 34.9%의 알긴산 추출 수율을 나타냈다. H_2SO_4 의 농도가 높아질수록 알긴산의 수율이 증가하는 경향을 나타내는데 이는 조체에 물보다 농도가 높은 H_2SO_4 가 침투해서 알긴산 추출이 용이해지도록 조직이 팽윤되어 나중에 알칼리와 반응하는 곳이 더 많이 노출될 수 있었기 때문에 알긴산 수율이 증대된 것으로 생각되었다.

알긴산 분자량 측정

알긴산의 분자량을 측정하기 위해서 polyethylene glycol(PG)과 polyethylene oxide(PEO)를 이용해서 표준 곡선을 만든 후 건조 톱을 이용해서 추출한 알긴산의 분자량을 측정하였다(Table 3). 추출된 알긴산의 분자량은 $3 \times 10^4 \sim 1.2 \times 10^5$ Da의 분포를 나타내었는데 ASA 추출방법에 의한 알긴산의 분자량이 가장 높았으며 다음이 AASA에 의해 추출된 알긴산으로 9.0×10^4 Da이었다. 이등(13)의 결과에 따르면, 12월에서 4월까지의 채취한 톱에서의 분자량은 3.2×10^6 Da에서 3.4×10^6 Da 정도의 분자량을 보였는데 이 같은 차이는 조체의 생육기간 및 환경조건에 의한 영향과 추출방법등이 분자량의 크기에 영향을 주었을 것으로 여겨진다.

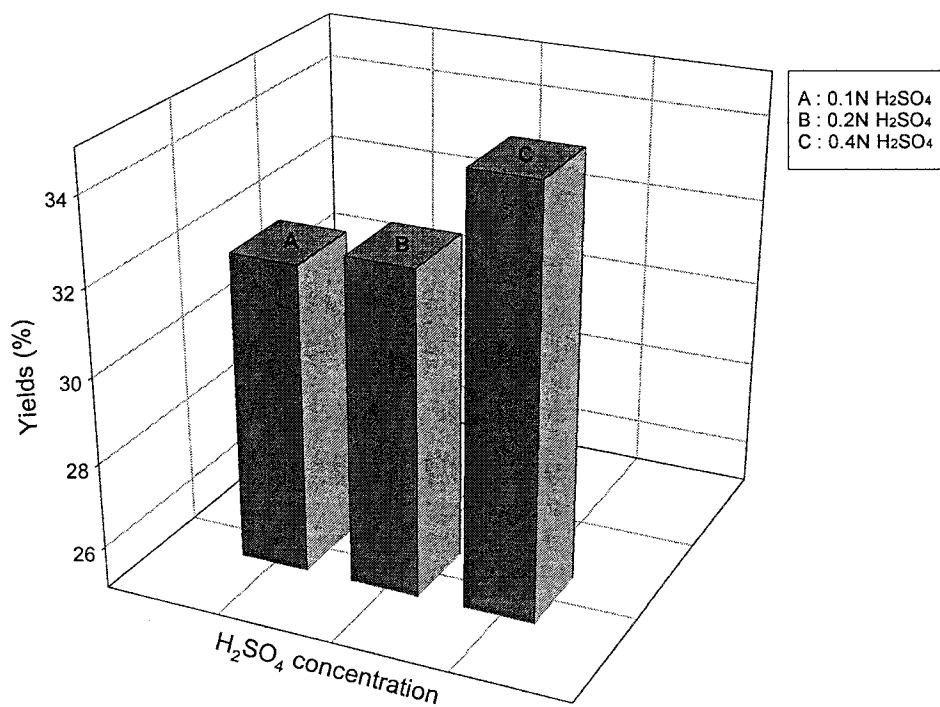


Figure 2. Effect of H₂SO₄ concentration on the extraction of alginate by AASA method from *Laminaria religiosa*.

Table 3. Molecular weight of *Hizikia fusiforme* alginates manufactured by different extract methods

Extract method	Molecular weight (Da)
HWEM	3.3×10^4
WSA	7.2×10^4
ASA	1.2×10^5
AASA	9.0×10^4

알긴산의 농도별 점도 변화

툇으로부터 추출한 수용성 알긴산과 알칼리 가용성 알긴산의 유동 특성을 조사하기 위해 전단 속도에 따른 전단응력의 변화를 측정된 유동 곡선은 Figure 3 및 4에 나타내었다. Figures에서 보여주는 바와 같이 알긴산 용액은 모두 의가소성의 특성을 나타내었다. 수용성 알긴산 추출법에서 얻은 3% 알긴산 용액의 경우 10.7 Pa, 5% 알긴산 용액의 경우 43.7 Pa, 7% 알긴산 용액의 경우 105.1 Pa를 나타낸 반면 알칼리 가용성 알긴산 추출법에서 얻은 1% 알긴산 용액의 경우는 전단속도 93 s^{-1} 에서 3% 알긴산 용액은 92.07 Pa, 5% 알긴산 용액은 151.1 Pa를 나타냈으며 7% 농도에서는 강한 점도를 나타내어 전단속도 65.1 s^{-1} 이상에서는 점도 측정이 불가능하였다. WSA와 ASA 추출방법으로 얻은 알긴산은 농도가 높을수록 점도가 증가하는데, WSA보다 ASA의 점도가 훨씬 높게 나타났으며 특히 WAS 7%농도가 ASA 3% 농도와 유사한 값을 보여 주었다. 상업용 sodium alginate(Sigma-aldrich, USA)와 건조 툇으로부터 추출된 2% 수용성 알긴산과 알칼리 가용성 알긴산의 점도를 비교한 것은 Figure 5과 같다. 전단속도 93 s^{-1} 에서 수용성 알긴산의 전단력은 3.72 Pa를 나타냈고 알칼리 가용성 알긴산에서는 14.9 Pa의 결과 값을 얻을 수 있었다. 그리고 상업용 알긴산의 경우 전단속도 93 s^{-1} 에서 143.6 Pa로 툇으로부터 추출한 알긴산의 점도가 시판중인 알긴산의 점도 보다 매우 낮은 값을 보여주었으며, 점도에 있어서는 2% 상업용 알긴산과 툇에서 추출한 5% ASA와 유사한 값을 나타내었다. Power Law model에 의해 결정된 농도별 알긴산 용액의 점조도 지수(K)와 유동거동지수(n)는 Table 4와 같다. 툇으로부터 추출방법에 따른 알긴산 용액의 점조도 지수를 살펴보면 ASA가 WSA보다 높은 값을 보였고, ASA의 유동지수는 $n < 1$ 의 값을 보임으로서 pseudo plasticity 특성을 나타내었으나, WSA는 1%를 제외한 2%와 5%에서는 Newtonian의 성질을 나타내었다.

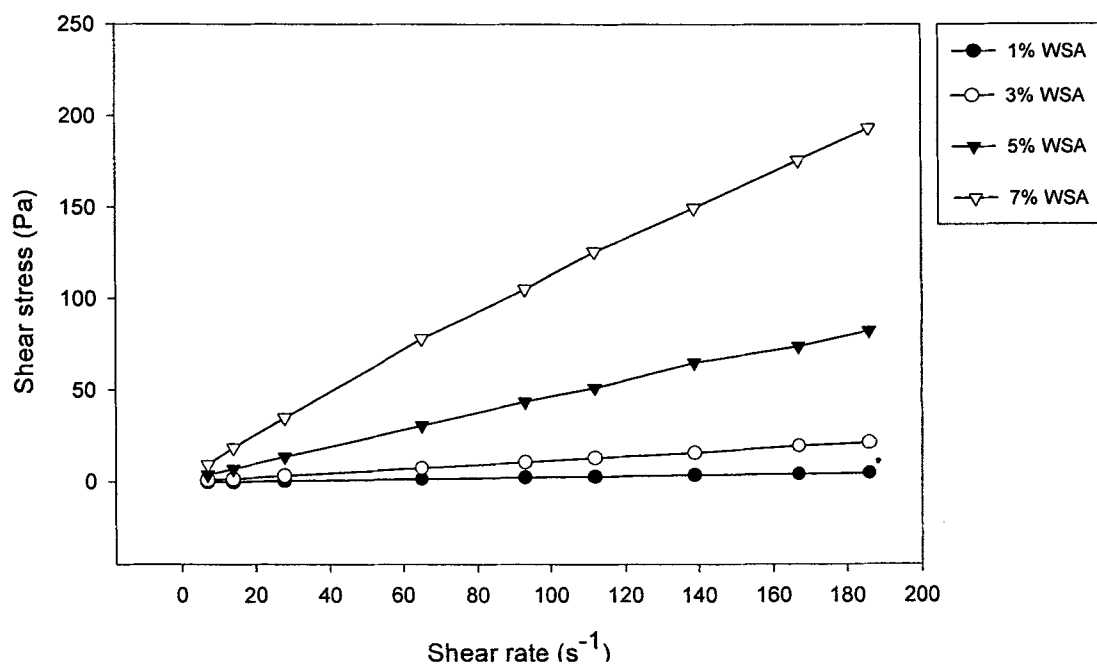


Figure 3. Shear stress as a function of shear rate for WSA solution from *Hizikia fusiforme*.

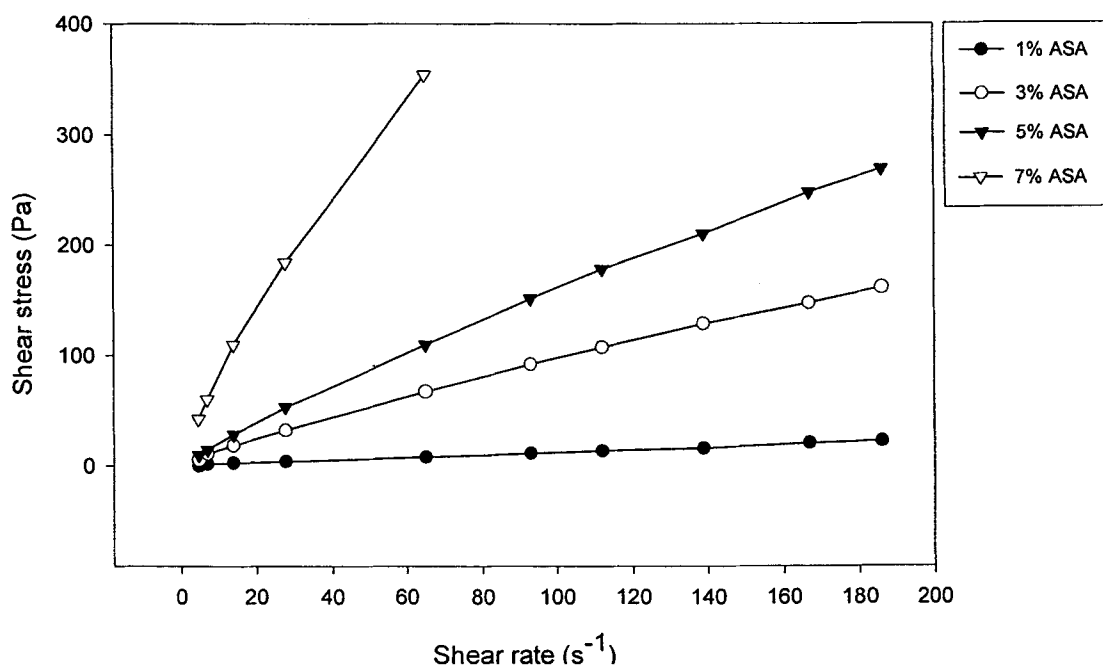


Figure 4. Shear stress as a function of shear rate for ASA solution from *Hizikia fusiforme*.

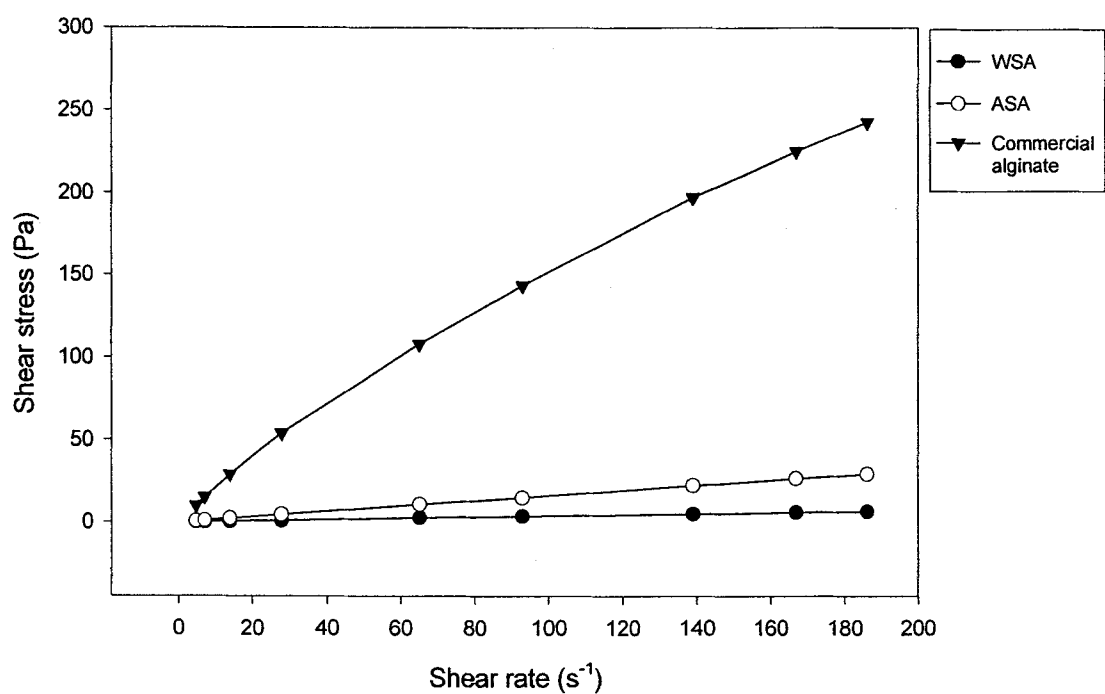


Figure 5. Shear stress as a function of shear rate for 2% alginate solution from *Hizikia fusiforme* and commercial product.

Table 4. Flow behavior parameters of WSA and ASA from *Hizikia fusiforme*

Alginate concentration	Consistency index (Pa · s ⁿ)	Flow behavior index (n)	R ²
1% ASA	0.58	0.82	0.99
3% ASA	1.25	0.88	0.99
5% ASA	1.50	0.90	0.99
7% ASA	3.01	0.80	0.99
1% WSA	0.13	1.22	0.99
3% WSA	0.38	1.01	0.99
5% WSA	0.73	0.99	0.99
7% WSA	1.20	0.93	0.99

요 약

HWEM(Hot-water extractable material), WSA(Water soluble alginate), ASA(Alkali soluble alginate), AASA(Acid alkali soluble alginate)의 네 가지 알긴산 추출방법을 이용하여 다시마(*Laminaria religiosa*), 미역(*Undaria pinnatifida*), 툃(*Hizikia fusiforme*)의 3가지 시료를 가지고 알긴산을 추출하여 수율을 알아본 결과 사용된 시료 중에서 AASA 추출방법에 의한 미역에서의 알긴산 함량이 39.6%로 가장 우수하게 나타났으며 HWEM은 10.2~18.6% 정도의 수율로 AASA방법으로 얻은 수율 보다 절반밖에 미치지 못하였다. 제조된 알긴산 분말의 색도는 다시마로부터 WSA추출법을 이용해서 제조한 알긴산의 ΔE 값이 20.63으로 가장 밝게 나왔으며 추출에 사용된 모든 시료들에 있어서 WSA 추출방법에 의한 것이 밝은 색도를 가지며 ASA 추출방법을 이용해서 얻은 알긴산의 색도는 ΔE 값이 75.31로 다른 것에 비해 어두운 색의 알긴산이 제조되었다. AASA 추출방법에서 3% Na_2CO_3 농도에서 37.1%로 높은 수율을 얻을 수 있었으며, H_2SO_4 의 농도를 0.1, 0.2, 0.4 N로 변화시켜서 추출한 결과는 0.4 N H_2SO_4 에서 34.9%의 높은 수율을 나타냈다. 툃에서 추출한 알긴산의 점도는 상업용에 비해 훨씬 낮은 점도를 나타내었으며 ASA추출방법에 의해 얻어진 알긴산의 점도가 WSA에 의한 것보다 높은 점성을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Cho DM, Kim DS, Lee DS, Kim HR, Pyeun JH. 1995. Trace components and functional saccharides in marine algae. 1. Changes in proximate composition and trace elements according to the harvest season and places. *J Korean Fish Soc* 28: 49-59.
2. Nishide E, Kinoshita Y, Anzai H, Uchida N. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1619-1622.
3. Nishide E, Anzai H, Uchida N. 1987. A comparative investigation on the water-soluble and the alkali-soluble alginates from various Japanese brown algae. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 1215-1219.
4. Fujihara M, Nagumo T. 1989. Determination of the molecular weight of alginates by agarose gel filtration. *J Chromatogr* 465: 386-389.
5. Noda K, Takada K. 1983. Mannuronic to guluronic acid ratios of alginic acids

- prepared from various brown seaweeds. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 49: 1591-1593.
6. Cho SY, Kang HJ, Joo DS, Lee JS, Kim SM. 1999. A comparative study on physical properties and gel formation abilities of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate extracted from *Laminaria japonica* in East Sea, Korea. *J Korean Fish Soc* 32: 774-778.
 7. Park YH. 1969. Seasonal variation in the chemical composition of brown algae with special reference to alginic acid. *J Korean Fish Soc* 2: 71-82.
 8. Kim CY, Park YH. 1975. Alginic acid contents in brown algae. *Bull Natl Fish Univ Busan* 15: 27-30.
 10. Haug A, Smidsrød O. 1962. Determination of intrinsic viscosity of alginates. *Acta Chem Scand* 16: 1569-1578.
 11. Nishide E, Kinoshita Y, Anzai H, Uchida N. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1619-1622.
 12. Haug A, Larsen B, Smidsrød O. 1974. Uronic acid sequence in alginic acid from different sources. *Carbohydr Res* 32: 217-225.
 13. Lee DS, Kim HR, Cho DM, Nam TJ, Pyeun JH. 1998. Uronate composition of alginates from the edible brown algae. *J Korean Fish Soc* 31: 1-7.

제 2 절 알긴산 분해 세균의 분리와 *Vibrio alginolyticus*에 의한 Alginate lyase의 정제 및 특성

김 정 목 (목포대학교 식품공학과)

1. 알긴산 분해 미생물 탐색

(1) 알긴산 분해균주 분리

알긴산 분해 세균을 찾기 위해 우리나라 해수 (동·남·서해안) 에서 66종의 미생물과 미역 다시마 퇴적장에서 17종의 균을 분리하였다. 이를 위해서 상층배지와 하층배지로 조성된 알긴산분해 세균분리배지 Table 1을 이용하여 35℃ 항온기에서 2-3일간 배양 후 25℃에서 4-5일간 배양한 후 형태와 색깔, 크기, 그램 염색을 통하여 균들을 분리하였다.

(2) 알긴산 분해능 측정

1) 환원당 측정

알긴산 분해 세균 분리배지에서 순수분리 된 균의 colony를 취하여 10 mL의 Peptone 배지에 옮겨서 30℃ shaking water bath에서 60시간 배양하였다. 그런 다음 10 mL 알긴산 분해능 측정 배지에 0.1 mL균을 접종한 후 30℃ 항온수조에서 6일간 정치배양 시킨 후 Somogyi-Nelson법에 따라 분광광도계 (UV/V spectrophotometer, Model Spectronic Unicam, USA)를 이용하여 520 nm에서 환원당을 측정해서 알긴산 분해능을 측정하였다. 환원당 표준용액으로는 maltose를 이용하였다.

Table 1. Media for the isolation of alginate degradation bacteria

Isolation medium			
Lower medium		Upper medium	
NaCl	3.0%	Sodium alginate	1.0%
KH ₂ PO ₄	0.1%	Bacto-agar	2.0%
FeSO ₄ · 6H ₂ O	0.001%		
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.05%		
KCl	0.05%		
Bacto-agar	2.0%		
Liquid medium			
Peptone			5%
Sodium alginate			0.5%
NaCl			3%
Reducing sugar measurement medium			
NaCl			3%
KH ₂ PO ₄			0.1%
FeSO ₄			0.001%
MgSO ₄			0.05%
KCl			0.05%
Sodium alginate			1%

2) *Vibrio alginolyticus* AL-K18의 알긴산 분해능 측정

Bio-Log system과 API test를 통해서 동정된 *Vibrio alginolyticus* AL-K18를 pure culture하여 순수분리 된 colony를 peptone, alginate, NaCl이 함유된 액체배지에 균주를 접종하여 30°C shaking water bath에서 60시간 배양하였다. 이 배양액을 0.1 mL씩 환원당 측정배지와 1% alginate, 2% alginate, 3% alginate 10 mL에 각각 접종한 것과 접종하지 않은 것을 blank로 잡고 30°C 항온수조에서 정치배양하면서 0일째부터 시작하여 매일 회전 점도계 Brookfield viscometer (DV-II+, Brookfield Eng. Inc., U.S.A)를 이용해서 100 rpm에서 점도를 측정하고 Somogyi-Nelson법에 따라 520 nm에서 흡광도를 측정하여 환원당을 정량하였다. 점도 및 환원당의 각 실험샘플을 triple로 하였다.

(3) 균주 동정

1) Bio-Log system

Bio-Log system을 이용한 균주 분리방법은 Fig. 1과 같은 방식에 의해 이루어졌다. 우선적으로 순수 분리한 균을 그램 염색법을 사용하였고 또한 Oxidase test를 실시하여 결과가 positive이면 GN-NENT이고 negative이면 GN-ENT 방식으로 하였다.

GN-NENT일 경우 BUG+B 배지에 균을 접종하여 30°C에서 2차 증균 배양하였다. GN/GP-IF (Inoculating Fluid) 용액에 Sodium Thioglycolate 3방울을 가한 다음 탁도 (Transmetence)를 52%로 조정한 후 미리 30°C에서 예열해 둔 microplate well (GN2)에 150 µL씩 가하여 30°C에서 배양하였다. 4시간 후 microStation Reader (BIO-LOG)를 이용하여 microplate를 읽고 24시간 후에 한 번 더 읽어 동일 여부를 확인 한 후 최종적으로 동정된 균주명을 결정하였다.

GN-ENT일 경우 BUG+B배지에 균을 접종하여 37°C에서 2차 증균 배양하였고 GN/GP-IF (Inoculating Fluid) 용액에 상기와 마찬가지로 Sodium Thioglycolate 3방울을 가한 다음 탁도 (Transmittance)를 63%로 조정하였다. 미리 37°C에서 예열해 둔 microplate well (GN2)에 150 µL씩 가하여 37°C에서 배양한 후 GN-NENT 일 때와 같은 방식으로 microplate를 읽고 균주를 확인하였다.

2) API test

순수 분리한 균에서 colony를 떼어 NaCl 0.85% medium 5 mL 또는 Suspension medium 5 mL 접종하여 잘 섞은 다음 API 20E Kit (BioMerieux, Marcy I'Etoile, France)에 균을 Strip의 tube속에 정해진 방식에 따라 넣은 후 37°C incubator에서 24시간 배양하였다. Strip의 well에 나타난 색을 확인한 다음 보조시약으로 다시 색을 측정하여 결과를 API 프로그램을 통하여 일치되는 균주를 동정하였다.

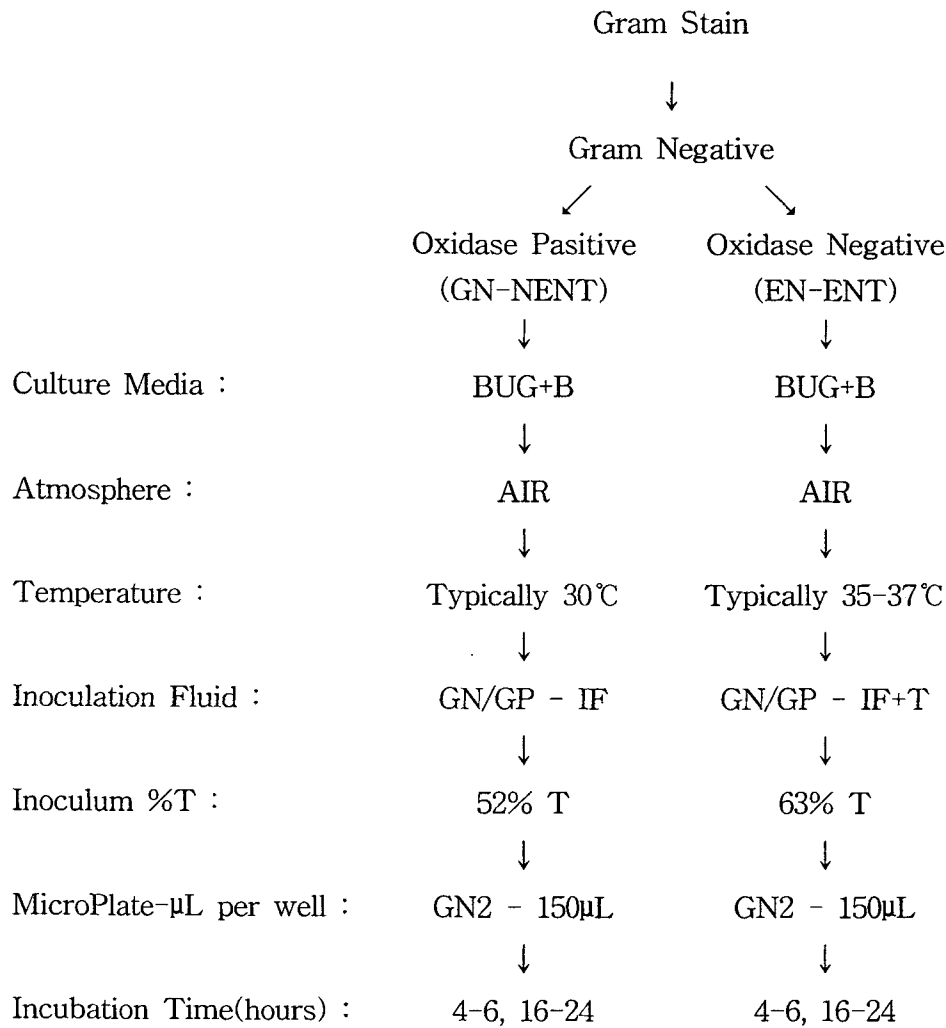


Fig. 1. Procedure for bacteria identification by Bio-Log System.

(4) 분리균주의 최적 배양 조건

분리한 균주의 최적 성장 조건을 확인하기 위해서 peptone 5%, sodium alginate 0.5%, NaCl 3%인 기본 액체배지에 이들 각 배지 조성의 비율 및 pH, 온도, 시간에 따른 최적의 배양조건을 확인하고자 하였다.

1) Alginate의 농도

Alginate 농도를 0.7, 1, 1.5, 2, 2.5, 3%로 달리 첨가하여 28±2°C에서 48시간 배양한 후 균체 성장 및 환원당 생성을 측정하여 농도를 결정하였다.

2) Peptone 농도

Peptone을 0.5, 0.7, 1, 1.5, 2, 2.5, 3% 농도로 달리 첨가하여 위와 동일 실험을 행하고 최적농도를 구명하였다.

3) NaCl의 농도

NaCl 농도는 0.5, 0.7, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5%가 되게 첨가하여 최적농도를 결정하였다.

4) pH, 온도 및 배양시간

pH를 3.5~9.0의 범위에서 최적 pH 조건을 결정하였고, 배양온도는 15, 20, 25, 30, 35℃, 배양시간은 24~84시간으로 배양조건을 달리하면서 얻어진 균체 성장 및 환원당 생성으로부터 최적 온도 및 시간을 결정하였다.

2. 알긴산 분해 효소의 정제 및 특성

(1) 효소 활성 측정

1) 단백질 농도

효소 정제 과정 중의 단백질 획득의 검색은 분광광도계 (UV/V spectrophotometer, Model Spectronic Unicam, USA)로써 280 nm에서 흡광도를 측정하였고, 단백질 농도는 Bradford 방법에 따라 효소액 10 μ l와 증류수 790 μ l에 dye reagent 2 μ l를 넣어 15분 동안 상온에서 반응을 시킨 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 bovine serum albumin (Sigma Co., USA)을 사용하였다.

2) 효소 활성 측정

기질로써 0.4% sodium alginate (50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0, 0.3 M NaCl) 1.5 mL 과 효소액 0.5 mL를 37℃에서 20분간 반응시킨 후 1 mL를 취하여 Somogyi-Nelson법에 의해 흡광도를 측정하여 표준당을 사용하여 작성한 표준 검량선으로부터 환원당을 측정하였다. 효소 1 unit는 1분간에 1 μ mole의 환원당 (maltose로 환산)을 생산하는 효소량으로 정의하였다.

(2) 효소의 분리 및 정제

1) 조효소액의 제조

Table 1의 분리배지에서 배양한 균주를 20 mL 액체배지에 접종하여 25℃에서 2일 배양하였다. 이 배양액을 500 mL 액체배지에 옮겨 25℃에서 2일간 배양하였다. 이 배양액을

원심분리 (12,000×g, 30min)하여 얻어진 상층액을 조효소액으로 하였다. 정제 과정은 Fig. 2에 나타나 있으며 모든 실험은 4℃에서 이루어졌다.

2) Ammonium sulfate fractionation

조효소액을 0-20, 20-40, 40-60, 60-80, 및 80-100% 포화 황산암모늄용액으로 염석을 행하여 활성을 측정하였다. 효소활성이 강하게 나타났던 40-60% 포화 황산암모늄용액으로 염석을 행하여 하룻밤 정치하였다. 이 염석액을 원심분리 (12,000×g, 30min)하여 30 mM Tris-HCl buffer (pH 7.0) 소량으로 용해시키고, 동일 완충액으로 하룻밤 4℃에서 dialysis tube (Pierce Chemical Co., U.S.A : MWCO 7,000)로 투석을 행하여 얻어진 액을 Ultrafiltration (Amicon Inc., USA : MWCO 3,000)으로 농축하였다.

3) Q-Sepharose Anion-Exchange Chromatography

Q-Sepharose anion-exchange resin (Sigma Co., USA)을 충전 시킨 column (1.5×30 cm, Bio-Rad, USA)을 30 mM Tris-HCl (pH 7.0)로 equilibrium시킨 후 조효소액을 충전하였다. Gradient mixer (Pharmacia Biotech, Sweden)를 이용하여 0-1.0 M NaCl로 gradient을 걸어 flow rate 4 mL/min로 용출하여 한 fraction당 3 mL씩 eluent을 받았다.

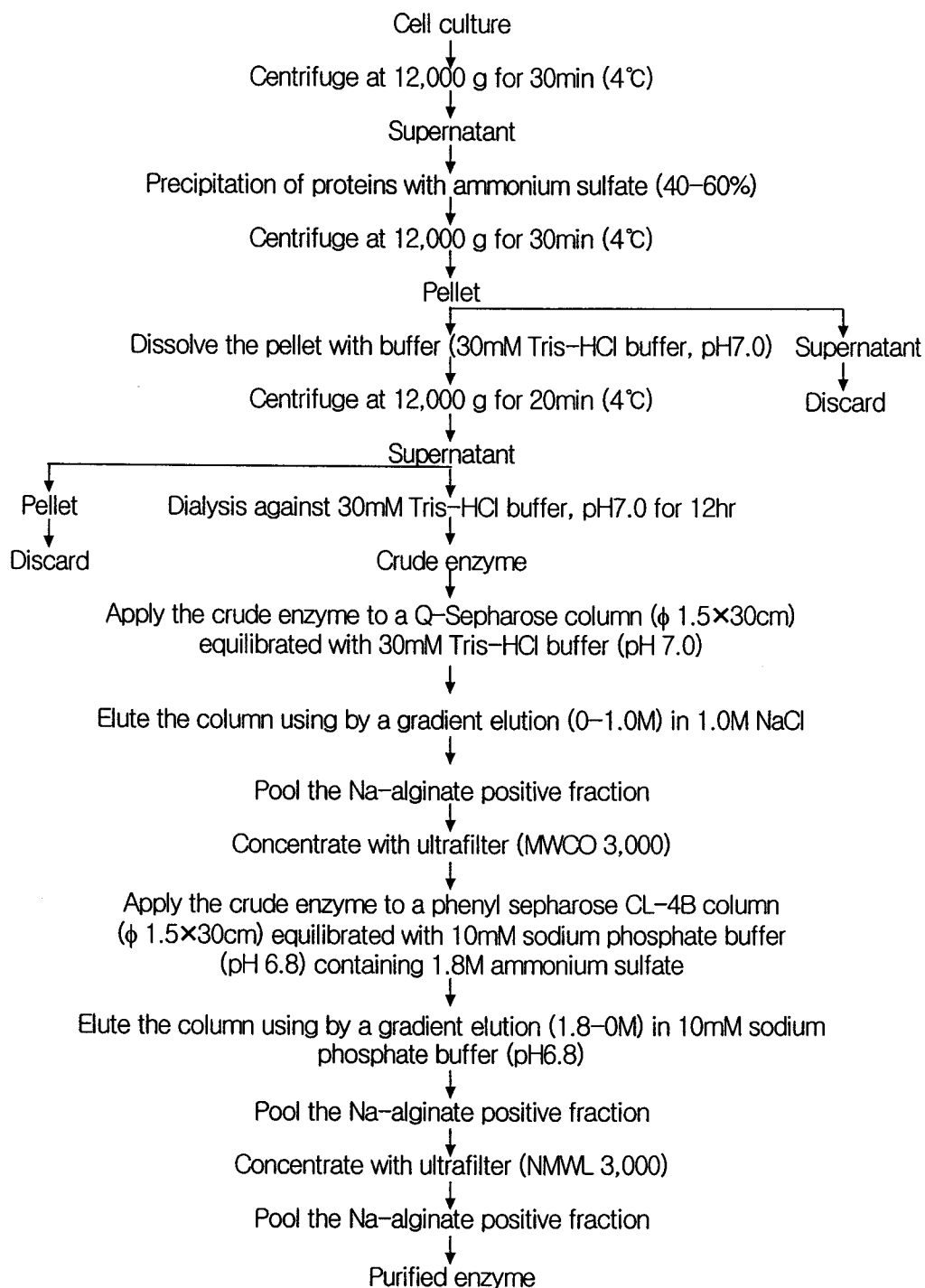


Fig. 2. Procedure for purifying the alginate lyase from *Vibrio alginolyticus* AL-K18.

4) Phenyl Sepharose CL-4B Chromatography

Q-Sepharose anion-exchange chromatography에서 활성을 보이는 fraction을 모아 Ultrafiltration (Amicon Inc., USA : MWCO 3,000)장치를 이용하여 염 제거 및 sample을 농축하였다. Phenyl Sepharose CL-4B resin (Sigma Co., USA)으로 충전된 column (1.5×30 cm, Bio-Rad, USA)을 1.8 M ammonium sulfate가 녹아있는 10 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)로 equilibrium 시킨 후 조효소액을 충전하였다. Flow rate을 4 ml/min로 하여 gradient mixer (Pharmacia Biotech, Sweden)을 이용하여 1.8-0 M sodium phosphate buffer로 gradient을 걸어 한 fraction당 3 mL씩 eluent을 받았다. Fraction 중 기질에 대한 분해 활성이 강한 fraction을 모아 Ultrafiltration (Amicon Inc., USA : 을 정제효소로 사용하였다.

5) Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

SDS-PAGE는 Laemmli의 방법에 따라 12.5% running gel과 12.5% stacking gel을 제조하여 실시하였으며 SDS-PAGE를 실시한 후 silver staining 하였다. 분자량을 측정하기 위하여 phosphorylase b (97 kDa), serum albumin (66 kDa), ovalbumin (45 kDa), carbonic anhydrase (31 kDa), trypsin inhibitor (21 kDa), lysozyme (14 kDa)을 protein standard (Bio-red)로 사용하였다.

(3) 효소의 특성

1) pH 변화에 대한 영향

정제 효소 0.1 mL에 대해 0.4% Na-alginate 2 mL와 각 pH별 완충용액 (pH 4.0-6.0 : 0.1 M sodium acetate-acetate buffer, pH 7.0-9.0 : 0.1 M Tris-HCl buffer, pH 10.0-11.0 : 0.1 M sodium carbonate-sodium hydroxide carbonate) 1 mL를 혼합하여 반응 (37°C, 20 min)시킨 후 환원당을 측정함으로써 alginate lyase의 pH에 따른 변화를 알아보았다.

2) 반응 온도에 따른 영향

정제 효소 0.1 mL와 0.4% Na-alginate 2 mL를 혼합하여 반응 온도를 0°C, 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C로 하여 20분간 반응을 시킨 후 환원당을 측정하여 반응 온도에 따른 영향을 살펴보았다.

3) 온도 변화에 따른 열 안정성

정제 효소 0.1 mL와 0.4% Na-alginate 2 mL를 혼합하여 20°C, 40°C, 60°C, 80°C로 10, 20, 40, 60분간 가온 후 환원당을 측정하여 온도에 대한 안정성을 측정하였다.

4) 다당류에 대한 alginate lyase의 분해활성

Na-alginate와 동일하게 soluble starch, carageenan, carboxy methyl cellulose, pectic acid 및 dextrin을 각각 0.4%가 되게 제조하고, 동일 반응 조건에서 정제 효소 0.1 mL와 각 기질 2 mL를 반응 시켜 생성되는 환원당을 측정하여 반응성을 Na-alginate를 기질로 했을 때와 비교하였다. 공시험은 각 기질 용액에 효소 대신에 물을 0.1 mL 가하여 행하였다.

결 과

1. 알긴산 분해 미생물 탐색

(1) 알긴산 분해균주 분리

Maltose를 이용해서 환원당의 표준곡선을 Figure 3과 같이 만들고 Table 1과 같은 배지 조성을 이용해서 alginate를 분리하는 균을 찾고 총 83 개의 균의 환원당을 조사해서 표준곡선에 의해서 Table 2와 같은 결과 값을 나타내었다.

(2) 알긴산 분해능 측정

환원당이 가장 높아 활성이 강한 것으로 나타난 *Vibrio alginolyticus* AL-K18를 대상으로 NaCl, KH₂PO₄, FeSO₄, MgSO₄, KCl, Sodium alginate를 함유하는 alginate 환원당 측정 배지와 순수한 1%, 2%, 3% alginate 용액에 균을 접종하고 6일간 점도와 환원당을 측정한 결과 점도는 Figure 4와 같은 결과를 나타내었고 환원당은 Fig.5와 같은 결과를 나타내었다. 점도에서는 균을 접종한 실험군이 접종하지 않은 것 보다 빠르게 점도 저하를 나타내었고 배양일수가 지날수록 점도가 감소하는 것을 볼 수 있었다. 반면 환원당 양은 환원당 배지와 1% alginate에서는 6일째까지 계속 증가하는 경향을 보이고 2%와 3% alginate 용액에서는 3일째까지 환원당이 증가하다가 그 이후로는 큰 변화를 보이지 않았다. 3일째 1% alginate를 함유한 환원당 배지에서 환원당량은 0.22 mg/mL를 보였으나 순수한 1% alginate 용액에서는 0.17 mg/mL로 약간 낮게 나타났고, 2%와 3%의 alginate 용액에서는 환원당 값이 0.31과 0.33 mg/mL로 높게 나타났다.

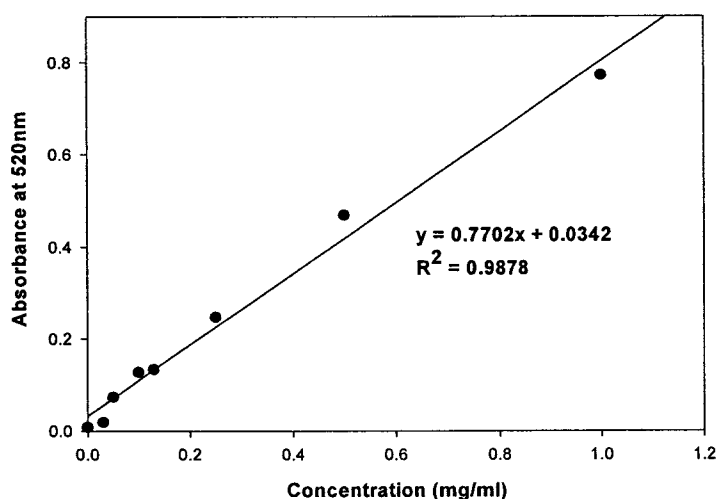


Fig. 3. Standard curve for determination of reducing sugar.

Table 2. The alginate degrading ability of the isolated strains

Strain No.	Reducing sugar (mg/mL)	Strain No.	Reducing sugar (mg/mL)	Strain No.	Reducing sugar (mg/mL)
AL-M1	0.096	AL-K12	ND	AL-K40	ND
AL-M2	0.064	AL-K13	ND	AL-K41	ND
AL-M3	0.078	AL-K14	0.095	AL-K42	0.062
AL-M4	0.098	AL-K15	0.178	AL-K43	ND
AL-M5	ND	AL-K16	0.289	AL-K44	ND
AL-M6	0.088	AL-K17	ND	AL-K45	ND
AL-M7	ND	AL-K18	0.334	AL-K46	ND
AL-M8	0.146	AL-K19	ND	AL-K47	ND
AL-M9	0.047	AL-K20	ND	AL-K48	ND
AL-M10	ND	AL-K21	ND	AL-K49	ND
AL-M11	0.048	AL-K22	ND	AL-K50	ND
AL-M12	0.082	AL-K23	0.089	AL-K51	ND
AL-M13	0.207	AL-K24	0.080	AL-K52	ND
AL-M14	ND	AL-K25	ND	AL-K53	ND
AL-M15	ND	AL-K26	0.075	AL-K54	0.041
AL-M16	ND	AL-K27	0.095	AL-K55	ND
AL-M17	ND	AL-K28	0.079	AL-K56	ND
AL-K1	ND	AL-K29	0.099	AL-K57	ND
AL-K2	ND	AL-K30	ND	AL-K58	0.333
AL-K3	ND	AL-K31	ND	AL-K59	ND
AL-K4	ND	AL-K32	ND	AL-K60	ND
AL-K5	ND	AL-K33	0.092	AL-K61	ND
AL-K6	ND	AL-K34	ND	AL-K62	ND
AL-K7	0.070	AL-K35	0.075	AL-K63	ND
AL-K8	ND	AL-K36	ND	AL-K64	ND
AL-K9	ND	AL-K37	ND	AL-K65	ND
AL-K10	ND	AL-K38	ND	AL-K66	ND
AL-K11	ND	AL-K39	ND		

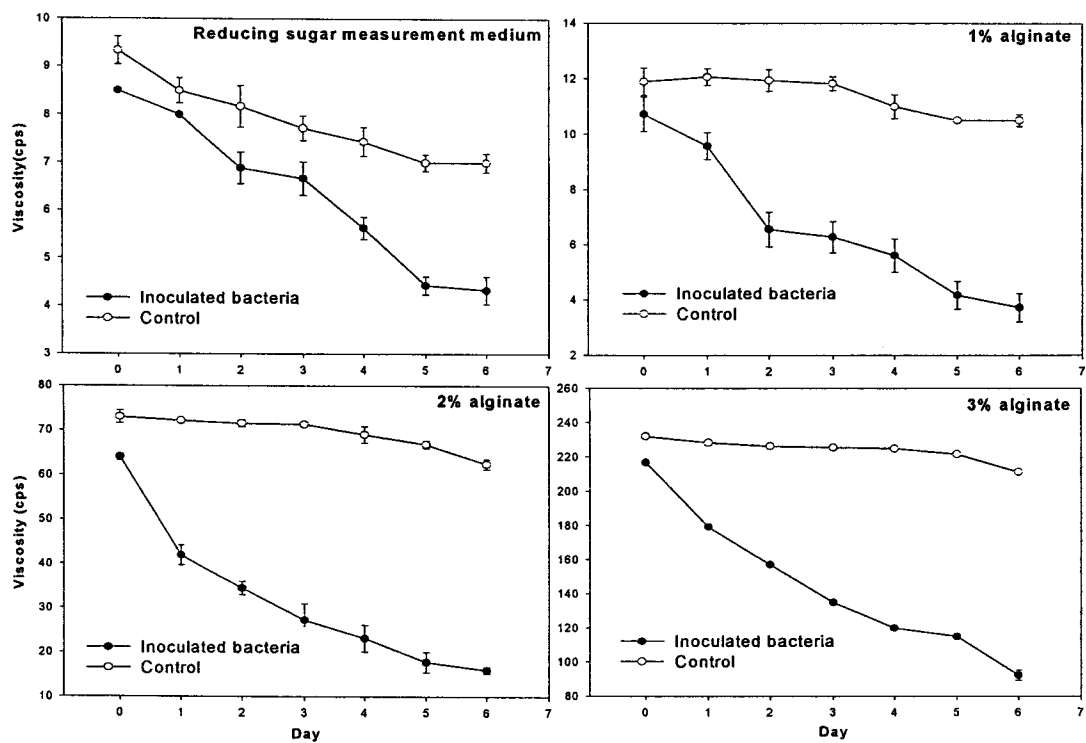


Fig. 4. Changes in the viscosity of alginate medium by *Vibrio alginolyticus* AL-K18.

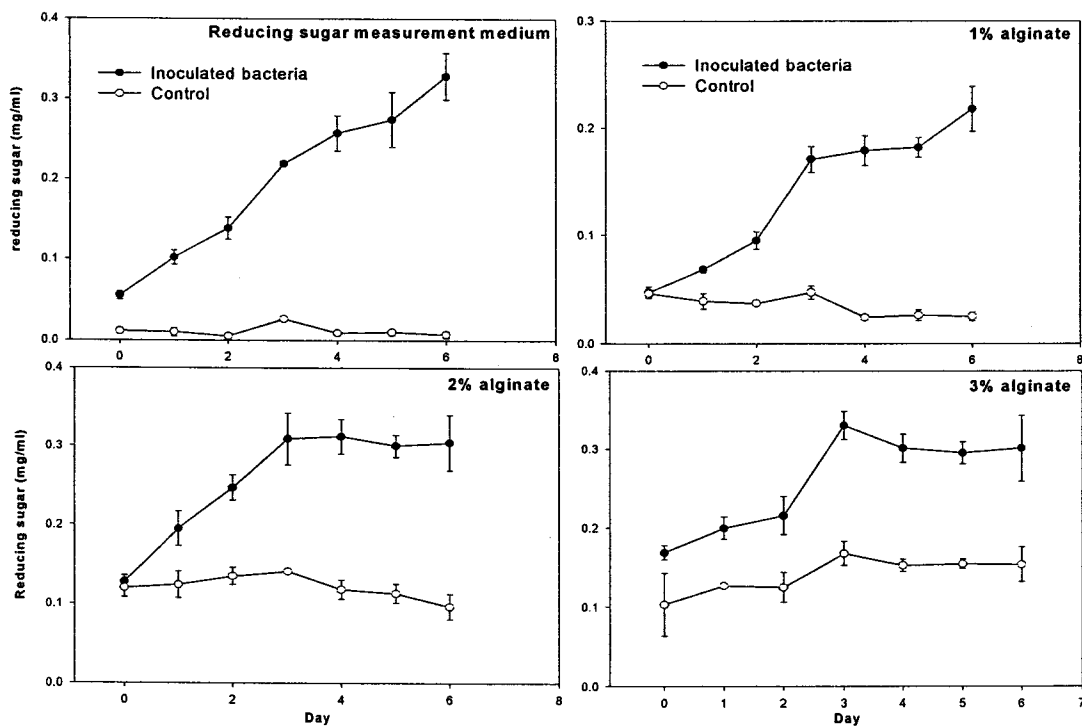


Fig. 5. Changes in the reducing sugar contents by *Vibrio alginolyticus* AL-K18 in alginate medium.

(3) 균주 동정

환원당이 높은 값으로 나타난 미생물을 그림 검색해서 Figure 1에 나타난 동정과정을 거쳐 Bio-Log system을 이용해서 Strain No. AL-K18은 *Vibrio alginolyticus*로 동정되었으며, AL-K16과 AL-K58은 *Enterobacter aerogenes*와 *Klebsiella planticola*로 확인되어졌다. 이 중에서 Table 2에서와 같이 환원당이 0.334 mg/ml로 가장 높아 활성이 강한 것으로 나타난 AL-K18 (*Vibrio alginolyticus*)을 실험 균주로 사용하였다. *Vibrio alginolyticus* AL-K18의 특성은 Table 3과 같다.

(4) 분리균주의 최적 배양 조건

Vibrio alginolyticus AL-K18 균주를 Table 1의 액체배지에 대해 alginate의 농도, peptone 농도, NaCl 농도, pH, 온도 및 배양시간을 달리하여 균체 성장 및 환원당 생성능을 측정된 결과는 Figures 6, 7, 8, 9, 10, 11과 같다.

1) Alginate의 농도

Table 1의 액체배지를 기본배지로 하여 여기에 alginate 농도를 달리하면서 균체 성장이나 환원당을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다.

Alginate 농도가 1.0%에서 최대 균체 성장을 보인 반면 reducing sugar는 2.5%에서 가장 높은 값을 보였다. 주동식⁵⁵⁾에서 보면 균체성장이 높은 alginate 농도가 환원당도 높다고 하였는데 그 결과와는 다르게 나타났다. *Vibrio alginolyticus* AL-K18이 alginate를 분해하기 위해 alginate를 많이

필요로 하는 것을 알 수 있었으나 3.0% 농도에서는 균체 성장도 작고 reducing sugar도 약한 것은 alginate가 농도가 높아짐에 따라 배지의 점도가 높아져 균체의 성장을 저해한 것으로 사료된다.

2) Peptone 농도

Peptone 농도를 달리하면서 균체 성장 및 reducing sugar를 측정된 결과를 Fig. 7에 나타내었다. peptone 농도가 증가할수록 균체 성장은 증가하였으나 reducing sugar는 0.7% 농도에서 높은 값을 나타내었다.

3) NaCl의 농도

Vibrio alginolyticus AL-K18은 해수에서 분리되었기 때문에 NaCl이 균체의 성장과 reducing sugar에 영향을 줄 것으로 판단되어 NaCl 농도를 달리하여 배양배지에 첨가하

고 균체 성장과 reducing sugar를 Fig. 8에 나타내었다. 균체 성장은 NaCl 농도 2.0%까지는 증가하였으나 reducing sugar는 NaCl 농도 1%에서 최대를 나타내었다. 해수에서 분리한 균으로 NaCl을 많이 필요로 할 것이라고 생각했으나 NaCl 농도 3.5%에서는 오히려 균체 성장과 reducing sugar 모두 감소를 보였다.

Table 3. Characteristics of *Vibrio alginolyticus* AL-K18 isolated from sea growing water

Properties					
Gram staining	-	Glycyl-L-Glutamic acid	+	Tween 40	+
Shape	Rod	Phenylethylamine	+	β -Hydroxybutyric acid	+
D-Fructose	+	Hydroxy-L-Proline	+	L-Phenylalanine	+
α -D-Glucose	+	γ -Aminobutyric acid	+	Itaconic acid	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	α -Ketoglutaric acid	+	L-Omithine	+
Sucrose	+	Gentiobiose	+	M-Inositol	+
D-Trehalose	+	Acetic acid	+	L-Leucine	+
Glycogen	+	D,L-Carnitine	+	L-Histidine	+
Maltose	+	D,L, α -Glycerol Phosphate	+	Succinamic acid	+
α -Cyclodextrin	+	Uridine	+	D-Raffinose	+
D,L-Lactic acid	+	Lactulose	+	Turanose	+
D-Glucose-6-Phosphate	+	D-Galactose	+	γ -Hydroxybutyric acid	+
Dextrin	+	D-Melibiose	+	Cis-Aconitic acid	+
α -D-Glucose-1-Phosphate	+	Pyruvic acid Methyl Ester	+	Citric acid	+
D-Gluconic acid	+	N-Acetyl-D-Galactosamine	+	D-Saccharic acid	+
Inosine	+	D-Mannose	+	L-Serine	+
D-Mannitol	+	Xylitol	+	Tween 80	+
Succinic acid	+	D-Arabitol	+	Adonitol	+
L-Asparagine	+	β -Methyl-D-Glucoside	+	I-Erythritol	+
Glycerol	+	Propionic acid	+	D-glucuronic acid	+
Succinic acid Mono-Methyl Ester	+	α -Ketobutyric acid	+	Glucuronamide	+
L-Arabinose	+	α -D-Lactose	+	2-Aminoethanol	+
L-Alanyl-Glycine	+	D-Galacturonic acid	+	Water	-
Glycyl-L-Aspartic acid	+	D-Cellobiose	+	α -Hydroxybutyric acid	-
D- Psicose	+	L-Rhamnose	+	Quinic acid	-
L-Threonine	+	L-alaninamide	+	Urocanic acid	-
Bromosuccinic acid	+	D-Alanine	+	D-Glucosaminic acid	-
L-Alanine	+	Sebacic acid	+	P-Hydroxy-Phenylacetic acid	-
L-Aspartic acid	+	L-Proline	+	L-Fucose	-
Formic acid	+	L-Pyroglytamic acid	+	Malonic acid	-
Thymidine	+	Putrescine	+	D-serine	-
α -Ketovaleric acid	+	D-Galactonic acid	+	2,3-Butanediol	-
L-Glutamic acid	+	D-Sorbitol	+		

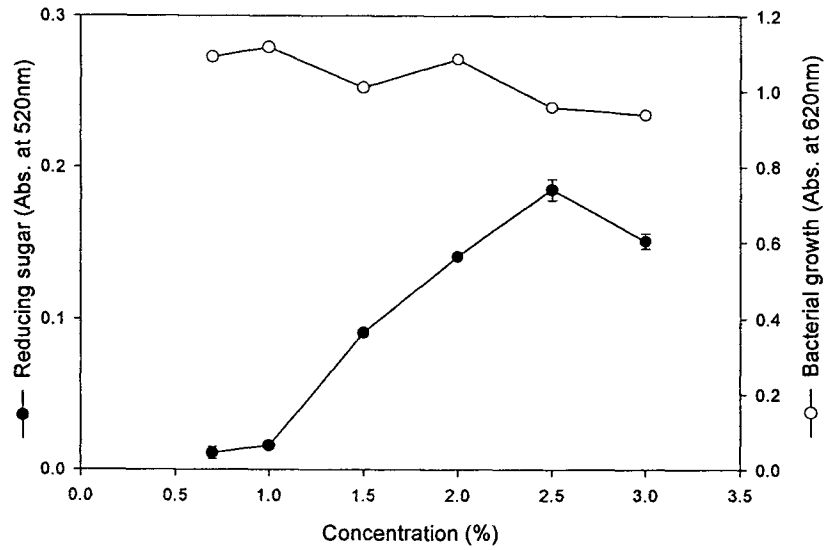


Fig. 6. Effect of sodium alginate concentrations on *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content.

Base medium and growth condition : peptone 0.5%, NaCl 3.0%, pH 7.5, temp. $28\pm 2^{\circ}\text{C}$, time 48hr

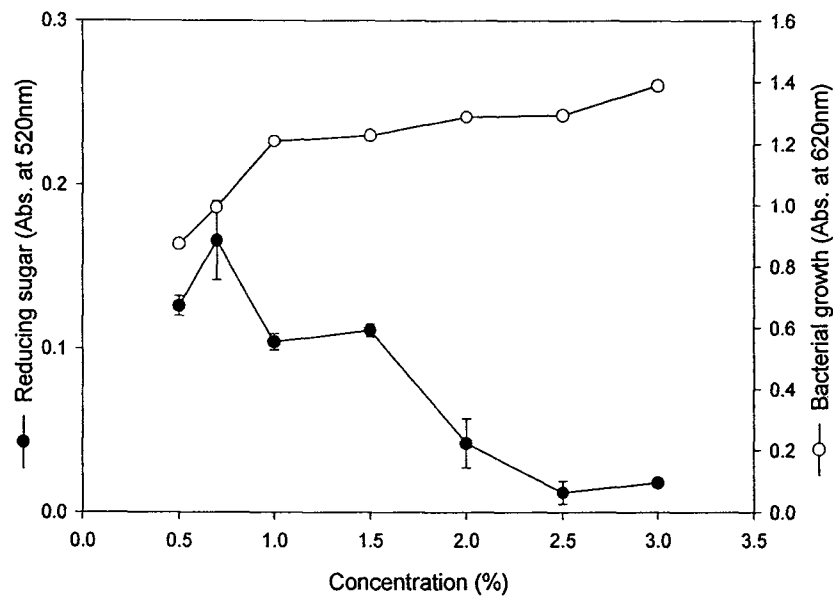


Fig. 7. Effect of peptone concentrations on *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content.

Base medium and growth condition : alginate 2.5%, NaCl 3.0%, pH 7.5, temp. $28\pm 2^{\circ}\text{C}$, time 48hr

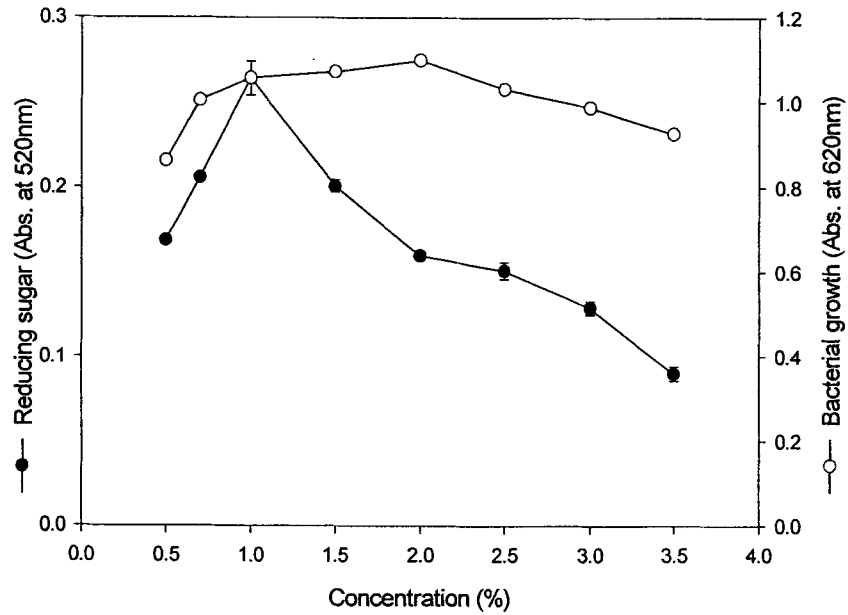


Fig. 8. Effect of NaCl concentrations on *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content.

Base medium and growth condition : alginate 2.5%, peptone 0.7%, pH 7.5, temp. 28± 2°C, time 48 hr

4) pH

pH를 달리하여 *Vibrio alginolyticus* AL-K18의 균체 성장과 reducing sugar를 알아본 결과 Fig. 9와 같다. pH 3.5와 pH 4.0은 균체 성장은 작은 반면에 reducing sugar는 높은 값을 보였다. 이는 산에 의한 가수분해에 의해 높게 나온 것으로 생각된다. pH 4.5에서 균체 성장과 reducing sugar 모두 최대를 보였고 pH가 올라갈수록 균체 성장이나 reducing sugar가 낮아지는 것을 알 수 있었다. pH 4.5에서 reducing sugar가 다른 값들에 비해 0.324로 높게 나오는 것은 alginate가 산에 의해 가수분해 되는 성질을 가지고 있어 이의 작용도 어느 정도 작용했을 것으로 생각되나 균체 성장을 보면 이 pH에서 가장 높은 성장을 보인 것으로 보아 산에 의한 가수분해 때문만은 아닐 것으로 사료된다.

5) 배양온도

배양 온도를 달리하였을 때의 균체 성장과 reducing sugar의 결과는 Fig. 10과 같다. 일반적으로 해양 세균의 경우 20°C 부근에서 잘 성장하는 것으로 알려져 있는데, 본 실험의 *Vibrio alginolyticus* AL-K18은 25°C에서 균체 성장 및 reducing sugar가 가장 높게 나타났

다. 주동식에서는 25~30℃의 범위에서 알긴산 분해효소의 활성이 가장 높았다고 하였고 15℃ 이하와 37℃ 이상의 온도에서는 균체가 잘 성장하지 못 하였다고 하였다.

6) 배양시간

앞에서 구명한 적정 조건에서 배양 시간을 달리하면서 균체의 성장과 reducing sugar를 실험한 결과는 Fig. 11과 같다. 균체 성장은 62시간에 최대 달하였으나 reducing sugar는 48시간에 가장 높은 값을 보였다. 이상의 결과를 요약하면 Table 4와 같이 탄소원으로 alginate 2.5%, 질소원으로 peptone 0.7%, NaCl 농도는 1%, pH는 4.5, 배양 온도 23±2℃, 배양 시간은 48시간이 최적 배양 조건이었다.

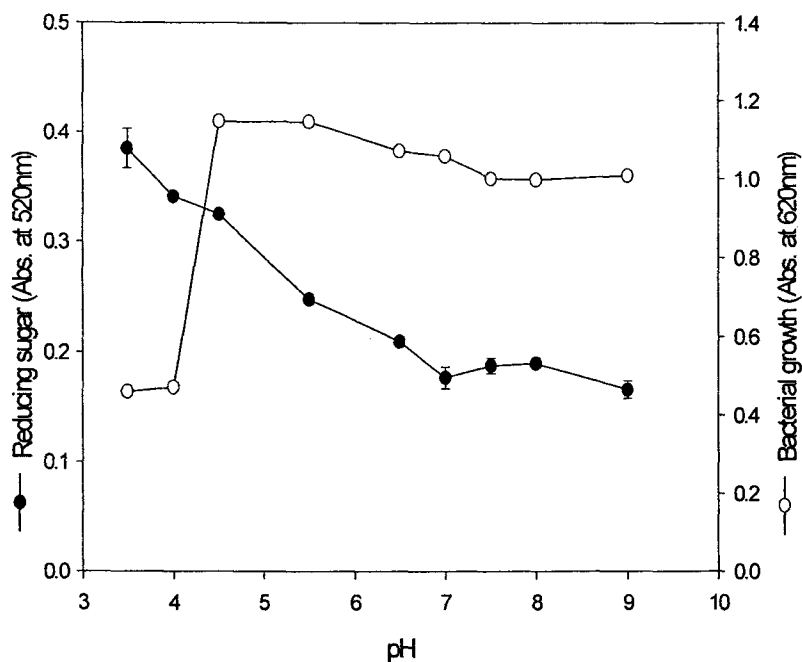


Fig. 9. Effect of pH on *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content.

Base medium condition : alginate 2.5%, peptone 0.7%, NaCl 1.0%, temp. 28±2℃, time 48 hr

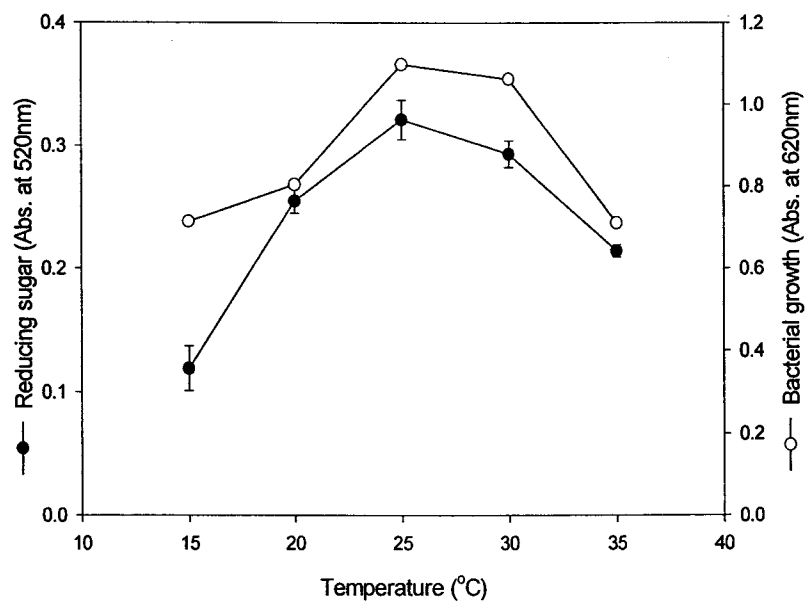


Fig. 10. Effect of temperature on *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content.

Base medium and growth condition : alginate 2.5%, peptone 0.7%, NaCl 1.0%, pH 4.5, time 48 hr

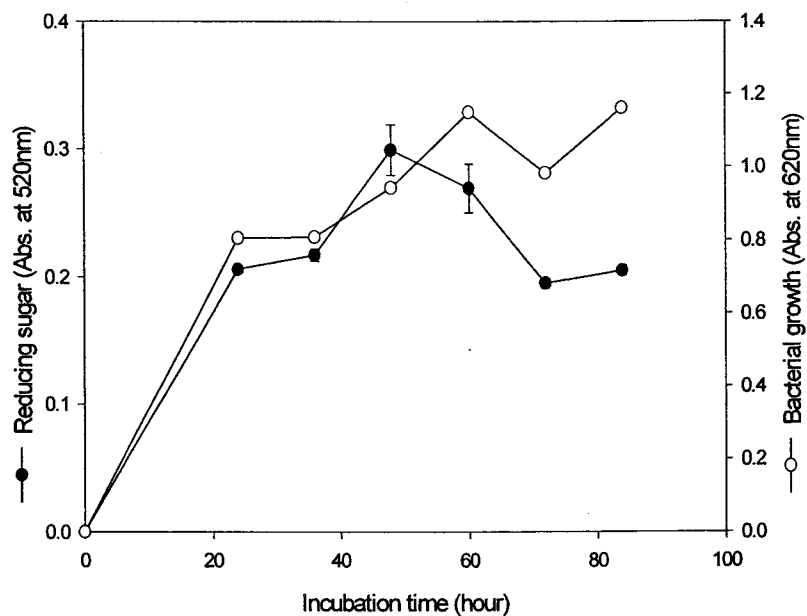


Fig. 11. Effect of incubation time on *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content.

Base medium and growth condition : alginate 2.5%, peptone 0.7%, NaCl 1.0%, pH 4.5 temp. 28±2°C

Table 4. The optimum conditions for the *Vibrio alginolyticus* AL-K18 growth and reducing sugar content

Parameter	Optimal condition
Na-alginate concentration	2.5%
Peptone concentration	0.7%
NaCl concentration	1.0%
pH condition	4.5
Growth temperature	25°C
Incubation time	48hr

2. 알긴산 분해 효소의 정제 및 특성

(1) 효소의 분리 및 정제

1) Q-Sepharose Anion-Exchange Chromatography

Vibrio alginolyticus AL-K18 균주 배양액을 원심분리하여 얻은 조효소액을 40-60% 포화암모늄 침전 획분을 투석, 농축하여 Q-Sepharose anion exchange chromatography를 행한 결과는 Fig. 12와 같다. 기질에 대해 작은 활성을 보이는 peak와 하나의 높은 활성을 보이는 peak를 확인하였고 높은 활성을 보이는 peak의 fraction들을 모아 투석을 행한 후 농축하여 SDS-PAGE로 순도 검정을 행하였는데 많은 단백질들이 혼재되어 있었다. 균일한 효소 활성 획분을 얻을 수 없어 다음 단계의 phenyl sepharose CL-4B chromatography를 행하였다.

2) Phenyl Sepharose CL-4B Chromatography

Q-Sepharose chromatography에서 분리된 fraction을 모아 phenyl sepharose CL-4B resin으로 충전된 column을 chromatography를 행한 결과는 Fig. 13과 같다. 고 농도 염 존재 하에서 분리된 peak를 얻었으며 기질에 대해 활성을 보이는 fraction을 모아 투석을 행한 후 농축하여 SDS-PAGE로 순도 검정을 행한 결과 2개의 band의 단백질로 구성되어 있는 효소임을 확인할 수 있었다. 이것을 효소 특성 실험용 시료로 하였다.

정제 과정 중의 결과를 Table 5에 나타내었다.

3) SDS-PAGE를 이용한 효소의 분자량 측정

80°C에서 3분 동안 boiling하여 불활성화시킨 alginate lyase를 SDS-PAGE를 실시한 후 silver staining하여 표준단백질과 대조하여 분자량을 측정한 결과는 Fig. 14와 같이 약 65 kDa과 57 kDa정도의 분자량을 갖는 효소인 것으로 판단되었다. 2개의 band가 보이는 것으로 partially 하게 정제된 것으로 보여 단일 band를 얻기 위해서는 더 정제를 해 봐야 할 것으로 보인다. Tseng 등이 분리한 *Vibrio* sp. AL-9가 생산하는 alginate lyase는 분자량이 약 25 kDa인 단량체로 확인 한 바 있고, Ian W. Davidson 등은 *Pseudomonas* sp.가 생산하는 alginate lyase는 분자량이 약 50 kDa이라고 하였다.

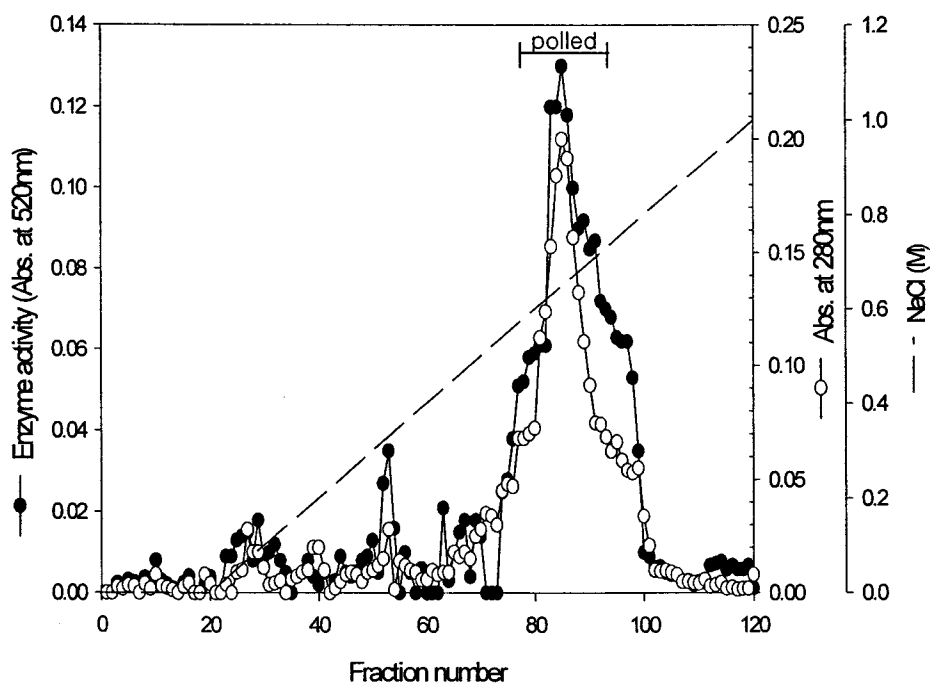


Fig. 12. Q-Sepharose anion-exchange chromatogram of salted out fraction by saturated ammonium sulfate solution on the range of 40-60%.

The column was equilibrated with 30 mM Tris-HCl (pH 7.0). Proteins were eluted with a linear gradient of 0-1.0 M NaCl at a flow rate of 4 mL/min and the fraction size was 3 mL

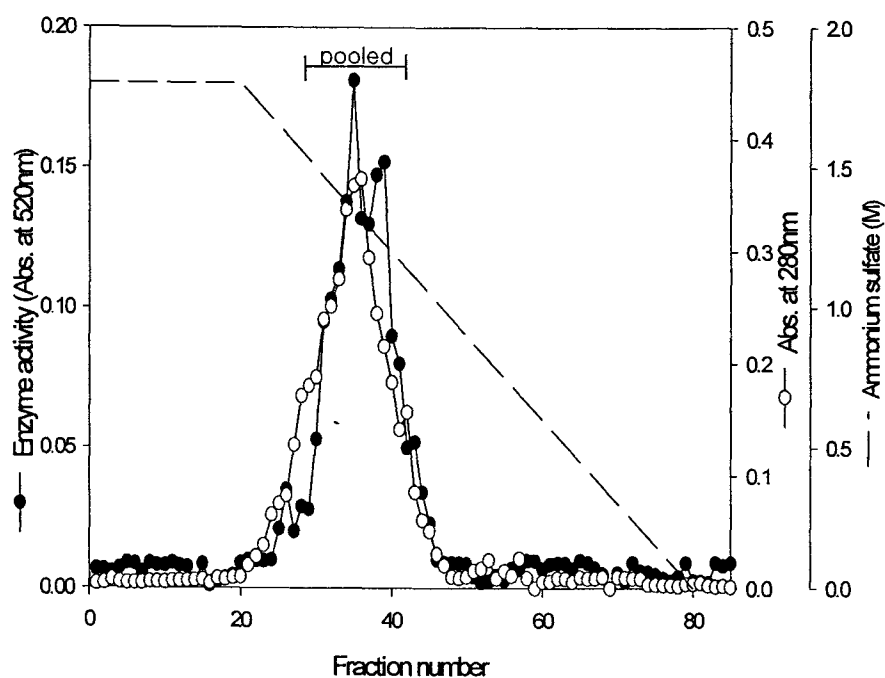


Fig. 13. Phenyl Sepharose CL-4B chromatogram of the Na-alginate positive fraction obtained by the Q-Sepharose anion-exchange chromatography.

The column was equilibrated with 10 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) containing 1.8 M ammonium sulfate. Proteins were eluted with a linear gradient of 1.8-0 M ammonium sulfate. Flow rate of 4 mL/min and the fraction size was 3 mL

Table 5. Purification of the alginate lyase produced by *Vibrio alginolyticus* AL-K18

Fraction	Vol (ml)	Protein (mg)	Total activity (U)	specific activity (U)	Yield (%)	Purification (fold)
Crude enzyme	780	2558.4	10.14	0.004	100	1.0
Ammonium sulfate fraction (40-60%)	35	30.45	0.385	0.012	3.0	3.81
Q-Sepharose Chromatography	20	0.37	0.08	0.22	20.78	18.52
Phenyl sepharose CL-4B chromatography	10	0.003	0.02	7.0	17.5	31.82

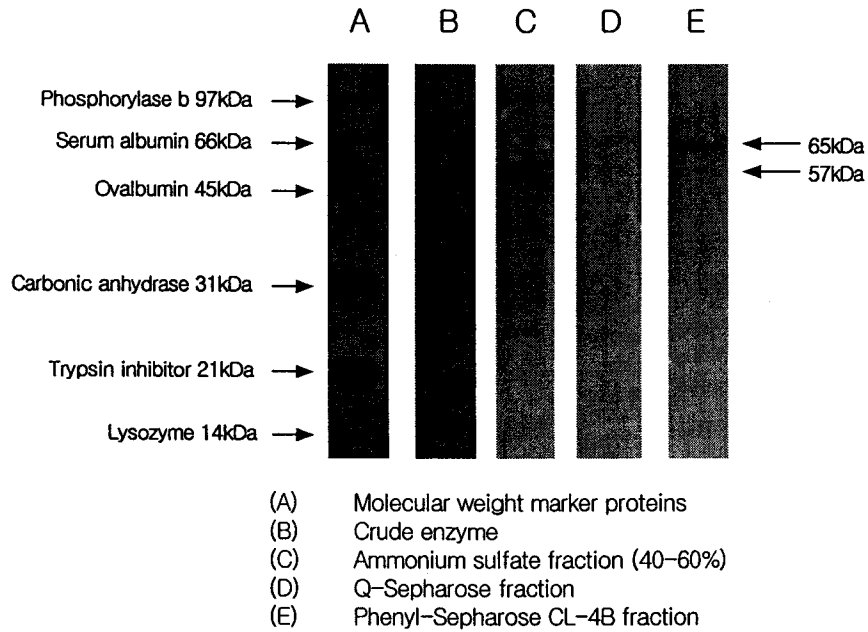


Fig. 14. SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis of purified alginate lyase from *Vibrio alginolyticus* AL-18K.

Electrophoresis was performed on 12.5% running gel and 5% stacking gel. The proteins were stained with silver. Molecular mass standards are composed of phosphorylase b (97 kDa), serum albumin (66 kDa), ovalbumin (45 kDa), carbonic anhydrase (31 kDa), trypsin inhibitor (21 kDa), lysozyme (14 kDa).

(2) 효소의 특성

1) pH 변화에 대한 영향

Alginate lyase의 pH 변화에 대한 영향은 Fig. 15와 같다. pH 8.5에서 최대 활성을 나타내었고 pH 7이하와 pH 9이상의 반응 조건에서는 활성이 저하됨을 알 수 있었다. Sawabe 등이 분리한 *Alteromonas sp.*의 alginate lyase의 최적 활성은 pH 7.5 라고 보고한 것 보다는 더 높은 pH에서 최대 활성을 보였다.

2) 반응 온도에 따른 변화

활성 온도는 Figure 16에서 보는 바와 같이 35°C에서 최대 활성을 나타내었다. 이러한 최적 활성 온도는 Tseng 등⁵⁶⁾이 *Vibrio sp.* AL-128 균주에서 얻은 alginate lyase가 35-37°C로와 비슷한 결과를 보여 주고 있으며 이러한 온도의 범위는 NaCl의 농도나 기타 여러 금속이온 등의 존재나 그 정도에 따라 영향을 받을 수 있다고 하였다.

3) 온도 변화에 따른 열 안정성

온도변화에 따른 alginate lyase의 열 안정성은 Fig. 17과 같은 결과를 얻었다. 20℃에서는 효소 활성의 소실은 거의 감지 할 수 없었으나 40, 60, 80℃로 온도가 높아질수록 효소 활성이 떨어짐을 알 수 있었다.

4) 다당류에 대한 alginate lyase의 분해 활성

Alginate lyase의 Na-alginate 이외의 다른 다당류에 대한 분해 활성을 측정한 결과 Table 5에서 확인할 수 있듯이 다른 다당류에는 분해 활성을 나타내지 않는 것으로 나타났다으며, 이 효소는 알긴산에만 특이적으로 작용하는 alginate lyase인 것으로 판단되었다.

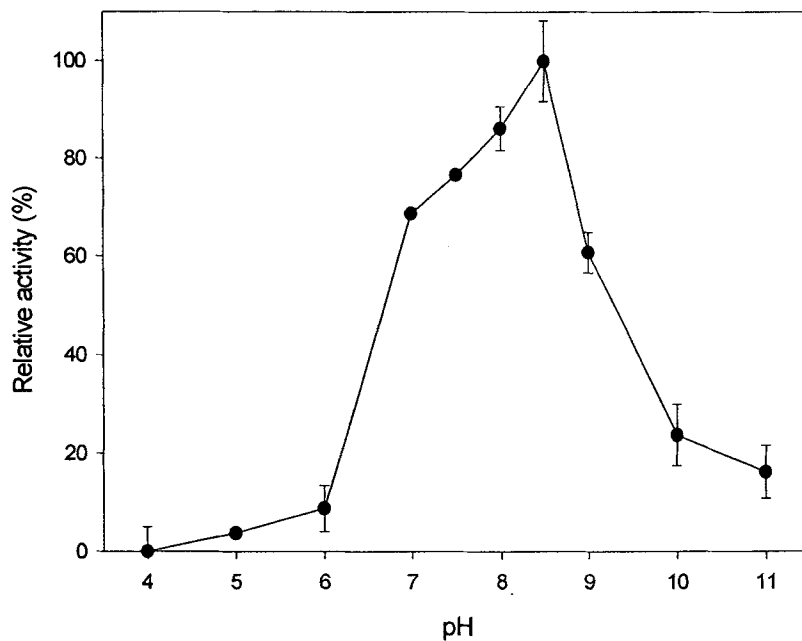


Fig. 15. Effects of pH on the activities of partially purified alginate lyase.

The used buffers in the reaction mixtures were 0.1 M sodium acetate-acetate (pH 4.0-6.0), 0.1 M Tris-HCl (pH 7.0-9.0), 0.1 M sodium carbonate-sodium hydroxide carbonate (pH 10.0-11.0).

Substrate concentration : 0.4% Na-alginate

Reaction condition : substrate solution 1.0 ml, buffer solution 1.0 ml, enzyme solution 0.1 ml, temperature 37℃, reaction time 20min.

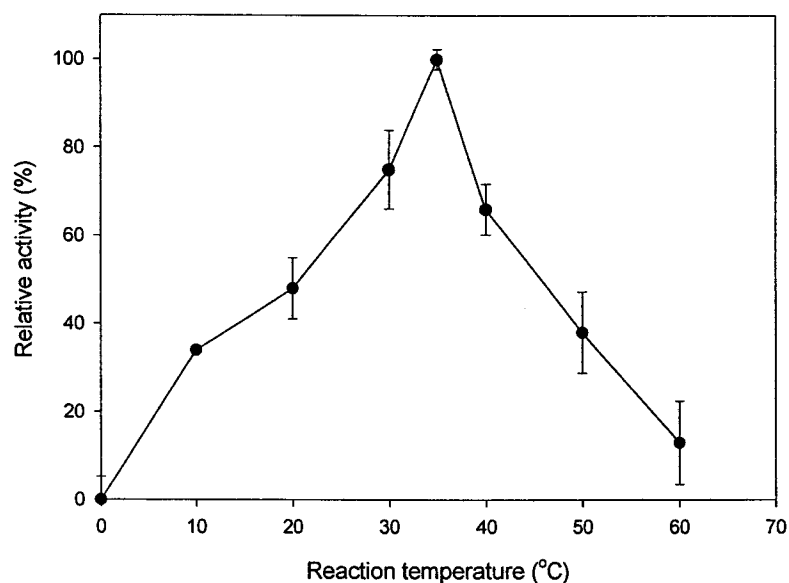


Fig. 16. Effects of reaction temperature on the activities of partially purified alginate lyase.

The used buffers in the reaction mixtures was 50 mM Tris-HCl, pH 8.0.

Substrate concentration : 0.4% Na-alginate

Reaction condition : substrate solution 1.0 ml, buffer solution 1.0 ml, enzyme solution 0.1 ml, temperature 37°C, reaction time 20 min.

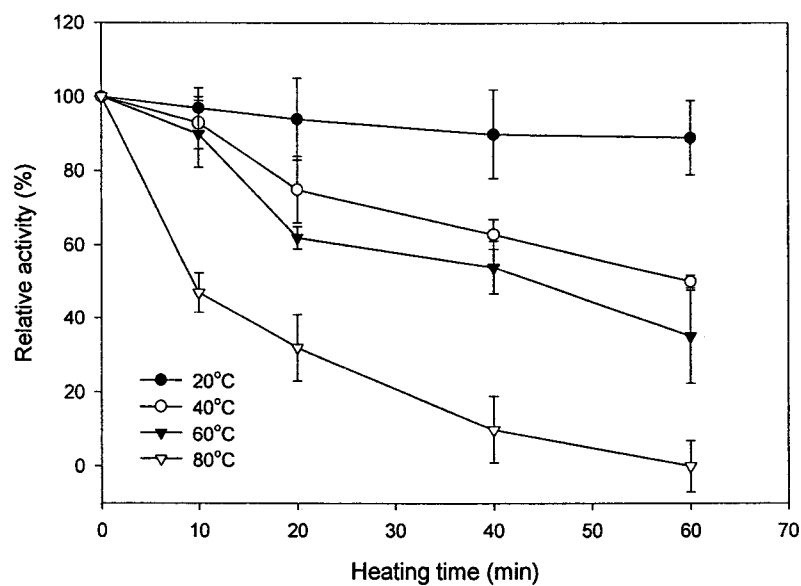


Fig. 17. Heat stability of partially purified alginate lyase.

The used buffers in the reaction mixtures was 50 mM Tris-HCl, pH 8.0.

Substrate concentration : 0.4% Na-alginate

Reaction condition : substrate solution 1.0 ml, buffer solution 1.0 ml, enzyme solution 0.1 ml, temperature 20, 40, 60, 80°C, reaction time 10, 20, 40, 60min.

Table 6. Alginolytic activity on several polysaccharides of alginate lyase from *Vibrio alginolyticus* AL-18K

Substrate	Enzyme activity ¹⁾
Na-alginate	0.35
Carboxymethyl cellulose	0.21
Soluble starch	NA ²⁾
Pectic acid	NA
Carrageenan	NA
Dextrin	NA

1) Specific activity (U/mg)

2) No activity

제 3 절 황 흡착 알긴산의 *Lactobacillus acidophillus* 성장에 미치는 영향 및 항 돌연변이 작용

김 정 목 (목포대학교 식품공학과)

서 론

해조류의 다당류에는 조체 골격을 구성하는 구조 다당류인 셀룰로즈와, 세포벽과 세포질 및 세포간격을 충전하는 점질 다당류가 있다. 셀룰로즈는 중성다당에 속하는 반면, 알긴산처럼 카르복실기 혹은 fucoidan 같은 황산기가 결합되어 있는 산성기를 가진 구성당은 산성다당으로 구분되는데 해조류의 산성다당의 다양한 생리활성 작용이 최근 활발히 연구되고 있다. 갈조류의 다당류는 건물기준으로 약 30~67% 정도 차지하며 이들 중 60~80%가 알긴산이며 이외에도 fucoidan 및 중성다당인 laminaran 등으로 구성되어 있다(1). 알긴산은 β -D-mannuronic acid(M)와 α -L-guluronic acid(G)가 α -1, 4결합 또는 β -1, 4결합한 hetero형 직쇄 다당류이고(2), fucoidan은 L-fucose와 황산에스테르가 주요 구성성분으로 황산기를 많이 함유하고 있다. 최근에는 이들 다당류가 식품, 의학 분야에서 활용을 위해 많은 연구가 행해지고 있는데, 갈조류에서 추출한 황산기를 함유한 산성다당이 혈액 응고저지 작용이 있는 것으로 밝혀지고 있으며(3), 혈액 중에 존재하는 함황 산성다당인 heparin과 생리적 특성이 유사하여 항 혈액응고 작용을 나타낼 뿐만 아니라 항암 작용 등 다양한 생리적 기능이 밝혀지고 있다(4, 5). 항응고작용에는 sulfate가 매우 중요한 역할을 함으로 해조류로부터 sulfated polysaccharide에 관한 연구가 진행되어졌다(6). 뿐만 아니라 알긴산의 혈중 콜레스테롤 저하(7, 8), 고지혈증 예방의 역할과(9) M/G 비율의 증가에 따른 항종양활성에 대한 연구도 행하여졌다(10). 알긴산은 장내 유해 미생물을 억제 시키고 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*의 증식을 촉진한다고 하였으며(11, 12), 다시마 알긴산의 가열 가수분해에 따른 분자량 50,000 Da의 저분자 알긴산은 쥐의 장내세균 중 유해균의 증식을 억제하고 유익균의 증식을 촉진시켜 장내 미생물 균총을 개선시키는 역할을 하였다(13). 본 연구의 목적은 황산기를 함유하는 다당류가 여러 가지 생리적인 기능이 있다는 것이 알려져 있으므로 이를 토대로 알긴산에 황을 인위적으로 붙여 *Lactobacillus acidophillus*의 성장에 어떠한 영향을 미치는지에 대하여 알아보았고 sulfated alginate의 돌연변이원성과 항돌연변이성에 대하여 살펴보았다.

재료 및 방법

황 흡착 및 정량

전남 완도에서 6월에 수확된 건조된 톳(*Hizikia fusiforme*) 분말로부터 Acid Alkali Soluble Alginate(AASA) 추출방법에(14) 의해 얻어진 알긴산을 3%의 용액으로 만든 후 0.1M Na₂SO₄에 첨가하여 실온에서 6시간 동안 교반하면서 반응하였다. 반응이 끝난 후 1:1(w/v)의 비율로 ethyl alcohol을 첨가해서 sulfate를 흡착한 알긴산 겔을 원심분리해서 회수한 다음 ethyl alcohol로 여러 번 세척해서 정제된 침전물만 얻어 건조하였다. 건조된 알긴산을 2% HNO₃용액에 교반하면서 용해해서 유리여과기로 여과한 다음 일정량으로 하여 시험용액으로 하였다. 그런 다음 Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry(ICP-AES, Spectro analytical instruments, Germany)를 이용해서 sulfate를 정량하였다.

S-alginate의 유산균에 대한 영향

본 실험에 사용된 균주는 한국종균협회에서 분양받은 *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3151를 사용하였고 MRS broth에 균을 접종해서 35°C 수욕조에서 18시간 배양하였다. Sulfate가 부착된 알긴산(S-Alginate)을 MRS broth(Oxoid Co. England)에 각각 0.25, 1, 2% 농도가 되게 준비하였다. 대조구로서 MRS broth에 sulfate가 부착되지 않은 톳에서 추출한 알긴산을 사용하였다. 배양한 균주를 멸균된 각각의 배지에 0.1 mL씩 접종하고 35°C 수욕조에서 100 rpm으로 진탕하면서 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24시간별로 배양하면서 미생물 수를 측정하였다. 한편 유산균의 배지로 많이 이용되는 MRS broth는 Mg₂SO₄가 0.2 g/L의 비율로 함유되어 있기 때문에 sulfate가 전혀 함유되어 있지 않는 Peptone water 배지를 이용하여 S-Alginate를 농도별로 준비한 후 균주를 접종하고 0, 1, 2, 4, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 40시간별로 *Lactobacillus acidophilus*의 성장에 미치는 영향을 조사하였다.

돌연변이원성 및 항돌연변이원성 실험

본 실험에 사용된 균주는 *Salmonella Typhimurium*의 frame shift 변이균주인 TA 98과 base-pair substitution 변이균주인 TA100을 Molttox회사(Boone, NC, U.S.A.)로부터 구입하여 Marson과 Ames의 방법(15)에 따라 histidine 요구성, deep rough(rfa) 돌연변이, crystal violet 감수성, UV 감수성(*uvrB*), R-factor에 의한 ampicillin 내성, 자연발생 복귀 돌연변이수 등의 유전적 특징을 확인한 후에 본 실험에 이용하였다. 직접 돌연변이원으로

사용된 2-Nitro fluorene(2-NF)와 methyl methane sulfonate(MMS), 균주 및 양성 돌연 변이물질을 용해 및 희석하는데 사용된 DMSO는 Sigma사(St. Louis, MO, U.S.A.)로부터 구입하였고 Vogel-Bonner minimal glucose agar plate, top agar, nutrient broth 및 bacto agar는 Difco(Detroit, MI, U.S.A)에서, Nutrient Agar No 2는 Oxoid(Hampshire, England)에서 구입하였다. 멸균된 glass cap tube에 0.5%, 1%, 2%로 준비된 S-Alginate 시료를 25 μ L/plate씩 가하고 여기에 *Salmonella Typhimurium* TA 98 또는 TA 100을 0.1 mL 가한 다음 0.25 M phosphate buffer(pH 7.4) 0.5 mL를 넣었다. 이를 His/Bio이 첨가된 2.5 mL Top Agar(45°C)에 넣고 잘 혼합한 후 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate위에 도말한 후 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 복귀돌연변이(His⁺ revertant colony)수를 세어서 대조구에 대한 mutagenicity ratio(MR)로 돌연변이원성의 유무를 판정하였다. 항 돌연변이원성 실험은 Ames Assay를 개량한 pre-incubation법에 따라 행하여졌고 돌연변이 유발물질로 TA98과 TA100 균주에 대해서는 2-NF와 MMS가 각각 사용되어졌다. 준비된 S-Alginate는 직접 돌연변이원과 함께 30분간 배양한 후 돌연변이원성 실험과 동일한 조건으로 실시하여 생긴 복귀돌연변이수를 세어 항 돌연변이작용을 살펴 보았다. 항 돌연변이 활성은 변이원 물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition %)로 표현하였다. 각각의 실험은 2회 반복 4 plates씩 실시하였다.

결과 및 고찰

알긴산에 Sulfate 흡착

툃으로부터 산·알칼리(AASA) 방법으로 추출한 알긴산과 반응시킨 sulfate가 얼마나 흡착되었는지 알아보기 위해서 표준곡선을 구하고 ICP-AES로 측정을 한 결과 3% alginate 용액에서 18,435 ppm의 농도의 sulfate가 검출되었다.

Lactobacillus 성장에 대한 Sulfated alginate의 영향

해조류의 많은 기능적 특성은 sulfate기가 중요한 역할을 한다고 알려져 있는데 alginate는 황산기를 가지고 있지 않아 그 기능성이 황산기를 함유한 다당류에 비해 부족하다고 할 수 있다. 따라서 알긴산에 인위적으로 sulfate를 부착하도록 한 후 이들이 *Lactobacillus*의 성장에 미치는 영향을 알아보았다. MRS broth와 Peptone water배지에 있어서 S-alginate와 alginate를 0.25, 1, 2% 농도별로 첨가하여 *Lactobacillus acidophilus*를 접종한 후 배양하면서 유산균의 성장에 대한 영향을 Figure 1에 나타내었다. 비록 초기 접종균수에서 차이는 있지만 *Lactobacillus*는 peptone water 배지보다도 MRS broth에

서 빠른 성장을 보였고 대조구와 비교하여 alginate의 첨가는 확실히 *Lactobacillus*의 성장에 영향이 있음을 보여주고 있다. 최적배지인 MRS broth에서는 8시간 경과 후 *Lactobacillus*의 수가 최고를 나타내었는데 0.25% alginate 첨가 배지에서는 약 5.37×10^9 CFU/mL, 1%에서는 5.75×10^9 CFU/mL, 2%에서는 6.61×10^9 CFU/mL로서 alginate의 농도가 높을수록 많은 균수를 나타내었다. MRS broth와 Peptone water배지 모두에서 S-alginate를 첨가한 것도 유산균의 성장을 증가시키는 것으로 나타났으며, 0.25%농도에 있어서는 S-alginate와 alginate를 첨가한 경우 유산균의 성장은 비슷한 값을 나타내었으나 peptone water 배지에서 S-alginate의 첨가는 8시간 경과 후 1%와 2% 농도의 경우 균수가 각각 1.35×10^8 CFU/mL와 2.24×10^8 CFU/mL를 나타내어 alginate의 첨가시 균수 7.08×10^7 CFU/mL와 7.94×10^7 CFU/mL에 비해 높게 나타났다. *Lactobacillus*의 성장과정에서 대수기에서는 S-alginate 첨가가 alginate에 비해 균의 성장이 약간 빠르게 나타났으며 균의 성장이 정지기에 도달한 후에는 큰 차이를 보이지 않았다.

돌연변이원성 및 항 돌연변이원성

S-alginate의 안전성을 확인하기 위해서 Ames test에 의한 돌연변이원성을 실험한 결과는 Table 1에 나타나 있다. *Salmonella Typhimurium* TA 98은 frame shift형의 돌연변이, TA 100은 base-pair substitution형의 돌연변이를 받고 복귀변이하야 히스티딘 비요구성(His⁺)으로 변하는 것을 이용한 것으로 황이 부착된 0.5, 1, 2% alginate에서 사용된 두 균주 모두 돌연변이성은 나타나지 않았다. Mutagenicity Ratio(MR) 값들은 0.99에서 1.20의 값을 보여 주었는데 이것은 전혀 독성을 내포하고 있지 않다는 것을 의미한다. 본 실험에서는 쥐의 간에서 추출한 대사활성효소 시스템인 S-9 mix를 사용하지 않았다. 따라서 직접변이원으로서 TA98을 위해서는 2-NF, TA100을 위해서는 MMS를 사용하였는데 직접변이원에 S-alginate 첨가구가 TA98에 대해서는 14-19%의 돌연변이 억제 효과를 나타내었고 TA100에 대해서는 12-17%의 억제를 보였다. 그러나 S-alginate 농도에 따른 유의성은 크게 없었으며 이는 알긴산에 부착된 황의 함량이 본 실험의 농도 범위에서는 큰 차이가 없었기 때문으로 여겨진다.

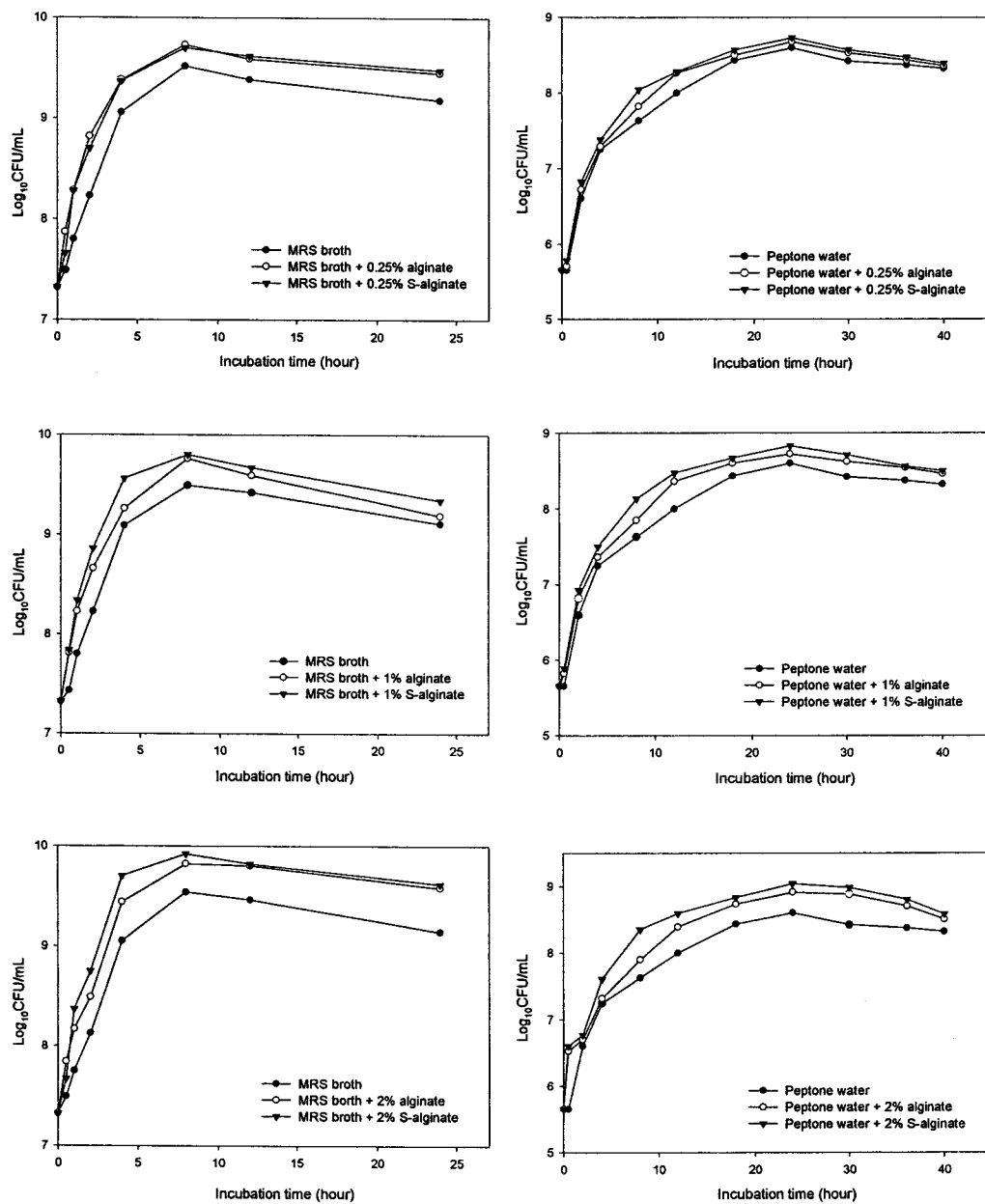


Fig. 1. Effect of the S-alginate on the growth of *Lactobacillus acidophilus* in MRS broth and peptone water at 35°C. (Values represent from 2 separate experiments).

Table 1. Mutagenicity of S-alginate from *Hizikia fusiforme* to *Salmonella Typhimurium* TA 98 and TA 100

Samples	Dose/plate	No. of revertant <i>S. Typhimurium</i> colonies (CFU/plate) ¹			
		TA98	MR ²	TA100	MR
Buffer	25 µL	50 ± 5	-	153 ± 20	-
DMSO	25 µL	46 ± 6	-	164 ± 31	-
0.5% S-Alg	25 µL	56 ± 2	1.12	157 ± 14	1.03
1% S-Alg	25 µL	52 ± 4	1.12	152 ± 18	0.99
2% S-Alg	25 µL	58 ± 8	1.16	184 ± 24	1.20

¹Mean ± standard deviation from eight plates of duplicate trials.

²Mutagenicity Ratio(MR) is the number of revertants per test dose divided by revertants per controls.

Table 2. Antimutagenicity of S-alginate from *Hizikia fusiforme* to *Salmonella Typhimurium* TA 98 and TA 100

Samples	Dose/plate	No. of revertant <i>S. Typhimurium</i> colonies (CFU/plate) ¹			
		TA98	Inhibition %	TA100	Inhibition %
2-NF	30 µL	3488 ± 215	-	-	-
MMS	30 µL	-	-	1695 ± 75	-
0.5% S-Alg	25 µL	2981 ± 198	14.5	1496 ± 132	11.7
1% S-Alg	25 µL	3012 ± 340	13.6	1433 ± 114	15.5
2% S-Alg	25 µL	2657 ± 351	19.2	1404 ± 90	17.2

¹Mean ± standard deviation from eight plates of duplicate trials.

MMS(methylmethanesulfonate) and 2-NF(2-nitrofluorene) were dissolved in DMSO(dimethylsulfoxide). The concentration of mutagens was 5 µg

요 약

투스로부터 산·알칼리(AASA) 방법으로 추출한 알긴산에 인위적으로 sulfate를 흡착시킨 후 ICP-AES를 이용해서 확인한 결과 3% alginate 용액에서 18435 ppm 농도의 sulfate가 검출되었다. 배지 자체적으로 황을 함유하고 있는 MRS broth와 황이 없는 peptone water배지에 S-alginate와 alginate를 0.25, 1, 2% 농도별로 첨가하여 *Lactobacillus acidophilus*를 접종한 후 배양하면서 유산균의 성장에 대한 영향을 살펴 본 결과 모든 농도에서 이들 배지에 S-alginate를 첨가한 것이 유산균의 성장을 증가시키는 것을 알 수 있었다. S-alginate와 alginate를 0.25% 첨가한 경우 유산균의 성장은 비슷한 값을 나타내었으나 농도가 증가할수록 S-alginate를 첨가한 군이 alginate만 첨가한 군보다는 유산균의 성장을 늘리는 것으로 나타났다. Ames test를 통해서 S-alginate는 돌연변이성을 전혀 나타내지 않았으며 항 돌연변이성은 직접변이원에 대하여 TA98균주는 14-19%, TA100균주에 대해서는 12-17%까지의 억제율을 보였으며 2%의 S-Alginate가 가장 높은 억제율을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Lahaye M. 1991. Marine algae as sources of fibers: Determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some sea vegetables. *J Sci Food Agric* 54: 587-594.
2. Nishide E, Kinoshita Y, Anzai H, Uchida N. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1619-1622.
3. Nishino T, Takabe Y, Nagumo T. 1994. Isolation and partial characterization of a novel β -D-galactan sulfate from the brown seaweed *Laminaria angustata* var *longissima*. *Carbohydr Polym* 23: 165-173.
4. Kim KI, Seo HD, Lee HS, Jo HY, Yang HC. 1998. Studies on the blood anticoagulant polysaccharide isolated from hot water extracts of *Hizikia fusiforme*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1204-1210.
5. Hajime O, Yasushi S, Kanko Y, Isamu U, Koichi K. 1994. Possible antitumor promoting properties of marine algae and in vivo activity of *Wakame* seaweed extract. *Biosci Biotech Biochem* 56: 994-999.
6. Nishino T, Aizu Y, Nagumo T. 1991. The influence of sulfate content and molecular weight of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome* on its antithrombin activity. *Thrombosis Res* 64: 723-730.

7. Watanabe K, Iwata K, Tandai Y, Nishizawa M, Yamagishi T, Yoshizawa I. 1992. Effects of soluble alginates on the excretion of cholesterol, Trp-p-1 and aflatoxin B1 in rats. *Jpn J Toxicol Environ Health* 38: 258-262.
8. Tsuji K, Oshima S, Matsuzaki E, Nakamura A, Innami S, Tezuka T. 1968. Effect of polysaccharides on cholesterol metabolism (Part 1). Studies on konnyaku powder, sodium alginate and pectin. *Jpn J Nutr* 26: 113-122.
9. Tsai AC, Elias J, Kelley J, Lin RC, Robson JRK. 1976. Influence of certain dietary fibers on serum and tissue cholesterol levels in rats. *J Nutr* 106: 118-123.
10. Fujihara M, Nagumo T. 1993. An influence of the structure of alginate on the chemotactic activity of macrophages and the antitumor activity. *Carbohydr Res* 243: 211-216.
11. Fujii T, Kuda T, Saheki K, Okuzumi M. 1992. Fermentation of water-soluble polysaccharides of brown algae by human intestinal bacteria *in vitro*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 147-152.
12. Kuda T, Oyamada A, Fujii T. 1994. Effects of depolymerized sodium alginate on human fecal and intestinal environment. *Nippon Suisan Gakkaishi* 60: 85-90.
13. Kim YY, Cho YJ. 2001. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. 6. Effects of depolymerized alginate on fecal microflora in rats. *J Korean Fish Soc* 34: 77-83.
14. Haug A, Larsen B, Smidsrød O. 1974. Uronic acid sequence in alginic acid from different sources. *Carbohydr Res* 32: 217-225.
15. Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113: 173-215.

제 4 절 Use of Exo-polygalacturonase to Improve Extraction Yields of Alginic Acid from Sea Mustard (*Undaria pinnatifida*)

김 정 목 (목포대학교 식품공학과)

INTRODUCTION

Alginic acid is a linear polysaccharide that is commercially extracted from many strains of marine brown seaweed. Alginic acid is a co-polymer of D-mannuronic acid and L-guluronic acid, in which the uronic acids are arranged in a block fashion in the polymeric chain (1). Alginates have widespread applications in the pharmaceutical and food industries, owing to their ability to form viscous solutions at relatively low concentrations and to form gels with Ca^{2+} . Alginic acid from sea mustard can be extracted with hot water in a sodium carbonate solution, or by alternation of acidic and alkaline treatments (2). The highest industrial extraction yields are obtained utilizing sodium carbonate solutions or acidic and alkaline treatments. However, the strong caustic and acidic chemicals produce hazardous toxic wastes that threaten the environment and damage reactors used in the extraction process. Hot water extraction is safer and produces no toxic chemicals, but is inefficient because of low yields (2). In this study, we evaluated the use of enzymatic digestion of sea mustard, using exo-polygalacturonase (EPG), for increasing the yield of alginic acid from hot-water extraction.

EPG, a protopectinase, is normally produced by microorganisms to facilitate plant degradation (3-7). EPG cleaves side chains of neutral sugars of pectins that are linked to cellulose or are residues of homogalacturonan. Applications using EPG include pectin production (8), isolation of single cells from vegetable food material (7,9), and the isolation of protoplasts from plant cells (10). Sea mustard alginic acid is a structural component of the cell wall that is esterified to cellulose or hemicellulose. EPG randomly hydrolyses terminal -1,4-glucoside bonds of D-guluronic acid, thereby isolating D-guluronic acid. Therefore, the use of EPG may be expected to increase the yields from hot water extraction of alginic acid from sea mustard.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Dried sea mustard (*Undaria pinnatifida*) was purchased from a local food market in Seoul, Korea; ground with a hammer mill, and screened through an 80-mesh sieve. EPG (Macerozyme R-10) from *Rhizopus* sp. was obtained from Yakult Co. (Tokyo, Japan). All other chemicals were analytical grade.

Extraction of alginic acid by hot-water solubilization method

The extraction of alginic acid from sea mustard was performed as described by Nishide *et al.* (2), except that the formaldehyde treatment was replaced by EPG digestion for the enzymatic extraction. For non-enzymatic extraction, 5 g of the ground sea mustard was placed in a stoppered flask containing 50 ml of a 3.7% formaldehyde solution and maintained at 30°C overnight.

For the EPG treatment, 5 g of sea mustard was incubated in 50 ml of various pH buffer solutions containing 50 mg of EPG (3 U/mg of protein). To determine the pH effect on the EPG alginic acid extraction, the following buffers were used: 20 mM acetate buffer (pH 5.0), 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.0), 20 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 20 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0), and 20 mM glycine buffer (pH 9.0). The effect of alginic acid extraction with EPG was determined at different temperatures (25, 30, 35, 40, 45 and 50°C) and at different durations of time (0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, and 36 hr).

Following each enzymatic or non-enzymatic extraction under a given condition, each reaction mixture was diluted with 100 ml of distilled water and hot water extracted by stirring at 100°C for 4 hrs. After filtering through a hemp cloth, the filtrates were dialyzed by cellulose membrane (Avg. flat width 43 mm; Avg. diameter 27 mm; Capacity approx. 175 ml/ft; cutoff size > M.W. 12,000; Sigma Chemical Co.) in distilled water, and filtered through a filter paper (Toyo No.2). The dialyzed inner fluid was concentrated to one-fourth of the initial volume using a rotary evaporator (NE-1S, Tokyo Rikakikai Co., Ltd.). Ethanol was then added to make an 80% final concentration. The precipitated alginate gel was obtained by centrifugation at 3,000g

for 10 min. The pellet was rinsed with ethanol and then with acetone, and centrifuged at 3,000g for 5 min. The alginate pellet was dried to powder at 50°C for 12 hrs and weighed. The yield was calculated as the percentage of alginic acid extracted from each 5g sample. Recovery rate was calculated as the weight ratio of pure alginate extracted to that of the pellet weight. Each experiment was performed in duplicate and the value reported was an average of the two data.

Determination of purity of alginic acid

Purity of extracted alginic acid was determined by the *m*-hydroxydiphenyl method (11), and expressed as % of uronic acid in the total sample.

RESULTS AND DISCUSSION

The effect of temperature on EPG activity was determined from 24 h alginic acid extraction yields at 25, 30, 35, 40, 45 or 50°C at pH 7 (Fig. 1). The highest yield of alginic acid by EPG treatment was obtained at 30°C, which is presumed to be the optimal temperature for EPG extraction.

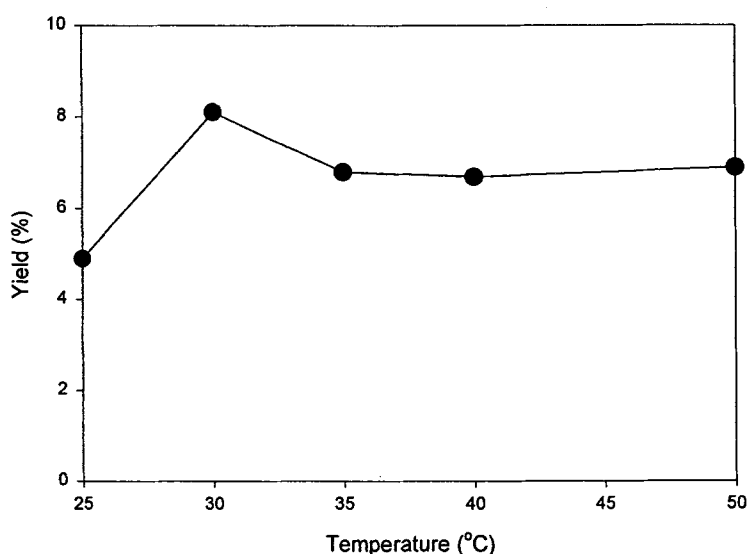


Fig.1. Temperature-related changes of alginic acid extraction yield with EPG treatment at pH 7.0 for 24 hours

The greatest alginic acid yield from sea mustard was achieved at pH 7.0 after 24 h incubation with EPG (Fig. 2). EPG is stable at pH 5 and 6 (12), but the optimal pH for pectin extraction with EPG from apple and pear pomace are 7.0 and 7.8 respectively (13,14). The pH of incubation solutions alters the electrical charges of both enzyme and substrate, and profoundly affects the recognition of the active site of enzymes and the separation of products after the reaction. Although we determined that pH 7.0 was optimal under the conditions we used, we can not exclude the possibility that different buffers would behave differently and that a different pH would produce maximum yields if a different buffer was used. Therefore, further experiments using a variety of buffers over a broad pH range is needed to determine the optimal pH for EPG extraction.

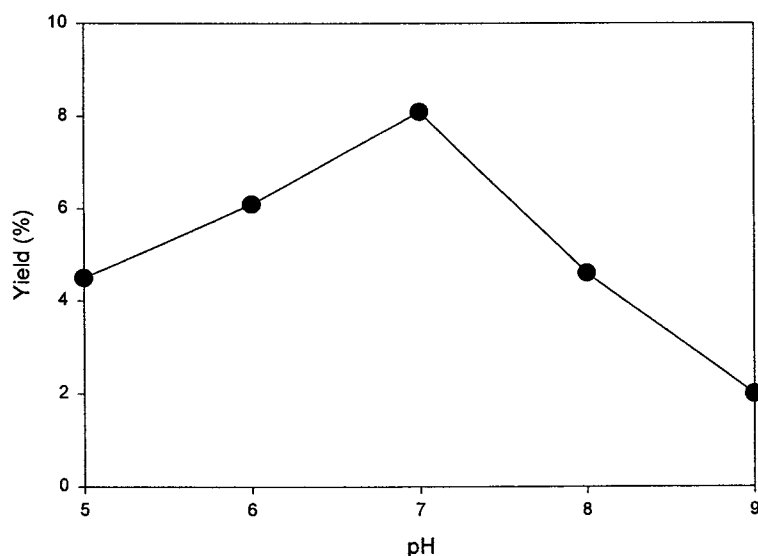


Fig.2. The pH-related changes of alginic acid extraction yield with EPG treatment at 30°C for 24 hours

The maximum yield of alginic acid was obtained after 24 h incubation with EPG (Fig. 3). EPG is a macerating enzyme due to its hydrolytic activity on protopectin in plant cell walls. Pectin extraction from apple and pear pomace by EPG was maximized with incubation times of 60 and 36 hours, respectively (13, 14). Although the mechanism is unknown, the hydrolytic activity of EPG on glucoside bonds in sea mustard can be inferred from its effectiveness in alginic acid extraction.

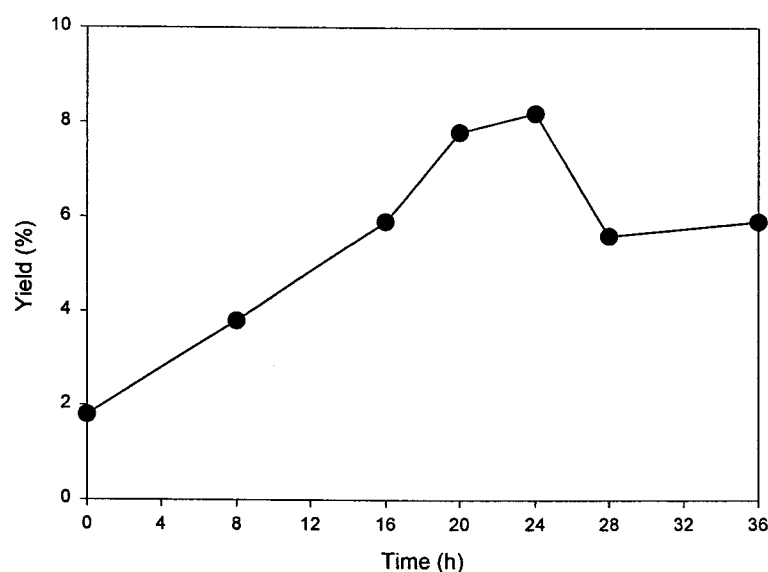


Fig. 3. Time-related changes of alginic acid extraction yield with EPG treatment at 30°C at pH 7.0

As shown above, the highest extraction yield (8.1% of alginic acid from sea mustard) was obtained with EPG treatment for 24 hrs at pH 7 and 30°C. In contrast, there was only a 2.4% yield from the non-enzymatic hot water extraction (Table 1). The increased yield with the EPG treatment implies that alginic acid, an ester-bound form of cellulose or hemicellulose in the cell wall of sea mustard, is easily released by the enzymatic reaction. This explanation is supported by previous results in which EPG acted as a protopectinase, degrading protopectin to pectin (13); although the optimal conditions were different.

Purity of alginic acid extracts are shown in Table 1. The pellet from the EPG treatment contained 5% more alginic acid than the pellet without enzymatic treatment (Table 1). Recovery rate increased from 1.68 to 7.73 % (4.6 times) with EPG treatment. These results suggest that enzymatic hydrolysis may be an effective tool for the extraction of alginate from sea mustard.

In conclusion, we obtained more alginic acid from sea mustard by using EPG in a hot water extraction. Although EPG has been used to extract pectin from apple pomace (13), EPG has not been previously used for the extraction of alginic acid from

sea mustard. EPG hot water extraction has the potential to reduce environmentally hazardous wastes produced by conventional extraction methods. Therefore, application of EPG in a hot water extraction system should be considered to be an appropriate alternative method for the extraction of alginic acid from sea mustard.

Table 1. Effect of EPG treatment on alginic acid extraction in sea mustard

Treatment	Yield(%) ¹	Purity(%)	Pure yield(%) ²	Recovery(%) ³
Hot water without EPG ⁴	2.4	15.5	0.37	1.68
Hot water with EPG	8.1	20.9	1.70	7.73

¹The yield was calculated as a percentage of extracted alginic acid amount from sample weight

²Pure yield = Yield × Purity

³Recovery means the ratio of the pure alginic acid to the extracted amount from sample weight

⁴The hot water extraction method for alginic acid of sea mustard was at pH 7.0, 30°C for 24 hrs.

REFERENCES

1. Haug A, Larsen B. 1965. A study of the constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis. Paper presented at the 5th Proc. Int. Seaweed Sym. Pergamon Press, Oxford. p 271-277.
2. Nishide E, Kinoshita Y, Anzai H, Uchida N. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1619-1622.
3. Sakai T, Okushima M. 1982. Purification and crystallization of a protopectin solubilizing enzyme from *Trichosporon penicillatum*. *Agric Biol Chem* 46: 667-676.
4. Sakai T, Yoshitaka S. 1984. Purification and some properties of a protopectin solubilizing enzyme from *Galactomyces reessii* strain L. *Agric Biol Chem* 48: 1941-1950.
5. Sakai T, Okushima M, Yoshitaka S. 1984. Purification, crystallization and some properties of endopolygalacturonase from *Kluyveromyces fragilis*. *Agric Biol Chem* 48:

1951-1961.

6. Lee SC, Ko BS, Lee DH, Hwang YI. 1997. Cell separation of vegetable tissues by protopectinase. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 430-435.
7. Lee SC, Ko BS, Kim HM, Kim KW, Hwang YI. 1997. Isolation of *Rhizopus* sp. R2 producing protopectinase and optimum condition for preparing single cells from potato tissues. *Korean J Microbiol* 33: 131-135.
8. Sakai T, Sakamoto T, Hallaert J, Vandamme EJ. 1993. Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties, and applications. *Adv Appl Microbiol* 39: 213-294.
9. Sakai T, Hours R, Nakamura T. 1995. Enzymatic maceration of vegetables with protopectinases. *J Food Sci* 60: 468-472.
10. Mitsui T, Hashimoto N, Deguchi K, Hirano M, Igaue L. 1990. Isolation of plant mesophyll protoplasts with and endo-polygalacturonase from *Trichosporon penicillatum*. *Plant Tissue Cult Lett* 7: 14-18.
11. Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem* 54: 484-489.
12. Suzuki H, Abe T, Urade M, Nishizawa K, Kuroda A. 1967. Nature of the macerating enzymes from *Rhizopus* sp. *J Ferment Technol* 45: 73-85.
13. Lee SC, Yuk HG, Bae SM, Hwang YI, Choi JS, Cho YJ. 1999. Extraction of pectin with exo-polygalacturonase from apple pomace. *Korean J Food Sci Technol* 31: 68-73.
14. Yuk HG, Choi JH, Cho YJ, Ha JU, Hwang YI, Lee SC. 1999. Investigation of reactive conditions to extract pectin with exo-polygalacturonase from pear pomace. *Korean J Food Sci Technol* 31: 971-976

제 5 절 미역의 Fucoxanthin 색소추출 및 특성연구

김 선 재 (목포대학교 식품공학과)

서 론

해조류는 미네랄, 비타민, 식이섬유 등의 높은 영양적 가치를 지니고 있으며 항산화제로서의 역할을 담당할 수 있는 물질이 다량 함유되어 있다. 항산화제는 세포를 공격하는 위험한 활성산소 라디칼을 중화시켜주고, 심장병, 암 발생의 예방에 기여한다(1) 미역 (*Undaria pinnatifida*)은 갈조류(Brown algae)의 곤포과에 속하는 1년생 해조류로서 칼슘, 칼륨, 철분, 요오드 등의 무기질 성분, 각종 비타민 등의 영양성분과 정미성분이 함유되어 있고(2,3), 최근 생리활성 물질로서 각광을 받고 있는 항암효과가 있는 것으로 밝혀진 fucoidan과 미역의 세포막 구성성분으로 다량 존재하는 alginic acid 등의 산성 다당류가 대량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(4-6). 특히 alginic acid는 D-mannuronic acid와 L-guluronic acid가 동일 분자 내에 β -1,4 결합을 하고 있는 직쇄상의 복합다당류로 콜레스테롤 배출 작용, 중금속(Cd), 방사능 물질(Sr)의 체내 흡수 억제 및 배출 작용과 성장작용이 있어 식이섬유로서 효과가 알려져 있다(7,8).

그리고 미역 등 갈조류에는 fucoxanthin이라는 carotenoid색소가 함유되어 있다. 일반적으로 carotenoids는 지용성이며 공액 이중 결합 수가 많을수록 황색에서 적색으로 이행하는 것으로 알려져 있으며 불포화도가 매우 높기 때문에 열, 산, 광조사, 금속이온, 과산화물, peroxidase 및 화학약품 등에 의해서 쉽게 산화되어 파괴되며, 300-500 nm의 파장에서 특정의 흡수대를 가지는 특성이 있다(9) 그러나 carotenoids는 광선에 의해서 유발되는 광 감광 산화반응에 있어서 활성화된 일중항 산소와 반응하여 전체적인 반응의 진행을 억제하고(10), free radical 반응의 억제기작에 의해 발생하는 활성산소로부터 세포와 조직을 보호하는 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(11). 한편 활성산소는 핵산, 단백질, 지질 등에 산화적 장애를 일으켜 염증, 노화, 암 등 다양한 질병을 유발시키는데(12), 이러한 작용도 carotenoids의 산화억제작용에 의해 저지되어 생물학적으로 매우 중요한 의미를 가지며, 생물체의 항산화효소, 토코페롤 등의 항산화제와 더불어 생체방어 역할을 하고 있다. 뿐만아니라 carotenoids는 동물의 번식 촉진, 성장률개선, 질병발생 억제, 어육의 색상개선 등 유용한 기능성을 나타내는 것으로 알려지고 있어 의약품, 사료, 건강식품 등에 이용가치가 클 것으로 기대되고 있다(13,14)

미역색소 fucoxanthin의 기능성 연구는 신경 아세포 배양액 중에 첨가시 신경 아세포

의 증식이 완전히 저해되거나 증식속도가 저하하여 강력한 항종양활성을 갖는 물질로 평가되고 있으며(15), 마우스 피부 2단계 발암시험에서 fucoxanthin을 발암 promoter 처리 시 동시에 도포하여 강력하게 종양발생을 억제하였고, 십이지장 종양에 대해서도 유의한 억제 효과(16)를 보고하고 있다. 그리고 fucoxanthin의 대사산물인 haloacynthiaxanthin은 fucoxanthin보다 강력한 항종양활성을 나타내고 있다고 보고되고 있다(17).

본 연구에서는 새로운 미역 가공제품의 생산 및 고부가가치 제품의 생산을 위한 기초 자료를 제공하고자 미역으로부터 fucoxanthin을 추출, 정제과정을 정립한 후 fucoxanthin의 산화물의 생성경향을 조사하였다.

재료

Fucoxanthin색소의 추출에 사용한 미역엽, 미역줄기, 미역귀는 2001년 전남 목포와 완도의 시장에서 구입하여 동결건조시킨 후 40 mesh로 분쇄하여 사용하였다. Fucoxanthin 자동산화는 인지질(dimyristoyl phosphatidylcholine)은 Sigma사(Sigma, ST. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

Fucoxanthin의 추출 및 용매분획

미역으로부터 fucoxanthin의 추출은 Haugan 등(18)의 방법을 약간 변형하여 추출하였다(Fig. 1). 건미역의 부위별 분말 500 g을 3배량(w/v)의 용매(Acetone : methanol = 7:3, v/v)로 추출하고 암소에 2일간 방치 후 homogenizer로 균질화 시킨 다음, 감압 여과하고 얻어진 여과액에 대해 rotary evaporater를 이용하여 농축하였다. 농축물은 *n*-hexane 200 mL와 90% methanol 200 mL를 용매계로 하여 분획하고, 90% methanol 층에 대해서는 동량의 *n*-hexane으로 3반복 용매분획하였다. 얻어진 90% methanol층에 대해서는 증류수를 가하여 70% methanol로 제조하여 *n*-hexane으로 3반복 용매분획한 후 얻어진 70% methanol 획분을 감압 농축하였다. 상기의 용매분획을 통하여 얻어진 70% methanol 획분은 동결건조하고 무게를 측정하였으며 미역의 부위별 fucoxanthin 함량을 비교하였다.

상기의 *n*-hexane획분과 70% methanol획분은 UV-vis spectrophotometer (Hewlett Packard, 8452A, USA)를 이용하여 각각의 spectrum을 조사 비교하였다.

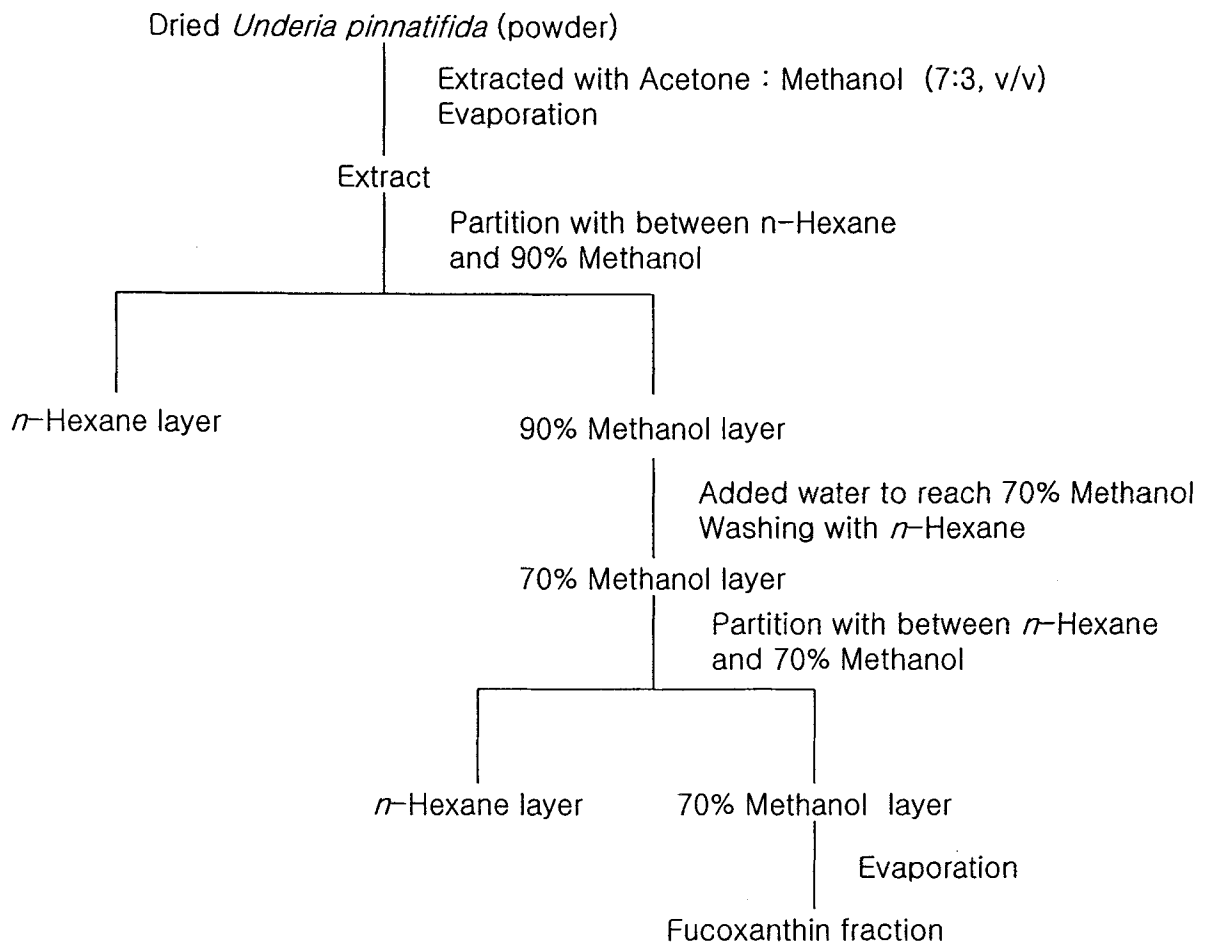


Fig. 1. Flow diagram for the preparation of fucoxanthin from *Underia pinnatifida*.

Fucoxanthin의 정제

상기의 fucoxanthin획분에 대하여 silica gel adsorption chromatography를 행하였다. 즉, silica gel(10g, 63-200 mesh, column chromatography용, Merk Co.)를 *n*-hexane : acetone (7 : 3 v/v)를 용매계로 slurry를 만들어 column에 충전시킨 후, 용출시키고 용출된 각각의 획분에 대해 fucoxanthin의 전형적인 spectra를 나타내는 획분만을 모으는 방법으로 정제하였다.

Fucoxanthin의 자동산화

얻어진 Fucoxanthin의 안정성은 Kim 등(19)과 Kim(20)의 방법을 참고하여 인지질 acetone 용액 1 mL와 dichloromethane에 용해된 50 μ M fucoxanthin을 시험관에 넣어 혼합하고 질소 gas로 휘발시켰다. 용매가 완전히 제거된 고형물에 대해 초순수 1 mL로 용해하였다. Fucoxanthin이 함유된 각각의 용액은 황색등하에서 37°C, 72시간 진탕시키면서

함량의 변화를 측정하였다.

Fucoxanthin의 중간산물의 추출을 위해 자동산화 반응액 1 mL에 대하여 hexane 2 mL로 3회 추출하였다. 모아진 hexane 층을 회전감압농축기를 이용하여 농축하고 질소 gas로 완전히 휘발시켰다. 용매가 완전히 제거된 고형물을 hexane-ethylacetate (99 : 1, v/v) 300 μ L로 용해하고 Bond Elut solid phase cartridge(SI 100 mg, Varian, Harbor, USA)에 주입하였다. 시료가 주입된 cartridge에 hexane-ethylacetate (99 : 1, v/v) 1 mL로 용출하고 이어 hexane : ethylacetate (95 : 5, v/v) 3 mL로 용출한 후 이 획분을 carbonyl 화합물 획분으로 하고 용출액을 농축한 다음 acetonitrile 200 μ L로 용해하여 그 중 100 μ L를 HPLC 분석용 시료로 사용하였다.

HPLC 분석

미역으로부터 추출된 fucoxanthin의 HPLC 분석은 Jasco CO-965 thermostat(40 $^{\circ}$ C)안에 장착된 silica gel column (Spherisob, gel size 5 μ m, 4.6 x 250 mm)을 사용하였으며 검출기는 Jasco UV-975 UV/Vis Detector, Japan), 유속은 1.0 mL/min의 조건으로 하였다. Fucoxanthin의 분석을 위한 용출용매는 isocratic solvent인 chloroform : acetone(9 : 1, v/v)로 용출하였다. Fucoxanthindml 산화물에 대한 분석시 용출용매는 0.1% ammonium acetate 함유 acetonitrile : methanol : water(75 : 15 : 10, v/v/v)와 0.1% ammonium acetate 함유 methanol : ethylacetate(70 : 30, v/v)의 두 용매를 10분간 linear gradient시켜 분석하였다.

미역의 부위별 fucoxanthin 함량

미역의 부위별 fucoxanthin의 함량을 측정하기 위하여 미역 각 부위를 동결건조하고 얻어진 분말에 대하여 Fig. 1의 방법으로 추출하였다. 미역분말의 추출 및 용매분획 과정 중에 얻어진 각 획분에 대해서 spectra를 측정하여 444 nm에서 최대흡수극대를 나타내는 전형적인 fucoxanthin의 분광학적 특징을 나타내는 부분만을 fucoxanthin획분으로 하였다.

미역 각 부위의 fucoxanthin 함량은 Table 1에 나타난 것처럼 미역엽에 87.6 mg/100g, 미역줄기에 62.4 mg/100g 그리고 미역귀에 127.7 mg/100g을 나타내어 미역귀에 함유되어 있는 fucoxanthin함량이 미역잎에 비해 1.4배, 미역줄기에 비해 2.0배 더 함유되어 있는 것으로 나타났다. Yan(21)등은 10여종의 해조식물을 대상으로 fucoxanthin의 항산화 활성을 측정한 결과, 툫과 미역 추출물에서 항산화 활성이 가장 우수하였고 이어 미역귀,

미역엽, 미역줄기 순인 것으로 밝혔으며 이것은 해조식물이 함유하고 있는 fucoxanthin 함량과 밀접한 관계가 있음을 보고하였다.

Table 1. Fucoxanthin content extracted from *Underia pinnatifida*

<i>Undaria pinnatifida</i>	Fucoxanthin content (mg/100g, dry basis)
Blade	87.6±3.3 ¹⁾
Stem	62.4±1.3
Sporophyll	127.7±6.3

¹⁾ Mean±SD (n=3)

Fucoxanthin의 분광학적 특성

상기의 부위별 미역으로부터 추출한 fucoxanthin획분의 색소조성에 대한 정보와 정제를 목적으로 silica gel column chromatography를 행하였다. Fucoxanthin색소는 Fig. 2에 나타낸 것처럼 *n*-hexane : acetone (7 : 3 v/v)용매계로 용출하면서 fucoxanthin의 최대 흡수극대인 444 nm에서 모니터하면서 fucoxanthin 색소라고 인정되는 각각의 획분은 모아 농축하였다. Fucoxanthin의 분광학적 특성은 Fig. 3에 나타낸 것처럼 444 nm에서 최대흡수를 나타내는 전형적인 carotenoids의 특성을 나타내었다. Haugan 등(18)은 fucoxanthin이 해조류 중 Chromophyta속, Chrysophyceae속, Prymnesiophyceae속, Phaeophyceae속에 함유되어 있고, 대부분 갈조류에 다량 함유되어 있는 것으로 보고하였다. 또한 fucoxanthin색소의 분광학적 특징은 420 nm, 444 nm, 467 nm에서 흡수특성을 나타낸다고 보고하여 본 연구에서 얻어진 fucoxanthin색소의 분광학적 특성과 잘 일치하여 미역의 carotenoid 색소는 fucoxanthin인 것으로 판단되었다.

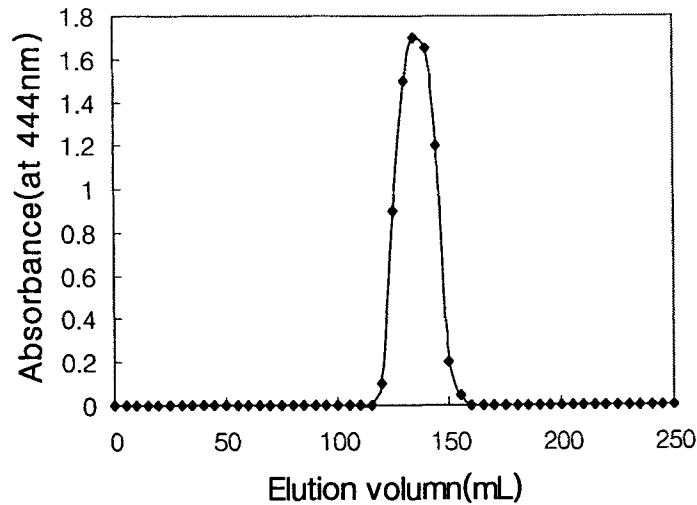


Fig. 2. Elution profiles of fucoxanthin by silica gel column chromatography.

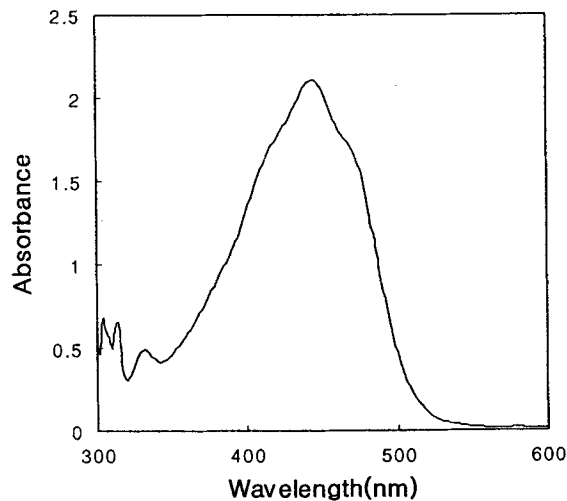


Fig. 3. Visible absorption spectra of fucoxanthin isolated from silica gel column chromatography

정제 및 HPLC상의 거동

Silica gel column chromatography에서 얻어진 fucoxanthin 색소를 더욱 정제하기 위하여 HPLC를 행하였다. 순상계 column을 사용한 fucoxanthin의 HPLC chromatogram은 Fig. 4에 나타난 것처럼 retention time이 8.1분에서 단일 피크를 나타내었다. HPLC에서 얻어진 단일피크의 획득은 합하여 농축하고 fucoxanthin 자동산화에 이용할 시료로 사용하였다.

HPLC로 정제하여 얻어진 fucoxanthin을 dichloromethane에 용해하고 생체막 구조인

인지질 안에서의 거동을 살펴본 결과는 Fig. 5에 나타났다. 인지질에서의 fucoxanthin은 retention time이 14.6분으로 나타났으며 자동산화 후 생성된 fucoxanthin의 산화물은 retention time이 5.5분부터 8.5분 사이에 5개의 산화물의 피트로 나타났다. 이러한 결과는 김 등(19,20)이 lycopene과 phytofluene을 대상으로 한 인지질에서 다양한 산화개열산물이 생성되는 경향과 유사하였으며, 대부분의 carotenoids가 가지고 있는 이중결합이 개열되면서 새로운 생체기능성 물질을 생성하는 것으로 판단된다.

한편 최근의 연구에서 천연색소 뿐만아니라 그 대사산물이 산화 스트레스에 의한 다중 다양한 질병의 발증의 억제에 큰 관계가 있다는 관점에서 다양한 연구들이 진행되고 있다. 즉 Mordi 등(22)은 benzene에 용해된 β -carotene이 자동산화에 의해 retinal, apocarotenal등의 산화개열산물이 생성한다고 하였고, canthaxanthine이 세포배양용 배지에서 산화되어 4-oxo-retinoic acid가 생성하며 이 물질이 F9 embryonal carcinoma의 분화 유도활성을 나타냈다는 보고(23), β -Carotene이 3-chloroperoxybenzoic acid에서 자동산화에 의해 5,8-endoperoxy-2,3-dihydro- β -apocarotene-13-one을 생성하였으며 이 화합물이 유방암세포의 생육 및 콜레스테롤 합성의 억제효과를 나타냈다고 한다(24). 그리고 Araki 등(25)과 Shidoji와 Muto(26)가 비환식 retinoid가 발암억제 작용을 한다는 보고는 비환식 retinoid가 retinoid receptor의 ligand로 작용하며, 특히 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid, geranyl geranyl acid가 all-trans retinoic acid와 동일한 생물활성을 나타냈다고 한다. 이들의 보고는 산화스트레스를 받은 조직에 있어서 carotenoid가 비효소적인 산화반응에 의해 대사 분해되어 retinoid와 유사한 물질로 변환되며, 그 산화분해물들이 생물활성을 발현할 가능성이 있다는 것을 시사하고 있다. 그리고 김(27)은 ζ -carotene의 자동산화에 따른 ζ -carotene유래의 산화개열산물의 동정연구를 통하여 carotenoids가 생체내에서 분해되어 Vitamin A 유사활성 물질이 생성됨을 확인하였으며 이들 활성성분들이 소장내의 효소들과 반응하여 acidic compound를 생성하거나 생체기능을 담당하는 것으로 보고하였다.

본 연구에서의 fucoxanthin은 해조류에 대부분 함유되어 있고 인간이 미역 등을 섭취할 때 생체에 축적되거나 분해되어, 생성된 산화대사산물이 생체에서 기능적 역할을 담당할 수 있는 가능성이 매우 높다. 현재 fucoxanthin이 생체계에서 산화되어 분해산물을 생성하는 경향을 바탕으로 fucoxanthin 대사산물의 구조분석 및 생체기능성 연구가 진행중에 있다.

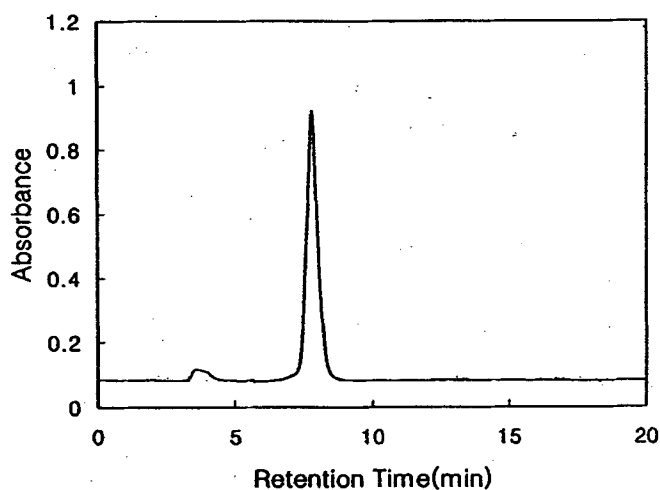


Fig. 4. HPLC chromatogram of fucoxanthin by silica gel column chromatography.

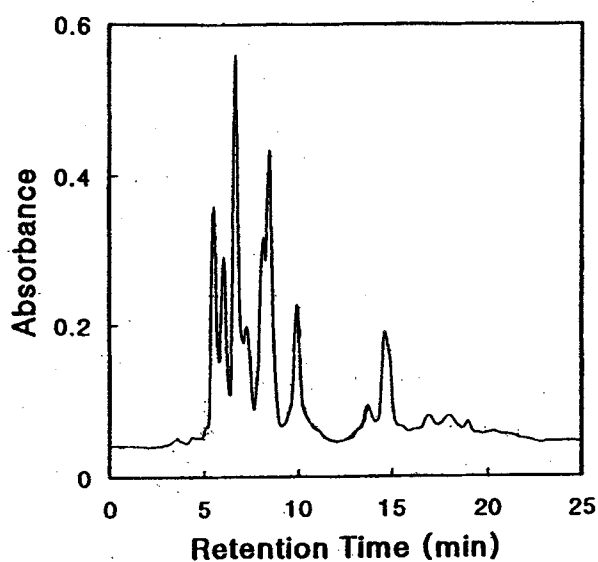


Fig. 5. HPLC chromatogram of cleavage products formed by autoxidation of fucoxanthin. Fucoxanthin was solubilized at 50 μ M in liposomal suspension of 5 mM dimyristoylphosphatidylcholine and incubated at 37°C for 24 hr.

참 고 문 헌

1. Kechrer JP. 1993. Free radical as mediations of tissue injury and disease. *CRC Crit Rev Toxicol* 23: 21-48.
2. Choi HS, Kim SS, Kim JG, Kim WJ. 1992. Effect of temperature on some quality characteristics of aqueous extracts of sea mustard. *Korean J Food Sci Technol* 24: 382-386.
3. Kim WJ, Choi HS. 1994. Development of combined methods for effective extraction of sea mustard. *Korean J Food Sci Technol* 26: 44-50.
4. Lee DS, Kim HR, Pyeun JH 1998. Effect of low-molecularization on rheological properties of alginate. *J Korean Fish Soc* 31: 82-89.
5. Koo JG, Jo KS, Do JR, Woo SJ. 1995. Isolation and purification of fucoidans from *Laminaria religiosa* and *Undaria pinnatifida* in Korea. *J Korean Fish Soc* 28: 227-236.
6. Zhuang C, Itoh H, Mizuno T, Ito H. 1995. Antitumor active fucoidan from the brown seaweed, *Umitoranoo*(*Sargassum thunbergii*). *Biosci Biotechnol Biochem* 59: 563-567.
7. Rhee SH. 1972. A study on the calcium and iron content of the *Undaria pinnatifida suringar*. *J Korean Soc Food Nutr* 1: 25-31.
8. Suzuki T, Nakai K, Yoshie Y, Shirai T, Hirano T. 1993. Effect of sodium alginates rich in guluronic acid and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol-fed rats. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59: 545-551.
9. Mascio P, Kaiser S, Sies, H. 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* 274: 532-538.
10. Rao AV, Agarwal S. 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases. *Nutr Res* 19: 305-323.
11. Giovannucci, E. 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer. *J National Cancer Institute* 91: 317-331.
12. Hu X, White KM, Jacobsen NE, Mangelsdorf DJ, Canfield LM. 1988. Inhibition of growth and cholesterol synthesis in breast cancer cells by oxidation products of β -carotene. *J Nutr Biochem* 9: 567-574.

13. Araki H, Shidoji Y, Yamada Y, Moriwaki H, Muto Y. 1995. Retinoid agonist activities of synthetic geranyl geranoic acid derivatives. *Biochem Biophys Res Commun* 209: 66-72.
14. Shidoji Y, Muto Y. 1999. Acyclic retinoids and their cancer preventive action. *Vitamin* 71: 221-234.
15. Ktinsky NI. 1993. Micronutrients and their influence on mutagenicity and malignant transformation. *Ann New York Acad Sci* 686-691.
16. Krinsky NI 1994. Carotenoids and cancer, basic research studies, natural antioxidants in human health and disease. *Ann. New York Acad Sci* 239-245.
17. Gerster H. 1993. Anticarcinogenic effects of common carotenoids. *Int J Vitam Nuri Res* 63: 93-98.
18. Haugan JA, Aakermann T, Liaaen-Jensen S. 1992. Isolation of fucoxanthin and peridinin. *Methods in Enzymology* 213: 231-245.
19. Kim SJ, Nara E, Kobayashi H, Terao J, Nagao A. 2001. Formation of cleavage products by autoxidation of lycopene. *Lipids* 36: 191-199.
20. Kim S. 2000. Autoxidation products of phytofluene in liposome and conversion of phytapentaenal to 4,5-didehydrogeranyl geranoic acid in pig liver homogenate. *Journal of Food Science and Nutrition*, 5: 234-238.
21. Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 605-607.
22. Mordt RC, Walton JC, Burton GW, Hughes L, Ingold, KU, Lindsay DA, Moffatt DJ. 1993. Oxidative degradation of β -carotene and β -apo-8'-carotenal. *Tetrahedron* 49: 911-928.
23. Nikawa T, Schulz WA, Brink CE, Hanusch M, Saag P, Stahl W, Sies H. 1995. Efficacy of all-trans- β -carotene, canthaxanthine, and all-trans-, 9-cis- and 4-oxoretinoic acids in inducing differentiation of an F9 embryonal carcinoma RAR β -lac-Zreporter cell line. *Arch Biochem Biophys* 316: 665-672.
24. Hu X, White KM, Jacobsen NE, Mangelsdorf DJ, Canfield LM. 1988. Inhibition of growth and cholesterol synthesis in breast cancer cells by oxidation products of β -carotene. *J Nutr Biochem* 9: 567-574.

25. Araki H, Shidoji Y, Yamada Y, Moriwaki H, Muto Y. 1995. Retinoid agonist activities of synthetic geranyl geranoic acid derivatives. *Biochem Biophys Res Commun* 209: 66-72.
26. Shidoji Y, Muto Y. 1999. Acyclic retinoids and their cancer preventive action. *Vitamin* 71: 221-234.
27. Kim SJ. 2000. Oxidative cleavage products of ζ -carotene. *Korean J Food Sci Technol* 32: 985-990

제 6 절 미역귀를 이용한 잼의 제조 및 품질특성

김 선 재 (목포대학교 식품공학과)

서 론

미역(*Undaria pinnatifida*)은 갈조류(Brown algae)의 곤포과에 속하는 1년생 해조류로서 칼슘, 칼륨, 철분, 요오드 등의 무기질 성분, 각종 비타민 등의 영양성분과 정미성분이 함유되어 있고(1,2), 최근 생리활성 물질로 각광을 받고 있는 항암효과가 있는 것으로 밝혀진 fucoidan과 미역의 세포막 구성성분으로 다량 존재하는 alginic acid 등의 산성 다당류가 대량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(3-5). 특히 alginic acid는 D-mannuronic acid 와 L-guluronic acid가 동일 분자 내에 β -1,4 결합을 하고 있는 직쇄상의 복합다당류로 콜레스테롤 배출 작용, 중금속(Cd), 방사능 물질(Sr)의 체내 흡수 억제 및 배출 작용과 정장작용이 있어 dietary fiber로서 효과(6,7)가 알려져 있다.

미역은 예부터 산모나 병약자의 건강을 회복하는 영양식으로 중요할 뿐만 아니라 조리한 미역국 등은 특유의 부드러운 맛과 점성이 있어 조미의 역할로서도 중요한 식품으로 오랫동안 섭취해온 해조류이다. 미역의 소비를 증대시키고 효율적으로 이용하기 위해서는 산업화가 가능할 만큼 기호성이 뛰어난 제품으로 가공하는 것이 바람직하다. 그러나 현재까지의 연구들은 미역분말주스(8), 미역줄기 잼(9), 미역 김(10,11), 미역 양갱(12), 미역농축물(13) 등이 있지만 미역귀를 이용한 상품화 연구 등은 미미한 실정이다.

미역은 열량보다도 건강 및 약리적으로 우수한 식품임에도 불구하고 지속적인 내수소비 및 대일 수출감소로 재고가 매년 누적됨에 따라 미역 양식산업의 채산성은 날로 악화되어 가고 있는 실정이다. 그 이유는 해조류는 생물상태로는 유통이 매우 취약하여 가공이 필수적인데 현재 미역의 경우는 건조미역이나 염장미역 등 단순 일차가공품으로만 가공되고 있어 품질의 고급화, 다양화 및 편리화를 요구하는 소비자의 욕구를 충족시키지 못하고 있기 때문이다. 게다가 최근 값싼 중국산 미역이 일본으로 수출되어 더 한층 우리나라의 대일 수출은 감소하고 있다. 따라서 일시 다핵성 해조류를 연중 유통, 가공할 수 있는 가공방법을 개발하여 과잉 생산된 해조류의 가격을 안정화 시키고, 내수증진은 물론 수출경쟁력을 확보하기 위한 부가가치가 높은 상품을 창안하기 위한 체계적인 연구가 시급한 실정이다.

본 연구에서는 미역의 부위 중 알긴산 함량이 높게 함유된 것으로 알려진 미역귀를 이

용하여 미역 잼을 제조하였고, 특히 미역취를 마스킹하여 보다 기호성이 뛰어난 잼 제품의 제조를 시도하였다.

재료

미역귀는 전라남도 목포시 산정동 소재 해초샐러드 제조업체인 환길산업에서 구입하였다. High methoxyl pectin(HM pectin : esterification degree, 74%), citric acid(purity, 100%), sodium citrate(purity, 99%), tartaric acid(purity, 99.8%) 및 malic acid(purity, 99%)는 상업용으로 이용되는 것으로 구입하였다. 미역취를 차폐하기 위해 사용한 합성 딸기향은 주식회사 명신화성에서, 계피는 목포시 한약방에서 구입한 것을 분쇄하여 사용하였다.

일반성분

일반성분은 AOAC법(14)에 의해 수분은 상압가열법, 조단백질은 Semimicro-kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 회분은 건식회화법으로 측정하였다. 당질은 고형분의 총량에서 조단백질, 조지방 및 회분을 뺀 값으로 나타내었다.

알긴산 수율 측정

미역귀로부터 알긴산의 추출은 Cho 등(15)등이 제시한 방법으로 알긴산을 추출, 제조하였다. 추출된 알긴산 추출액을 스텐레스 plate위에 얇게 펼치고 -60℃로 급속 동결한 후 12시간 동안 동결건조하여 얻어진 알긴산 분말을 얻고 건조중량 %로 하여 알긴산 수율로 표시하였다. 비교구로서는 미역줄기를 대상으로 실시하였다.

미역귀 잼의 제조

미역귀를 자숙한 후 약 4일간 염지(Be' 25)한 다음 약 24시간 동안 물에 침지하여 탈염시켰다. 탈염된 미역귀를 Mixer(Kaiser KA-2400, Germany)로 조분쇄하고 homogenizer(OMNI, Model NO. 17105, U.S.A.)로 균질화한 다음 50 mesh 체로 여과하였다. 여과되지 않는 부분은 여과될 때까지 다시 균질화하였다. 그리고 여과하는 동안에는 탈염하고 불린 미역귀의 2.5배의 물을 첨가하였다. 이 과정을 통하여 미역귀 1 kg으로부터 미역귀 페이스트 2.1 kg을 얻을 수 있었다. 얻어진 점액성의 미역귀 페이스트(1.0 °Brix)는 일정량씩 나누어 동결하여 두고 필요할 때에 해동하여 잼 제조원료로 사용하였다.

미역귀 잼 제조시 사용되는 원료의 조성은 Ahn 등(16)이 제안한 미역줄기를 이용한 잼의 제조조건을 참고하였다. 미역귀 잼의 제조는 미역귀 페이스트 100 g에 sucrose 60 g를 넣고, 가열하여 약 50 °Brix에 달한 후 잠시 가열을 멈추고 pectin(HM pectin) 0.75 g을 넣고 계속 가열하였다. 약 55 °Brix에 도달한 후 citric acid 0.3 g을 첨가한 다음(수용액상태로 첨가), 일정 농도(62 °Brix)가 될 때까지 가열하여 미역귀 잼을 제조하였다. 미역귀를 차폐할 목적으로 사용한 계피가루는 가열초기에 0.5 g씩 첨가했고, 인공 딸기향은 가열이 끝난 직후 첨가하였다.

Texture의 측정

미역귀 잼의 조직감(rheological property)은 제조 후 냉장 보관된 잼을 직경 4.5cm, 높이 5.0cm의 비커에 4cm 높이로 잼을 채우고 수직형 원형의 adaptor를 사용하여 Rheometer(Model CR-100D, Sun Sci. Co. Japan)로 측정하여 얻어진 force-deformation 곡선으로부터 TPA(texture profile analysis) parameter로 겔 강도(gel strength)와 경도(hardness) 그리고 점착성 (adhesiveness)을 측정하였다.

관능검사

잼의 관능 검사는 10인의 관능검사 요원에 의해 실시하였다. 본 대학의 식품공학과 학부생 및 대학원생, 연구원을 Panel로 하여 색깔, 향, 맛, 조직감 등을 5단계 평점법(5점 : 매우좋다, 4점 : 좋다, 3점 : 보통이다, 2점 : 나쁘다, 1점 : 매우나쁘다)으로 평가한 후 결과를 통계 분석 하였다.

미역귀의 일반성분

미역귀의 일반성분은 미역줄기와 비교하여 Table 1에 나타냈다. 미역귀의 수분함량은 83.6%로 미역줄기 85.3%로 차이가 크지 않았다. 단백질과 탄수화물은 미역줄기보다 각각 3.4배, 2.0배로 높았고, 회분은 미역줄기가 다소 높은 경향을 나타냈다. 지방함량도 미역귀가 높아 전반적으로 미역귀에 영양성분이 더 많은 것으로 나타났다.

Table 1. Proximate composition of sea mustard stem and sporophyll

(g/100 g)

	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Carbo-hydrate	Ash
Sea mustard stem	85.3	0.7	0.9	4.4	8.7
Sea mustard sporophyll	83.6	2.4	1.6	9.1	3.3

미역귀의 알긴산 수율

미역귀에 함유되어 있는 알긴산의 함량은 Table 2에서와 같이 Nishide 등(17)이 제시한 열수 추출하는 방법, 수용성 알긴산 추출법, 알칼리 가용성 알긴산 추출법으로 측정된 결과, 알칼리 가용성 알긴산 추출법이 가장 높은 수율을 나타내었다. 본 결과는 Cho 등(15)이 다시마로부터 알긴산을 상기의 방법으로 추출한 결과 알긴산 수율은 알칼리 가용성 알긴산 추출법이 가장 우수하였다고 보고하였는데 본 연구에서도 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 본 연구에서는 알칼리가용성 알긴산 추출법에 의한 미역귀 알긴산 수율이 33.8%를 나타내었고, 비교구로서 미역줄기의 알긴산 수율이 22.3%를 나타냈다. 한편, 일본산 참다시마의 알긴산염 함량은 30~45%(18), 한국산 다시마와 미역의 알긴산염 함량은 각각 24.5%, 25.3~29.6%라고 보고(19)하였는데, 각각의 알긴산 함량이 큰 차이를 보이는 것은 채취시기별 및 산지별로도 그 함량의 차이에 의한 것으로 보고되고 있다. 따라서 미역귀는 잼 및 기타 식품제조의 소재로서 알긴산 함량 면에서 우수하고 기능성 식품으로서의 그 이용성이 높다고 판단된다.

Table 2. The yield of several alginates obtained from *Undaria pinnatifida*

Kinds of extracts	Yield (%)	
	Sea mustard stem	Sea mustard sporophyll
Hot-water extractable	10.4±0.12	15.8±0.22*
Water-soluble alginate	3.5±0.03	20.4±0.34
Alkali-soluble alginate	22.3±0.45	33.8±0.37

*Mean±S.D

°Brix 에 따른 미역귀 잼의 물리적 특성

미역귀 페이스트 100 g에 sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g 및 sodium citrate 또는 citric acid 0.3 g를 첨가하고 최종 농도를 58~66 °Brix로 달리하여 제조한 미역잼 제품의 TPA(texture profile analysis) parameter는 Fig. 1과 같다. Sodium citrate를 첨가하여 만든 제품의 경우 adhesiveness, hardness 및 gel strength 모두 농도가 증가할수록 증가하였다. 58~66 °Brix 제품 모두가 어느 정도의 gel이 형성되었으나, 끈적거리는 느낌이 강해 바람직하지 못하였다. Citric acid를 첨가하였을 경우(Fig. 2)도 농도 증가에 따른 TPA parameter는 증가하였고 증가 경향은 sodium citrate와 비슷했으나 값이 훨씬 크게

나타났다. 미역귀 잼은 64 °Brix의 시료부터는 증가경향이 커져 gel strength가 크게 나타났다. Citric acid 첨가 시료의 gel strength가 높게 나타난 것은 citric acid 첨가로 pH가 6.01에서 2.96으로 낮아졌기 때문이라 생각된다. Citric acid 첨가는 과일잼과 유사한 신맛을 띠었고, °Brix 64 및 66 시료는 gel strength가 강하여 잼 제품으로 부적합한 것으로 판단되었다. 신맛의 정도는 °Brix 62의 시료가 가장 적합하였고, sodium citrate 첨가시료와는 달리 citric acid 첨가시료는 끈적거림이 거의 없었다.

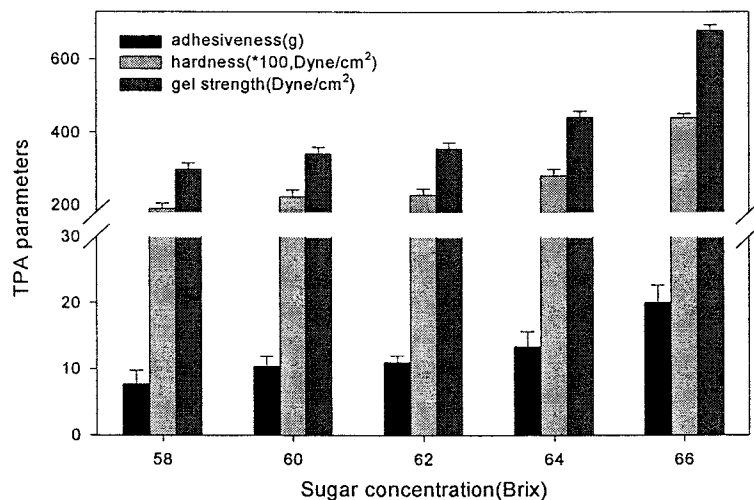


Fig. 1. Effect of sugar on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam.
 (The samples were prepared by adding of sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g, and sodium citrate 0.3 g in the sea mustard sporophylls paste 100 g and heating till reaching the desired concentration of 58~66. Brix.)

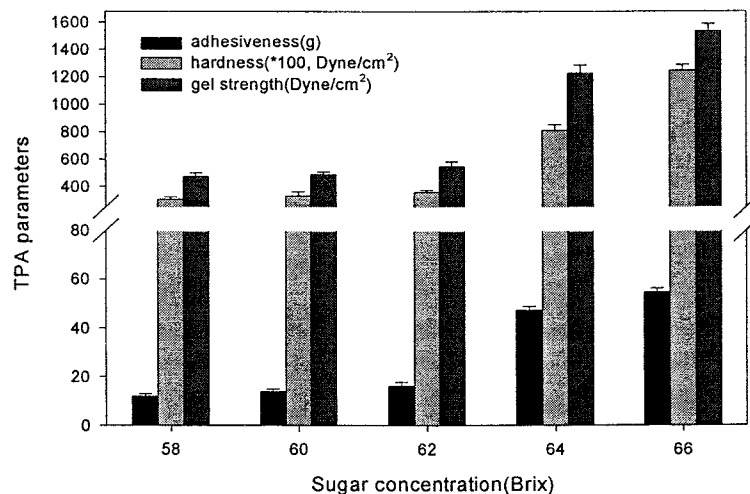


Fig. 2. Effect of sugar on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam.
 (The samples were prepared by adding of sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g and citric acid 0.3 g in the sea mustard sporophylls paste 100 g and heating till reaching the desired concentration of 58~66. Brix.)

HM pectin과 유기산의 농도에 따른 미역귀 잼의 물리적 특성

미역귀 페이스트 100 g에 sucrose 60 g과 citric acid 0.3 g을 첨가하고 HM pectin을 0.25~1.25 g의 범위로 달리 첨가하여 제조한 미역잼 제품(62 °Brix)의 물성은 Fig. 3과 같다. 미역귀 잼은 pectin 0.25 g 첨가시료에서 약간의 gel이 형성되었고 그 이상의 농도에서는 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 pectin 첨가량의 영향을 적게 받았는데, 미역귀에 있는 고분자 물질인 알긴산의 함량이 높아 알긴산의 영향이 잼의 물성에 큰 영향을 미치는 것으로 사료된다. 미역귀 페이스트 100 g에 Sucrose 60 g과 HM pectin 0.75 g을 첨가하고 citric acid를 0.1~0.5 g의 범위로 첨가하여 제조한 제품(62 °Brix)의 물성을 살펴보면 Fig. 4와 같다. Citric acid의 첨가 농도가 증가할수록 TPA parameter값이 증가하였고 관능적으로 볼 때 역시 citric acid 0.3 g 첨가 제품이 가장 좋았고 그 이상의 첨가 제품은 gel strength가 너무 강했다. 한편, 미역귀 페이스트 100 g에 sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g 및 3종 유기산(tartaric acid, citric acid, malic acid)을 각각 0.3 g 첨가하여 제조한 제품(62 °Brix)의 TPA parameter는 Fig. 5와 같다. Gel strength는 tartaric acid, citric acid 그리고 malic acid 순으로 나타났는데, 이는 pH의 영향이 크다고 보여진다. 각각의 유기산이 미역귀 paste에서의 pH를 보면 tartaric acid는 pH 2.64, citric acid는 pH 2.82, malic acid pH 2.88로 나타났다. .

미역귀 페이스트 100 g에 Sucrose 60 g과 HM pectin 0.75 g을 첨가하고 sodium citrate를 0.1~0.5 g의 범위로 첨가하여 제조한 제품(62 °Brix)의 물성을 살펴보면 Fig. 6과 같다. sodium citrate의 첨가 농도가 증가할수록 미비하게나마 증가했지만 관능적으로 볼 때 gel strength 에 미치는 영향은 적었다. 0.1~0.5 g 모두 비슷한 값을 나타내었고, gel 형성도 그다지 좋지 못했다.

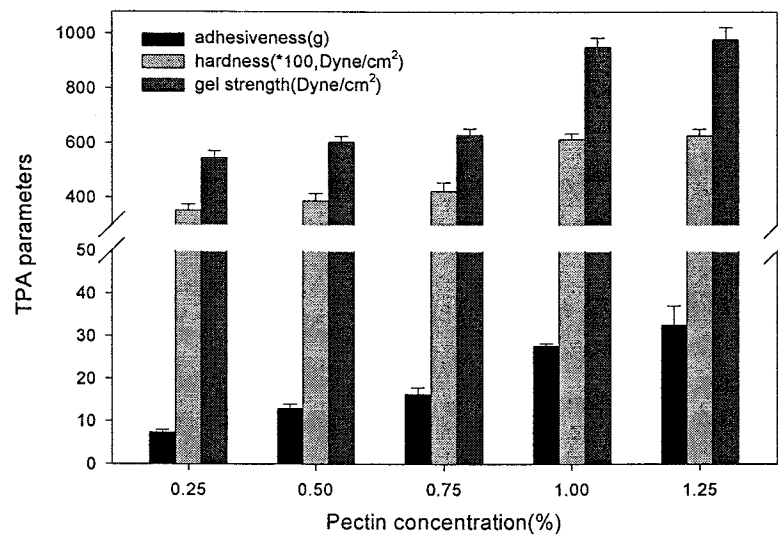


Fig. 3. Effect of HM pectin on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam.
 (The samples were prepared by adding of sucrose 60 g, HM pectin 0.25~1.25 g and citric acid 0.3 g in the sea mustard sporophylls paste 100g and heating till reaching the desired concentration of 62 °Brix.)

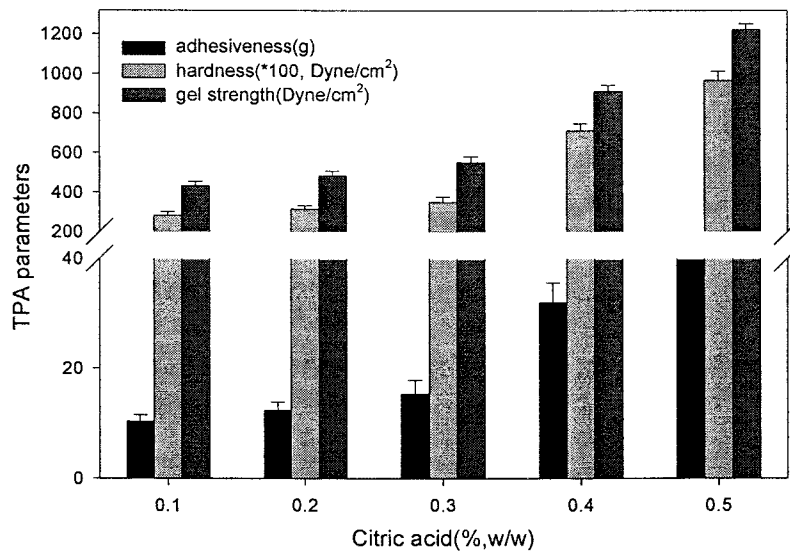


Fig. 4. Effect of citric acid on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam.
 (The samples were prepared by adding of sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g and citric acid 0.1~0.5 g in the sea mustard sporophylls paste 100 g and heating till reaching the desired concentration of 62 °Brix.)

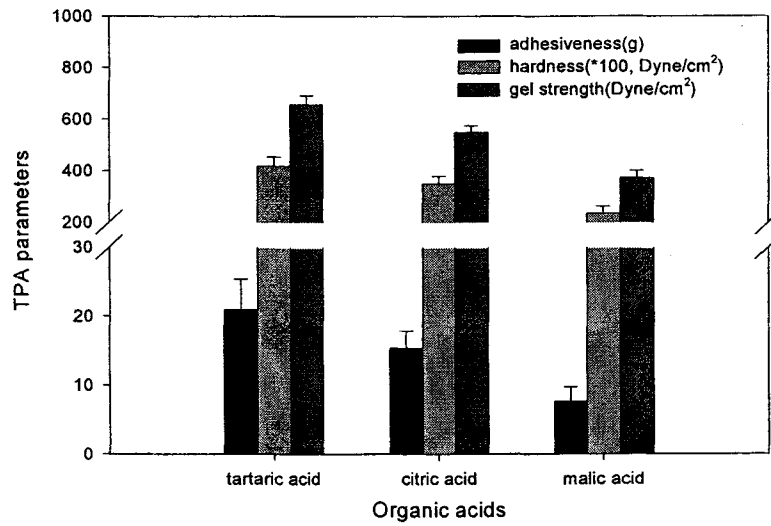


Fig. 5. Effect of organic acids on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam.
 (The samples were prepared by adding of sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g and each organic acid(tartaric acid, citric acid, malic acid) 0.3 g in the sea mustard sporophylls paste 100 g and heating till reaching the desired concentration of °Brix.)

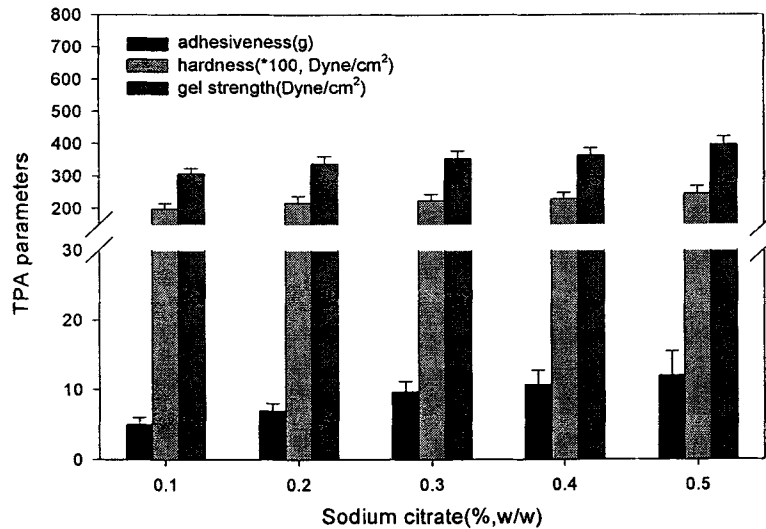


Fig. 6. Effect of sodium citrate on TPA parameters of sea mustard sporophylls jam.
 (The samples were prepared by adding of sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g and sodium citrate 0.1~0.5 g in the sea mustard sporophylls paste 100 g and heating till reaching the desired concentration of 62 °Brix.)

미역귀 잼의 관능적 특성

상기의 결과를 바탕으로 우수하다고 판단되는 미역귀 잼(미역귀 페이스트 100 g에 sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g 및 citric acid 0.3 g을 첨가하고 가열하여 62 °Brix로

한 제품 A ; 미역귀 페이스트 100 g에 sucrose 60 g, HM pectin 0.75 g 및 citric acid 0.3 g, 계피 가루 0.5 g을 첨가한 제품 B와 가열초기에 계피가루 0.5 g을 첨가하고 가열 직후 합성 딸기향을 0.08 g 첨가한 경우의 제품 C)의 품질을 10인의 훈련된 관능검사 요원을 통해 비교, 검토한 결과는 Table 3과 같다.

Table 3. Sensory evaluation of the sea mustard sporophylls jam

Sample jam	Mean score				
	Texture	Odor	Taste	Color	Overall acceptance
A	3.1 ^a	2.1 ^a	2.1 ^a	2.9 ^a	2.4 ^a
B	2.5 ^a	2.8 ^a	2.8 ^{a,b}	2.5 ^a	2.4 ^a
C	2.7 ^a	3.5 ^b	3.2 ^b	2.8 ^a	3.1 ^b

^{a-b} : Mean scores of the same letter within a column are not significantly different at the 5% level. 5-point hedonic scale : 5 ; very good, 4 ; good, 3 ; acceptable, 2 ; poor, 1 ; very poor.

미역귀 잼의 관능적 특성은 조직감 면에서는 3가지 제품의 값이 비슷한 경향을 보였으나, 향 및 냄새는 계피가루와 합성 딸기향을 첨가한 제품 C가 가장 우수하였는데, 제품 C가 계피가루와 합성 딸기향의 향으로 인해 미역고유의 해조취가 차폐되어 관능평가의 결과가 더 우수한 것으로 나타났다. 맛의 경우는 해조취가 많이 차폐된 제품 C가 가장 좋았고, 색은 거의 비슷한 값을 나타냈었다. 전체적으로 계피가루와 합성 딸기향을 첨가한 제품 C가 더 우수하게 나타났다. 이의 결과로 미루어 미역줄기 잼이 상업화되기 위해서 미역의 해조취의 제거 또는 차폐가 중요하다고 생각된다.

요 약

1. 미역의 부위별 fucoxanthin 함량은 미역엽 87.6 mg/100g, 미역줄기에 62.4 mg/100g 그리고 미역귀에 127.7 mg/100g를 나타내어 미역귀에 함유되어 있는 fucoxanthin 함량이 미역엽에 비해 1.4배, 미역줄기에 비해 2.0배 더 함유되어 있는 것으로 나타났다. Fucoxanthin은 444nm에서 최대흡수극대를 나타내는 전형적인 carotenoids의 분광학적 특성을 나타냈다. 미역에 존재하는 fucoxanthin은 용매분획, silica gel column chromatography와 HPLC 수법을 이용하여 분리 정제하고, 얻어진 fucoxanthin을 인공생

체막인 인지질에서의 자동산화에 이용하였다. 인지질에서 50 μ M fucoxanthin을 37°C에서 72시간 자동산화시킨 결과, 5개의 산화물이 생성되었다. 이러한 산화물은 *in vitro* 상의 산화적 조건하에서 fucoxanthin 자동산화에 의해 생성된 산화개열산물로 생각되었다.

2. 미역귀의 알긴산 함량은 알칼리가용성 알긴산 추출법에 의한 미역귀 알긴산 수율이 33.8%, 비교구로서 미역줄기의 알긴산 수율이 22.3%를 나타내어 알긴산 수율은 미역귀가 높게 나타났다. 미역귀 잼의 주원료인 미역귀 페이스트는 미역귀를 자숙, 염장하여 건조한 것을 물에 침지하여 탈염하고 물기를 뺀 후, 2.5배의 물을 가하여 초퍼와 호모게나이저를 차례로 써서 균질화한 다음, 50 mesh 체로 여과하여 제조하였다. 미역귀 잼은 미역귀 페이스트에 설탕, HM pectin 및 유기산(또는 유기염)을 순차적으로 첨가하면서 일정 농도까지 가열, 농축한 다음 잼 제품으로서 품질을 유지하고 미역귀를 차폐할 목적으로 계피가루와 합성 딸기향을 일정량 가하여 제조하였다. 잼 제조시 설탕, 펙틴, 유기산 및 유기염이 제품의 물성에 미치는 영향을 기계적 및 관능적으로 살펴본 결과, 미역 페이스트에 설탕 60%(w/w), HM pectin 0.75%(w/w), citric acid 0.3%(w/w)를 첨가하여 62. Brix로 한 제품이 물성면에서 양호하였고, 미역 특유의 바람직하지 못한 해조취를 차폐하기 위해 계피 가루 0.5%(w/w)와 합성 딸기향 0.08%(w/w)을 첨가한 제품이 관능적으로 우수한 제품을 얻었다.

참 고 문 헌

1. Choi HS, Kim SS, Kim JG and Kim WJ. 1992. Effect of temperature on some quality characteristics of aqueous extracts of sea mustard. *Korean J Food Sci Technol* 24: 382-386.
2. Kim, W.J. and Choi, H.S. 1994. Development of combined methods for effective extraction of sea mustard. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 44-50
3. Lee, D.S., Kim, H.R. and Pyeon, J.H. 1998. Effect of low-molecularization on rheological properties of alginate. *J. Korean Fish. Soc.* 31: 82-89
4. Koo, J.G., Jo, K.S., Do, J.R. and Woo, S.J. 1995. Isolation and purification of fucoidans from *Laminaria religiosa* and *Undaria pinnatifida* in Korea. *J. Korean Fish. Soc.* 28: 227-236
5. Zhuang, C., Itoh, H., Mizuno, T. and Ito, H. 1995. Antitumor active fucoidan from the brown seaweed, *Umitoranoo*(*Sargassum thunbergii*). *Biosci. Biotech. Biochem.* 59:

6. Rhee, S.H. 1972. A study on the calcium and iron content of the *Undaria pinnatifida suringar*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 1: 25-31
7. Suzuki, T., Nakai, K., Yoshie, Y., Shirai, T. and Hirano, T. 1993. Effect of sodium alginates rich in guluronic acid and mannuronic acids on cholesterol levels and digestive organs of high-cholesterol-fed rats. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 59: 545-551
8. Lee, E.H., Cha, Y.J., Kim, J.G. and Kwon, C.S. 1983. Studies on the processing and utilization of seaweeds 1. Preparation of powdered sea mustard, *Undaria pinnatifida*, mixtures for juice type. *Korean J. Food Nutr.* 12: 382-386
9. Cha, Y.J., Lee, E.H. and Park, D.C. 1988. Studies on the processing and utilization of seaweeds. II. Studies on the processing of sea mustard jam. *Bull. Korean Fish. Soc.* 21: 42-49
10. Kim, K.H. and Kim, C.H. 1982. Studies on the manufacture of *Underia pinnatifida* laver and its physicochemical properties. I. Histochemical properties. *Korean J. Food Sci. Technol.* 14: 336-341
11. Kim, K.H. and Kim, C.H. 1983. Studies on the manufacture of *Underia pinnatifida* laver and its physicochemical properties. II. Chemical properties. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 15: 277-281
12. Joo, D.S. 1990. A study on the processing of sea mustard yankeng. A master's thesis of National Fisheries University of Busan.
13. Lee, K.H., Lee, D.H., Cho, H.S. and Jung, W.J. 1993. Studies on the preparation and utilization of sea mustard extracts with the treatment conditions. *Bull. Korean Fish. Soc.* 26: 409-415
14. AOAC. 1990. *Official Method of Analysis.* 15th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., USA.
15. Cho, S.Y., Kang, H.J., Joo, D.S., Lee, J.S. and Kim, S.M. 1999. A comparative study on physical properties and gel formation abilities of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate extracted from *Laminaria japonica* in east sea, Korea. *J. Korean Fish. Soc.* 32: 774-778
16. Ahn, C.B., Shin, T.S. and Nam, T.S. 2000. A trial for preparation of jam using sea mustard stem. *J. Korean Fish. Soc.* 33: 423-430

17. Nishide, E., Kinoshita, Y., Anzai, H. and Uchida, N. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaish* 54: 1619-1622
18. Ukeda, H., Iida, M., Sawamura, M. and Kusunose, H. 1996. Relationship between chemical properties of alginate extracted from brown algae and sodium ion binding capacity in vitro. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*. 43: 569-574
19. Kim, C.Y. and Park, Y.H. 1975. Alginic acid contents in brown algae. *Bull. Nat. Fish. Univ. Busan* 15(1,2): 27~30

제 7 절 해조류 추출물을 이용한 젤리 제품의 개발

정 순 택 (목포대학교 식품공학과)

서 론

국내 연안에서 생산되는 해조류 총생산량은 777천톤에 달하고 다양한 종의 갈조류가 서식하고 있을뿐만 아니라 양식 기술의 발달로 인하여 미역, 다시마, 김등이 매년 과잉 생산되고 있어 이를 이용한 새로운 가공제품의 개발이 요구되고 있다. 이중 김, 미역, 다시마는 총해조류 생산량의 92.3를 차지하는 양식어민의 주요 소득원이다. 해조류에는 칼슘, 칼륨, 철분, 요오드 등의 무기질 성분, 각종 비타민등의 영양성분과 정미성분이 함유되어 있고, 또한 최근 생리활성 물질로 인정받고 있는 porphyran, fucoidan, alginic acid 등의 산성 다당류가 다량 함유되어 있어 이들 해조류의 활용 가능성은 매우 높다고 생각된다. 그러므로 미역, 다시마, 김 추출물을 이용한 제품을 개발하는 것은 해조류의 소비 증진 이외에도 소비자의 건강 증진이란 측면에서도 바람직하다고 볼 수 있고 이에 적합한 식품중의 하나가 젤리라고 할 수 있다. 남해안에서 주로 생산되는 김, 미역, 다시마의 건강 기능성을 확인하고, 이들의 수요를 개발하고 소비를 촉진함으로써 지역 부존자원의 부가가치를 제고하고, 해조류의 생산기반을 구축하며, 지역경제의 활성화를 이룩하기 위하여 제1세부과제에서 해조류를 이용한 기존의 해조류가공식품의 품질개선과 새로운 해조류 가공식품의 개발을 위한 연구를 진행하여왔다.

미역은 우리나라 동남해에서 많이 나며, 황갈색이고 미끈미끈하다. 미역의 성분은 칼슘, 요오드, 인 등이며, 요오드는 갑상선 호르몬을 만드는데 필요한 성분이며, 티록신은 신진대사가 완만해져서 비만증을 초래한다. 변비치료제 ‘알긴산’은 미역의 표면에 알긴산이라는 미끈미끈한 성분이 변비를 치료한다. 또 미역을 오랫동안 먹으면 혈압을 내리고 심장병에 좋다. 갈조류 곤포과에 속하는 해초로서 우리나라를 비롯, 중국, 일본 등 동북아에서 주로 먹고 있다. 미역의 주성분인 알긴산 성분은 비만의 예방, 혈액 중의 중성지질과 콜레스테롤 억제, LDL 콜레스테롤과 동맥경화지수의 감소효과, 활성산소인 프리라디칼의 생성억제, 스펀지 효과에 의한 농약이나 중금속, 그리고 발암성분의 체외배설 등 여러 가지 효과를 거둘 수 있는 것으로 나타났다. 미역에는 150 mg%의 메티오닌 성분이 함유되어 있어 니코틴의 유독성분을 무독화 시킬수 있다. 비타민 A가 1,800 mg% 함유되어 있어 폐점막 보호 및 재생기능에 도움을 준다. 미역은 우리 몸의 대사에 관계하고 있는 수많은 보효소의 구성성분으로 무기질 성분도 깊이 관계하고 있다. 또한 심장병의 예방에

깊이 관계하는 무기질인 마그네슘은 다른 식품에는 거의 없지만, 미역에는 120 mg%,나 들어있다. 그리고 가장 중요한 무기질로서 빈혈의 예방에 필수적인 철의 함량은 미역이 7.0 mg%이었다.

전년도에 김, 미역, 다시마의 물 추출물을 제조하고, sucrose, citric acid를 배합하고, agar를 사용하여 젤리를 제조하고, gel strength, hardness, adhesiveness 등 젤리의 물성이 우수하고 관능성적도 양호한 젤리를 제조하였다.

그러나 해조류 젤리를 상품화하는데 있어, 해조류가 갖는 해조취와 젤리색소의 안정화가 상품화의 요소로 대두되었다.

따라서 미역의 기능성성분을 손상시키지 않고, 미역 추출물의 추출방법을 개선하여 해조취가 메스킹된 미역추출물의 제조방법을 개발하고, 허용된 첨가물을 사용하여 고품질의 해조취가 메스킹된 젤리의 제조방법을 개발하고자 하는 것이 목적이며, 이때 젤리의 물성을 개선하기 위하여 사용되는 보조 겔화제에 의한 젤리 물성의 변화 및 추출방법에 따른 일반성분들의 분석과 젤리 제조시 사용되는 첨가제에 따른 젤리의 기호도를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

완도산 미역, 다시마, 김을 목포 신일상회에서 구입하였고, 완도산 생미역은 진도(주)아침가리로부터 구입하여 사용하였고, BACTO AGAR, citric acid(purity, 100%)는 상업용으로 이용되는 것으로 구입하였다. 여기에 추출시 첨가한 효소로는 Cellucast와 Pectinex를 사용하였다.

미역, 다시마, 김의 추출, 농축

준비된 미역, 다시마, 김을 건조기에서 24hr 건조한 후 ball mill로 80mesh 분쇄한 분말을 냉장고에 보관하면서 시료로 이용하였다. 분말에 13배 중량의 증류수를 가하고(김은 20배) 50℃ water bath에서 교반하면서 2시간동안(김은 100℃ 3시간) 추출하여 8000rpm 30min간 원심분리 하여 나온 상등액을 감압농축기를 이용하여 5brix로 농축시킨 후 시료로 이용하였다.

생미역의 추출

준비된 생미역을 약 2hr동안 물에 침지시켜 미역에 남아있는 염분을 제거하고 60℃ 건조

기에서 24hr 건조한 후 ball mill로 80mesh 분쇄한 분말을 control로 하고 염분을 제거한 미역을 100℃ 끓는 물에 10sec정도 blanching 시킨 후 제조한 분말과 pH4로 맞춘 citric 용액과 pH10으로 맞춘 Na₂CO₃ 용액에 blanching 시킨 후 제조한 분말을 냉장고에 보관 하면서 시료로 이용하였다. 각각의 분말에 13배에서 20배 중량의 증류수를 가하고 여기에 식물성 원료 분해에 도움을 주는 Cellulase효소인 Celluclast와 pectin을 분해하고 과즙청 정에 효과가 있는 pectinase효소인 Pectinex를 첨가하여 50℃ water bath에서 교반하면서 2hr동안 추출하여 8000rpm 30min간 원심분리 하여 나온 상등액을 분리하여 추출물로 이용하였다.

해조추출물의 일반성분 측정

5 brix로 농축한 농축물의 총량을 구하여 수율을 계산하고 수분은 상압가열법, 조단백질은 Semimicro-kjeldahl법, 회분은 건식회화법으로 측정하였고, pH는 pH meter(istek, Model 730P)를 이용하여 측정하였고, 생미역 추출물도 위와 같은 방법들을 이용하여 일반성분들을 측정하였다.

조펙틴

펙틴은 알코올 침전법을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 시료 150g을 1ℓ의 비커에 취하고, 물 50ml를 가하여 1시간 가량 끓인 후 이것을 메스플라스크에 옮기고 물을 가해서 1ℓ로 하고, 잘 흔들어서 여과한다. 여액 100ml를 취해서 농축하여 25~30ml로 한다. 이것을 냉각하고 95% ethanol 200ml를 잘 흔들면서 가해서 펙틴을 침전시킨다. 충분히 침전시킨 후 미리 건조해서 칭량해 둔 자제접시에 침전물을 95% ethanol로 세척하고, 따뜻한 물로 침전을 완전히 세척하여 옮긴다.

수욕(water bath)상에서 완전히 증발건조하고, 100℃ 항온으로 건조해서 칭량한다.

해조 농축물을 이용한 젤리의 제조

미역은 1.4kg으로부터 농축물 8.4kg, 다시마는 1.1kg으로부터 10.2kg, 김은 2.1kg으로부터 8.5kg을 얻을수 있었다. 얻어진 점액성 농축물을 냉장고에 넣어두고 필요할 때에 꺼내어 젤리 제조원료로 사용하였다. 해조류 농축물 100g에 sucrose 60g를 넣고 10 min간 (55brix) 가열하고 잠시 가열을 멈추고 agar 0.8~1.4g을 넣고 계속 가열하였다. 약 60brix에 도달한 후 citric acid 0.3g을 가한 다음 약 67brix가 될 때까지 가열한 후 일정한 틀(mold)에 부어 실온에서 굳힌 후 dry oven에서 30℃, 12hr 건조하여 해조류 젤리를 제

조하였다. 젤리는 첨가물의 첨가량에 따라 다음 3가지 방법으로 제조하였고 Table 1에 배합비를 나타내었다. 생미역 추출물을 젤리 제조원료로 사용하여 젤리를 제조한 것도 위와 같은 방법을 이용하였고 이때 다른 첨가물들의 첨가량은 전 실험결과 최적의 조건인 agar 1.2g, citric acid 0.3g, brix 67°의 조건에 맞추어 젤리를 제조하였다.

Table 1 Comparison of the jelly made with different kinds of factor.

	seaweed extract (g)	sucrose (g)	agar (g)	citric acid (g)	brix (°)
control	100(water)	60	1.2	0.3	67
I -1	100	60	0.8	0.3	67
I -2	100	60	1.0	0.3	67
I -3	100	60	1.2	0.3	67
I -4	100	60	1.4	0.3	67
II -1	100	60	1.2	0.2	67
II -2	100	60	1.2	0.3	67
II -3	100	60	1.2	0.4	67
II -4	100	60	1.2	0.5	67
III -1	100	60	1.2	0.2	63
III -2	100	60	1.2	0.3	65
III -3	100	60	1.2	0.4	67
III -4	100	60	1.2	0.5	69

해조 추출물을 이용한 젤리의 물성 측정

젤리의 조직감(Rheological property)은 제조 후 냉장 보관된 젤리를 가로, 세로, 높이를 각각 2cm, 1cm, 1cm 씩 주고 수직형 원형의 adaptor 1번을 사용하여 Rheo meter(Model CR-100D, Sun SCI. CO. Japan)에서 gel strength와 hardness 그리고 adhesiveness를 측정한다. 측정 조건으로는 투입 깊이 0.8mm로 하고 table speed : 120 mm/min, load cell : 10kg 으로 하였다.

색도 분석

색도는 Hunter L, a, b color system을 가지고 있는 Spectrophotometer를 사용하여 젤리의 일부를 채취하여 L(명도), a(적색도), b(황색도) 값을 측정하였다.

관능검사

젤리의 관능검사는 15인의 관능검사 요원에 의해 실시하였다. 식품공학과 학부생 및 대학원생, 연구원을 패널로 하여 색깔, 향, 맛, 조직감 등을 5단계 평점법(5점 : 매우좋다, 4점 : 좋다, 3점 : 보통이다, 2점 : 나쁘다, 1점 : 매우나쁘다.)으로 평가한 후 결과를 통계 분석 하였다.

결 과

1. 해조류 농축액을 이용한 해조젤리

추출,농축한 미역의 pH 6.91 수분 95.4%, 조회분이 2.54% 조단백질 함량이 0.1%을 나타냈고 다시마 농축물은 5.97, 94.9%, 1.38%, 0.13%, 김 농축물은 6.67, 93.2%, 1.12%, 0.07%함량을 나타냈다 (Table 2). 미역, 다시마, 김의 추출 수율은 미역이 67.75%, 다시마 92.1%, 김이 72.1%로 다시마가 가장 높은 수율이 높았다.

해조 추출물을 첨가하여 젤리제조시 보조겔화제의 첨가량에 따른 젤리의 물성 차이는 Table 3에 나타냈다. 처리구 모두가 agar량이 증가할수록 adhesiveness, strength, hardness값이 증가하는 것을 볼 수 있는데 이 결과로 볼 때 agar량이 증가할수록 단단한 제품을 만들 수 있다는 것을 알 수 있었다. citric acid량에 따라서는 citric acid 첨가량이 증가할수록 모든 처리구가 마이너스(-)값 쪽으로 증가하는 경향을 보였고 brix(。)가 증가할수록 agar 첨가량 증가시와 비슷한 경향을 나타냈다. 모든 처리구가 대조구의 측정치와는 많은 차이를 나타냈는데 이는 해조류를 주원료로 하여 제조한 젤리와 해조류를 첨가하지 않고 제조한 젤리의 차이로 보여진다.

Table 2. Proximate composition of seaweeds extracted.

	pH	moisture (%)	ash (%)	crude protein (%)	yield
sea mustard	6.91	95.4	2.54	0.1	67.75
sea tangle	5.97	94.9	1.38	0.13	92.1
laver	6.67	93.2	1.12	0.07	72.1

Table 3. Experimental combinations and data under various conditions of agar (I), citric acid(II), brix(III) and their responses.

	TPA parameter	control	I -1	I -2	I -3	I -4
sea mustard jelly	adhesiveness(g)	-3	-20	-64	-24	-13
	strength(dyne/cm ²)	4109	412	1406	630	1641
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	35	122	54	142
sea tangle jelly	adhesiveness(g)	-3	-9	-18	-12	-9
	strength(dyne/cm ²)	4109	3607	9494	10942	12562
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	313	826	2867	1093
laver jelly	adhesiveness(g)	-3	-85	-79	-127	-98
	strength(dyne/cm ²)	4109	3639	7528	7951	19208
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	316	655	692	1671

	TPA parameter	control	II -1	II -2	II -3	II -4
sea mustard jelly	adhesiveness(g)	-3	-20	-99	-84	-57
	strength(dyne/cm ²)	4109	6049	5837	2771	1252
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	526	508	241	109
sea tangle jelly	adhesiveness(g)	-3	-12	-28	-18	-66
	strength(dyne/cm ²)	4109	11367	12666	8489	4305
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	989	1102	738	374
laver jelly	adhesiveness(g)	-3	-33	-35	-91	-112
	strength(dyne/cm ²)	4109	12157	5821	2864	4342
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	1058	506	249	377

	TPA parameter	control	III -1	III -2	III -3	III -4
sea mustard jelly	adhesiveness(g)	-3	-43	-48	-34	-270
	strength(dyne/cm ²)	4109	1302	2744	4326	5557
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	113	238	376	483
sea tangle jelly	adhesiveness(g)	-3	-14	-49	-40	-28
	strength(dyne/cm ²)	4109	1979	2632	2679	1753
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	172	229	233	152
laver jelly	adhesiveness(g)	-3	-64	-63	-113	-115
	strength(dyne/cm ²)	4109	2389	2279	5279	8117
	hardness (*100, dyne/cm ²)	354	2079	198	459	706

Table 4. Color values of seaweeds jelly.

	Hunter value	control	I -1	I -2	I -3	I -4
sea mustard jelly	L	73.72	77.69	60.36	68.53	70.79
	a	-0.95	-4.48	-1.53	-5.32	-5.65
	b	3.21	15.09	36.6	17.16	22.29
sea tangle jelly	L	73.72	66.56	75.03	69.81	71.54
	a	-0.95	-2.18	-2.7	-3.65	-2.8
	b	3.21	12.39	19.71	19.66	29.93
laver jelly	L	73.72	44.19	36.29	49.64	48.25
	a	-0.95	24.4	24.73	23.44	21.7
	b	3.21	28.58	16.92	37.81	34.12

	Hunter value	control	II -1	II -2	II -3	II -4
sea mustard jelly	L	73.72	69.15	58.1	64.55	63.24
	a	-0.95	-5.22	-0.1	-3.31	-2.63
	b	3.21	17.99	34.41	35.48	36.76
sea tangle jelly	L	73.72	68.46	72.47	65.88	70.47
	a	-0.95	-3.77	-3.36	-4.22	-4.17
	b	3.21	20.1	22.06	18.06	18.45
laver jelly	L	73.72	39.96	40.87	39.05	41.41
	a	-0.95	27.26	26.74	26.52	29.07
	b	3.21	20.53	21.01	19.43	23.75

	Hunter value	control	III -1	III -2	III -3	III -4
sea mustard jelly	L	73.72	75.18	70.43	59.34	52.65
	a	-0.95	-5.17	-5.62	-0.96	0.68
	b	3.21	18.8	21.47	35.18	32.25
sea tangle jelly	L	73.72	67.44	67.13	66.36	69.07
	a	-0.95	-4.38	-4.23	-3.9	-3.82
	b	3.21	16.18	16.71	17.57	21.11
laver jelly	L	73.72	44.27	45.52	44.17	42.02
	a	-0.95	26.85	25.23	26.19	25.83
	b	3.21	29.01	30.46	27.04	25.61

해조 추출물을 첨가하여 젤리 제조시 보조겔화제의 첨가량에 따른 젤리의 색도차는 Table 4에 나타냈다. 모든 처리구에서 L값은 대조구가 처리구보다 높았고 agar량에 대해서는 큰 차이가 없었고 첨가되는 해조류 종류에 따라서 L값의 차이가 있었다. 미역과 다시마 젤리의 L값은 비슷하였고 김 젤리가 가장 낮은 L값을 나타냈다. a값도 L값과 마찬가지로 경향을 보였고 첨가되는 보조겔화제의 영향보다는 해조류 자체 색도 차이 때문인 것으로 생각되고 미역, 다시마 젤리 모두 a값이 마이너스(-)값을 나타내 녹색에 가까웠다. 김 젤리만 플러스(+)값을 나타냈고 큰 차이는 없었다. b값은 미역, 다시마, 김 젤리 모두 비슷한 황색값을 나타냈고 보조겔화제의 첨가량에 대한 영향은 별 차이를 나타내지 않았다.

Table 5. Sensory evaluation of seaweeds jelly.

	sample jelly	control	I -1	I -2	I -3	I -4
	mean score					
sea mustard jelly	taste	2.5 ^a	1.3 ^a	1.5 ^a	1.7 ^a	1.8 ^a
	color	3.2 ^a	2.1 ^a	2.5 ^{a,b}	2.6 ^{a,b}	2.1 ^a
	oder	2.5 ^b	3.3 ^a	2.4 ^a	3.3 ^a	2.8 ^a
	texture	2.3 ^{a,b,c}	1.3 ^a	2.0 ^{a,b,c}	1.6 ^{a,b}	2.3 ^{a,b,c}
	favorite	2.5 ^a	1.3 ^a	1.5 ^a	1.9 ^{a,b}	2.0 ^{a,b}
sea tangle jelly	taste	2.5 ^a	2.7 ^b	3.0 ^b	3.3 ^b	3.2 ^b
	color	3.2 ^a	3.7 ^{a,b}	4.0 ^d	3.9 ^d	3.7 ^{c,d}
	oder	2.5 ^b	3.0 ^a	3.3 ^a	3.2 ^a	3.3 ^a
	texture	2.3 ^{a,b,c}	2.7 ^c	3.5 ^{b,c}	3.7 ^c	3.8 ^c
	favorite	2.5 ^a	2.6 ^{a,b}	3.4 ^a	3.4 ^a	3.4 ^a
laver jelly	taste	2.5 ^a	3.0 ^b	3.6 ^b	3.5 ^b	3.3 ^b
	color	3.2 ^a	3.3 ^{b,c,d}	3.2 ^{b,c}	3.2 ^{b,c}	2.9 ^{a,b,c}
	oder	2.5 ^b	3.3 ^a	3.3 ^a	3.1 ^a	2.9 ^a
	texture	2.3 ^{a,b,c}	3.1 ^{b,c}	3.1 ^{b,c}	3.6 ^c	3.9 ^c
	favorite	2.5 ^a	3.2 ^c	3.6 ^c	3.6 ^c	3.7 ^c

	sample jelly	control	II -1	II -2	II -3	II -4
	mean score					
sea mustard jelly	taste	2.5 ^a	1.9 ^a	1.8 ^a	1.7 ^a	1.7 ^a
	color	3.2 ^a	3.0 ^{a,b}	2.5 ^a	2.8 ^{a,b}	2.5 ^a
	oder	2.5 ^b	2.5 ^{a,b}	2.0 ^a	2.2 ^{a,b}	2.7 ^{a,b,c}
	texture	2.3 ^{a,b,c}	2.7 ^c	2.6 ^c	1.8 ^{a,b}	1.4 ^c
	favorite	2.5 ^a	2.4 ^a	1.8 ^a	2.0 ^a	1.7 ^{a,b}
sea tangle jelly	taste	2.5 ^a	3.2 ^b	2.9 ^b	2.8 ^b	2.9 ^b
	color	3.2 ^a	3.9 ^b	3.6 ^b	3.7 ^b	3.8 ^b
	oder	2.5 ^b	3.5 ^c	3.5 ^c	3.5 ^c	3.6 ^c
	texture	2.3 ^{a,b,c}	3.5 ^{c,d}	3.5 ^{c,d}	3.4 ^{c,d}	3.2 ^{c,d}
	favorite	2.5 ^a	3.4 ^c	3.1 ^{b,c}	3.3 ^c	3.4 ^c
laver jelly	taste	2.5 ^a	3.8 ^c	3.6 ^{b,c}	3.3 ^{b,c}	3.4 ^{b,c}
	color	3.2 ^a	3.5 ^{b,c}	3.3 ^{b,c}	3.4 ^{b,c}	3.4 ^{b,c}
	oder	2.5 ^b	3.3 ^{b,c}	3.0 ^{a,b}	3.2 ^{b,c}	3.0 ^{a,b}
	texture	2.3 ^{a,b,c}	4.0 ^e	3.6 ^d	3.2 ^{c,d}	3.3 ^{c,d}
	favorite	2.5 ^a	4.0 ^c	3.6 ^c	3.6 ^c	3.7 ^c

	sample jelly	control	III -1	III -2	III -3	III -4
	mean score					
sea mustard jelly	taste	2.5 ^a	1.7 ^a	1.8 ^a	1.5 ^a	1.5 ^a
	color	3.2 ^a	2.5 ^{a,b}	2.9 ^{a,b,c}	2.2 ^a	2.2 ^a
	oder	2.5 ^b	3.0 ^a	3.1 ^a	2.6 ^a	2.5 ^a
	texture	2.3 ^{a,b,c}	1.7 ^a	2.0 ^{a,b}	2.3 ^{a,b,c}	2.8 ^{b,c}
	favorite	2.5 ^a	1.8 ^a	2.3 ^{a,b}	1.8 ^a	2.1 ^{a,b}
sea tangle jelly	taste	2.5 ^a	2.8 ^{b,c}	2.8 ^{b,c}	2.9 ^{b,c}	2.7 ^b
	color	3.2 ^a	4.2 ^e	3.8 ^{d,e}	3.6 ^{d,e}	3.5 ^{d,e}
	oder	2.5 ^b	2.9 ^a	3.2 ^a	2.8 ^a	2.9 ^a
	texture	2.3 ^{a,b,c}	2.3 ^{a,b,c}	2.4 ^{a,b,c}	2.0 ^{a,b}	2.1 ^{a,b}
	favorite	2.5 ^a	2.8 ^{b,c}	2.9 ^{c,d}	2.8 ^{b,c,d}	2.9 ^{c,d}
laver jelly	taste	2.5 ^a	3.0 ^{b,c,d}	3.5 ^{b,c,d}	3.6 ^{d,e}	3.7 ^e
	color	3.2 ^a	2.6 ^{a,b}	3.1 ^{b,c}	3.2 ^{b,c}	3.3 ^{b,c}
	oder	2.5 ^b	2.7 ^a	2.9 ^a	2.9 ^a	2.7 ^a
	texture	2.3 ^{a,b,c}	3.1 ^c	3.3 ^d	3.3 ^d	3.3 ^d
	favorite	2.5 ^a	2.8 ^{b,c,d}	3.3 ^{d,e}	3.6 ^e	3.4 ^{d,e}

해조 추출물을 첨가하여 젤리 제조시 보조겔화제의 첨가량에 따른 젤리의 관능평가 결과는 table 5에 나타났다. 젤리 제조시 모든 처리구에서 해조류 종류별로 김 농축물을 첨가하여 제조된 젤리가 가장 선호도가 높았고 다시마, 김 농축물을 첨가하여 제조된 젤리 순이었다. 특히 미역은 미역 특유의 해조취와 겔화가 어려워 조직감이 좋지 않았고 미역, 다시마, 김 젤리 모두 agar량이 많이 첨가될수록 전체적인 선호도가 높았으며 다시마의 경우는 agar량이 1.0g 이었을때가 높았으며 1.0g 보다 더 많이 첨가하여도 관능적인 차이는 나타나지 않았다. citric acid량을 달리하여 제조한 젤리의 관능적인 차이는 citric acid량이 0.2g 첨가하였때가 미역, 다시마, 김젤리 모두 관능치가 높게 나왔고 citric acid 첨가량이 증가하면 관능치는 감소하였다. 젤리의 brix(°)에 따른 젤리의 관능적인 차이는 미역 젤리와 다시마 젤리는 65brix 일때가 전체적인 기호도가 높았고 김젤리는 67brix 일때가 관능적인 수치가 가장 높았다.

2. 해조취가 메스킹(masking)된 해조젤리

전처리의 조건을 각각 무처리, blanching, citric acid처리, Na_2CO_3 처리한 생미역을 건조분쇄하여 얻어진 분말을 열수추출하여 추출액을 얻었다. 이 때 추출을 더 원활하고 쉽게 하기 위해 추출시 추출 보조제로 Celluclast효소와 Pectinex효소를 이용하여 이것들을 각각 따로따로 첨가한 것과 같은 비율로 혼합하여 첨가하는 방법을 사용하여 시료를 준비하였다. 추출결과 Table 6의 결과를 얻을 수 있었는데 전처리에서 아무처리도 하지 않고 분쇄하여 추출시 혼합효소를 첨가하여 추출하였을 때 다른 분말에 비해 훨씬 적은 배율의 물을 첨가하였음에도 불구하고 다른 분말들보다 많은 추출액을 얻을 수 있었고, 효소를 첨가하지 않고 추출할 때보다 효소를 첨가하여 추출할 때 더 많은 추출액을 얻을 수 있다는 결과가 다른 전처리의 분말 추출시에도 나타났다. 그러나 citric acid처리하여 얻은 분말은 어떠한 조건에서도 추출액을 얻을 수 없었다.

Table 6. Quantity of fresh sea mustard extract.

	enzyme	dilution	total extraction(g)
control		130g*13	720
	C	130g*13	748
	P	130g*13	780
	C+P	130g*13	913
blanching	C	130g*15	482
	P	130g*15	550
	C+P	130g*15	672
Na ₂ CO ₃	C	120g*19	511
	P	120g*19	576
	C+P	120g*19	843

C: Celluclast

P: Pectinex

C+P: Celluclast+Pectinex(1:1)

Table 7. Proximate composition of fresh sea mustard extracted.

	enzyme	moisture (%)	ash (%)	crude pectin (%)	pH
Control		81.09	0.8013	0.0824	6.06
	C	82.04	0.7969	0.0832	6.10
	P	83.24	0.8002	0.0721	6.08
	C+P	82.77	0.8015	0.0791	6.12
Blanching	C	85.74	0.8284	0.0932	6.38
	P	86.54	0.8012	0.0812	6.32
	C+P	86.00	0.8148	0.0896	6.48
Na ₂ CO ₃	C	87.23	0.7906	0.0952	5.41
	P	89.10	0.7996	0.0856	5.43
	C+P	88.46	0.8012	0.0889	5.47

C: Celluclast

P: Pectinex

C+P: Celluclast+Pectinex(1:1)

각 조건별로 얻어진 시료의 일반성분을 측정된 결과를 Table 7에 나타내었다. 전처리를 하지 않고 얻은 분말에 효소를 첨가하지 않고 추출한 시료의 일반성분은 수분 81.09%, 조회분 0.8013%, 조펙틴 0.0824%, pH 6.06의 값을 나타내었고 여기에 효소들을 첨가하여 얻은 다른 시료들의 측정 결과 모든 성분들에서 특별한 성분 변화를 보이지는 않았다. 이러한 경향은 다른 전처리를 하여 얻어진 시료들의 분석에서도 비슷한 양상을 나타내었다. 위의 결과로 볼 때 추출시 첨가되어지는 효소들은 추출에 도움을 줄 뿐 재료 본래의 성분들에는 별다른 영향을 미치지 않는 것이다.

Table 8. Experimental combinations and data under various conditions of fresh sea mustard jelly.

	enzyme	adhesiveness (g)	strength (dyne/cm ²)	hardness (*100, dyne/cm ²)
Control		1016.66	513.44	1490.33
	C	1126.00	613.00	1610.22
	P	736.66	368.33	1179.98
	C+P	510.00	300.00	1248.88
Blanching	C	1328.00	664	2092.82
	P	517.00	308.00	1047.36
	C+P	320.00	127.50	681.01
Na ₂ CO ₃	C	693.33	346.66	759.47
	P	250.00	125.00	236.71
	C+P	710.00	355.00	1300.27

C: Celluclast

P: Pectinex

C+P: Celluclast+Pectinex(1:1)

생미역에 각기 다른 전처리를 하여 얻어진 분말에 추출에 도움을 주는 각기 다른 효소들을 첨가하여 추출한 시료를 이용하여 제조한 젤리들의 adhesiveness, strength, hardness를 측정된 값을 Table 8에 나타내었다. 측정 결과 아무런 전처리를 하지 않고 추출할 때 효소를 첨가하지 않고 얻어진 시료를 이용해 만든 대조구는 adhesiveness 1016.66, strength 513.44, hardness 1490.33의 값을 나타내었고, 여기에 효소들을 첨가하였을 때 celluclast 효소를 첨가하였을 때만 값들이 증가하는 것을 보였고 나머지 Pectinex 효소나 혼합효소를 첨가하여 젤리를 제조한 젤리들은 값들이 모두 감소하는 결과를 나타냈다. 이러한 경향은 미역에 다른 전처리를 하여 얻어진 sample들에서도 비슷한 경향을 나타내었

는데 Na_2CO_3 로 전처리를 하여 얻어진 sample에서는 celluclast효소를 첨가한 젤리보다도 혼합효소를 첨가하여 제조한 젤리에서 값들이 증가하는 다른 결과를 보였다. 위의 결과들을 종합하여 볼 때 celluclast효소만이 젤리의 물성이 증가하는 결과를 나타냈고 나머지 효소들은 오히려 값이 감소하는 결과를 나타냈다.

생미역에 각기 다른 전처리를 하여 얻어진 분말에 추출에 도움을 주는 각기 다른 효소들을 첨가하여 추출한 시료를 이용하여 제조한 젤리들의 색도차를 측정된 값을 Table 9에 나타내었다. 측정 결과 아무런 전처리를 하지 않고 제조한 분말에, 추출할 때 효소를 첨가하지 않고 추출한 시료를 이용한 대조구는 명도를 나타내는 L값이 88.98, 적색도를 나타내는 a값이 -3.12, 황색도를 나타내는 b값이 5.37의 결과를 나타내었다. 효소를 첨가하여 제조한 것을 측정하였을 때 celluclast효소와 pectinex효소를 첨가하여 제조한 젤리는 대조구와 비슷한 값을 보였는데 혼합효소를 첨가하여 제조한 젤리는 L값에서 높은 증가율을 보였다. 이러한 경향은 다른 전처리를 하여 제조한 젤리에서도 비슷하게 나타났는데 다만 Na_2CO_3 로 전처리를 하여 얻은 sample에서는 혼합효소를 첨가하였을 때보다 pectinex효소를 첨가하였을 때 훨씬 높은 L값이 측정되었다. 전처리를 하지 않았을 때는 a값이 마이너스(-)값을 나타내 미역 본래의 색인 녹색에 가까웠는데 전처리를 함으로써 녹색보다는 적색에 가깝게 나타나는 것을 볼 수 있었다.

Table 9. Color values of fresh sea mustard jelly.

	enzyme	L	a	b
Control		88.98	-3.12	5.37
	c	89.03	-2.40	5.24
	p	89.56	-2.09	7.10
	c+p	104.90	-4.08	2.33
Blanching	c	63.68	5.85	-9.96
	p	74.19	2.95	-6.95
	c+p	92.68	-1.27	4.39
Na_2CO_3	c	70.58	5.99	-14.41
	p	98.33	-2.58	4.99
	c+p	78.64	3.83	-13.50

C: Celluclast

P: Pectinex

C+P: Celluclast+Pectinex(1:1)

Table 10. Sensory evaluation of fresh sea mustard jelly.

	enzyme	taste	color	oder	texture	favorite
Control		2.66 ^a	3.73 ^{e,f}	2.26 ^{a,b}	3.40 ^{e,f}	2.86 ^{a,b,c,d}
	β	3.00 ^{a,b}	3.80 ^f	3.13 ^c	2.86 ^{b,c,d,e}	3.46 ^d
	C	2.86 ^{a,b}	3.66 ^{e,f}	2.60 ^{d,e,f}	3.20 ^{c,d,e,f}	3.13 ^{a,b,c,d}
	C&β	2.93 ^{a,b}	3.53 ^{d,e,f}	2.86 ^{b,c}	3.46 ^{e,f}	3.06 ^{a,b,c,d}
	P	2.80 ^{a,b}	3.66 ^{e,f}	2.66 ^{d,e,f}	3.20 ^{c,d,e,f}	3.00 ^{a,b,c,d}
	P&β	2.66 ^a	3.33 ^{b,c,d,e,f}	2.73 ^{d,e,f}	3.20 ^{c,d,e,f}	3.13 ^{a,b,c,d}
	C+P	3.00 ^{a,b}	3.60 ^{e,f}	2.46 ^{d,e,f}	3.33 ^{e,f}	3.26 ^{c,d}
	C+P&β	2.86 ^{a,b}	3.66 ^{e,f}	2.73 ^{d,e,f}	3.13 ^{c,d,e,f}	3.20 ^{b,c,d}
Blanching	C	3.00 ^{a,b}	3.06 ^{b,c,d,e}	2.06 ^a	3.80 ^f	3.00 ^{a,b,c,d}
	C&β	3.00 ^{a,b}	2.80 ^{b,c}	3.00 ^{b,c}	2.93 ^{c,d,e}	2.73 ^{d,e,f}
	P	3.06 ^b	3.66 ^{e,f}	2.40 ^{d,e,f}	3.53 ^{e,f}	3.00 ^{a,b,c,d}
	P&β	2.80 ^{a,b}	3.33 ^{b,c,d,e,f}	2.93 ^{b,c}	3.26 ^{d,e,f}	3.13 ^{a,b,c,d}
	C+P	2.73 ^a	3.20 ^{b,c,d,e,f}	3.06 ^c	3.46 ^{e,f}	3.13 ^{a,b,c,d}
	C+P&β	2.86 ^{a,b}	3.40 ^{c,d,e,f}	2.80 ^{d,e,f}	3.26 ^{d,e,f}	3.26 ^{c,d}
Na ₂ CO ₃	C	3.33 ^{a,b}	3.26 ^{b,c,d,e,f}	3.06 ^c	3.06 ^{c,d,e}	3.26 ^{c,d}
	C&β	3.06 ^b	3.06 ^{b,c,d,e}	3.26 ^{a,b}	3.26 ^{d,e,f}	3.33 ^{c,d}
	P	2.86 ^{a,b}	2.86 ^{b,c,d}	2.60 ^{d,e,f}	2.60 ^{a,b,c,d}	2.86 ^{a,b,c,d}
	P&β	2.66 ^a	3.06 ^{b,c,d,e}	2.80 ^{d,e,f}	2.93 ^{c,d,e}	3.00 ^{a,b,c,d}
	C+P	2.80 ^{a,b}	2.66 ^b	2.53 ^{d,e,f}	2.20 ^a	2.53 ^a
	C+P&β	2.86 ^{a,b}	2.80 ^{b,c}	2.80 ^{d,e,f}	2.13 ^a	2.60 ^{a,b}

β: β-cyclodextrin

C: Celluclast

P: Pectinex

C+P: Celluclast+Pectinex(1:1)

미역추출물을 첨가하여 제조한 젤리의 각각의 전처리와 각기 다른 첨가물에 따른 젤리의 관능평가 결과는 Table 5에 나타났다. 젤리 제조시 미역 냄새의 masking에 도움을 주기 위해 젤리 제조공정의 마지막에 β -cyclodextrin을 첨가하여 제조한 후 각각의 sample에 대해 맛, 색, 향, 조직감, 전체적인 기호도 등의 항목에 대해 관능검사를 실시하였다. 그 결과 모든 처리구에서 전처리의 방법별로 아무런 전처리를 하지 않고 제조된 젤리의 선호도가 가장 높았고, blanching처리, Na_2CO_3 처리의 순으로 선호도가 좋은 것으로 나타났다. 또 첨가 효소별로는 전체적으로 볼 때 혼합효소를 첨가한 젤리의 선호도가 가장 좋았고, celluclast효소, pectinex효소 첨가의 순으로 나타났다. 특히 미역 특유의 냄새 제거를 목적으로 β -cyclodextrin을 첨가하여 제조한 처리구에서는 특별한 관능적인 차이를 보이지는 않았지만 향의 항목에서는 미비하나마 β -cyclodextrin을 첨가한 처리구의 선호도가 좋은 것으로 나타났다.

요 약

전남 완도 지역의 특산물인 해조류(미역, 다시마, 김)의 소비촉진과 기능성 식품의 개발을 목적으로 해조류 농축액을 이용한 젤리를 제조하였으며 젤리 제조시 이용되는 농축액의 일반성분을 측정하고 제조된 각각의 농축액을 이용하여 일반적인 젤리 제조방법을 기준으로 agar량을 다르게 첨가하여 제조하는 방법(I), citric acid량을 다르게 첨가하여 제조하는 방법(II), brix($^{\circ}$)를 달리하여 제조하는 방법(III)등 3가지 방법으로 미역, 다시마, 김 젤리를 제조하여 젤리의 색도와 물리적 특성을 측정하고 관능평가를 실시하여 젤리의 품질을 비교하였고, 젤리제품 생산시 문제되는 해조류 특유의 냄새제거를 위해 해조취 제거에 영향을 미칠 수 있는 β -cyclodextrin을 첨가하여 젤리를 제조한 후 색도와 물리적 특성을 측정하고 관능평가를 실시하여 젤리의 품질을 비교하였다.

해조류 농축액을 이용하여 제조한 젤리에 있어서 색도 분석시에는 첨가되는 보조겔화제의 첨가량에 따라서는 색도차이는 큰 차이를 나타내지 않았고 모든 처리구가 비슷한 수치를 보였으며 이는 첨가되는 해조류의 종류에 따라서 색도 차이가 있는 것으로 보여진다. 물리적 특성에서는 재료에 상관없이 agar량과 brix가 증가할수록 젤리가 단단해지는 경향을 보였고 citric acid량이 증가할수록 물성이 떨어지는 것을 볼 수 있었다. 젤리의 관능평가 결과 김, 다시마, 미역 순으로 선호도가 높았으며 김과 다시마는 별 차이가 없었고 미역의 경우 다시마, 김젤리에 비해 낮은 기호도를 나타냈는데 이는 해조 특유의 취가 많이 나고 겔화가 어려워 이런 이유 때문에 기호도가 낮은 것으로 생각된다. 각 해

조류 종류별로 적합한 보조겔화제의 첨가량을 보면 미역은 agar 1.4%, citric acid 0.2%, 65brix°, 다시마는 agar 1.2%, citric acid 0.2%, 65brix°, 김은 agar 1.2%, citric acid 0.2%, 67brix°의 배합비가 가장 높은 선호도를 나타냄을 알수 있었다. 김 젤리가 다시마 젤리보다 미미하지만 다소 높은 선호도를 보였지만 수율면에서 다시마가 김보다는 수율이 높아서 상품화 할 때에는 다시마를 이용한 젤리가 상품성이 높을 것으로 생각된다.

해조류 특유의 냄새제거를 목적으로 제조된 젤리에 있어서 물리적 특성을 분석시에는 미역분말의 추출에 도움을 주는 효소들을 첨가하여 제조한 젤리 중 celluclast효소를 첨가하였을 때만 물리적 특성의 값들이 증가하는 경향을 보였고 나머지 효소들을 첨가하였을 때는 오히려 값들이 감소하여 효소가 젤리의 물리적 특성 강화에는 커다란 영향을 미치지 않는다고 볼 수 있었다. 또 색도차의 분석시 명도를 나타내는 L값은 모든 처리구에서 높은 값을 나타냈고 대부분 젤리의 적색도를 나타내는 a값에서 마이너스(-)값이 나와 녹색에 가까운 색을 나타냈으며 효소의 첨가에 대해서는 혼합효소를 첨가하였을 때 L값이 높은 증가율을 보이는 경향을 나타냈다. 관능평가 결과 분말 제조시 전처리를 하지 않고 제조한 분말을 이용하여 제조한 젤리에서 가장 좋은 선호도를 보였으며 여기에 이취 제거 보조제로 β -cyclodextrin을 첨가하여 제조한 젤리에 대한 선호도가 β -cyclodextrin을 첨가하지 않고 제조한 젤리보다 좋은 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

1. Kweon BM, Jeon SW and Kim DS : Quality Characteristics of Sponge Cake with Addition of Laver Powder. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32(8). 1278-1284(2003)
2. Ahn CB, Shin TS and Nam TS : A Trial for Preparation of Jam using Sea Mustard Stem. J. Korean Fish. Soc. 33(5). 423-430(2000)
3. Kim YK, Kim SS and Chang KS : Textural Properties of Ginger Jelly. Food Engineering Progress. 4(1). 33-38(2000)
4. Jung JY, Hur SS and Choi YH : Studies on the Efficient Extraction Process of Alginic Acid in Sea Tangle. Food Engineering Progress. 3(2). 90-97(1999)
5. Lee YK, Kim HW, Sim KS and Jang YK : Chemistry/Analysis : Identification of off-Flavor in sea Mustard and Rice Syrup Sold in the Markets. Korean J. FOOD SCI. TECHNOL. 30(4). 728-732(1998)
6. Hong SP, Koo JK, Jo KS and Kim DS : Physicochemical Characteristics of Water

- or Alcohol Soluble Extracts from Laver, *Porphyra yezoensis*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26(1). 10-16(1997)
7. Kang YJ, Choi SN, Kim GB, Jang SH, Jung YH and Kuk JL : Originals ; Preparation of Seaweed Jelly Muk with Sea Mustard (*Undaria pinnatifida*) and Sea Tangle (*Laminaria japonica*)4. Shelf Life of Seaweed Muks. J. Korean Fish. Soc. 28. 331-337(1995)
 8. Kim WJ and Choi HS : Development of Combined Methods for Effective Extraction of Sea Mustard. Korean J. FOOD SCI. TECHNOL. 26(1). 44-50(1994)
 9. Choi SN, Kang YJ, Jung YH and Kim GB : Preparation of Mook with Sea Mustard and Sea Tangle 1 . The Optimum Conditions of Sea Mustard and Sea Tangle Mooks. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 23(1). 156-163(1994)
 10. Lee KH, Lee DH, Cho HS and Jung WJ : Studies on the Preparation and Utilization of Sea Mustard Extracts with the Treatment Conditions. J. Korean Fish. Soc. 26(5). 409-415(1993)
 11. Kim JG, Kim WJ and Choi HS : Effects of HCl , Sugar , Salt , and Sequestrants on Some Quality Properties of Aqueous extracts of Sea Mustard. Korean J. FOOD SCI. TECHNOL. 24(4). 387-392(1992)
 12. Kim SS, Kim JG, Kim WJ and Choi HS : Effect of Temperature on Some Quality Characteristics of Aqueous Extracts of Sea Mustard. Korean J. FOOD SCI. TECHNOL. 24(4). 382-386(1992)
 13. Kim JE : A study on making jelly with omija extract. M.S. Thesis, Sook Myung Women's University. Seoul. Korea. 1-30(1989)
 14. Cha YJ, Lee EH and Park DC : Studies on the processing and utilization of seaweeds (Studies on the processing of sea mustard jam). Bull. Korean Fish. Soc. 21. 42-49(1988)
 15. Lee YH, Cha YJ, Kim JG and Kwon CS : Studies on the Processing and Utilization of Seaweeds 1 . Preparation of Powdered Sea Mustard , *Undaria pinnatifida* , Mixtures for Juice Type Beverage. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 12(4). 2382-2386(1983)
 16. Lee KH, Yu BJ and Jung IH : Improving the Processing and Storage Conditions of Salted Sea Mustard (*Undaria Pinnatifida*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 12(2).

2066-2072(1983)

17. Kim KH and Kim CH : Studies on the manufacture of *Underia pinnatifida* laver and it's physicochemical properties.(1) Histochemical properties. Korean J. FOOD SCI. TECHNOL. 14. 336-341(1982)

18. Lee KH, Byun JH and Park YH : Factors Involved in the quality retention of cultured *undaria pinnatifida*. J. Korean Fish. Soc. 10(2). 125-135(1977)

제 8 절 해조 분말과 추출물을 이용한 된장과 간장의 개발

강 성 국 (목포대학교 식품공학과)

서 론

된장은 대두를 주원료로하여 가공한 저장성이 있는 조미식품으로서 재래식 된장과 주로 *Aspergillus oryzae* 등 국균을 이용하여 만든 개량식 된장으로 구분되며, 최근 식생활의 향상과 핵가족화에 따른 생활양식의 변화에 따라 공장에서 생산되는 대량생산제품의 수요는 점점 증가하고 있다. 뿐만 아니라, 최근 대두의 생리활성에 대한 인식과 관심이 높아지고 대두 발효식품인 된장의 항암성, 항산화성, 항콜레스테롤 효과 등에 대한 효과가 입증됨에 따라 된장에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 간장은 콩을 주원료로 제조되고 소금에 의한 짠맛 이외에 아미노산의 구수한 맛, 유리당의 단맛, 유기산에 의한 신맛으로 구성된 우리 식생활에서 매우 중요한 위치를 차지하고 있는 전통조미 식품이다. 우리나라와 중국, 일본등지에서는 예로부터 장 문화가 발달되어왔고 육류자원이 부족한 이들 지역에서의 대두의 활용은 곡류단백질에 부족하기 쉬운 필수영양분을 공급해준다는 면에서 영양학적으로 큰 효용성을 가지고 있으며, 복잡한 발효작용을 거치면서 여러 종류의 peptide를 포함한 기능성 물질도 생성되는 것¹⁾으로 알려져 있다. 간장은 식품공전상 양조간장, 산분해간장, 혼합간장, 효소분해간장, 한식간장으로 분류되어있다. 가정에서 소비되는 간장은 전통적으로 직접 제조한 재래식 간장이었으나 요즘은 직접 장을 담가오던 문화가 가족의 핵가족화로 와 재래식간장의 제조방법의 불편함으로 인하여 공업용 간장의 구입 비율이 증가되고 있다. 하지만 이러한 공업용 간장은 한국전통의 간장에서 느낄 수 있는 맛과 전통성 및 장류제품의 기호도와 기능성에 대한 소비자들의 다양화된 요구를 충족치 못하고 있는 실정이다.

이러한 전통식품을 현대인의 기호에 맞게 변형시키려는 노력 이외에 근래에는 여러 가지 기능성 소재를 첨가하여 그 기능성을 향상시키는 연구가 활발히 진행되고 있다.

미역(*Undaria pinnatifida*)과 다시마(*Laminaria japonica*)는 갈조류(brown algae)의 대표적인 종으로 다양한 무기질, 비타민 및 섬유질 성분을 함유하고 있는 알칼리성 식품으로서 우리 식단에 매우 친근한 식품이고, 이러한 해조류는 화학적으로 특징적인 점질성 다당류를 다량 함유하고 있는데, 이들 다당류는 미역, 다시마 등에는 uronic acid 복합체인 alginic acid 형태로 20~30% 정도 함유되어 있고, 황산기를 함유한 산성 다당이 다

량 함유되어 있는데 그 대표적인 함유 산성 다당이 fucoidan이며, cellulose도 포함되어 있다. 다시마에는 alginic acid 외에도 중성다당류인 Laminaran과 Ca, Fe, Zn 등의 무기질과 carotenoids도 상당량 함유되어 있다. 미역과 다시마에 많이 함유된 수용성 섬유질은 불용성 섬유질에 비해 보수력이 커서 겔 형성으로 점도가 높아지므로 포만감을 주고 영양소의 소화, 흡수를 지연시켜 당뇨병 환자에게 당내성을 증진시키는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.

멸치(*Engraulis japonicus*) 또한 우리나라 연안에서 많은 양이 어획되어 자원이 풍부하면서 단백질, 칼슘, 철분, 비타민 B, 고도불포화지방산 등 기초 영양소를 골고루 갖추고 있을 뿐 아니라 항암작용을 하는 니아신과 노화를 방지하는 핵산과 EPO를 함유하고 있어 고혈압, 당뇨병, 골다공증 등 성인병을 예방하고, 특히 어린이의 학습능력을 향상시키는 DHA가 들어 있어 성장기의 어린이, 임산부, 노약자는 물론 건강 생활을 지향하는 현대인에 필요한 기능성 성분이 다량 함유되어 있는 우수한 수산 식량자원이다.

본 연구에서는 소비자의 기호 및 상품성을 높이고 미역, 다시마, 멸치의 여러 성분과 된장과 간장의 영양 및 기능성이 향상된 제품을 개발하고자 미역, 다시마, 멸치 분말을 된장과 간장 제조 시 첨가한 후 발효 숙성하여 제품의 이화학적 특성, 품질특성 및 관능특성을 분석하여 상품적 가치를 검토하였다.

재료 및 방법

재료

된장은 광주광역시 북구 소재 (주) 신송식품(광주광역시)에서 제조된 생된장을 구입하여 사용하였고, 메주는 전남 무안군 소재 학동네식품에서 구입하여 사용하였다. 다시마, 미역 및 멸치는 전라남도 완도에서 생산된 것을 완도수협가공공장에서 고속분쇄기(MS-2000, 명성기계)를 이용하여 분말화하여 첨가 시료로 사용하였다.

된장과 간장의 제조

된장의 제조는 생된장(7kg)에 대하여 미역 분말 1% 첨가구, 다시마 분말 1% 첨가구, 멸치분말 1% 첨가구, 다시마와 멸치분말을 1%씩을 혼합한 것을 첨가한 구로 나누었고, 각각의 된장에 대하여 버티칼 믹서(VMV-1412)로 2분동안 혼합한 후, 25℃ 항온 배양기에서 90일간 숙성시켰다.

간장은 각각의 용기에 메주 10 kg, 20% 소금물 20 l 그리고 다시마분말과 미역분말

의 첨가량을 0.3 kg ~ 1.0 kg으로 달리하여 전통적인 방법에 따라 고추와 숯을 서너개씩 넣어 7종의 간장을 제조하였다. 이들 간장 용기는 각각 햇볕이 잘 드는 양지에 방치 하였다. 시료채취는 발효과정 중 교반 후 액상부분을 채취하여 분석시료로 사용하였다. 또한 발효가 끝나면 고형분과 액상부분으로 분리 후 액상부분인 생간장은 여과포로 여과하여 메주 및 불순물을 제거하여 이중 스팀솥에서 생간장이 끓는 시점에서 정확히 3분간 더 끓인 후 저장용기에 옮겨 담고 3℃ 냉장 중에 보관하여 저장하였다.

Fig 1에 해조된장과 간장 제조공정도를 나타내었다.

Table 1. 해조간장의 제조배합비

간장	용기	20%염수	메주	해조분말
A	용기 60L	각각 20L	각각 10kg	무첨가
B				다시마분말 300g
C				다시마분말 500g
D				다시마분말 1000g
E				미역분말 300g
F				미역분말 500g
G				미역분말 1000g

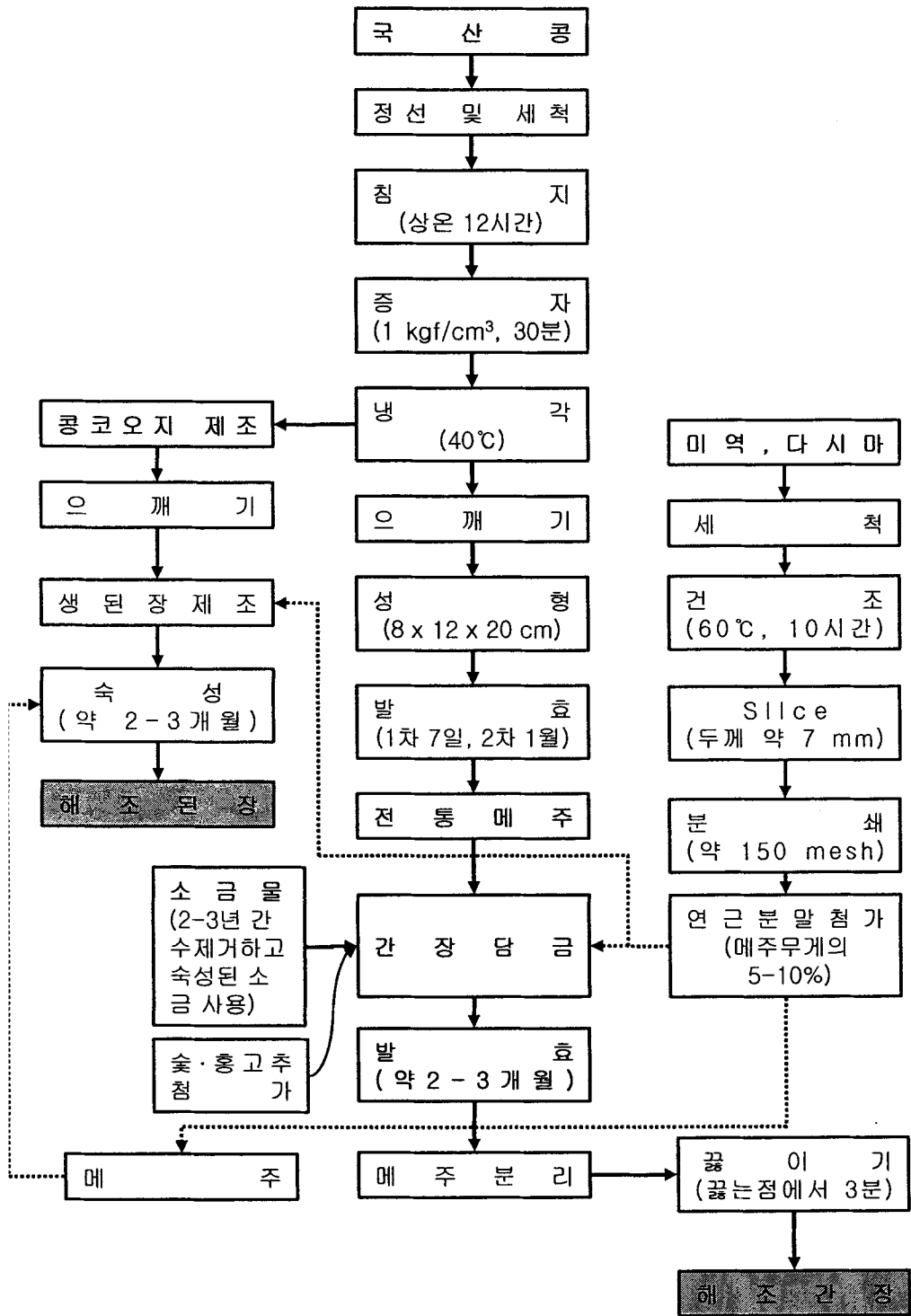


Fig. 1. 해조된장과 간장의 제조공정

일반성분 분석

일반성분은 AOAC법에 따라 3회 분석하여 평균값으로 하였다. 즉, 수분은 105°C 상압 건조법, 조회분은 건식회화법, 조지방은 에테르 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였다.

무기성분 분석

된장 20g을 건식법으로 550~600°C의 전기로에서 백색~회백색이 될 때까지 회화하고 냉각시킨 후, 염산용액(증류수 1 ml과 HCl 1 ml의 혼합액) 약 10 ml를 가하여 회화된 분말을 적신 뒤 수욕상에서 완전히 증발 건조시켰다. 건조된 시료에 염산 용액(증류수 1 ml과 HCl 3 ml의 혼합액) 10 ml를 가하여 녹인 후 여과하고 증류수를 가하여 100 ml로 희석한 후 Atomic absorption Spectrometer(Varian, Australia, Model-Spectra AA-220FS)를 이용하여 정량하였다.

이화학적 성분의 분석

된장의 pH와 ORP는 pH-ion meter(istek, Model 730P)로, 산도는 중화법에 준하였고, 환원당은 Somogyi 변법, 총당의 정량은 Phenol-H₂SO₄법으로 470 nm에서 흡광도를 측정하였고 아미노산성 질소(NH₂-N)는 포르몰 질소함량에서 암모니아성 질소 함량을 뺀 것으로 하였다. 이 밖에도 순추출물 함량을 측정하였다.

색도

된장의 색도는 색차계(Chromameter, Model CR-300, Mimolta Co., Japan)로 L, a, b 값을 측정하여 평균값으로 나타내었다. 색도의 색좌표 값이 L = 97.06, a = 0.04, b = 1.84인 표준 백색판(Calibration Plate, CR-143) 위에 놓고 측정하였다. 된장의 Hunter L, a, b 값으로부터 다음 식에 의하여 총색차(Total color difference ; ΔE)값을 계산하였다.

$$\Delta E = [(L_{\text{sample}} - L_{\text{standard}})^2 + (a_{\text{sample}} - a_{\text{standard}})^2 + (b_{\text{sample}} - b_{\text{standard}})^2]^{1/2}$$

관능검사

관능검사는 목포대학교 식품공학과 대학원 및 연구원 15명을 대상으로, 된장의 맛, 색, 향에 대한 기호도 및 종합적 기호도에 대하여 5점 평점법(1: 아주 나쁨, 2: 나쁨, 3: 보통, 4: 좋음, 5: 아주 좋음)으로 평가한 다음 Duncan's test로 유의성을 검정하였다. 관능검사 요원에게는 각각의 된장 10 g(색, 향에 대한 평가 시료, 흰색 접시에 제공)과 각 된

장 5 g에 물 100 ml를 넣고 충분히 용해시켜 흰색의 종이컵에 일정량씩 나누어 담은 시료(맛에 대한 평가 시료)를 함께 제공하였다.

결과 및 고찰

1. 해조된장

일반성분

미역, 다시마 및 멸치분말을 첨가하여 25℃에서 90일간 숙성시킨 후 된장의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2과 같다. 수분은 일반적으로 48.78~50.81%로 큰 차이는 없었으며, 미역과 다시마 분말을 첨가한 된장에서 다소 낮았다. 그러나 본 결과에는 나타내지 않았지만 숙성 후 저장중에는 해조분말 첨가된장의 수분유지력이 우수한 것으로 나타났다. 조단백질은 멸치 첨가 시 상대적으로 높은 함량을 보였으며 해조류 첨가 시에는 탄수화물 함량이 크게 증가함을 보였다. 회분은 15% 정도로 거의 차이가 없었다.

Table 2. Proximate analysis of Doenjang fermented for 90 days. (unit : %)

	Control	I	II	III	IV
Moisture	51.99	50.33	48.91	50.81	48.78
Carbohydrates	14.54	18.13	19.40	13.13	18.65
Crude protein	12.86	11.74	11.84	15.44	11.44
Crude fat	5.49	5.21	4.73	5.93	5.17
Ash	15.12	14.89	15.12	14.69	15.96

I : 1% addition of sea mustard

II : 1% addition of sweet tangle

III : 1% addition of anchovy

IV : 1% addition of sweet tangle and anchovy

무기질 함량

미역, 다시마 및 멸치분말을 첨가하여 25℃에서 90일간 숙성시킨 후 된장의 무기성분을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 무기성분은 전체적으로 다시마와 멸치 분말 첨가 시에 대조구와의 차이를 보였다. Ca은 대조구에 비하여 다시마 첨가구가 91.7 mg%로 낮은 값

을 보였으며 미역분말, 멸치분말 그리고 다시마와 멸치분말 첨가구의 경우 각각 105.5 mg%, 107.3 mg% 그리고 105.3 mg%로 대조구 103.6 mg%에 비하여 다소 높은 값을 보였다. Mg의 경우는 대조구가 140 mg% 였으며 다시마와 멸치분말을 첨가한 시험구의 경우는 각각 283 mg%와 278 mg%로 2배정도 높았으며 미역을 첨가한 경우도 217 mg%로 높은 함량을 보였다. 해조류와 멸치 첨가 된장에서 Na은 대조구에 비해 적었으나 K의 경우 2배 정도가 높게 나타났다. 결과적으로 된장 제조 시 해조류와 멸치 등의 분말을 첨가는 다양한 미네랄 성분을 보충할 수 있을 것으로 기대된다. 한국인의 식습관과 전통적인 풍습을 고려할 때 장류를 다량으로 섭취하고 있어 식염의 과다 섭취로 인한 과도한 Na, 소량의 K 섭취 환경은 고혈압 발병을 유발하게 된다는 보고에 비춰 볼 때 고혈압 예방에 효과적일 것으로 판단된다. Zn, Fe 등의 무기성분도 대조구보다 해조류, 멸치 첨가시의 경우가 크게 나타나 이는 이들 원료의 영향으로 간주된다. Se은 어느 된장에서도 검출되지 않았다.

Table 3. Mineral content of Doenjang fermented for 90 days. (mg/g)

composition	control	I	II	III	IV
Ca	103.6	105.5	91.7	107.3	105.3
Mg	140.1	217.6	283.5	277.9	219.9
K	1237.4	1519.5	2128.6	2186.0	1572.6
Zn	1.5	1.6	1.7	1.6	2.0
Fe	2.7	3.3	3.8	2.8	3.1
Na	8349.6	7712.0	10147.8	10626.0	8428.6
Se	-	-	-	-	-

I : 1% addition of sea mustard

II : 1% addition of sweet tangle

III : 1% addition of anchovy

IV : 1% addition of sweet tangle and anchovy

이화학적 성질

된장을 제조하여 일정기간 숙성시킨 후, 이화학적 성분을 측정된 결과 Table 4과 같다. pH는 약산성을 나타내었는데, 대조구에 비해 해조류 첨가시에는 높았고, 멸치는 훨씬 낮게 나타났다. 이와 같은 pH 저하는 숙성 중 미생물에 의해 생성되는 유기산에 의한 것으로

로 생각된다. 실제로 자연 발효시킨 메주를 이용하여 된장을 담그고 70일 발효시킨 후 제품의 유기산을 조사한 결과 젖산, 호박산, 베타글루탐산 및 피로글루탐산이 검출된다고 보고 되었으며, Kim은 숙성중인 된장에서 아세트산, 숙신산, 구연산의 검출을 보고한바 있다. 총산은 pH와 반대로 나타났다. 이와 같이 알칼리성 식품인 해조를 첨가했을 때와 산성 식품인 멸치를 첨가했을 때는 서로 상반된 경향을 나타내었다. ORP(Oxidation Reduction Potential)값은 멸치 첨가의 경우가 조금 높았는데, 이는 H를 산화하여 H⁺으로 하는 산화작용이 다른 것보다 조금 높다고 할 수 있는데 멸치가 산성식품이기 때문에 나타나는 특성이라고 생각된다. 환원당이나 총당의 경우 해조류에 많이 들어있는 다당류로 인해 발효속도가 높아져서 발효 미생물의 생육을 촉진시킬 수 있으며 해조류 첨가 된장의 경우 해조류에서 기인된 환원당에 의해 발효속도가 높아졌다고 추측할 수 있다. 이와는 달리 멸치 첨가 시에는 환원당이 특히 낮게 나타났는데 이는 멸치는 단백질과 지질 함량은 높는데 비해 당질 함량이 낮아서 생긴 결과로 보인다. 아미노산성 질소의 함량은 대조구에 비해 해조나 멸치 첨가 시 높게 나타났다. 이는 된장의 발효가 진행됨에 따라 원료중의 단백질이 protease의 활성으로 인해 아미노산으로 변화되었기 때문이라 생각되며 이러한 아미노산성 질소의 함량이 높은 된장은 된장의 고유 맛인 구수한 맛 성분과도 밀접한 관계가 있다고 한다. 또 재래식으로 제조된 된장의 아미노태 질소 함량은 저장기간이 길수록 아미노태 질소 함량이 증가한다는 Kim 등의 연구 결과와 유사한 경향을 보였다. 본 실험에서 첨가 원료의 종류에 따른 아미노산성 질소의 함량 차이는 각 해조류와 멸치의 무기 금속이온 등의 성분 조성의 차이가 아미노산성 질소의 생성에 관여하는 protease의 활성 발현에 영향을 미치는 것으로 생각되었다. 이러한 원인은 첨가 원료의 종류에 따라 된장의 숙성과정 중 생성되는 아미노산성 질소 함량에 영향을 미치는 것으로 추정되었다. 이렇게 이화학적 성분의 차이는 다시마나 멸치의 성분들과 대두의 isoflavones 등의 성분이 발효미생물의 작용으로 각종 성분 상호간의 작용과 이로 인해 생성된 미지 화합물이 상승효과를 촉진시켜 주는 것으로 사료된다.

Table 4. The pH, ORP, acidity, reducing sugar, total sugar, amino type nitrogen of Doenjang fermented for 90 days.

Items	control	I	II	III	IV
pH	5.70	5.71	5.81	5.48	5.89
ORP(mV)	68.5	67.3	63.0	78.6	61.3
Acidity(%)	1.38	1.45	1.27	1.50	1.11
Reducing sugar(%)	6.03	7.91	7.91	4.52	9.42
Total sugar(%)	8.7	7.6	9.2	7.1	8.7
NH ₂ -N(mg%)	531.17	586.48	571.24	618.73	566.99

I : 1% addition of sea mustard II : 1% addition of sweet tangle
 III : 1% addition of anchovy IV : 1% addition of sea sweet and anchovy

된장 색의 비교

된장의 색깔은 각양각색으로 착색의 차이가 각종 된장의 중요한 품질특성으로 되고 있다. 특히 색깔에 있어서는 ‘맑은 색깔’과 ‘검은 색깔’의 정도가 된장의 품질 평가에 매우 중요한 지표가 되고 있다.

본 연구에서 해조분말을 첨가하고 90일 동안 숙성시킨 된장의 색도를 측정 한 결과는 Table 5와 같은데, 다시마나 멸치 첨가 된장의 L값이 49.67로 높게 나타났고, 미역을 첨가한 된장은 낮게 나타났다. 이는 첨가물의 종류에 따라 L, a, b 값에서 차이를 보였고, 대조구에 비해 다시마나 멸치 첨가 된장의 L값이 높은 것은 다시마, 멸치 분말이 된장의 착색을 감소시켜 주는 역할을 하고, 미역은 고유의 색 때문에 착색에 좋지 못한 영향을 끼쳤다. Total color difference를 나타내는 ΔE 값은 미역 첨가 된장에서 가장 변화가 컸고, 다시마 첨가 된장이 작게 나타났다.

Table 5. Hunter's color values of Doenjang fermented for 90 days.

Items	control	I	II	III	IV
L	45.63	43.47	49.67	48.76	48.39
a	9.61	4.89	7.37	9.34	7.02
b	22.02	21.13	23.98	24.33	23.56
ΔE	56.07	57.16	52.82	54.08	53.75

I : 1% addition of sea mustard II : 1% addition of sweet tangle
 III : 1% addition of anchovy IV : 1% addition of sweet tangle and anchovy

관능적 특성

해조와 멸치를 첨가하여 제조한 된장을 26℃에서 90일 동안 숙성시킨 후 관능평가를 행한 결과는 Table 6와 같다. 맛에 대한 평가는 대조구에 비해 해조나 멸치 첨가 된장에서 더 높게 나타났는데, 이는 이들이 지니고 있는 지미 성분의 영향 때문으로 생각된다. 향 또한 다시마, 멸치 첨가 된장에서 3.87과 3.93으로 높은 점수를 받았는데, 된장 고유의 향이 많이 나는 대조구와 미역의 해조취는 싫어하는 반면 이러한 향이 상대적으로 적은 다시마, 멸치 된장을 선호하는 것으로 나타났다. 색 또한 다시마나 멸치 된장이 4.07과 3.80으로 높은 점수를 받았는데, 다시마, 멸치 된장은 밝은색을 띠는 반면 미역 된장은 미역 고유의 색인 짙은 녹색을 띠어 기호도가 1.93으로 낮게 나타났다. 이는 색도 측정에서 L값과 비교시 일치하는 결과로 볼 수 있다. 전체적인 기호도는 맛, 색, 향 등 모든 면에서 우수한 멸치 첨가 된장이 가장 우수한 것으로 나타났다.

Table 6. Sensory evaluation of Doenjang fermented for 90 days.

Doenjang	control	I	II	III	IV
Taste	2.80 ^a	2.93 ^a	3.40 ^{ab}	3.53 ^{ab}	3.87 ^b
Flavor	3.13 ^{ab}	2.93 ^a	3.87 ^{b,c}	3.93 ^c	3.73 ^{b,c}
Color	2.57 ^{ab}	1.93 ^a	4.07 ^c	3.80 ^c	3.07 ^b
Total acceptability	3.00 ^{ab}	2.73 ^a	3.80 ^c	3.93 ^c	3.47 ^{b,c}

I : 1% addition of sea mustard

II : 1% addition of sweet tangle

III : 1% addition of anchovy

IV : 1% addition of sweet tangle and anchovy

The average value with same letters were not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

2. 해조간장

일반성분

다시마와 미역 분말의 일반성분을 분석한 결과는 Table 7과 같으며 식품 성분표와 비교해 볼 때 약간의 차이가 나는 것은 수확시기, 건조조건, 기후 품종 등이 다르기 때문으로 사료된다.

Table 7. Proximate composition of sea tangle and sea mustard (% dry basis)

Compound	Sample	
	Sea tangle (<i>Laminaria japonica</i>)	Sea mustard (<i>Undaria pinnatifida</i>)
Moisture	9.31±0.3005	12.38±0.1946
Crude protein	7.54±0.036	24.16±0.8806
Crude fat	2.21±0.01	0.56±0.0964
Crude fiber	8.5±0.2107	8.0±0.2773
Crude ash	18.57±0.5602	17.69±0.4158

간장 발효과정 중 순추출물의 변화

생간장의 순추출물의 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 초기 순추출물의 함량이 0.9~4.2%에서 발효시간이 경과함에 따라 대조구 및 해조분말을 첨가한 간장 모두 유의적으로 증가하였다. 순추출물의 전통식품 기준규격은 8.0% 이상인데 7주 경과 후 대조구 및 해조분말 첨가 간장 모두 순추출물 함량이 7.2~11.61%로 식품기준규격 기준치와 비슷하거나 그 이상이었으며 9주 경과 후 함량이 12.57~15.16%을 나타내었는데 발효 종료 후 이들 간장을 다룬 최종 제품의 순추출물 함량이 14.47~16.8%로 증가하였다. 다시마분말을 첨가한 간장이 Control과 미역분말을 첨가한 간장에 비하여 순추출물 함량이 다소 높게 나타났다.

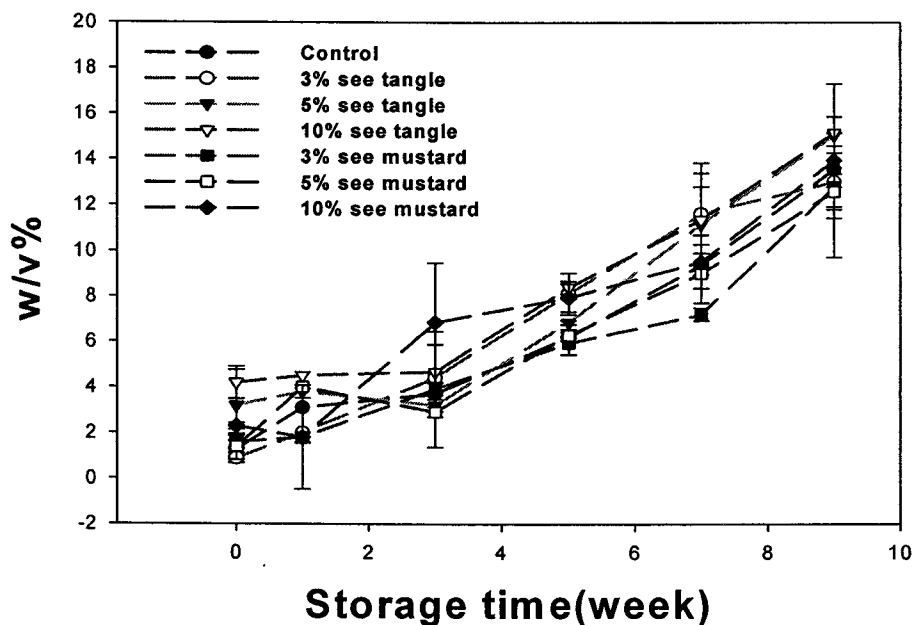


Fig. 2 Change of pure extract content during the fermentation

아미노산성질소의 변화

생간장의 아미노산성질소의 결과는 Fig. 3과 같이 나타났다. 아미노산성질소의 변화는 단백질의 분해로 아미노산이 변화하여 콩이 분해되는 정도를 알 수 있는 지표가 된다. 초기 아미노산성질소의 함량은 10.5~27.44 mg%였는데 발효 3주후부터 236.6~ 293.44 mg%로 급격히 증가하였다. 발효 9주 후 측정된 아미노산성질소 함량이 680.4~699.16 mg%로 해조분말 처리구와 대조구의 발효양상은 큰 차이가 없음을 알 수 있었고 최종제품의 아미노산성질소 함량이 802.9~886.2 mg%로 전통식품의 총질소 기준인 0.8%와 비슷하게 나올 만큼 발효가 일어나 우수한 간장제품을 얻을 수 있었다.

총질소의 변화

식품공전상 간장에서 가장 중요한 인자는 총질소 함량인데 생간장의 총질소를 측정한 결과는 다음 Fig. 4과 같이 나타났다. 초기 총질소 함량이 0.0326~0.0614 %였는데

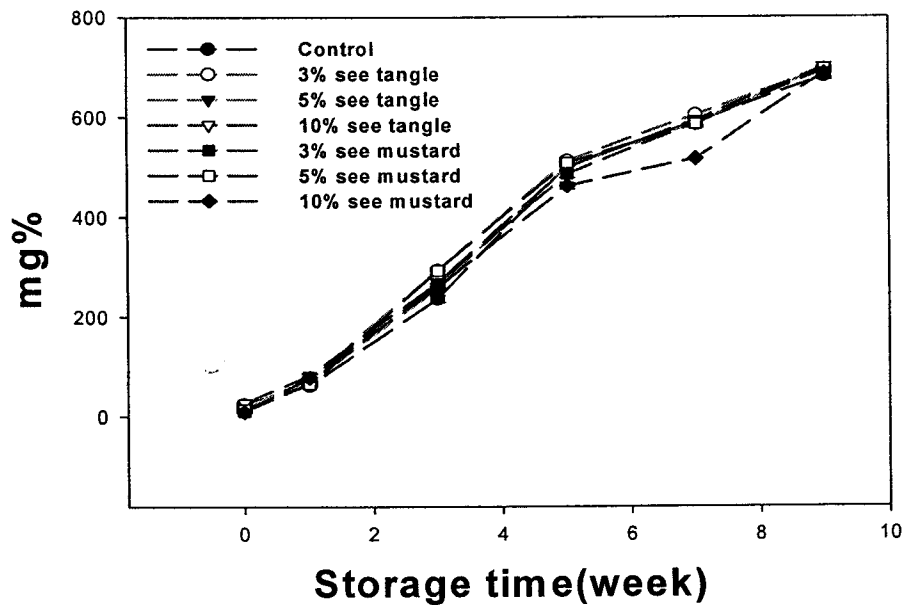


Fig. 3 Change of amino-nitrogen during the fermentation

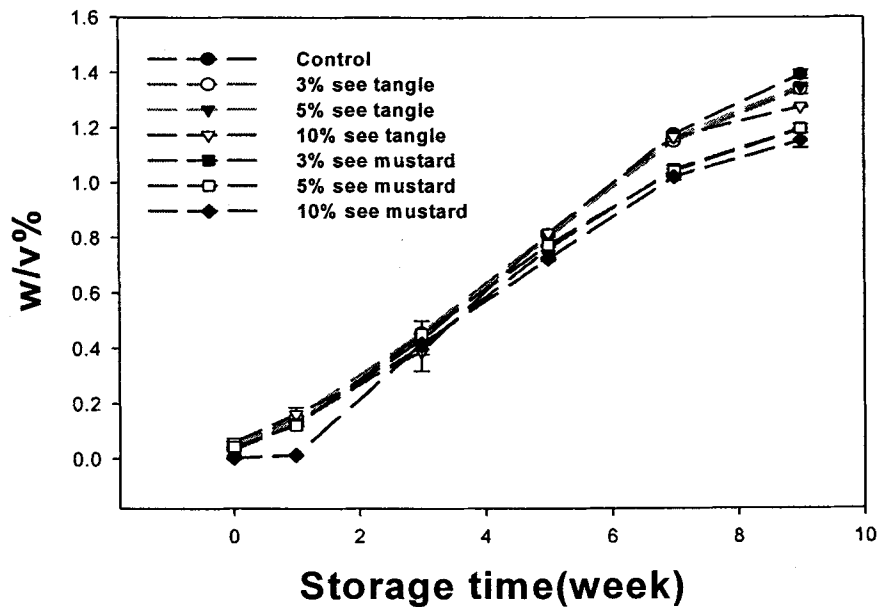


Fig. 4 Change of total nitrogen content during the fermentation

발효시간이 경과함에 따라 모든 시료구 에서 유의적으로 증가하였다. 전통식품의 총질소 기준이 0.8(w/v%) 이상임을 감안할 때 발효 5주후 총질소 함량이 0.723~0.8181 %로 나타난 것으로 보아 5주가 경과하면 전통식품기준의 총질소 함량이 생성이 된다는 것을 알 수가 있었고 해조분말첨가 간장과 Control의 수치가 비슷한 것으로 보아 해조분말이 곰팡이나 세균의 생육과 protease활성에 큰영향을 주지 않는 것을 알수 있었다. 최종제품의 총질소 함량은 1.6001~1.7841 %로 기준의 2배 이상 높았다.

pH의 변화

생간장의 발효에 따른 pH의 변화는 다음 Fig. 5 과 같다. 식품공전상 한식간장의 pH기준은 4.0~6.8인데 담금 초기 생간장의 pH는 중성을 나타내었고, 발효가 진행됨에 따라 모든 시료구 에서 점차 pH가 낮아지는 경향을 보였으며 발효 7주후부터 식품공전상의 pH 기준에 비슷한 측정치인 4.59~5.24가 나왔으며 최종간장 제품의 pH는4.44~5.00으로 나타난 것으로 보아 모든 시료구의 발효기간은 7주~10주 정도가 적당한 것으로 보인다. pH는 유기산과 밀접한 관계가 있다는 것을 고려할 때 대조구와 해조분말의 pH변화가 양상이 큰 차이를 보이지 않는 것으로 보아 해조분말은 유기산의 생성에 영향을 주지 않고 메주의 당질이 분해되어 유기산이 생성된 것으로 사료된다.

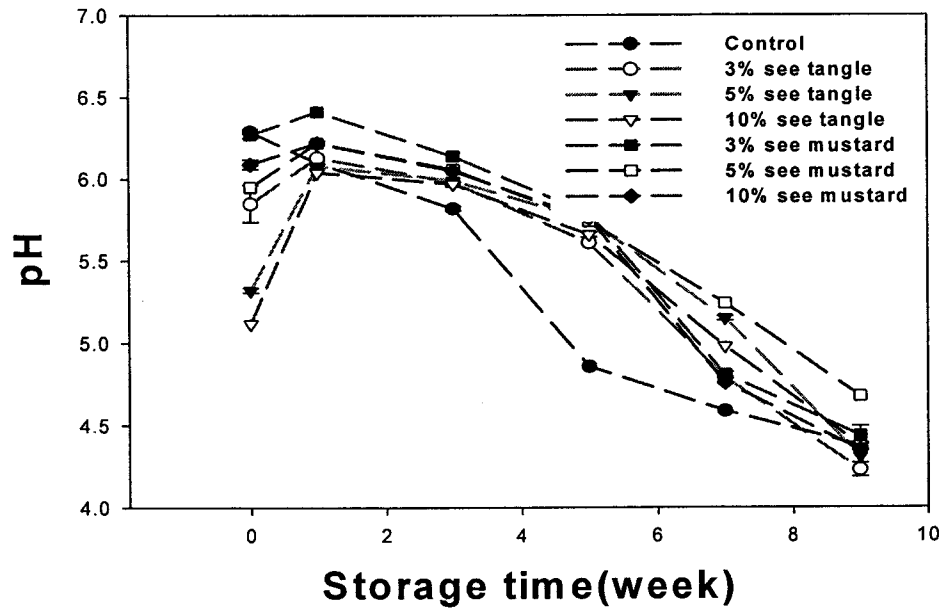


Fig. 5 Change of pH content during the fermentation

색도의 변화

발효과정 중 간장의 색도는 다음 Table 8과 같다. 간장의 색도는 7개의 시료 모두 발효가 진행됨에 따라 갈색도가 점차 증가하는 것을 보였고 각각의 시료별로 크게 차이가 나지 않았다. 초기에 (-)에 가까웠던 적색도와 황색도도 발효가 진행됨에 따라 점차 (+) 값으로 변하는 것이 모든 시료에서 관찰되었으며 Control과 다시마 분말을 첨가한 간장이 미역을 첨가한 간장보다 적색도가 높게 나타났으며 최종간장은 황색도가 생간장에 비하여 낮게 나타났다. 간장의 색은 melanoidin 물질에 의한 것으로 메주중에 형성된 색소가 침지기간 중 간장으로 용출되거나 간장내의 carbonyl화합물과 amino acid, peptide, protein등의 amino화합물을 기질로 하는 maillard reaction을 통해 간장의 색이 형성된 것으로 사료된다.

Table 8. Change of color during the fermentation

Sample	Hunter value	발효기간 (주)					
		0	1	3	5	7	9
A	L	12.8±0.01	10.19±0.01	7.38±0.01	8.02±0.00	7.59±0.01	7.32±0.01
	a	-0.32±0.01	-0.41±0.01	-0.54±0.01	0.36±0.02	3.49±0.01	4.28±0.00
	b	0.19±0.02	0.67±0.01	2.33±0.02	6.32±0.01	8.12±0.01	8.17±0.01
B	L	13.89±0.01	12.43±0.01	6.68±0.01	7.93±0.01	7.53±0.01	6.68±0.01
	a	-0.22±0.01	-0.5±0.01	-0.59±0.01	-0.06±0.01	1.40±0.01	3.18±0.00
	b	0.03±0.02	0.61±0.01	1.53±0.01	2.86±0.00	6.52±0.01	7.67±0.00
C	L	15.25±0.01	12.07±0.01	5.90±0.01	7.11±0.01	5.83±0.01	5.19±0.01
	a	-0.4±0.01	-0.52±0.01	-0.61±0.01	-0.39±0.01	1.70±0.01	3.10±0.01
	b	-0.14±0.01	0.36±0.01	1.82±0.02	2.03±0.01	5.72±0.01	8.64±0.01
D	L	13.71±0.01	9.91±0.01	8.17±0.01	7.30±0.01	7.32±0.01	8.42±0.01
	a	-0.42±0.03	-0.68±0.01	-0.56±0.01	0.48±0.01	1.91±0.01	3.31±0.01
	b	-0.16±0.02	0.82±0.01	2.15±0.01	3.80±0.01	5.42±0.01	7.83±0.00
E	L	14.53±0.01	12.97±0.01	9.10±0.00	7.99±0.01	6.60±0.58	5.50±0.01
	a	-0.59±0.01	-0.61±0.04	-0.65±0.07	0.49±0.01	1.17±0.01	2.75±0.02
	b	0.35±0.03	0.61±0.02	2.13±0.02	3.85±0.01	6.76±0.01	8.01±0.02
F	L	15.82±0.01	8.88±0.01	9.77±0.01	7.23±0.01	7.44±0.01	8.70±0.01
	a	-0.68±0.03	-0.28±0.01	-0.67±0.01	0.31±0.00	0.86±0.03	2.85±0.00
	b	0.44±0.04	1.01±0.02	2.67±0.00	4.07±0.00	4.62±0.01	5.15±0.01
G	L	11.73±0.01	14.02±0.01	8.47±0.01	7.4±0.01	8.45±0.01	5.77±0.01
	a	-1.03±0.01	-0.73±0.01	-0.69±0.00	-0.15±0.02	1.13±0.02	2.22±0.00
	b	1.02±0.02	0.82±0.02	3.09±0.01	3.76±0.02	7.25±0.03	6.31±0.00

A: Control B: 3% Sea tangle C: 5% Sea tangle D: 10% Sea tangle
 E: 3% Sea mustard F: 5% Sea mustard G: 10% Sea mustard

관능평가

발효 종료후 끓인 간장을 관능검사한 결과는 Table 9와 같다. 색과 맛에서는 Control이 냄새에서는 3% 다시마분말 첨가 간장이 가장 높은 선호도를 보였다. 전체적으로 Control이 높은 선호도를 보였는데 이는 Panel들이 양조간장의 맛에 익숙해져있기 때문에 양조간장의 맛과 비슷한 Control에 높은 점수를 준 것으로 사료되며 10% 다시마분말 첨가 간장은 색과 냄새에서 낮은 선호도를 보였는데 이는 Panel들이 높은 %의 다시마분말 첨가에 의해 생성된 점성으로 인한 거부반응으로 보인다. 그러나 맛에서는 Control과 유의적 차이가 나타나지 않았다. 해조간장 제조시 해조분말 첨가량은 5%(w/v) 전후가 적당할 것으로 사료된다.

Table 9. Results of sensory evaluation of seaweed added soy sauce.

요 약

해조류의 소비촉진과 된장과 간장의 기능성 향상을 목적으로 미역과 다시마를 건조분말상태로 1%(w/w) 생된장에 첨가하여 90일간 숙성시켜 된장을 제조하였으며 또한 20% 소금물 20 ℓ에 메주 10 kg, 해조분말 0.3~1.0 kg 첨가하여 60일 동안 숙성시켜 간장을 제조하고 제품의 품질특성 및 관능특성에 대하여 조사하였다.

해조된장에 있어서 일반성분은 해조류를 첨가한 경우 당 함량이 약 8-17% 증가하였으며, 1% 멸치분말을 첨가구는 대조구보다 다소 낮게 나타난 반면, 단백질 함량은 다소 높은 값을 보였다. 해조첨가 된장에서 Mg와 K이 대조구에 비하여 약 2배정도 높은 함량을 보였다. pH, ORP, 총산도는 미미한 차이를 보였으며 환원당은 해조 특히 다시마 첨가 된장에서 대조구 6.03%에 비하여 9.42%로 매우 높게 나타났다. 총당도 환원당과 유사한 결과를 보였다. 아미노산성 질소는 멸치 첨가 된장이 618.73 mg%로 대조구의 531.17 mg%보다 높게 나타났다. 색도와 관능 평가의 경우 밝기 즉 L값으로 인해 기호성이 다르게 나타났는데, 더 밝은 색을 띠는 멸치와 다시마 첨가 된장이 대조구나 미역 첨가 된장보다 우수한 결과를 나타내었으며 전체적인 기호도 결과 3.93으로 멸치 첨가 된장이 가장 우수하였으며 다시마 된장도 기호도가 매우 높은 것으로 평가되었다.

해조간장의 경우 발효과정과 발효종료 후 끓인 간장의 순 추출물은 다시마 분말을 첨가한 간장이 대조구와 미역분말에 비하여 약 1% 정도 높게 나타났다. 아미노산성질소와 총질소 함량은 해조분말 첨가 간장과 대조구가 큰 차이를 보이지 않았으며 pH 변화 역시 발효과정과 끓인 후의 차이가 미세하게 나타났다. 간장의 색은 발효가 진행됨에 따라 모든 시료에서 갈색도가 점차 증가 하는 것을 관찰할 수 있었고 대조구와 다시마분말 첨가간장의 적색도가 미역분말을 첨가간장보다 다소 높았다. 발효 종료 후 최종제품의 관능 평가 결과 10% 다시마분말 첨가구와 대조구가 미역분말을 첨가한 경우보다 우수한 결과를 보였다.

참 고 문 헌

1. Joo. H.K., Kim. D.H. and Oh. K.T. : Chemical composition changes in fermented Doenjang depend on Doenjang koji and its mixture. *J. Korean. Agric. Chem. Soc.* 35, 351~360 (1992)

2. Kim. S.H., Kim. S.J., Kim. B.H., Kang S.G. and Jung S.T. : Fermentation of Doenjang Prepared with Sea Salts. *J. Korean. Food. Sci. Technol*, 32(6), 1365~1370 (2000)
3. Jeong. J.H., Kim. J., Lee. S.D., Choi. S.H. and Oh. M.J. : Studies on the contents of free amino acids, organic acids and isoflavones in commercial soybean paste. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 21. 10~15 (1998)
4. Messina. M. : Modern application for an ancient bean, soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J. Nutr.* 125. 567~572 (1995)
5. Kim. J.S., Nam. Y.J. and Kwon. J.W. : Induction of quinone reductase by soybean isoflavone, genistein. *Food. Sci. Biotechnol.* 5. 70~78 (1996)
6. Kennedy. A.R. : The evidence for soybean products as preventive agents. *J. Nutr.* 125. 733~739 (1995)
7. Santiago. L.A., Hiramatsu. H. and Mori. A. : Japanese soybean paste miso scavenging free radicals and inhibit lipid peroxidation. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 38. 297~302 (1992)
8. Shin. Z.I., Ahn. C.W., Nam. H.S., Lee. H.J. and Moon, T.H. : Fractionation of angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean. J. Food. Sci. Technol.* 27. 230~234 (1995)
9. Cui. C.B., Lee. E.Y., Lee. D.S. and Ham. S.S. : Antimutagenic and Anticancer Effects of Ethanol Extract from korean Traditional Doenjang Added Sea Tangle. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 31(2). 322~328 (2002)
10. 송재철 : 식품재료학. 교문사. p. 380 (1992)
11. Noda. H., H. Amano, K. Arshima, S. Hashimoto and K. Nisizawa. : Studies on the antitumor activity of marine algae. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 55(7). 1259~1264 (1989)
12. Rositto, G. : Pharmacological and Clinical Study of a New Seaweeds extract registered in the Italian pharmacopeia as Agasol T331. *Milano*, p.15~19 (1985)
13. 황선희 : 한국인 상용식품의 식이섬유 함량 분석과 한국 남자 대학생의 식이섬유 섭취현황 평가. 숙명여자 대학교 박사학위 논문 (1994)
14. 이종우, 성낙주 : 해조류의 무기성분. *한국수산학회지.* 9. 51 (1980)
15. 농촌진흥청 : 식품성분표. 제 5 개정판 (1996)
16. Torsdottir. I., Alpsten. M., Holm. G., Sandberg. A. S. and Tolli. J. : A small dose

- of soluble alginate - fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J. Nutr.* 121. 795 (1991)
17. The Fisheries Association of Korea : Korean Fisheries Yearbook. *Dongyang publishing Co., Seoul*, p.354~363 (1998)
18. Lee. E.H., Kim. S.K. and Cho. G.D. : Nutritional component and health in the fishery resources of the coastal and offshore waters in korea. *Youil publishing Co. Pusan.* p.43~46 (1977)
19. Kim. H.L., Lee. T.S., Noh. B.S. and Park. J.S. : Characteristics of samjangs prepared with different doenjangs as a main material. *Korean. J. Food. Sci. Technol.* 30. 54~61 (1998)
20. Lee, E.H., Koo, J.G., Ahn, C.B., Cha, Y.J. and Oh, K. S. : A rapid method for determination of ATP and its related compounds in dried fish and shellfish products using HPLC. *Bull. Korean Fish. Soc.* 17. 368~372 (1984)
21. George, R., Moneely, M. D., Facc, Harold, K. and Battarbee, P. : High Sodium-low potassium environment and hypertension. *Am. J. Cardiol.*, 38, 768 (1976)
22. The Ministry of Science and Technology : Scientific Approaches on Korean Traditional Fermented Foods. p. 167 Study on the Commercial Scale Production of meju for Korean Fermented Soybean Products, *Korean Food Reasearch Institute*(1995)
23. Kim. D.H. : Changes of chemical composition during doenjang fermentation depend on doenjang koji and mixture. *M.S. thesis. Kon-Kuk Univ., Seoul* (1992)
24. Kim. J.S., Choi. S.H., Lee. S.D. and Oh. M.J. : Quality changes of sterilized soybean paste during its storage. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 28, 1069~1075 (1999)
25. Kim. D.W. : Food chemistry. *Thamkudang press, Seoul*, p 401~447 (1990)
26. Hondo. S. : Brownig and color of miso, brightness and darkness(in Japanese). *J. Brew. Soc. Japan.* 88, 41~49 (1993)
27. 이서래: 한국의 발효식품. 이화여자 대학교 출판부. 서울. p53~135 (1992)
28. Cheigh. Hs. Lee, J.S, Moon, G.S, and Park, K.Y, Antioxidative activity of browning products fractionated from fermented soy bean sauce. *J. Korean Soc. Food sci. Nutr.*22. 565~569 (1993)

29. Yu, J.H, Kim, Y.S Lee, J.M, and Hong, Y.M studies on the substitution of raw materials for soy sause. part l. use of corn-gluten. korean J. Food Sci. Technol. 4: 106~111 (1972)
30. Ahu, J.M, Song, Y.S : Physico-chemical and sensory charecteristics of cahes added sea Mustard and sea Tangle powder. J korean. soc. Food Sci Nutr V8(3) 534~541 (1999)
31. Kim, S.H, park, H.Y, and park, W.K : Determination and physical properties of dietary fiber in seaweed products. J korean Soc. food Nutr. 17. 320~325 (1988)
32. Lee, S. F, cheon, J.K, and Ju, C.S : components Analysis of sea Tangle Extracts with super critical carbon Dioxide
33. Tashiro, T.: Analysis of nucleic acid related substances of dried purple laver. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 49. 1121 (1983)
34. 농촌진흥청 : 식품분석표 (1991)
35. Yoshie, Y. and Suzuki, T.: Free amino acid and fatty acid composition in dried nori of various culture locations and prices. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.,59, 1769(1993)
36. 농림수산 통계연보 (1990)
37. Choi. H.S. Kim. S.S. Kim, J. G. and kim, W. J : Effects of temperature on some quality charucferistics of aqueous extracts of sea mystard, korean. J. Food sci. Technol 24(4) 328~386 (1992)
38. 장지현: 한국재래 장류제조사 — 특히 고농서류에 나타난 장류를 중심으로 민족문화 연구(서울농대), 80, 92 (1972)
39. 이성우: 고려이전의 한국식생활사연구. 향문사, p179~276 (1978)
40. 조재선: 우리나라 발효 식품연구의 어제와 오늘 (II—IV). 주정공업. 8, 114 (1978)
41. AOAC: official methods of aualysis. 16thed., A ssociation of offical analytical chemists. Washington. D.C. p20 (1995)
42. Yonsei University. Experimentsin Food science and Engineering. Tamgudang Publ. Co, Seoul, Korea (1975)
43. Jung, C.Y, Choi. L.K : Statistical analysis using SPSSWIN. 3rd ed. p. 311~323. Muyok Koungtounng Press. Korea (1998)
44. Lee, H. J : Survey on the consumer's attitude and consumption and taste components of traditional korean soy sauce with various meju types and jar types. M.

S. thesis, Yonsei University. Seoul. Korea (1997)

45. The Korean Nutrition Society : Recommended Dietary Allowance for Koreans. 6th revision, Jungangmoonhwa. Publ. Co. Seoul. Korea p.318(1995)

46. Kim, D.H. : Food Chemistry: Maillard Reaction Tamgudang. Seoul, Korea. p.403~416 (1995)

제 9 절 해조류 분말과 추출물을 첨가한 쌀 압출성형물의 특성

박 양 균 (목포대학교 식품공학과)

서 론

	Color	Smell	Taste
Control	4.1±0.1762 ^d	3.45±0.1983 ^a	3.6±0.1338 ^a
Sea tangle 3%	3.9±0.1762 ^{cd}	3.45±0.1141 ^a	3.25±0.1602 ^a
Sea tangle 5%	3.4±0.1338 ^{bc}	3.35±0.1666 ^a	3.4±0.1686 ^a
Sea tangle 10%	2.1±0.1906 ^a	2.9±0.2503 ^a	3.55±0.1352 ^a
Sea mustard 3%	3.3±0.1933 ^b	3.1±0.2164 ^a	3.15±0.3346 ^a
Sea mustard 5%	3.25±0.2702 ^b	3.0±0.1777 ^a	3.4±0.1338 ^a
Sea mustard 10%	3.3±0.9234 ^b	3.05±0.2233 ^a	3.2±0.1864 ^a

건강한 삶을 위해 기능성 식품을 찾는 웰빙이라는 최근의 사회 흐름 속에서 새로운 기능성 물질의 이용과 새로운 식품의 개발에 관심이 집중되고 있다. 이런 현상에도 불구하고 스낵계통의 식품들은 아직까지 영양밀도가 낮으므로 일부 영양학자들은 “empty - calorie food”, “junk foods”라고 간주하고 있다. 스낵의 낮은 영양성을 보충하기 위한 노력과 새로운 기능성 물질을 첨가한 스낵제품의 개발이 필요하다.(1-3)

해조류 중 다시마는 비타민 B1, B2, C, niacin 등이 함유되어 있으며, 무기질인 칼슘, 인, 철, 마그네슘 등이 풍부하다. 또한 식이섬유질 효과가 있는 알긴산은 콜레스테롤 저하 효과와 혈액순환을 촉진, 피부노화의 원인이 되는 과산화지질 등의 인체에 유해한 물질의 제거, 비만방지 및 금속이온과의 반응시 중금속 체내 흡수를 억제하는 효과를 가지고 있다.(4-11) 이와 같이 기능성 물질이 풍부하지만 아직까지도 식품전반에 걸쳐 다양하게 이용되지 못하는 해조류인 다시마는 우리나라에서 연간 1,500만톤이나 되는 많은 양이 생산되고 있는 실정이다. 이러한 과잉생산에도 불구하고 이용되는 분야는 염장품, 건제품이나 일부 식품첨가물 그리고 추출액상 조미료로서 단순가공에만 이용되고 있다.(12-13)

압출성형을 통해 만들어지는 제품에 사용되는 전분재료로는 옥수수가루, 밀가루, 귀리 가루, 메밀가루, 감자가루, 쌀가루 등이 있다. 최근 쌀을 이용한 제품들의 소비가 증가하고 있으며, 위축된 쌀 소비량을 늘리기 위해서도 쌀을 이용한 제품개발이 필요하다고 볼

수 있다. 또한 쌀은 탄수화물, 단백질, 비타민, 무기질과 미량의 지방을 가지고 있으면서 알레르기가 적은 식품으로서 영양가치가 높은 식품이다.(14-16)

본 연구에서는 쌀 고유의 고소하고 부드러운 맛과 영양에 다시마와 미역의 독특한 풍미와 기능성을 부여한 스낵을 제조함으로써 해조류의 이용성 증진을 위해서 미역과 다시마의 농축액과 분말을 쌀가루와 혼합하여 압출성형물을 제조하고 품질특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 미역과 다시마는 목포수산시장에서 건 미역과 건 다시마를 구입하여 분쇄하여 사용하였으며, 쌀은 청계농협에서 구입하여 분쇄기로 마쇄하여 10 mesh 통과한 것을 사용하였다.

해조류 분말 및 농축액 제조

해조류 분말은 미역과 다시마를 분쇄기(카이젤 애니밀, KA-2400, 나라)로 분쇄하여 100 mesh체를 통과시켜 제조하였고, 농축액은 각각의 분말 1.5 kg에 13배의 물을 가하여 50℃ 항온수조에서 2시간동안 추출하여 4℃에서 9,000 rpm으로 30 min간 원심분리(Kontron Instrument, Centricon T-324, 나라)한 다음 상등액을 감압농축(Tokyo Rikakiai Co., LTD, N-1000, Japan)하여 5 Brix 로 농축하여 사용하였다.

해조스낵의 제조

해조스낵의 제조를 위한 쌀의 최적 수분을 선별하기위해 수분함량이 18%, 20%, 22%, 24%, 26%, 28%로 각각 가수한 후 10분간 혼합하여 지퍼백에 밀봉하고 4℃ 에서 하룻밤 동안 방치한 후 수분평형에 도달하게 하여 압출성형한 다음 전단력, 팽화율, 관능평가를 실시한 결과 수분함량 18%가 가장 적합하였다.

미역, 다시마 분말과 추출액의 최적 배합비를 정하기 위해 분쇄한 쌀의 수분함량은 18%로 고정시켰고, 각각 분말의 혼합비율은 1%, 3%, 5%, 추출액의 혼합비율은 3%, 5%, 7%, 10%가 되게 첨가하여 수분평형이 이루어지도록 한 후 압출성형하여 수분함량이 2% 정도가 되도록 60℃ 의 건조기에서 8시간 동안 건조시킨 후 지퍼백에 보관하면서 분석에

사용하였다.

Extrusion 조건

쌍축 동방향 압출성형기(corotating twin extruder, 백상기계, Model THK 3IT, 한국)를 사용하였으며 기계적 조건으로 스크류 직경은 4 mm인 원형(circular type)을 이용하였고, 스크류 배열은 high-shear screw를 이용하였다. 원료 사입부에 수분을 주입하였으며 바렐온도는 0.5 kw 전열기를 사용하여 가열하였고 사출구 직전의 바렐에 냉각수를 통과시켜 수분에 의한 팽화가 발생하지 않도록 하였다. 원료사입속도는 150 g/min, 스크류 회전속도는 250 rpm, 계량부위의 온도는 140℃를 유지하였다.

이화학적 성분의 분석

일반성분은 AOAC방법(27)에 따라 수분은 상압건조법, 조단백질함량은 micro - Kjeldahl 법으로 측정하였으며 조회분은 건식회화법으로 측정하였다. 모든 분석은 3회 반복하였다. 갈변도는 시료를 분말화하여 0.3 g을 50 ml 원심분리관에 넣고 55% ethanol 10 ml를 가하여 35℃의 shaking incubator에 넣어 150 rpm으로 3시간 교반하여 추출한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 갈색도로 나타내었다. 전단력은 Rheometer (SUN COMPAC-100, Japan)를 이용하여 측정하였고, 시료의 크기는 3 cm 길이로 절단하였으며 측정조건은 모드 21에서 speed는 120 mm/min, 침입정도는 0.6 mm, 최대하중 2 kg의 조건을 가지고 hardness 와 bending strength를 10회 반복 측정하여 최대값과 최소값을 제외한 나머지 값의 평균으로 하였다. 아답터는 No. 34 , No. 44를 사용하였다. 팽화율은 제품의 직경과 사출구 직경의 비로써 계산되었으며, 제품 중 무작위로 20개의 시료를 취하여 Digital Mitutoyo caliper(U.S.A)를 이용하여 10회 반복 측정 후 평균값을 구하고 사출구 직경으로 나누었다. 색도는 시료 분말을 일정량 취하여 색차계(HunterLab Color Quest 4570, Hunter Associates Laboratory, Inc Reston, Virginia, USA)를 사용하여 각 시료당 3회 반복 측정한 후 L, a, b의 평균값으로 나타냈다. 수분흡수지수는 시료 2.5 g을 정확하게 측정하여 무게를 칭량한 각각의 tube에 담았다. 그것을 증류수 25 ml에 넣어 섞은 다음 30℃ water bath에서 10분간 교반한 다음 6,000 rpm 에서 15분간 원심분리하고 남은 침전물의 무게와 시료 무게의 비를 수분흡수지수로 계산하였다.

$$\text{©WAI} = (\text{상등액을 따른후 tube의 무게} - \text{tube무게})/\text{시료의 무게} * 100$$

관능검사

압출스낵의 관능검사는 15명의 패널요원(나이20~25)으로 구성하였고, 혼합비가 서로 다른 시료의 외관, 색, 냄새, 맛, 텍스처, 점착성, 전체적 기호도에 대하여 5점 평점법으로 평가하였으며 관능검사 결과는 SPSS program을 사용하여 5% 유의차 검정을 하였다.

결과 및 고찰

1. 해조류 분말과 추출물을 첨가한 쌀 압출성형물의 특성

일반성분 분석

재료의 수분, 조단백, 조회분, 총고형분 함량은 Table 1과 같다. 쌀가루는 수분 14.67%, 조단백질 6.52%, 조회분 0.43%로 식품분석표와 유사한 결과이었다. 미역 추출액은 수분 84.77%, 조단백질 8.2%, 조회분 8.23%, 고형분 15.23%였고, 다시마 추출액은 수분 87.38%, 조단백질 8.8%, 조회분 4.06%, 고형분 12.62%이었다. 미역 분말은 수분 6.2%, 조단백질 8.3%, 조회분 25.4%이었고, 다시마 분말은 수분 3.95%, 조단백질 8.98%, 조회분 22.5%이었다. 미역, 다시마분말의 조단백질과 조회분은 식품분석표와 유사한 값이었지만 수분의 경우 낮은 것은 미역과 다시마를 분말화 하기 전에 건조기에서 12시간 정도 건조 시킨 후 분말을 만들어 수분이 감소된 것으로 사료된다.

Table 1. Proximate composition of raw material

(unit : %)

Materials	Moisture	Crude protein	Ash	Solid
Rice Flour	14.67	6.52	0.43	-
Extracts of sea tangle	87.38	8.80	4.06	12.62
Extracts of brown seaweed	84.77	8.20	8.23	15.28
Powder of sea tangle	3.95	8.98	22.50	-
Powder of brown seaweed	6.20	8.30	25.40	-

갈변도

스낵제품의 갈변도는 55% ethanol 용액에 3시간 교반한 후 420 nm에서 흡광도를 측정

한 결과는 Table 2과 3 같다. 미역과 다시마 분말의 첨가량이 증가할수록 갈색도가 대조구의 0.017에 비해 0.044~0.136, 0.021~0.041로 증가했으나 미역과 다시마 추출물의 경우는 0.15~0.035, 0.014~0.016으로 대조구와 별 차이가 없었다. 분말의 경우 전체적으로 첨가물의 갈색도가 미역이 다시마보다 높았으나 추출물의 경우는 차이가 없었다. 다만 미역 추출물 10%의 경우 추출물 7% 보다 2배 이상 높아진 것은 미역 추출물의 첨가량과 미역이 다시마보다 많은 회분의 함량의 가지고 있기 때문인 것으로 사료된다. 실험에서 55% ethanol 용액을 사용한 이유는 예비 실험시 대조군 스낵의 경우, 증류수로 수용성 색소의 추출시에 불용성 물질의 방해로 대조군 스낵의 갈변도를 정확히 측정할 수 없었기 때문이었다(7).

Table 2. Browning degree of different concentrations of sea tangle and brown seaweed

Sample	Browning degree(Abs. at 420nm)
0%	0.017
Brown seaweed 3%	0.015
5%	0.017
7%	0.018
10%	0.035
Sea tangele 3%	0.014
5%	0.016
7%	0.015
10%	0.016

Table 3. Browning degree of different Powder of sea tangle and brown seaweed

	Browning degree(Abs. at 420nm)
0%	0.017
Brown seaweed 1%	0.044
3%	0.089
5%	0.136
Sea tangele 1%	0.021
3%	0.031
5%	0.041

전단력

전단력은 다시마 추출액의 경우 Table 4와 같이 308.18~227.98로 추출액의 첨가량이 증가할수록 전단력이 감소하는 경향이였다. 미역 추출액의 경우도 다시마 추출액과 마찬가지로 304.12~227.98로 추출액의 첨가량이 증가할수록 전단력이 떨어지는 경향이였다. 해조류 분말의 경우는 Table 5와 같이 미역, 다시마 모두가 일정한 상관관계를 갖지 못하는 것을 볼 수 있었다. 분말을 첨가한 제품의 전단력은 첨가량과 상관없이 나타났다. 전단력은 다시마 추출액 3% 첨가구가 가장 높았으며, 미역 분말 3%가 가장 낮았다.

Table 4. Shear force of different concentrations of sea tangle and brown seaweed

Sample	Shear force(Dynes/cm ²)	
	Concentration contents(%)	
	0%	303.46
Brown seaweed	3%	304.12
	5%	300.16
	7%	267.52
	10%	227.98
Sea tangele	3%	308.18
	5%	279.18
	7%	252.49
	10%	227.98

Table 5. Shear force of different powder of sea tangle and brown seaweed

Sample	Shear force(Dynes/cm ²)	
	Power contents(%)	
	0%	303.46
Brown seaweed	1%	252.30
	3%	225.39
	5%	248.10
	1%	271.44
Sea tangele	3%	225.99
	5%	278.72

팽화율

팽화율은 Table 6, Table 7과 같다. 미역 분말의 경우 첨가량이 증가함에 따라 팽화율 값도 2.69~2.71로 조금씩 증가하였으며, 다시마 분말의 경우도 첨가량이 증가함에 따라 2.73~2.76로 증가하였다. 미역과 다시마 추출액의 경우는 모두 첨가량이 증가하여도 팽화율 값이 일정한 경향을 나타내지 않아 첨가량과의 상관관계를 찾지 못하였다.

Table 6. Expansion ratio of different concentrations of sea tangle and brown seaweed

Sample	Expansion ratio(%)	
	Concentration contents(%)	
	0%	2.84
Brown seaweed	3%	2.83
	5%	2.99
	7%	3.03
	10%	2.88
Sea tangele	3%	2.77
	5%	2.75
	7%	2.80
	10%	2.76

Table 7. Expansion ratio of different powder of sea tangle and brown seaweed

Sample	Expansion ratio(%)	
	Power contents(%)	
	0%	2.84
Brown seaweed	1%	2.69
	3%	2.70
	5%	2.71
Sea tangele	1%	2.73
	3%	2.74
	5%	2.76

색도

압출물의 색도를 측정한 결과는 Table 8 및 Table 9와 같으며, 명도 L 값은 다시마 추출액 3% 첨가구가 가장 높았으나 이는 대조구와 별 차이가 없었다. 미역 분말과 다시마 분말을 첨가할수록 명도 L값이 낮아지는 경향이었으며, 값이 가장 낮은 것은 미역 분말 5%

첨가구이었다. 미역 분말 1, 3, 5%일 때 69.95, 64.04, 62.07로서 첨가수준이 증가할수록 명도가 낮아지는 경향이였다. 다시마 분말의 경우도 첨가수준이 증가할수록 71.59, 69.13, 66.97로 낮아지는 경향이였다. 또 추출물의 경우에서도 미역 추출물 3, 5, 7, 10% 첨가했을 때 72.21, 69.83, 68.93, 68.06로 점차 낮아지는 경향이였다. 다시마 추출물도 분말의 경우와 같이 첨가량이 증가할수록 72.98, 71.68, 71.58, 70.36으로 점차 낮아지는 경향이였다.

Table 8. Color value of different concentrations of sea tangle and brown seaweed

Sample	L-value	
	Concentration contents(%)	
	0%	72.81
Brown seaweed	3%	72.21
	5%	69.83
	7%	68.93
	10%	68.06
	Sea tangele	3%
	5%	71.68
	7%	71.58
	10%	70.36

Table 9. Color value of different powder of sea tangle and brown seaweed

Sample	L-value	
	Power contents(%)	
	0%	72.81
Brown seaweed	1%	69.95
	3%	64.04
	5%	62.07
	Sea tangele	1%
	3%	69.13
	5%	66.97

수분흡수지수

해조류를 첨가한 쌀 압출물의 수분흡수지수를 측정한 결과는 Table 10, Table 11과 같다. 미역 분말의 경우 첨가량(1, 3, 5%) 이 증가할수록 3.87~3.09로 수분흡수지수가 낮아지는 경향이였다. 다시마 분말의 경우도 첨가량이 증가할수록 4.18~3.19로 수분흡수 지수가

낮아지는 경향이였다. 미역 추출물에서도 첨가량이 증가할수록 3.13~1.01로 수분흡수지수가 낮아지는 경향이였으며, 다시마 추출물도 첨가량이 증가할수록 3.58~2.60로 수분흡수지수가 낮아졌다. 이와 같이 수분흡수지수는 첨가물의 양이 증가함에 따라 전분 압출물의 수분을 흡수, 보유할 수 있는 능력이 감소함을 확인할 수 있었고, 미역 추출물의 농도에 따른 수분흡수지수의 변화보다 다시마 추출물의 농도차에 의한 수분흡수지수보다 변화가 큰 것으로 나타났다.

Table 10. Water absorption of different concentrations of sea tangle and brown seaweed

Sample	Water absorption(%)	
	Concentration contents(%)	
	0%	3.85
Brown seaweed	3%	3.13
	5%	2.02
	7%	1.42
	10%	1.01
Sea tangele	3%	3.58
	5%	3.29
	7%	2.66
	10%	2.60

Table 11. Water absorption of different powder of sea tangle and brown seaweed

Sample	Water absorption(%)	
	Power contents(%)	
	0%	3.85
Brown seaweed	1%	3.87
	3%	3.74
	5%	3.09
	1%	4.18
Sea tangele	3%	3.58
	5%	3.19

Table 12. Sensory characteristics of the snacks prepared with extracts of sea tangle and brown seaweed

Samples	Appearance	Color	Oder	Taste	Texture	Adherance	Overall acceptability	
Extracts of sea tangle	0%	3.41 ^a	3.29 ^a	3.29 ^a	3.05 ^a	3.05 ^a	3.37 ^a	3.18 ^a
	3%	3.37 ^a	3.59 ^a	3.23 ^a	3.11 ^a	3.29 ^a	3.24 ^a	3.40 ^a
	5%	3.31 ^a	3.37 ^a	3.29 ^a	3.35 ^a	3.17 ^a	3.11 ^a	3.62 ^a
	7%	3.37 ^a	3.25 ^a	3.25 ^a	3.25 ^a	3.11 ^a	3.00 ^a	3.50 ^a
	10%	3.31 ^a	3.12 ^a	3.23 ^a	3.18 ^a	2.94 ^a	2.88 ^a	3.43 ^a
Extracts of brown seaweed	0%	3.41 ^c	3.20 ^a	3.05 ^a	3.00 ^a	2.87 ^a	3.11 ^a	2.93 ^a
	3%	2.33 ^a	3.25 ^a	3.00 ^a	3.18 ^a	3.35 ^a	3.35 ^a	3.23 ^a
	5%	3.00 ^{ab}	3.70 ^a	3.29 ^a	3.31 ^a	3.18 ^a	3.05 ^a	3.41 ^a
	7%	2.46 ^{bc}	3.35 ^a	3.11 ^a	3.26 ^a	3.25 ^a	3.12 ^a	3.35 ^a
	10%	3.14 ^c	3.52 ^a	3.17 ^a	3.25 ^a	3.05 ^a	2.94 ^a	3.18 ^a
Powder of sea tangle	0%	3.35 ^b	3.05 ^b	3.17 ^b	2.76 ^b	3.11 ^b	3.00 ^b	3.17 ^b
	1%	2.70 ^a	3.23 ^b	3.05 ^b	2.41 ^b	2.64 ^{ab}	2.93 ^b	3.00 ^b
	3%	2.60 ^a	3.21 ^b	2.62 ^{ab}	2.06 ^{ab}	2.31 ^a	2.62 ^{ab}	2.37 ^a
	5%	2.11 ^a	2.23 ^a	2.29 ^a	1.64 ^a	2.06 ^a	2.46 ^a	2.23 ^a
Powder of brown seaweed	0%	3.41 ^b	3.41 ^b	3.17 ^b	2.94 ^b	3.11 ^b	2.93 ^a	3.11 ^c
	1%	3.23 ^b	3.35 ^b	2.88 ^b	2.52 ^b	2.76 ^b	3.00 ^a	2.94 ^{bc}
	3%	2.64 ^a	2.64 ^a	2.29 ^a	1.88 ^a	2.47 ^{ab}	2.82 ^a	2.29 ^{ab}
	5%	2.23 ^a	2.11 ^a	1.88 ^a	1.58 ^a	2.05 ^a	2.70 ^a	1.82 ^a

관능검사

해조류를 첨가한 쌀 압출성형물의 관능검사 결과는 Table 12와 같다. 전체적인 기호도는 분말 처리구 보다는 추출액 처리구의 기호도가 높았다. 다시마 추출액에서 외관은 대조구가 가장 좋았으며, 색은 5%첨가구가 가장 좋았다. 냄새의 경우는 거의 유의적 차이가 없었다. 맛은 5% 첨가구가, 텍스처는 3% 첨가구가 가장 좋았다. 그리고 점착성은 대조구가 가장 좋았으나 전체적인 기호도에서는 5% 첨가구가 가장 좋았다. 그 이유는 패널들이 제품의 전체도를 평가할 때는 냄새, 색깔, 텍스처, 외관보다는 맛을 가장 중요한 요소로 생각하고 평가하기 때문인 것으로 사료된다. 미역 추출액구에서는 외관은 다시마 추출액과 마찬가지로 대조구가 가장 좋았으며, 색, 냄새, 맛은 5% 첨가구가 기호도가 가장 좋았다. 텍스처와 점착성은 3% 첨가구가 가장 좋았다. 미역 추출액도 다시마 추출액과 마찬가지로 맛이 패널들에게 가장 중요한 요소이기 때문에 맛이 가장 좋은 5% 첨가구가 전체적인 기호도에서도 가장 높은 값을 얻었다.

2. 다시마를 첨가한 쌀 압출팽화물의 특성

다시마 압출스낵의 제조후 수분흡수지수, texture, 팽화율을 분석한 결과는 Table 13과 같다. 먼저 수분흡수지수는 다시마를 첨가하지 않는 control은 수분 18%구에서 686%이었으나 다시마를 가장 많이 첨가한 40%에서는 571%로 다시마 첨가량이 증가할수록 낮아졌다. 시료의 수분 공급량의 차이에 따른 효과는 다시마 첨가량 모두에서 수분 18%에서 22%로 증가할수록 수분흡수지수가 증가하였다. 한편 계량부위의 바렐온도는 온도가 증가함에 따라 수분흡수지수 값은 낮아지는 경향을 나타내었다.

스낵 제품의 중요한 지표인자가 되는 texture는 다시마 첨가량이 증가할수록 부드러워져 측정값도 낮아졌다. 즉 다시마를 첨가하지 않은 대조구 보다는 다시마를 첨가하면 제품의 texture는 더 좋아졌다. 스낵의 texture에 가장 영향을 많이 미치는 것은 수분이었으며 수분 18%구보다 22%구에서 많은 차이를 보였고 관능평가에서도 수분이 증가할수록 압출물의 texture 값이 증가하였다. 이는 압출성형 동안 퍼핑이 되어도 스낵안에 수분이 증발하지 못하고 스낵에 그대로 잔존하여 딱딱히 굳어지는 것으로 사료된다. 온도의 변화에서는 온도가 증가할수록 다소 증가하긴 하였지만 별 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 팽화율은 스낵의 직경과 사출구 직경의 비로써 다시마 첨가량이 증가할수록 스낵의 부피는 증가하였다. 수분 첨가량에 따른 효과는 18%구보다 22%구가 더 높은 값을 보였으나 온도증가에 따른 팽화율은 반대로 감소하는 경향을 나타내었다.

다시마 압출스낵의 제조 후 스낵의 색도를 측정된 결과는 Table 14와 같다. 명도 L값은 첨가량이 증가할수록 값이 낮아졌다. 다시마 원료의 색깔로 인해 다시마 30%와 40%구에서는 색깔이 너무 진해 외관상 보기에 좋지 않았다. 수분량 18%구에 비해 22%구에서 보다 밝은 값을 나타내서 수분함량이 증가할수록 L값은 증가하였다. 바렐 온도가 증가함에 따라 근소한 값으로 증가하였으나 별 유의적인 차이는 보이지 않았다. a값은 control과 다시마 첨가한 것과는 다소 차이가 있었으나 다시마 첨가량의 증가와는 큰 차이는 없었다. b값도 a값과 마찬가지로 control에선 12.72로 낮은 값이었고 다시마 10%구에서는 16.77로 높아졌으나 다시마 40%구와는 거의 차이를 보이지 않았다. 한편 수분량과 바렐 온도의 변화에 따른 압출팽화물의 색도는 차이를 보이지 않았다.

Table 13. Expansion ratio, water absorption and texture of sea tangle extruded snack at various temperature, moisture and ratio of mix of rice powder and sea tangle powder

Sample	Moisture	Temperature	Water absorption(%)	Texture (g/cm ³)	Expansion ratio
Control	18%	100°C	686	13271.16	1.60
		120°C	662	14890.91	1.61
		140°C	600	14028.93	1.59
	20%	100°C	691	15412.85	1.66
		120°C	654	15682.22	1.65
		140°C	652	15388.84	1.60
	22%	100°C	705	19694.55	1.72
		120°C	662	19568.03	1.72
		140°C	652	20756.49	1.67
Sea tangle 10%	18%	100°C	656	12073.94	1.67
		120°C	658	12283.50	1.65
		140°C	641	12535.29	1.64
	20%	100°C	662	13096.97	1.75
		120°C	605	13530.59	1.72
		140°C	555	13897.12	1.72
	22%	100°C	682	15552.66	1.76
		120°C	638	15986.64	1.76
		140°C	542	15120.46	1.69
Sea tangle 20%	18%	100°C	638	11202.12	1.66
		120°C	634	11421.03	1.69
		140°C	629	13955.90	1.67
	20%	100°C	631	13724.72	1.77
		120°C	628	13341.49	1.78
		140°C	615	13864.86	1.71
	22%	100°C	688	13565.25	1.72
		120°C	629	12834.68	1.66
		140°C	591	13315.90	1.66

		100°C	591	11061.33	1.74
	18%	120°C	595	12698.24	1.72
		140°C	589	12476.08	1.70
		100°C	602	12456.17	1.76
Sea tangle 30%	20%	120°C	605	12190.23	1.68
		140°C	596	12489.67	1.69
		100°C	626	13460.62	1.77
	22%	120°C	609	13724.93	1.70
		140°C	600	13744.82	1.71
		100°C	571	10423.42	1.81
	18%	120°C	550	11620.18	1.74
		140°C	539	11581.64	1.74
		100°C	572	11336.19	1.77
Sea tangle 40%	20%	120°C	567	12434.37	1.75
		140°C	566	12301.11	1.71
		100°C	574	12514.22	1.84
	22%	120°C	574	12930.24	1.78
		140°C	569	12804.18	1.75

Table 14. Change of color values of sea tangle extruded snack at various temperature, moisture and ratio of mix of rice powder and sea tangle powder

Sample	Moisture	Temperature	L	a	b
Control	18%	100 °C	86.41	-1.26	12.72
		120 °C	86.42	-1.25	12.58
		140 °C	87.56	-1.14	12.07
	20%	100 °C	87.47	-1.15	11.46
		120 °C	87.01	-1.17	11.54
		140 °C	87.48	-1.00	11.93
	22%	100 °C	89.55	-1.26	11.78
		120 °C	88.65	-1.28	11.35
		140 °C	90.78	-1.22	11.38
Sea tangle 10%	18%	100 °C	69.41	-1.01	16.77
		120 °C	69.43	-0.97	16.35
		140 °C	69.15	-0.98	16.67
	20%	100 °C	71.64	-1.08	16.04
		120 °C	72.24	-1.02	15.70
		140 °C	72.91	-0.95	16.81
	22%	100 °C	73.40	-1.17	16.26
		120 °C	73.73	-1.13	16.41
		140 °C	73.56	-0.99	16.57
Sea tangle 20%	18%	100 °C	65.77	-0.75	16.72
		120 °C	65.93	-0.74	17.47
		140 °C	65.19	-0.65	16.18
	20%	100 °C	67.90	-0.82	16.96
		120 °C	67.33	-0.71	17.09
		140 °C	68.87	-0.78	16.92
	22%	100 °C	69.04	-0.81	16.39
		120 °C	69.67	-0.89	17.56
		140 °C	69.58	-0.84	17.07

		100℃	63.22	-0.86	16.64
	18%	120℃	63.87	-0.95	16.82
		140℃	63.51	-0.97	16.32
		100℃	63.44	-0.95	17.22
Sea tangle 30%	20%	120℃	65.58	-1.05	17.33
		140℃	66.90	-0.96	16.64
		100℃	67.28	-0.91	17.09
	22%	120℃	67.13	-1.05	16.85
		140℃	67.82	-0.98	17.42
		100℃	58.78	-0.91	17.33
	18%	120℃	58.58	-1.03	17.56
		140℃	59.99	-0.98	17.75
		100℃	60.01	-1.02	17.71
Sea tangle 40%	20%	120℃	60.35	-1.01	17.30
		140℃	60.69	-1.01	17.48
		100℃	60.97	-0.94	17.07
	22%	120℃	60.03	-1.07	17.97
		140℃	60.67	-1.05	17.64

다시마 압출물의 관능평가 결과는 Table 15와 같다. 관능평가에서는 3가지 Group으로 나누어 바렐 온도변화에 따른 관능평가, 수분공급량 변화에 따른 관능평가, 다시마 첨가량 변화에 따른 관능평가를 실시하여 각각 최적조건을 선별하고자 하였다. 먼저 온도 변화에 따른 관능평가에서 계량부위의 바렐온도 100℃인 것이 모든 항목에서 높은 점수를 얻어 가장 좋은 조건임을 알 수 있었다. GroupⅡ의 수분공급량의 변화에 따른 관능평가에서는 수분 18%구가 가장 높은 점수를 얻었다. 특히 texture에서 수분 18%구는 3.66인데 반해 수분 22%구는 1.73으로 가장 많은 차이를 보여서 압출팽화물의 품질에 수분 공급량이 중요한 인자임을 알 수 있었다. 다시마 첨가량에 따른 관능평가는 GroupⅢ에서와 같이 다시마를 첨가하지 않는 control과 다시마 10% 첨가구를 비교하면 모든 항목에서 유의적인 차이 없이 비슷한 값을 나타내었다. 이는 쌀로만 만든 압출팽화물보다 다시마를 첨가하여도 제품의 품질에 영향을 미치지 않아 영양적 기능을 강화시킬 수 있는 스낵을 제조할 수 있을 것으로 사료된다. 다시마 20% 이상 처리구에서는 다시마 특유의 냄새 때문에 패널요원에게 전체적으로 낮은 평가 값을 받았다.

Table 15. Sensory evaluation of sea tangle extruded snack at various extrusion condition

Sample				Appearance	Color	Taste	Texture	Overall acceptability
Sea tangle powder	Moisture	Temperature						
Group I ¹⁾	0%	18%	100℃	3.93 ^b	3.80 ^b	3.60 ^b	3.40 ^b	3.93 ^b
			120℃	3.86 ^a	3.66 ^a	3.26 ^{ab}	3.01 ^b	2.93 ^a
			140℃	3.33 ^a	3.06 ^a	2.93 ^a	2.40 ^a	2.66 ^a
Group II ²⁾	0%	18%		3.86 ^b	3.53 ^b	3.46 ^b	3.66 ^c	4.06 ^c
		20%	100℃	3.13 ^a	3.33 ^{ab}	3.40 ^b	2.86 ^b	3.13 ^b
		22%		3.00 ^a	2.93 ^a	2.26 ^a	1.73 ^a	2.33 ^a
Group III ³⁾	Control			3.86 ^c	3.33 ^c	3.40 ^b	3.33 ^a	3.73 ^c
	10%			3.53 ^c	3.46 ^c	3.26 ^b	3.26 ^a	3.60 ^c
	20%	18%	100℃	2.73 ^b	2.46 ^b	2.46 ^a	2.86 ^a	2.73 ^b
	30%			2.26 ^{ab}	1.93 ^a	2.40 ^a	2.80 ^a	2.13 ^a
	40%			1.80 ^a	1.53 ^a	2.00 ^a	2.66 ^a	1.86 ^a

¹⁾Sensory evaluation for the effect of barrel temperatures on rice flour 100% and moisture content 18%.

²⁾Sensory evaluation for the effect of moisture contents on rice flour 100% and barrel temperature 100℃.

³⁾Sensory evaluation for the effect of sea tangle contents on moisture content 18% and barrel temperature 100℃.

요 약

쌀에 미역과 다시마 추출액 또는 분말을 첨가하여 제조한 압출물의 전단력, 팽화율 및 관능검사 등을 통하여 적합한 수분을 18%로 설정하고, 여기에 미역 또는 다시마 추출물, 미역 분말 또는 다시마 분말을 배합하여 압출성형물을 제조하여 그 품질특성을 조사하였다.

다시마 함량이 30%이상에서는 색깔이 너무 진하여 외관상 보기 좋지 않았다. 수분흡수 지수는 다시마를 첨가하지 않는 control에서는 수분 18%에서 값이 686이었으나 다시마를 가장 많이 첨가한 40%에서는 571로 다시마 첨가량이 증가할수록 낮은 값을 보였다. 시료

의 수분공급량은 다시마 첨가량 모두에서 수분이 18에서 22%로 증가할수록 수분흡수지수가 증가하였다.

이와같이 다시마 첨가량, 온도변화, 수분공급량을 달리하여 다시마 압출스낵을 제조하여 물리적인 특성과 관능적인 특성을 평가를 하여 비교 분석한 결과 다시마 첨가량은 10%에서 바렐온도는 100℃, 그리고 수분공급량은 18%가 다시마 압출스낵 제조에 최적 조건임을 알수 있었다.

관능검사에서는 분말의 경우보다는 추출물 첨가 스낵이 외관, 맛, 냄새, 색 등에서 좋은 점수를 얻었으며, 그 중에서도 추출물 5% 첨가구가 전체적인 기호도에서 가장 높은 점수를 얻었다.

이와 같은 결과로 보아 해조류를 첨가한 쌀 압출팽화물을 제조할 때에는 해조류 건조 분말을 첨가하면 해조류 특유의 색깔, 맛, 냄새 때문에 기호도가 저하되나 추출물을 사용하면 해조류 유효성분의 첨가량을 높일 수 있고 기호성에도 큰 영향을 미치지 않으므로 해조류의 이용성을 높일 수 있는 가공방법으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Jo, J.S., Do, J.R. and Koo, J.G. (1998) Pretreatment conditions of *Porphyra yezoensis*, *undaria pinnatifida* and *Laminaria religiosa* for functional alage-tea, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27(2), 275-280
2. Choi, J.H., Rhim, C.H., Kim, J.Y., Yang, J.S., Choi, J.S. and Byun, D.S. (1986) Basic studies in the development of diet for the treatment of obesity. 1. The inhibitory effect of alginic acid as a dietary fiber on obesity. Bull. Korean Fish Soc., 19, 303-311
3. Kim, S.H., Park, H.Y. and Park, W.K., (1988) Determination and physical properties of dietary fiber in seaweed products. J. Korean Soc. Food Sci., 17, 320-325
4. Lee, J.H. and Sung, N.J. (1983) The content of minerals in algae. J. Korean Soc. Food Sci., 12, 51-58
5. Tashiro, T. (1983) Analysis of nucleic acid related substances of dried purple laver. Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 49, 1121-1125
6. Jack, L.R. and Robert, C.M. (1973) Food extrusion. Food Technol., 27, 47-53
7. Choudhury, G.S. and Gautam, A. (1999) Screw configuration effects on macroscopic

- characterics of extrudates produced by twin-screw extrusion of rice flour. *J. Food Sci.*, 64, 479-487
8. Megard, D., Kitabatake, N. and Cheftel, J.C. (1985) Continuous restructuring of mechanically deboned chicken meat by extrusion-cooking. *J. Food Sci.*, 50, 1364-1369
 9. Aguilera, J.M., Rossi, F., Hiche, E. and Chichester, C.O. (1980) Development and evaluation of an extrusion-texturized peanut protein. *J. Food Sci.*, 45, 246-250
 10. Jao, Y.C., Chen, A.H. and Goldstein, W.E. (1985) Evaluation of corn-protein concentrate : extrusion study. *J. Food Sci.*, 50, 1257-1259
 11. Hagan, R.O., Dahl, S.R. and Villota, R. (1986) Texturization of co-precipitated soybean and peanut proteins by twin-screw extrusion. *J. Food Sci.*, 51, 367-370
 12. Gogoi, B.K., Choudhury, G.S. and Oswalt, A.J. (1996) Effects of location and spacing of reverse screw and kneading element combination during twin-screw extrusion of starchy and proteinaceous blends. *Food Res. Int.*, 29, 505-512
 13. Park, J., Rhee, K.S., Kim, B.K. and Rhee, K.C. (1993) Single screw extrusion of defatted soy flour, corn starch and raw beef blends. *J. Food Sci.*, 58, 9-20
 14. Bhattacharya, S. and Prakash, M. (1994) Extrusion of blends of rice and chick pea flours. *J. Food Eng.*, 21, 315-330
 15. Suknard, K., Philips, R.D. and Chinnan, M.S. (1997) Physical properties of directly expanded extrudates formulated from partially defatted peanut flour and different types of starch. *Food Res. Int.*, 30, 575-583
 16. Robert, C.M. (1985) Low moisture extrusion : Effects of cooking moisture on product characteristics. *J. Food Sci.*, 50, 249-253
 17. Shukla, T.P. (1994) Future snacks and snack food technology. *Cereal Foods World*, 39, 704-705
 18. Riaz, M.N. (1997) Technology of producing snack foods by extrusion. Food protein research and development center, A&M University, College Station, Texas, USA
 19. Choudhury, G.S. and Gautam, A. (1998) Comparative study of mixing elements during twin-screw extrusion of rice flour. *Food Res. Int.*, 31, 7-17
 20. Tuley, L. (1992) The rice revolution. *Food Review*, 19, 13-14
 21. Dziezak, J.D. (1991) Romancing the kernel : A salute to rice varieties. *Food*

Technol., 45, 74-80

22. Camire, M.B. and King, C.C (1991) Protein and fiber supplementation effects on extruded commercial snack quality. *J. Food Sci.*, 56, 760-000
23. Bae, T.J. and Choi, O.S (2001) Changes of free amino acid compositions and sensory properties in Kochujang added sea tangle powder during fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 14(3), 248-254
24. Bang, B.H. (2001) Lead biosorption by alginate beads immobilizing *Aspergillus niger*. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 44(3), 185-190
25. Bang, B.H. and Seo, J.S (2002) Characteristics of salt adsorption by calcium alginate beads. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 15(2), 89-96
26. Chiharu, N., Tadashi, N., Toshimara, Y. (1992) Effect of pH on the in vitro adsorption of mutagens to dietary fibers. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 1100-1105
27. AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed. (1990) Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA

제 4 장 (제 2 세부과제) 해조류로부터 산업화소재 개발 및 응용연구

임 종 환 (목포대학교 식품공학과)

김 동 한 (목포대학교 식품영양학과)

제 1 절 풀가사리를 이용한 생분해성 필름의 제조

임 종 환 (목포대학교 식품공학과)

Introduction

With the serious threat of environmental pollution caused by non-degradable plastic wastes, researchers turned their focus onto environmentally-friendly packaging materials that are biodegradable by microorganisms within soil and studies are being actively conducted on biodegradable packaging materials with a new concept especially in the food packaging industry(1-5).

Biodegradable film materials are made with carbohydrates, proteins, and lipids by using one component or combining different components. Carbohydrate materials include starch and cellulose or their derivatives, pectin, alginic acid, and chitosan. Protein materials mainly include animal protein such as collagen, gelatin, casein, and egg protein and plant proteins such as corn zein and wheat gluten(6). The issue of high cost is the major problem in the production of biopolymer films since relatively pure biopolymers are used. In order to resolve this issue, we believe that studies are needed in finding ways to prepare cheaper biodegradable films using under utilized biomaterials or through recycling.

Glue plants(*Endocladiaaceae*) are red algae distributed in the southern sea and Jeju region in Korea. Although some of these plants are eaten, most of these had been used as a gelatinizing agent of textile but are not being used at all. Among different glue plants, *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata* are used as ingredients of carrageenan, as gelatinizing agents of high-grade textiles, paper, as shampoos or as culture media for microorganisms. These uses could be possible since glue plants contain the polysaccharide carrageenan, which comes in 3 types, i.e., κ -, λ -, and ι -carrageenans. These carrageenans have different sulfate group content and chemical composition according to each type(7). From the structural aspect, carrageenan has a similar structure as agar but is different in that carrageenan contains more sulfate group (SO_3^-) compared with agar. Carrageenan especially has an excellent film-forming ability, and it is highly possible to use a carrageenan film as an edible film since it has water-vapor resistant and oil-resistant characteristics(8-10). Biodegradable films prepared using carrageenan have almost same strength as existing plastic films(8), and are environmentally friendly packaging material that could be easily biodegraded in soil when disposed(11). In the present study, we prepared biodegradable films using the under-utilized seaweeds, glue plants, and compared their characteristics with a κ -carrageenan film.

Materials and Methods

Materials

Gloiopeltis tenax and *Gloiopeltis furcata* harvested from Ahn-Do and Whatae-Do in Yeojoo, South Cholla Province, Korea were used as the ingredients for the preparation of biodegradable films. κ -carrageenan was purchased from Korea Caragheen Co., Ltd..

Proximate composition

After washing and drying glue plants, the moisture content was measured using the dry oven method; crude protein, the micro-Kjeldahl method; crude fat, the Soxhlet method; ash, the dry combustion method; and carbohydrate was measured by determining the difference from the total amount(12).

Film preparation

Glue plant powder was used in the preparation of biodegradable films after glue plants were dried, ground, and sifted through a standard 100 mesh sift. In order to determine the optimal concentration of glue plant for film preparation, 1, 2 and 3% (w/v) glue plant powder was mixed with distilled water and dissolved by heating on a hot plate and stirring vigorously until the extraction of viscous material. This mixture was filtered through an 8-layered gauze to remove insoluble solids and the filtrant was used in film preparation. The film was prepared by pouring 120 mL of this filtrant uniformly on a teflon-coated glass (30×24 cm) and drying for about 24 h at room temperature. After drying, this film was removed from the glass plate and used for the study. For the comparison, κ -carrageenan (2%, w/v) was used to prepare the film according to the above method. To investigate the effects of plasticizer addition, a plasticizer was prepared by adding glycerol and polyethylene glycol (PEG-400) at 1:1 ratio and this plasticizer was added at 0.75% (w/w, db) into glue plant powder and into κ -carrageenan to prepare the films according to the above method(8). The films were cut into 7×7 cm squares for the measurement of water vapor transmission rate (WVTR), 2×2 cm squares for the measurement of water solubility (WS), and 10×2.54 cm rectangles for the measurements of tensile strength (TS) and elongation at break (E).

Film thickness

The film thickness of each film was measured using a micrometer(Dial Thickness Gauge 7301, Mitutoyo, Japan) at a 0.01 mm accuracy. The thickness was measured in the sample for the measurement of WVTR at the center and the four corners and the

average of these 5 measurements was used for the calculation of water vapor permeability (WVP). The thickness was measured in the sample for the measurement of tensile strength (TS) at 5 sites along the strip and the average of these 5 measurements was used for the calculation of TS.

Conditioning

The measurements of film characteristics were made after all sample films were placed in a constant temperature humidity chamber (Model FX 1077, Jeiotech Co., Ltd) at 25°C with 50% relative humidity for at least 48 h to adjust the moisture content.

Water vapor permeability (WVP)

WVP was measured at 25°C with 50% (100/50%) relative humidity (RH) according to the method by Gennadios et al(13). After 18 mL of distilled water was placed into a poly methylmethacrylate cup for measuring WVP so that the water would be about 1 cm below the cup rim, the cup (diameter: 4.6 cm) was sealed with the film for WVTR measurement. Then the cup with water was weighed and placed in a constant temperature humidity chamber (Model FX 1077, Jeiotech Co., Ltd) at 25°C with 50% RH and the air flow rate of 198 m/min for 8 h. The cup and water were weighed every hour with an accuracy of 0.0001 g. WVP was calculated according to the following formula after WVTR was calculated from the rate of weight decrease in the cup according to time.

$$\text{WVP} = (\text{WVTR} \times L) / \Delta p$$

Here, WVTR is water vapor transmission rate ($\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$), L is the average film thickness (m), and Δp is the difference in vapor pressure (Pa) between both sides of the film. At this time, the vapor pressure at the bottom of film was adjusted for the effect of air resistance between the film bottom and the surface of distilled water according to the method by McHugh et al(14) and Gennadios et al(15).

Water solubility (WS)

WS was measured according to the method by Rhim et al(16). After drying 3 films for the measurement of WS in an oven at 105°C for 24 h, the dry film weight was measured. Another 3 films for the measurement of WS were placed in a 50 mL beaker containing about 30 mL distilled water. After sealing the beaker mouth with parafilm, the beaker was placed in a constant temperature oven at 25°C for 1 h and shaken occasionally. The films were taken out of the beaker and dried in an oven at 105°C for 24 h. Then, the dry film weight was measured. Film solubility was

expressed in the rate of initial dry film weight over the weight dissolved in water.

Tensile strength (TS) and Elongation at break (E)

TS and E were measured using Instron Universal Testing Machine (Model 4465, Instron Corp., Canton, MA, USA). The initial distance between grips was 5 cm, and the speed of cross-head was 500 mm/min. TS was calculated by dividing the maximum load by the cross-sectional area of the sample. E was calculated as the percentage of change by dividing film elongation at the moment of rupture by initial gauge length. TS and E measurements for each film were replicated three times with individually prepared films as the replicated experimental units and each replicate being the mean of 7 tested sampling units from the same film.

Color

Film color was measured using a color and color difference meter (CR-300 Minolta Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan) to obtain Hunter L , a and b values. Color was measured by placing the film sample on a standard white plate (Calibration Plate CR-143) at $L=96.86$, $a=-0.42$ and $b=1.99$. It was measured at 5 sites including the center and four corners of the film and the average value of these 5 measurements was used. Total color difference (ΔE) was calculated using the following formula with Hunter L , a and b values obtained from the film.

$$\Delta E = [(L_{\text{film}} - L_{\text{standard}})^2 + (a_{\text{film}} - a_{\text{standard}})^2 + (b_{\text{film}} - b_{\text{standard}})^2]^{1/2}$$

Statistical analysis

Using different films for the measurements of different parameters including TS, E, WVP, and WS, the measurement for each parameter was done in triplicate. The average values and SD of each parameter in each film were calculated using General Linear Model of SAS(17), and the significance of each average was determined at $\alpha = 0.05$ using Duncan's multiple range test.

Results and Discussion

Proximate composition

Table 1 shows the proximate compositions of *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata*. Differences in components between the two glue plants were that *Gloiopeltis tenax* contained more crude protein but less carbohydrate compared with *Gloiopeltis furcata*.

Table 1. Proximate composition of glue plants.

	<i>G. tenax</i>	<i>G. furcata</i>
Moisture (%)	12.1	14.7
Crude Protein (%)	44.0	27.0
Crude Fat (%)	0.3	0.3
Carbohydrate (%)	35.5	49.0
Ash (%)	8.1	9.0

Film-forming ability

Film-forming ability and appearance were investigated after each powder concentration was adjusted from 1 to 3% (w/w, db) to prepare different films to determine the optimum concentration of *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata* powder with film-forming ability. As shown in Table 2, *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata* formed films when each powder concentration was higher than 1% and we could determine that most glue plant powder has an excellent film-forming ability. This excellent film-forming ability by glue plant powder is due to these red algae containing abundant carrageenan(18). At the time of preparing a film, since a film does not form when the glue plant concentration was too low and the film thickness becomes too thick when the glue plant concentration was too high, we concluded that 2.0% powder was optimal and used this concentration in the rest of the study.

Table 2. Film-forming ability of glue plants

glue plants	Powder conc.	Film-forming ability	Appearance	Remark
<i>G. tenax</i>	1%	fair	smooth surface pale yellow transparent	films made of
	2%	good		2% powder had
	3%	good		the most smooth surface and transparent
<i>G. furcata</i>	1%	fair	smooth surface dark yellow transparent	films made of
	2%	good		2% powder had
	3%	good		fairly good surface with dark yellow color

Tensile strength (TS) and Elongation at break (E)

Table 3 shows TS and E of glue plant film and carrageenan film. despite the fact that the same concentration was used (2%), the carrageenan film was thicker than the glue plant films since the actual amount of solid decreased through the filtration of insoluble solid during the preparation of glue plant films. As described previously, although glue plant powder has an excellent film-forming ability, films prepared using only glue plant powder lack flexibility and flexibility can be increased through the addition of a plasticizer. Plasticizers used in the preparation of films are generally non-volatile substances having a relatively high boiling point, and decrease TS and increase film flexibility by weakening intramolecular attraction of polymer chains(19). As shown in Table 3, the glue plant films and carrageenan film became flexible with the addition of a plasticizer with decreased TS and significantly increased E ($p < 0.05$). This tendency was much more significant in the glue plant films compared with in the carrageenan film. However, no significant difference was present between *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata* films ($p > 0.05$). As in the present study, Park et al(8) reported that TS was 22-32 MPa in a film prepared using 2% carrageenan. They also reported that TS of film could be increased up to 45 MPa at the time of carrageenan film preparation through the addition of 1% KCl. Although flexibility increased significantly with the addition of a plasticizer in glue plant films, TS was too low. It is generally known that κ -carrageenan forms a strong gel in the presence of K^+ (20); thus, we think that TS of glue plant films could be increased through the addition of K^+ .

Water vapor permeability (WVP) and Solubility

Table 4 shows WVP and WS of glue plant films. WVP of the glue plant films and carrageenan film was 2.5~3.8 $ng \cdot m/m^2 \cdot s \cdot Pa$, which well agrees with WVP obtained from κ -carrageenan film reported by Rhim et al(21) at $3.3 \pm 0.09 ng \cdot m/m^2 \cdot s \cdot Pa$. Although WVP did not differ significantly between the films prepared using *Gloiopeltis tenax* and *Gloiopeltis furcata* ($p > 0.05$), it was lower in the carrageenan film compared with the glue plant films. We believe that this difference was due to the fact that glue plant powder contains components other than carrageenan so these substances would prevent the structural stability of film, increasing the rate of diffusion by water molecules within the film, by which the glue plant films not only form a less uniform matrix structure compared with the carrageenan film but also would create some irregular spaces within the film matrix structure. WVP increased in the carrageenan film and glue plant films with the addition of a plasticizer at an increase of 28% in *Gloiopeltis tenax* film, 35% in *Gloiopeltis furcata* film, and 20% in κ -carrageenan film.

Table 3. Mechanical properties of glue plant and carrageenan films¹⁾.

Films	Thickness (μm)	TS (MPa)	E (%)
<u>without plasticizer</u>			
<i>G. tenax</i>	45.0 \pm 3.6	23.9 \pm 4.4 ^b	4.2 \pm 1.8 ^c
<i>G. furcata</i>	48.4 \pm 5.5	26.6 \pm 6.6 ^{ab}	5.2 \pm 1.3 ^c
κ -carrageenan	68.2 \pm 4.8	30.5 \pm 5.2 ^a	2.7 \pm 0.8 ^c
<u>with plasticizer²⁾</u>			
<i>G. tenax</i>	46.8 \pm 5.9	5.2 \pm 0.5 ^c	50.0 \pm 7.6 ^a
<i>G. furcata</i>	52.2 \pm 5.6	6.9 \pm 2.9 ^c	50.9 \pm 7.9 ^a
κ -carrageenan	71.2 \pm 1.5	27.6 \pm 7.8 ^{ab}	21.3 \pm 5.2 ^b

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p>0.05$) different by Duncan's multiple range test.

²⁾ 0.75% (w/w, db) of 1:1 mixture of glycerol and polyethylene glycol (PEG-400)

Table 4. Water vapor permeability (WVP) and water solubility (WS) of glue plant and carrageenan films¹⁾.

Films	Thickness (μm)	WVP ($\text{ng} \cdot \text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}$)	WS (%)
<u>without plasticizer</u>			
<i>G. tenax</i>	46.3 \pm 4.0	2.9 \pm 0.1 ^b	9.8 \pm 0.6 ^{bc}
<i>G. furcata</i>	57.4 \pm 3.8	2.6 \pm 0.1 ^c	10.5 \pm 0.5 ^b
κ -carrageenan	79.1 \pm 3.7	2.5 \pm 0.2 ^c	11.4 \pm 0.9 ^{ab}
<u>with plasticizer²⁾</u>			
<i>G. tenax</i>	49.8 \pm 3.9	3.7 \pm 0.1 ^a	10.6 \pm 0.6 ^b
<i>G. furcata</i>	59.4 \pm 6.6	3.5 \pm 0.2 ^a	10.7 \pm 0.7 ^b
κ -carrageenan	85.0 \pm 8.6	3.0 \pm 0.1 ^b	12.9 \pm 1.1 ^a

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p>0.05$) different by Duncan's multiple range test.

²⁾ 0.75% (w/w, db) of 1:1 mixture of glycerol and polyethylene glycol (PEG-400)

Plasticizers usually increase film flexibility by decreasing hydrogen bonding within the film but increases WVP(19). Furthermore, WVP also increases due to the addition of

a plasticizer since plasticizers themselves have a hydrophilic property. McHugh et al⁽²²⁾ also reported increased WVP in whey protein with the addition of a plasticizer. Different from WVP, WS shows resistance to moisture and differs according to the chemical composition of the film. WS in glue plant film and carrageenan film was 9.8-12.9%, which was lower than 41.0±1.4% reported by Rhim et al⁽²¹⁾, due to the difference in the measuring method of WS and film preparation method. In other words, we measured WS after 1 h of reaction, whereas Rhim et al⁽²¹⁾ measured WS after 24 h of reaction. Furthermore, we did not use K⁺ in the film preparation so that the films lacked bond strength somewhat. Although WS did not show a definite difference according to the glue plant type, it increased slightly with the addition of a plasticizer due to the hydrophilic characteristics of the plasticizer⁽²²⁾.

Color

Although the color was transparent in the carrageenan film and two glue plant films, the carrageenan film was colorless, whereas the *Gloiopeltis tenax* film was slightly yellow, and the *Gloiopeltis furcata* film was dark yellow. Hunter *L* and *a* values were significantly lower but Hunter *b* values were significantly high in the glue plant films compared with the carrageenan film (Table 5) since color component and impurities were mixed at the time of glue plant film preparation so that the colors were apparently yellow and the lightness decreased. Thus, the value of ΔE in glue plant films was higher than that in the carrageenan film, and the difference was higher in the *Gloiopeltis tenax* film compared with the *Gloiopeltis furcata* film.

We confirmed the possibility of producing biodegradable packaging materials using the under-utilized seaweeds glue plants growing in the southern sea of Korea.

Table 5. Hunter color values and total color difference (ΔE) of glue plant and carrageenan films¹⁾.

Films	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ΔE
<u>without plasticizer</u>				
<i>G. tenax</i>	71.6±1.1 ^e	-1.8±0.3 ^c	31.3±2.3 ^a	38.7±3.3 ^a
<i>G. furcata</i>	85.0±0.5 ^d	-0.9±0.2 ^b	26.2±0.7 ^b	27.0±0.8 ^b
κ -carrageenan	96.0±0.3 ^a	-0.1±0.0 ^a	2.9±0.2 ^e	1.3±0.4 ^e
<u>with plasticizer²⁾</u>				
<i>G. tenax</i>	87.0±1.1 ^c	-0.5±0.1 ^b	18.2±2.3 ^c	19.0±2.5 ^c
<i>G. furcata</i>	90.3±0.9 ^b	-0.6±0.1 ^b	14.8±0.6 ^d	14.4±0.9 ^d
κ -carrageenan	96.0±0.5 ^a	-0.2±0.0 ^a	3.0±0.2 ^e	1.3±0.4 ^e

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p>0.05$) different by Duncan's multiple range test.

²⁾ 0.75% (w/w, db) of 1:1 mixture of glycerol and polyethylene glycol (PEG-400)

References

1. Kester, J.J. and Fennema, O.R. Edible films and coatings: A review. *Food Technol.* 40(12): 47-59 (1986)
2. Gontard, N. and Guilbert, S. Bio-packaging: Technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In *Food Packaging and Preservation*, Mathlouthi, M. (Ed.), Blackie Academic & Professional, London, pp. 159-181 (1994)
3. Gennadios, A. and Weller, C.L. Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technol.* 44(10): 63-69 (1997)
4. Krochta, J.M. and Mulder-Johnston, C.D. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technol.* 51(2): 61-73 (1997)
5. Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J.A. and Voilley, A. Edible films and coatings: Tomorrow's packaging: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38: 299-313 (1998)
6. Kaplan, D.L., Mayer, J.M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A.L. and Stenhouse, P.S. Fundamentals of biodegradable polymers. In *Biodegradable polymers and Packaging*, Ching, C., Kaplan, D.L. and Thomas, E.L. (Eds.), Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, pp. 1-42 (1993)
7. Piculell, L. Gelling Carrageenans. In *Food Polysaccharides and Their Applications*, Stephen, A.M. (Ed.), Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 205-244 (1995)
8. Park, H.J., Rhim, J.W., Jung, S.T., Kang, S.G., Hwang, K.T. and Park, Y.K. Mechanical properties of carrageenan-based biopolymer films. *J. KOPAST* 1(1): 38-50 (1993)
9. Rhim, J.W., Hwang, K.T., Park, H.J. and Jung, S.T. Water-vapor transfer characteristics of carrageenan-based edible film. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28: 545-551 (1996)
10. Rhim, J.W., Hwang, K.T., Park, H.J., Kang, S.G. and Jung, S.T. Lipid penetration characteristics of carrageenan-based edible films. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 30: 379-384 (1998)
11. Kang, S.G., Jung, S.T., Park, I.B., Rhim, J.W. and Park, H.J. Biodegradation of carrageenan-based biopolymer film. *Foods Biotechnol.* 6: 175-178 (1997)
12. A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1984)
13. Gennadios, A., Weller, C.L. and Testin, R.F. Property modification of edible wheat gluten-based films. *Trans. ASAE* 36: 465-470 (1993)
14. McHugh T.H., Avena-Bustillos, R. and Krochta J.M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* 58: 899-903 (1993)
15. Gennadios, A., Weller, C.L. and Gooding, C.H. Measurement errors in water vapor

- permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *J. Food Eng.* 21: 395-409 (1994)
16. Rhim, J.W., Gennadios, A., Weller, C.L., Cezeirat, C., and Hanna, M.A. Soy protein isolate-dialdehyde starch films. *Industrial Crops and Products* 8: 195-203 (1998)
 17. Little, R.C., Freund, R.J. and Spector, P.C. *SAS Systems for Linear Models*, 3rd ed, pp. 137-153. SAS Institute, Inc., Cary, NC. (1991)
 18. Dziezak, J.D. Special report: A focus on gums. *Food Technol.* 45(3): 116-132 (1991)
 19. Banker, G.S. Film coating theory and practice. *J. Pharm. Sci.* 55: 81-89 (1966)
 20. Thomas, W.R. Carrageenan. In *Thickening and Gelling Agents for Food*, Imeson, A. (Ed.), Blackie Academic & Professional, London, pp. 25-39 (1992)
 21. Rhim, J.W., Park, J.W., Jung, S.T. and Park, H.J. Formation and properties of corn zein coated κ -carrageenan films. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 29: 1184-1190 (1997)
 22. McHugh, T.H., Aujard, J.F. and Krochta, J.M. Plasticized whey protein edible films: Water vapor permeability properties. *J. Food Sci.* 59: 416-419, 423 (1994)

제 2 절 CaCl₂ 처리에 의한 알긴산 필름의 물성개선

임 중 환 (목포대학교 식품공학과)

서 론

최근 난분해성의 플라스틱 폐기물에 의한 환경오염 문제가 심각하게 대두되면서 폐기 후 토양 중의 미생물에 의해 분해되는 환경친화성의 포장재에 대한 관심이 높아지고 있으며, 특히 식품포장분야에서는 새로운 개념의 포장재로서 생분해성 필름에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(1-3).

생분해성 필름의 소재로는 탄수화물, 단백질, 유지 등이 단독 또는 복합적으로 사용되고 있는데, 탄수화물로는 전분이나 셀룰로오스 및 이들의 유도체, 펙틴, 알긴산, 카라기난, 키토산등이 주로 사용되고 있다. 이 중 알긴산은 미역, 감태 등의 갈조류의 세포막을 구성하는 주성분으로 β -1,4-D-mannuronic acid와 β -1,4-L-gluconic acid가 block copolymer의 형태로 결합된 hetero-polysaccharide로서 점조성이 높아 식품, 섬유, 의약품 등의 분야에 널리 사용되고 있다(4). 이외에도 알긴산은 물에 쉽게 용해되고 무독성일 뿐만 아니라 겔 또는 필름형성능이 높아 생분해성 필름이나 가식성 코팅제로 개발이 기대된다(5, 6).

반면에 알긴산 필름은 대부분의 생고분자 필름과 마찬가지로 친수성을 가지므로 수분에 대한 저항성이 낮으며, 알긴산은 산성 조건에서는 침전되므로 사용이 제한되고 있다(4).

알긴산의 물성을 개선하기 위하여 여러 가지 방법이 시도되었는데, 이 중 알긴산을 화학적으로 변형시킨 propylene glycol alginate(PGA)는 식품분야에서 유일하게 사용되고 있는 알긴산 유도체이다. PGA는 알긴산 uronic acid의 카르복실기와 propylene oxide 사이의 부분적인 에스테르 결합에 의해 제조하며, 산성 조건에서도 안정한 에멀션을 형성하여 드레싱이나 과일음료나 주스에 사용되고 있다(4). 또한 PGA의 단백질과의 가교결합 형성능을 이용하여 단백질 필름의 물성을 증진시키기 위하여 PGA를 첨가하기도 한다(7-9).

이외에 알긴산은 칼슘과 같은 다가이온에 의해 가교결합이 형성되어 겔강도가 증가하는 성질이 알려져 있는데(10), 이를 이용하여 식품가공분야에서는 artificial berry나 기타 재조합식품을 제조하는데 사용하고 있으며(4), 생물산업 분야에서는 세포나 효소의 고정

화용 bead를 제조하는데 사용하고 있다(11).

그런데 칼슘이온과 알긴산 사이의 반응은 즉각적으로 일어나기 때문에 알긴산 필름의 제조 시에 어느 한도 이상의 칼슘염을 첨가하면 즉각적으로 겔을 형성하여 casting을 할 수 없어 필름의 제조가 불가능하다. Draget 등(12)은 균일한 알긴산 겔을 만들기 위해 칼슘이온을 서서히 방출시키는 방법을 제안하였으며, Kaletune 등(13)은 젯산칼슘용액에 알긴산 겔을 침지시켜 겔의 강도를 증가시키는 방법에 관해 보고하였다. 이를 이용하여 Pavlath 등(14)은 알긴산 필름을 다가이온의 염용액에 침지시켜 필름을 제조하였으며, 이렇게 제조된 알긴산 필름의 수분에 대한 저항성이 크게 증가하였음을 보고하였다. 이러한 수분 저항성이 증가된 필름은 수증기 함량이 높은 조건이나 수분함량이 높은 식품의 포장에 효과적으로 사용할 수 있으므로 CaCl_2 의 처리효과 및 처리 방법에 대한 보다 자세한 연구가 이루어져야 한다.

따라서 본 연구에서는 알긴산 필름의 물성을 증진시키기 위하여 CaCl_2 를 필름용액에 직접 첨가하는 방법과 일단 필름을 제조한 후 필름을 CaCl_2 용액에 침지하여 처리하는 두 가지 방법을 사용하여 알긴산 필름을 제조하고 그 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

재료

Na-alginate는 Junsei Chemical Co. Ltd. (Japan)에서 구입하여 사용하였다.

필름의 제조

알긴산 분말 4 g을 2 g의 glycerol을 넣은 200 ml의 증류수와 함께 비이커에 넣고 hot plate 상에서 가열과 동시에 강하게 교반하면서 용해시켰다. 용해된 alginate 용액을 85°C의 수욕조에서 30분간 가열한 후 테플론을 코팅한 유리판 (30×24 cm)에 부어 두께가 균일하게 되도록 조절한 후 상온에서 약 24시간 건조하였다. 건조가 끝난 후에는 알긴산 필름을 유리판으로부터 떼어내어 실험용 필름으로 사용하였다. 필름의 물성을 개선하기 위하여 CaCl_2 를 처리방법을 달리하여 두 가지 방법으로 알긴산 필름을 제조하였다. 첫째는 알긴산 필름 용액의 제조 시에 일정량의 CaCl_2 를 직접 첨가하여 필름을 제조한 CaCl_2 첨가필름(mixing film)이고, 둘째는 Pavlath 등(14)의 방법에 따라 일단 알긴산 필름을 제조한 후 필름을 CaCl_2 용액에 일정시간 침지한 후 건조시켜 가교결합(ionic crosslinking)을 형성시킨 필름(immersion film)이다.

CaCl₂처리 농도의 영향을 조사하기 위하여 CaCl₂첨가필름은 CaCl₂첨가량을 0.03, 0.06, 0.09 및 0.12 g을 첨가하여 4종류의 필름을 제조하였는데, 이는 각각 알긴산 분말기준으로 0.75, 1.50, 2.25 및 3.00%에 해당한다. CaCl₂용액에 침지한 필름은 대조구 필름과 같은 방법으로 제조하여 상온에서 건조시킨 알긴산 필름을 2, 5 및 10%의 CaCl₂용액에 5분간 침지한 후 건조하여 필름을 제조하였다. 이때 침지과정이나 건조과정 중에 필름의 수축이나 변형이 일어나는 것을 방지하기 위하여 1차 건조된 필름을 유리판에서 떼어내지 않은 채로 필름의 상부에 각 농도의 CaCl₂용액 100 ml를 부어 5분간 반응시킨 후 용액을 제거하고 다시 상온에서 3~4시간 건조하여 실험용 필름으로 사용하였다. 실험용 필름은 필름의 특성 측정항목에 따라 투습도 측정용은 7×7 cm, 수분용해도 측정용은 2×2 cm, 인장강도 및 연신율 측정용 시료는 10×2.54 cm 크기로 절단하여 사용하였다.

필름의 두께

각 필름의 두께는 0.01 mm의 정밀도를 갖는 마이크로미터(Dial Thickness Gauge 7301, Mitutoyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 투습도 측정용 시료는 중심부와 주변 네 부위의 두께를 측정하고 그 평균값을 사용하여 투습계수의 계산에 사용하였으며, 인장강도 측정용 시료 역시 길이 방향으로 다섯 부위의 두께를 측정하여 그 평균값을 사용하여 필름의 인장강도 계산에 사용하였다.

Conditioning

모든 필름 시료는 25℃, 50% 상대습도로 조절된 항온항습기(Model FX 1077, (주)제이오텍)에서 적어도 48 시간 동안 수분함량을 조절한 후 필름의 특성 측정에 사용하였다.

투습계수

필름의 투습계수(water vapor permeability; WVP)는 필름의 투습도(water vapor transmission rate: WVTR)를 측정한 후 다음 식에 따라 결정하였다.

$$WVP = (WVTR \times L)/\Delta p$$

여기서 WVTR은 필름의 투습도 ($\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$), L은 필름의 평균 두께(m), Δp 는 필름의 양쪽의 수증기압차(Pa)를 나타낸다. WVTR은 ASTM 표준방법(15)을 수정하여 25℃와 50% (100/50%) 상대습도 구배 하에서 측정하였다.

Poly(methylmethacrylate)로 제작한 투습컵을 사용하여 상부까지 약 1 cm의 공간이 생기도록 약 18 mL의 증류수를 넣고, 투습도 측정용 필름을 투습컵의 입구(지름 4.6 cm)에 밀착시켜 밀봉한 후 무게를 측정하여 25°C와 50% RH로 조절되고 198 m/min의 속도로 공기가 순환되는 항온항습기(Model FX 1077, (주) 제이오텍)에 넣고 8시간 동안 매 1시간 간격으로 투습컵의 무게를 0.0001 g의 정밀도로 측정하였다. WVP의 계산 시에 필름의 하부와 증류수의 표면 사이에 있는 공기의 저항에 의한 영향을 McHugh 등(16)과 Gennadios 등(17)의 방법에 따라 보정하였다.

수분용해도 및 팽윤도

필름의 수분용해도(water solubility; WS)는 Rhim 등(16)의 방법에 따라 측정하였다. 먼저 수분용해도 측정용 필름 3매를 취하여 105°C의 건조기에서 24시간 건조하여 필름의 건물함량을 측정하고, 수분용해도 측정용 필름 3매를 따로 취하여 50 mL 용량의 비이커에 증류수 약 30 mL와 함께 넣고 입구를 parafilm으로 밀봉한 후 각 측정온도로 고정된(25, 50, 70, 80 및 90°C) 정온기에 넣고 가끔 흔들어 주면서 일정 시간 후에 물에 용해되지 않은 필름을 꺼내어 105°C의 건조기에서 24시간 동안 건조시켜 건물함량을 측정하였다. 필름의 용해도는 초기의 건물에 대한 물에 용해된 양의 백분율로 나타냈다.

필름의 수분흡수에 의한 필름의 팽윤도(swelling ratio: SR)는 Rhim 등(18)의 방법에 따라 수분용해도 측정 시와 같은 방법으로 필름시료를 일정온도와 일정시간 동안 증류수에 침지한 후 꺼내어 Whatman 여과지를 사용하여 표면수를 제거하고 무게를 측정하여 무게의 증가량을 초기의 무게에 대한 백분율로 나타냈다.

인장강도 및 연신율

필름의 인장강도(tensile strength; TS)와 연신율(elongation at break; E)은 ASTM 표준방법(19)의 따라 Instron Universal Testing Machine(Model 4465, Instron Corp. Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다. 이 때 초기의 grip간의 거리는 5 cm이고, cross-head의 속도는 500 mm/min 이었다. 필름의 인장강도는 필름이 끊어질 때까지 기록된 최대의 장력을 필름의 초기의 단면적으로 나누어 계산하였으며, 필름의 연신율은 필름이 끊어질 때까지 늘어난 길이를 초기의 grip간 거리에 대한 백분율로 나타냈다.

통계처리

각 필름의 인장강도, 연신율, 투습도 및 수분용해도 및 팽윤도는 각각 따로 제조한 필

를 실험단위로 하여 3회 반복 측정하였다. 각 필름의 특성치의 평균값과 표준편차를 SAS(20)의 General Linear Model을 사용하여 계산하였으며, 각 평균값의 유의적인 차이 검정은 유의수준 $\alpha=0.05$ 를 사용하여 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

필름형성능

CaCl₂를 처리하지 않은 무처리군과 CaCl₂를 첨가한 알긴산 필름은 모두 투명하고 유연한 필름이 형성되었다. 필름 용액의 제조 시에 CaCl₂의 첨가농도가 증가함에 따라 겔형성능이 증가하여 용액의 점도가 증가하였는데, CaCl₂를 0.15 g(알긴산 대비 3.75%)을 첨가하였을 때에는 강한 겔이 형성되어 필름의 제조가 불가능하였다. 따라서 필름을 형성할 수 있는 CaCl₂첨가의 최대농도로서 0.12 g(알긴산 대비 3%)으로 결정하였는데, CaCl₂를 0.12 g 첨가한 필름은 표면이 다소 거친 필름이 얻어졌다. 반면에 CaCl₂용액에 침지하여 CaCl₂를 흡착시킨 필름은 침지 후 상온에서 빠른 속도로 건조되어 표면이 약간 유백색을 띠는 반투명하고 견고한 필름이 형성되었다. 필름의 표면색의 변화는 필름내에 가교결합이 형성되었음을 보이는 간접적인 지표이다(21-22).

필름의 두께

Table 1에 나타난 바와 같이 알긴산 필름의 처리방법에 따라 필름의 두께가 현저한 차이를 나타내고 있는데, 대조구 필름의 두께가 가장 두껍고 다음으로 CaCl₂첨가필름, CaCl₂용액 침지필름 순으로 두께가 감소하였다. 첨가필름의 경우 필름용액의 점도가 증가하여 필름용액을 유리판에 casting할 때 용액 전부를 사용하지 못하고 다소의 손실이 있었는데, 이와 같이 필름용액의 사용량이 감소함에 따라 필름의 두께가 감소하였다. 그 정도는 점도가 증가할수록, 즉 CaCl₂의 첨가농도가 증가할수록 커졌다. CaCl₂용액 침지필름의 경우는 CaCl₂첨가필름의 경우와 같은 필름용액의 손실은 없었으나 대조구나 CaCl₂ 첨가필름에 비해 두께가 현저하게 감소하였다. 이는 필름의 침지 시에 필름의 알긴산이 일부 용해되었기 때문인 것으로 판단된다. Pavlath 등(12)은 알긴산 필름을 칼슘용액 중에 침지할 때 필름의 침지중에 알긴산이 용해되는 반응과 칼슘이온이 필름표면의 카르복시기와 가교결합을 형성하면서 알긴산을 불용화 시키는 반응이 경쟁적으로 일어난다고 가정하였다. 칼슘이온의 농도가 증가할수록 가교결합에 의해 알긴산의 불용화속도가 증가한다고 하였다. 본 연구결과에서도 CaCl₂용액 침지필름의 두께가 다른 처리구에 비해 감소

하였으나 침지필름 중에서는 침지용액의 CaCl₂농도가 증가할수록 그 두께가 증가한 결과를 나타내고 있는데, 이는 CaCl₂농도가 증가함에 따라 알긴산의 불용화 정도가 증가했음을 증명한다.

Table 1. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of alginate films¹⁾

Films	Thickness (μm)	TS (MPa)	E (%)
control	57.9 \pm 4.2 ^a	26.4 \pm 0.8 ^g	26.9 \pm 3.8 ^a
mixing films			
0.75% CaCl ₂ ²⁾	54.3 \pm 1.8 ^{ab}	30.1 \pm 1.8 ^{ef}	19.9 \pm 3.8 ^b
1.50%	50.9 \pm 1.2 ^{bc}	33.2 \pm 0.5 ^c	16.1 \pm 4.1 ^b
2.25%	50.8 \pm 1.5 ^{bc}	38.4 \pm 4.0 ^d	17.4 \pm 3.2 ^b
3.00%	49.9 \pm 2.6 ^{bcd}	41.8 \pm 2.1 ^d	18.9 \pm 2.3 ^b
immersion films			
2%CaCl ₂	38.0 \pm 2.8 ^e	65.9 \pm 2.4 ^c	2.2 \pm 0.2 ^c
5%	45.0 \pm 5.9 ^d	78.1 \pm 6.2 ^b	6.9 \pm 2.9 ^c
10%	45.4 \pm 0.6 ^{cd}	85.9 \pm 1.7 ^a	5.2 \pm 1.7 ^c

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p > 0.05$) different by Duncan's multiple range test

²⁾Concentration of CaCl₂ is based on Na-alginate (w/w)

인장강도 및 연신률

알긴산 필름의 인장강도와 연신율은 Table 1에 나타난 바와 같이 CaCl₂의 처리에 의해 인장강도는 현저하게 증가하였고, 연신율은 현저하게 감소하였다. CaCl₂처리에 의한 알긴산 필름의 인장강도와 연신률의 변화는 CaCl₂처리방법과 사용농도에 따라 크게 영향을 받았는데 그 정도는 알긴산 필름을 CaCl₂용액에 침지시켜 가교결합을 유도시킨 필름이 필름용액에 CaCl₂를 직접 첨가하여 제조한 필름에 비해 크게 나타났다. 즉 CaCl₂첨가 필름은 첨가농도에 따라 인장강도가 1.14~1.58배 증가했는데 비해 CaCl₂용액 침지필름은 2.49~3.25배로 크게 증가하였으며, 반면에 연신율은 처리방법에 따라 각각 1.35~1.67배 증가했는데 및 3.90~12.23배 감소하였다. Pavlath 등¹²⁾은 가소제로 glycerin을 알긴산 대비 40% 첨가한 알긴산필름을 5%와 10%의 CaCl₂용액에 5~60분 침지 시킨 결과 인장강도가 처리시간과 CaCl₂용액의 농도에 따라 41.11~73.28 MPa 을 나타냈으며, CaCl₂용액

의 농도가 높은 필름의 인장강도가 더 높아짐을 보고하였는데, 이는 본 연구결과와 잘 일치하고 있다. 이와 같이 CaCl₂의 처리에 의해 알긴산 필름의 인장강도가 증가하고 연신율이 감소하는 것은 알긴산의 카르복실기와 칼슘이온 사이의 가교결합이 이루어졌기 때문이다.

투습도

알긴산 필름의 투습계수(water vapor permeability; WVP)는 Table 2에 표시한 바와 같았다. 알긴산 필름의 투습계수 역시 CaCl₂의 처리에 의해 현저하게 감소하였으며, 처리 방법에 따라서도 유의적인 차이를 나타냈는데, CaCl₂첨가필름이 사용농도에 따라 WVP가 1.15~1.35배 감소한데 비해 CaCl₂용액 침지필름은 1.39~2.41배 감소하였다. Pavlath 등 (23)은 펙틴 필름을 5% CaCl₂용액에 5분간 처리했을 때 WVP가 136.6에서 44.3 g · mm/m · day · kPa로 3배 정도 감소하였음을 보고하였다.

Table 2. Water vapor permeability (WVP) of alginate films¹⁾

Films	Thickness (μm)	WVP ($\text{ng} \cdot \text{m}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}$)
control	55.67±5.26 ^a	1.47±0.05 ^a
mixing films		
0.75% CaCl ₂ ²⁾	52.73±2.57 ^{ab}	1.28±0.09 ^b
1.50%	45.33±3.72 ^b	1.09±0.01 ^c
2.25%	50.93±4.74 ^{ab}	1.22±0.05 ^b
3.00%	56.47±1.68 ^a	1.24±0.03 ^b
immersion films		
2% CaCl ₂	36.73±5.94 ^c	0.61±0.03 ^e
5%	44.87±3.70 ^b	0.78±0.01 ^d
10%	47.53±4.97 ^b	1.06±0.08 ^c

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p > 0.05$) different by Duncan's multiple range test

²⁾Concentration of CaCl₂ is based on Na-alginate (w/w)

수분용해도 및 팽윤도

필름의 수분용해도는 수분에 대한 저항성을 나타내는 지표로서 포장재의 수분저항성은 수분함량이 높은 식품에 사용되거나 습도가 높은 상태에서 사용되는 포장재에 요구되는 중요한 성질이다. 대조구인 알긴산 필름은 증류수에 넣으면 바로 용해되었으며, CaCl₂를 첨가한 필름도 물에 넣은 후 약 30분 이내에 모두 붕괴되어 수분용해도를 측정할 수 없었다. 반면에 CaCl₂용액 침지 필름은 수분에 대한 저항성이 증가하였으며, 증류수에서 24시간 후에도 원형을 그대로 유지하였다. 이러한 현상은 Pavlath 등(12)에 의해 밝혀진 바와 같다. 따라서 CaCl₂용액에 침지하여 제조한 알긴산 필름의 수분용해도(water solubility; WS)를 조사하였으며, WS는 25℃와 80℃의 증류수에 24시간 처리하여 측정하였는데 그 결과는 Table 3에 표시된 바와 같다.

Table 3. Water solubility of alginate films prepared by immersion determined at 25 and 80℃¹⁾

Concentration of CaCl ₂	WS ₂₅ ²⁾ (%)	WS ₈₀ ²⁾ (%)
2%	6.59±0.34 ^c	6.59±0.25 ^b
5%	12.11±0.74 ^b	9.35±1.26 ^b
10%	18.41±0.85 ^a	14.95±3.11 ^a

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p>0.05$) different by Duncan's multiple range test.

²⁾Water solubility determined at 25 and 80℃, respectively.

CaCl₂용액 침지 필름의 WS는 CaCl₂용액의 농도가 증가할수록 증가하였으며 온도가 높은 쪽의 WS가 더 낮게 나타났다. Pavlath 등(12)은 CaCl₂용액에 침지시킨 알긴산 필름의 수분용해도가 CaCl₂용액의 농도와 침지 시간에 영향을 받는데, CaCl₂용액의 농도가 증가할수록 그리고 침지 시간이 증가할수록 수분용해도가 감소하였다고 보고하였다. 이들은 또한 2%의 CaCl₂용액은 알긴산 필름을 수분에 대해 불용화 시키기에는 충분하지 못하며, 5% 및 10% 용액에서는 침지 시간이 증가할수록 필름의 불용화도가 증가하여 약 30분 정도에서 포화가 일어난다고 하였다. 알긴산 필름의 WS에 대한 물의 온도에 대해서는 아직 보고된 바가 없으나 5% CaCl₂용액에 5분간 침지 시켜 불용화 시킨 펙틴필름(23)의 경우 25℃에서는 용해되는데 걸리는 시간이 2주 미만이었으나 80℃에서는 2일 미만으로 물의 온도가 높을수록 WS가 감소하는 결과를 얻어 본 연구의 결과와 상이하였다. 필름

의 물성은 사용하는 원료에 따라 크게 달라지기 때문에(23) 이러한 차이는 필름 원료의 차이에 기인할 수도 있으나 이에 대해서는 보다 상세한 연구가 이루어져야 할 것이다. Table 4에는 3% CaCl₂용액에 5분간 침지 시켜 불용화 시킨 알긴산 필름의 수분흡수에 의한 팽윤도(SR)의 결과를 표시하였다. 알긴산 필름의 SR은 물의 온도와 흡수시간에 의해 영향을 받았는데, 필름의 SR은 온도가 증가함에 따라 직선적으로 감소하였다. 이는 사용온도가 증가할수록 알긴산 포장재의 흡수율이 감소하여 수분의 흡수에 의한 외관적인 변형이 감소하는 것을 의미하는 것으로 수분함량이 높은 고온의 식품에 적용하기에 좋은 특성인 것으로 판단된다. 알긴산 필름의 SR에 대한 처리시간의 영향은 처리온도에 따라 다르게 나타났는데, 25℃에서는 시간의 증가에 따라 SR이 증가하였으며, 50℃에서는 뚜렷한 변화가 없었고, 70℃와 90℃에서는 시간이 증가함에 따라 SR이 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 온도에 따라 SR의 포화도 값과 포화되는 시간이 다르기 때문이다. 결과적으로 CaCl₂처리에 의해 알긴산 필름의 인장강도는 증가하고 연신율과 수증기투과도 및 수분용해도는 현저하게 감소하였는데 이는 칼슘이온과 알긴산의 카르복실기 사이에 가교결합이 형성되어 알긴산의 분자구조가 변하였기 때문이다. 이러한 현상은 helix 구조를 갖는 알긴산 분자 사이에 ligand hole이 형성되고 여기에 Ca²⁺이 결합한다는 “eggbox” model로 설명되고(4-10) Ca²⁺에 의해 불용화된 알긴산은 수분함유식품의 포장이나 일회용 종이컵의 코팅용 등으로 사용이 가능할 것으로 생각된다.

Table 4. Change in swelling ratio (SR) of Na-alginate films prepared by immersion method¹⁾

Time (min)	swelling ratio (%)			
	25℃	50℃	70℃	90℃
1	72.2±1.7	61.5±2.5	47.2±5.2	32.9±0.5
2	78.4±13.2	67.1±8.7	48.1±3.8	36.4±6.5
5	82.2±12.4	67.8±8.1	42.9±2.8	26.5±1.7
10	97.9±9.7	59.4±5.9	40.7±5.5	26.4±2.3
20	90.1±7.3	67.7±7.1	40.3±4.0	22.8±1.7
30	92.1±4.5	54.9±3.7	43.8±1.9	27.3±1.9
90	93.9±11.0	60.8±3.5	42.5±9.0	17.5±4.3

¹⁾Na-alginate films were prepared by immersing into 3% CaCl₂ solution for 5 min.

요 약

필름용액에 CaCl_2 를 직접 첨가하여 제조한 알긴산 필름과 알긴산 필름을 CaCl_2 용액에 침지 시켜 제조한 알긴산 필름을 대조구용 알긴산 필름과 함께 제조하여 각 필름의 인장강도, 연신율, 투습도 및 수분용해도 등을 측정하여 제조방법에 따른 알긴산 필름의 특성에 미치는 CaCl_2 의 처리효과를 조사하였다.

CaCl_2 의 처리방법에 따라 필름의 특성은 크게 영향을 받았다. 이는 칼슘이온과 알긴산의 카르복실기 사이의 가교결합에 기인하는데, CaCl_2 를 직접 첨가한 알긴산 필름의 인장강도는 사용농도에 따라 1.14~1.58배 증가한 반면 연신율은 1.35~1.67배 감소하였으며, 투습도는 1.15~1.35배 감소하였다. CaCl_2 용액에 침지 시킨 필름은 그 효과는 보다 현저하였는데, 인장강도는 사용용액의 농도에 따라 2.49~3.25배 증가하였고, 연신율은 3.90~12.23배 감소하였으며, 투습도는 1.39~2.41배 감소하였으며, 수분에 대한 저항성이 크게 증가하였다.

참 고 문 헌

1. Kester, J.J and Fennema, O.R. edible films and coatings: A review. Food Technol. 40:47-59(1986)
2. Krochta, J.M and Mulder-Johnston, C.D. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. Food Technol. 51: 61-73 (1997)
3. Kaplan, D.L., Mayer, J.M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A.L. and Stenhouse, P.S. Fundamentals of biodegradable polymers, pp. 1-42. In: Biodegradable Polymers and Packaging. Ching, C., Kapan, D.L. and Thomas, E.I. (eds.) Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, UK (1993)
4. Moe, S.T., Draget, K.I., Skjak-Braek, G. and Smidsrod, O. Alginates, pp.245-286. In: Food Polysaccharides and their Applications, Stephen, A.M. (ed). Marcel Dekker, Inc., New York, USA (1995)
5. Lazarus, C.R., West, R.L., Oblinger, J.L. and Palmer, A.Z. Evaluation of a calcium alginate coating and a protective plastic wrapping for the control of lamb carcass shrinkage. J. Food Sci. 41: 639-641(1976)

6. Williams, S.K., Oblinger, J.L. and West, R.L. Evaluation of a calcium alginate film for use on beef cuts. *J. Food Sci.*43: 292-296 (1978)
7. Rhim, J.W., Wu, Y., Weller, C.L. and Schnepf, M. Physical characteristics of a composite film of soy protein isolate and propyleneglycol alginate. *J. Food Sci.* 64:149-152 (1999)
8. Shih, F.F. Edible films from rice protein concentrate and pullulan. *Cereal Chem.* 73: 406-409 (1996)
9. Shih, F.F. Interaction of soy isolate with polysaccharide and its effect on film properties. *J. Am. Oil Chem Soc.* 71: 1281-1285 (1994)
10. Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J.C. and Thom, D. Biological interaction between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Lett.* 32: 195-198 (1973)
11. Brodelius, P. Immobilization of culture plant cells and proto-plasts. pp. 535-546. In: *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*, Vol. 1, Vasil, I.K. (ed.) Academic Press, London (1984)
12. Draget, K.I., Stgaard, K. and Smids, O. Homogeneous alginate gels: A technical approach. *Carbohydr. Polym.* 14: 159-178 (1991)
13. Kaletunc, G., Nussinovitch, A. and Peleg, M. Alginate texturization of highly acid fruit pulps and juices. *J. Food Sci.* 55: 1759-1761 (1990)
14. Pavlath, A.E., Gossett, C., Camirand, W. and Robertson, G.H. Ionomeric films of alginic acid. *J. Food Sci.* 64: 61-63 (1999)
15. ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-95), Vol. 4.06, pp.697-704. In: *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA (1995)
16. McHugh T.H., Avena-Bustillos, R. and Krochta J.M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* 58: 899-903 (1993)
17. Gennadios, A., Weller, C.L. and Gooding, C.H. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *J. Food Eng.* 21:395-409 (1994)
18. Rhim, J.W., Park, J.W., Jung, S.T. and Park, H.J. Formation and properties of

corn zein coated κ -carrageenan films. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1184-1190 (1997)

19. ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, Vol. 8.01, pp. 182-190. In: Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA (1995)

20. SAS Institute, Inc. SAS Users Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1998)

21. Rhim, J.W. Modification of soy protein film by formaldehyde. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 372-378 (1998)

22. Rhim, J.W., Gennadios, A., Weller, C.L., Cezeirat, C. and Hanna, M.A. soy protein isolate-dialdehyde starch films. Ind. Crops Prod. 8: 195-203 (1998)

23. Pavlath, A.E., Voisin, A. and Robertson, G.H. Pectin-based biodegradable water insoluble films. Macromol. Symp. 140: 107-113 (1999)

24. Banker, G.S. Film coating theory and practice. J. Pharm. Sci. 55: 81-89 (1966)

제 3 절 수분저항성 알긴산 필름의 물리적 및 기계적 특성

임 중 환 (목포대학교 식품공학과)

Introduction

Concerns over solid packaging waste and dwindling petroleum reserves give an impetus for the development of biodegradable packaging films, which degrade in the environment by the action of microorganisms in the soil, using renewable biopolymers such as polysaccharide, protein, lipid, and their composites (Debeaufort, Quezada-Gallo, & Voilly, 1998; Kester & Fennema, 1986; Krochta & De-Mulder-Johnston, 1997).

Alginate is of interest as a potential biopolymer film or coating component because of its unique colloidal properties, which include thickening, stabilizing, suspending, film forming, gel producing, and emulsion stabilizing (King, 1983; Moe, Draget, Skjåk-Bræk, & Smidsrød, 1995). It is a hydrophilic colloidal carbohydrate extracted with dilute alkali from various species of brown seaweeds (Phaeophyceae). In molecular terms, it is a family of unbranched binary copolymers of (1 \rightarrow 4)-linked β -D-mannuronic acid and α -L-guluronic acid residues of widely varying composition and sequential structure (Moe, Draget, Skjåk-Bræk, & Smidsrød, 1995; King, 1983). Alginic acid is the only polysaccharide, which naturally contains carboxyl groups in each constituent residue, and possesses various abilities for functional materials (Ikeda, Takemura, & Ono, 2000). The most useful and unique property of alginates is their ability to react with polyvalent metal cations, specifically calcium ions, to produce strong gels or insoluble polymers (Grant, Morris, Rees, Smith, & Thom, 1973; King, 1983). Such Ca-alginate gels are used in the food processing industry for producing restructured foods such as meat products, onion rings, pimento olive fillings, crabsticks, and cocktail berries (Moe, Draget, Skjåk-Bræk, & Smidsrød, 1995), and in the biotechnology industry for producing beads for immobilization of cells or enzymes (Brodelius, 1984). Considering the potential amount available as a natural resource and reproducibility of alginic acid, it is meaningful to develop as a source for the biodegradable or edible films (Lazarus, Kaanane, & Chen, 1976; Parris, Coffin,

Joubran, & Pessen, 1995; Pavlath, Gossett, Camirand, & Robertson, 1999; Pavlath, Voisin, & Robertson, 1999; Williams, Oblinger, & West, 1978). Though edible films prepared from hydrocolloids like alginate form strong films, they exhibit poor water resistance because of their hydrophilic nature (Guilbert, 1986; Kester & Fennema, 1986). The ability of alginate to make strong and insoluble gels with calcium ions can be utilized to improve such properties of alginate films (Pavlath, Gossett, Camirand, & Robertson, 1999). However, gel formation of alginate with calcium ions is so instantaneous that it prevents casting to make films in some cases. Draget, Østgaard, and Smidsrød (1991) proposed a technique for slow release of calcium to form a uniform gel and Kaletunc, Nussinovitch, and Peleg (1990) reported a method of increasing gel strength by immersing it into aqueous solutions of multivalent cations. Pavlath, Gossett, Camirand, and Robertson (1999) reported that the water solubility property of alginate films was significantly improved by immersing the film into solution of salts with multivalent ions. However, they did not report on other film properties such as water vapor permeability (WVP), tensile strength(TS), elongation at break (E), and water solubility (WS) of the film.

Though the solubility of edible films is one of the most important properties in food or pharmaceutical applications (Kanig & Goodman, 1962; Sothornvit & Krochta, 2000), most of the published studies on biopolymer films deal mainly with film formation and film properties such as mechanical and barrier properties (Kim, Ko, & Park, 2002).

The objectives of this work were to develop a modified procedure to prepare water resistant alginate films through inducing cross-link with ionic calcium and to assess their physical and mechanical properties including surface color, tensile strength (TS), elongation at break (E), water vapor permeability (WVP), water solubility (WS), and swelling ratio (SR) of the film.

Materials and Methods

Materials

Commercial grade Na-alginate (Product No.: 37094-01) was purchased from Kanto

Chemical Co. (Tokyo, Japan) and glycerin was purchased from Mallinckrodt Baker Chemical (Phillipsburg, NJ).

Preparation of films

A film-forming solution was prepared by slowly adding 4 g of alginate powder in a constantly stirred mixture of 200 mL of distilled water with 2 g of glycerin as a plasticizer. The mixture was heated on a hot plate with stirring until the mixture dissolved completely to become clear then heating was stopped. Each solution was strained through eight-layered cheese cloth (grade 40, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) to remove foam and other impurities, and poured onto a leveled Teflon-coated glass plate (24×30 cm). Films were allowed to dry at ambient conditions for about 24 h and the dried films were peeled off from the plates.

Modified films were also prepared using two different methods of CaCl₂ treatment. In the first one, designated as 'mixing film', a different amount of CaCl₂ (0.04, 0.08, and 0.12 g CaCl₂/4 g alginate) was mixed directly into film-forming solutions and followed the same as above. The second one, designated as 'immersion film', was prepared by slight modification of the procedure of Pavlath, Gossett, Camirand, and Robertson (1999), where the preformed alginate films were soaked for 5 min in different concentrations of CaCl₂ solutions (1, 2, 3, and 5 g CaCl₂/100 mL distilled water). To prevent curling of the films during drying, 100 mL of each CaCl₂ solution was poured onto the dried alginate films (about 7 g moisture/100 g initial material) on the rimmed glass plate prior to peeling. After immersing the film for 5 minutes, the CaCl₂ solution was discarded and dried the treated film at ambient condition for 6 h.

The films peeled from the plate were cut into 7×7 cm, 2×2 cm, and 2.54×10 cm pieces for the measurements of surface color and water vapor transmission rate (WVTR), water solubility (WS) and swelling rate (SR), and tensile strength (TS) and elongation at break (E), respectively.

Film thickness

Film thickness was measured using a micrometer (Dial thickness gauge 7301,

Mitutoyo Co., Japan) at a 0.01-mm accuracy. Five thickness measurements were taken on each tensile testing sample along the length of the strip with the mean used in TS calculations. Similarly, five measurements were taken on each WVTR sample, one at the center and four around the perimeter and the mean values were used in WVP calculations.

Conditioning

Film characteristics were determined after all sample films were preconditioned in a constant temperature humidity chamber (Model FX 1077, Jeitech Co., Ltd., Seoul, Korea) set at 25C with 50% RH for at least 48 h to adjust the moisture content.

Color

Color values of the films were measured with a CR-300 Minolta Chroma Meter (Minolta Camera Co., Ltd., Osaka, Japan). Films were placed on a white standard plate (calibration plate CR-A43) and the Hunter-Lab color scale was used to measure color. Total color difference (E) was calculated as:

$$\Delta E = (L^2 + a^2 + b^2)^{0.5} \quad (1)$$

where $L = L_{\text{standard}} - L_{\text{sample}}$ $a = a_{\text{standard}} - a_{\text{sample}}$ $b = b_{\text{standard}} - b_{\text{sample}}$. Standard values for the white plate were: $L = 96.86$, $a = -0.02$, and $b = 1.99$, respectively. Five measurements were taken on each film, one at the center and four around the perimeter, and the mean values were used.

Tensile strength and percentage elongation at break

TS and E were evaluated with a Model 4465 Instron Universal Testing Machine (Instron Engineering Corporation, Canton, MA). Initial grip separation was set at 50 mm and cross-head speed was set at 500 mm/min. TS (Pa) and E (%) were calculated using the following relationships:

$$TS = F_{\text{max}} / A \quad (2)$$

where F_{\max} = maximum load for breaking film (N) and A_c = cross-sectional area of the sample (i.e., thickness \times width) and

$$E (\%) = (L / L_0) \times 100 \quad (3)$$

where L_0 = original length of the sample or initial gage length (50 mm) and L = difference in the length at the moment of rupture. TS and E measurements for each type of film were replicated three times with individually prepared films as the replicated experimental units and each replicate being the mean of seven tested sampling units taken from the same film.

Water vapor permeability

Water vapor permeability (WVP) ($\text{g}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$) was calculated as:

$$\text{WVP} = (\text{WVTR}\cdot L)/\Delta p \quad (4)$$

where WVTR was measured water vapor transmission rate ($\text{g}/\text{m}^2\cdot\text{s}$) through a film, L was mean film thickness (m) and Δp was partial water vapor pressure difference (Pa) across the two sides of the film.

WVTR was determined gravimetrically using a modified ASTM Method E 96-95 (ASTM, 1995). Film specimens were mounted on poly(methyl methacrylate) cups filled with distilled water up to 1 cm from the film underside. The cups were placed in an environmental chamber set at 25 °C and 50% RH. A fan was operated within the chamber creating an air velocity of 198 m/min over the surface of the cups to remove permeating water vapors. Weights of the cups were recorded every hour for a period of 8 h. Steady state was reached after about 1 h. Slopes of the steady state (linear) portion of weight loss versus times curves were determined by linear regression to estimate WVTR. In calculating WVP, the effect of resistance of the stagnant air layer between the film undersides and the surface of water in cups was corrected (Gennadios, Weller, & Gooding, 1994).

Water solubility (WS) and swelling ratio (SR)

To determine the effect of CaCl₂ treatment on the water resistance of alginate films, WS of each treated film was measured according to the method of Rhim, Gennadios, Weller, Cezeirat, and Hanna (1998). Three randomly selected samples from each type of film were first dried at 105 °C for 24 h to determine initial dry matter. Additional three films were placed in a 50-mL beaker containing 30 mL distilled water. After sealing the beaker mouth with aluminum foil, the beakers were placed in environmental chambers at 25°C and 80 °C for 24 h with occasional gentle stirring. Unsolubilized dry matter was determined by removing the film pieces from the beakers, gently rinsing them with distilled water, and then oven drying (105 °C, 24 h) them. The weight of water soluble matter was calculated by subtracting the weight of unsolubilized dry matter from the weight of initial dry matter and expressed as a fraction of the initial dry matter content using following relationship:

$$WS = (S_0 - S) / S_0 \quad (5)$$

where S_0 = initial dry matter which can be calculated by initial sample weight multiplied by solid content, S = unsolubilized dry matter. Film samples were weighed to the nearest 0.0001 g before and after drying. Dry matter and WS were determined in triplicate for each type of film.

To determine the effect of solubilization water temperature on WS and SR of water resistant alginate films prepared using the immersion method in 3 g/100 mL CaCl₂ solution for 5 min, WS and SR of the film were determined at 25, 50, 70, and 90°C using the same film samples. SR of the films was determined according to the method of Rhim, Park, Jung, and Park (1997). Pre-weighed film samples were immersed in to each temperature of water for 10 min, then removed from the water and soaked the surface water with filter paper to measure the final weight. SR was expressed as a fraction of increase in weight against initial weight of the film.

Sorption isotherms

Sorption isotherms of films were determined by the static method (Wolf, Spiess, & Jung, 1985). Air-tight glass culture bottle (1 L) containing saturated salt solutions of LiCl, $\text{KC}_2\text{H}_3\text{O}_2$, MgCl_2 , K_2CO_3 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, NaCl, KCl, and Na_2HPO_4 for 0.11, 0.23, 0.33, 0.43, 0.52, 0.75, 0.86, and 0.97 aw at 25°C (Labuza, Kaanane, & Chen, 1985), respectively, were used to hold triplicate square samples (2×2 cm) in a receptacle made of nylon net hanging over salt solutions. Bottles were kept in a constant temperature incubator at 25°C. Samples were allowed to equilibrate with the environment inside the bottles and the samples were weighed every day until there was no discernable weight change after attaining equilibrium (generally 10-13 days). Weight of moisture equilibrated samples, and after drying in an oven at 105°C for 24 h, was determined with 0.0001 g accuracy. Adsorption tests were done in triplicate for each type of film at each relative humidity.

Statistical analysis

Measurements of each property were triplicated for color, TS, E, WVP, WS, and SR with individually prepared films as the replicated experimental units. Statistics on a completely randomized design were determined using the General Linear Models procedure in the SAS program (SAS Institute Inc., 1988). The significance of each mean property value was separated ($P < 0.05$) with Duncan's multiple range tests.

Results and Discussion

Film-forming and color

Alginate films, prepared with or without CaCl_2 treatment, were all transparent and pliable. In the preparation of the 'mixing films', the viscosity of film-forming solution increased rapidly as the concentration of CaCl_2 increased. When CaCl_2 was added at more than 0.12 g, the solution formed too strong of a gel to be cast to make film. So the maximum concentration of CaCl_2 for the mixing film was decided to be 0.12 g of alginate. Even in this case, surface of the film was not as smooth as the control films. On the contrary, the 'immersion films' were prepared without any limit of CaCl_2 concentration. After soaking in CaCl_2 solution, the films dried much faster than

the control films resulting in slightly translucent, milk white-tinted and stiff films. Sometimes the change in surface color of films can be used as an indicator for developing crosslinking in the film molecules (Rhim, 1998; Rhim, Gennadios, Weller, Cezeirat, & Hanna, 1998). However, Hunter color values of CaCl₂ treated films did not show any significant difference compared with control films (Table 1).

Table 1. Hunter L, a, and b values and total color difference (E) of alginate films¹.

Films	L	a	b	ΔE
Control film	87.5±0.1c	-0.35±0.08abc	1.02±0.20ab	9.42±0.11b
Mixing film				
0.04 g of CaCl ₂	87.3±0.2b	-0.27±0.02c	1.08±0.06ab	9.80±0.10cd
0.08 g of CaCl ₂	87.0±0.2a	-0.27±0.01c	0.88±0.15a	9.95±0.16d
0.12 g of CaCl ₂	87.2±0.1ab	-0.28±0.01c	0.87±0.11a	9.71±0.11c
Immersion film				
1 g/100 mL CaCl ₂ soln	88.1±0.1d	-0.42±0.02a	1.04±0.08ab	8.82±0.08a
2 g/100 mL CaCl ₂ soln	87.6±0.2c	-0.41±0.06ab	1.02±0.07ab	9.30±0.20b
3 g/100 mL CaCl ₂ soln	87.5±0.0bc	-0.43±0.02a	1.15±0.02ab	9.45±0.01b
5 g/100 mL CaCl ₂ soln	87.2±0.2b	-0.33±0.06bc	1.29±0.33b	9.67±0.14c

¹Means of three replicates standard deviations. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P>0.05$) different by Duncan's multiple range tests.

Film thickness

The thickness of alginate films changed significantly depending on the film preparation method as shown in Tables 2 and 3. The thickness of the 'mixed films' was the thickest followed by the control and the 'immersion films'. The thickness of the immersion films seemed to decrease because alginate was solubilized during soaking in CaCl₂solutions. Pavlath, Gossett, Camirand, and Robertson (1999) assumed two competing reactions, i.e., dissolution of alginate by the solution and unsolubilization of the films by forming crosslink between Ca²⁺ and carboxyl groups on the film surface, would have occurred when the films were immersed in CaCl₂

solutions. When the concentration of Ca^{2+} was low, the first process, i.e., dissolution of alginate would be dominant to reduce the film thickness. Conversely, increasing Ca^{2+} concentration would counteract the dissolution by the crosslinking. The results also showed that the thickness of immersion films decreased compared with control or mixing films, however, the film thickness of immersion films increased as the concentration of CaCl_2 solution increased. This result indicated that the degree of unsolubilization of alginate films increased as the concentration of CaCl_2 solution increased.

Table 2. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of alginate films¹

Films	Thickness (μm)	TS (MPa)	E (%)
Control film	62.9 \pm 2.0bc	33.6 \pm 3.1a	14.0 \pm 2.9d
Mixing film			
0.04 g of CaCl_2	65.2 \pm 3.1cde	39.3 \pm 0.4a	11.8 \pm 2.2cd
0.08 g of CaCl_2	68.0 \pm 2.7de	43.5 \pm 4.5a	9.1 \pm 1.3bc
0.12 g of CaCl_2	69.2 \pm 2.6e	38.8 \pm 1.7a	10.5 \pm 1.2bc
Immersion film			
1 g/100 mL CaCl_2 soln	56.2 \pm 3.0a	75.8 \pm 4.9b	8.2 \pm 2.2b
2 g/100 mL CaCl_2 soln	56.3 \pm 3.1a	74.9 \pm 5.1b	3.4 \pm 1.4a
3 g/100 mL CaCl_2 soln	57.9 \pm 1.5a	73.3 \pm 6.9b	3.6 \pm 0.5a
5 g/100 mL CaCl_2 soln	59.1 \pm 2.6ab	85.9 \pm 7.8b	3.8 \pm 0.9a

¹Means of three replicates standard deviations. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P>0.05$) different by Duncan's multiple range tests.

Table 3. Thickness and water vapor permeability (WVP) of alginate films¹

Films	Thickness (μm)	WVP ($\times 10^{-9} \text{ g}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$)
Control film	62.9 \pm 1.6bc	1.42 \pm 0.12b
Mixing film		
0.04 g of CaCl ₂	63.7 \pm 2.8bc	1.48 \pm 0.08b
0.08 g of CaCl ₂	64.5 \pm 0.4bc	1.30 \pm 0.03b
0.12 g of CaCl ₂	67.5 \pm 3.5c	1.41 \pm 0.03b
Immersion film		
1 g/100 mL CaCl ₂ soln	56.5 \pm 1.2a	1.08 \pm 0.09a
2 g/100 mL CaCl ₂ soln	58.4 \pm 1.7ab	0.93 \pm 0.11a
3 g/100 mL CaCl ₂ soln	60.3 \pm 1.2ab	1.03 \pm 0.01a
5 g/100 mL CaCl ₂ soln	60.3 \pm 0.4ab	0.99 \pm 0.12a

¹Means of three replicates standard deviations. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P>0.05$) different by Duncan's multiple range tests.

Tensile strength (TS) and elongation at break (E)

Table 2 shows TS and E of alginate films prepared with or without CaCl₂ treatment. Alginate films were strong as indicated by high values of TS, which was 33.6 \pm 3.1 MPa. Generally, TS increased, while E decreased by CaCl₂ treatment, though the degree of change depended on the method and concentration of CaCl₂ treatment. The change of TS and E in the immersion films was more pronounced than the mixing films. Pavlath, Gossett, Camirand, and Robertson (1999) reported that TS of alginate films prepared by immersing in 5 and 10 g/100 mL CaCl₂ solutions for 5 to 60 min were 41.11 to 73.28 MPa depending on the CaCl₂ concentration and treatment time. Their results indicated that as the concentration of CaCl₂ solution increased TS increased, which agreed well with the results of this study. Again, the increase in TS and the decrease in E by CaCl₂ treatment were mainly due to the development of crosslinking between carboxyl group of alginate and Ca²⁺ (Chavez, Luna, & Garrote, 1994; Pavlath, Gossett, Camirand, & Robertson, 1999).

Water vapor permeability (WVP)

Table 3 shows WVP of alginate films. WVP of the alginate films was $1.42 \pm 0.12 \times 10^{-9} \text{ g}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$. This is 2.3 times lower than that of κ -carrageenan (another carbohydrate from red algae) film of $3.30 \pm 0.09 \times 10^{-9} \text{ g}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$ (Rhim, Park, Jung, & Park, 1997). Parris, Coffin, Joubran, and Pessen (1995) reported the WVP of alginate films prepared using alginate and glycerin (7:3 by weight) was $0.65 \pm 0.01 \times 10^{-9} \text{ g}\cdot\text{m}/\text{m}^2\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$. This value of WVP reported by them is less than half of the observed WVP. The difference may be caused by the difference in the film preparation and WVP measuring conditions. They added a lower amount of glycerin in film preparation and they measured WVP at 30°C instead of 25°C. Reportedly, water vapor barrier properties of biopolymer films decrease by adding a greater amount of plasticizer like glycerin (Gontard, Guilbert, & Cuq, 1993) and WVP of films decrease with increasing temperature of WVP measurement (Rhim, 2002). As shown in Table 3, the WVP of alginate films was affected greatly by the method of CaCl_2 treatment. While the change in WVP of the mixed films was not significant ($P > 0.05$), WVP of the immersion films decreased significantly ($P < 0.05$). Decrease in WVP due to crosslinking by Ca^{2+} was also observed with other type of films. Pectin films decreased in WVP from 133.6 to 44.3 $\text{g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{day}\cdot\text{kPa}$ by immersing the films in 5 g/100 mL CaCl_2 solution for 5 min (Pavlath, Voisin, & Robertson, 1999). The WVP of protein films such as casein was reduced by calcium ion crosslinking of protein (Avena-Bustillos & Krochta, 1993). It was assumed that ionic crosslinking reduced polymer segmental mobility, thus reducing WVP through the film matrix.

Water solubility (WS)

Table 4 shows the results of WS of alginate films prepared with or without CaCl_2 treatment determined at 25 and 80°C. Alginate films without CaCl_2 treatment were almost completely dissolved in water and most of the mixing films also disintegrated during immersion in water, which made it impossible to measure the WS (Table 4). On the other hand, the immersion films except immersion in 1 g/100 mL CaCl_2 solution retained their integrity at both lower and higher temperatures. The WS of the immersion films showed difference by the immersion temperature, but did not

show any significant difference by the concentration of CaCl_2 solutions. By taking into account of the hydrophilic nature of the plasticizer added in preparation of the films, the water resistance of the alginate films immersed in more than 2 g/100 mL CaCl_2 solutions increased comprehensively by the ionic crosslinking of Ca^{2+} . Pavlath, Gossett, Camirand, and Robertson (1999) suggested that desolubilization of alginate films by the immersion in CaCl_2 solutions was a function of treatment time and Ca^{2+} concentration, and they also reported that a 2 g/100 mL solution was not sufficient to desolubilize alginate films, however, they did not provide the quantitative data on the WS of Ca^{2+} -treated alginate films. Pavlath, Gossett, Camirand, and Robertson (1999) also asserted that higher ion concentrations resulted in considerably less solubility of alginate films not be dissolved in distilled water even after 3 weeks. The alginate films prepared by immersing in 3 g/100 mL CaCl_2 solution were observed to maintain their integrity in distilled water at ambient condition even after 5 months. Again, such increase in water resistance of alginate films was caused by the formation of crosslinking with calcium ions bound with carboxyl groups on the surface of alginate films. Reportedly, in order to react with calcium, alginate has to contain a certain proportion of gululonic acid, and the gululonic acid monomers must occur in series (Grant, Morris, Rees, Smith, & Thom, 1973). Regions of polyguluronic acid in one alginate molecule are linked to a similar region in another alginate molecule by means of calcium. The divalent calcium cation, Ca^{2+} , fits into the guluronic acid structures like an egg in an eggbox. This may be visualized as 'molecular cross-linking glue' binding the alginate polymers together by forming junction zones, leading to increase in water resistance of alginate films.

Interestingly, moisture content of alginate films was different depending on film preparation method. Moisture content of the immersion films was significantly ($P < 0.05$) lower than the control films, while that of the mixing films was higher. Such difference in moisture content of alginate films might be caused by the change in hydrophilicity of the films and consequently affect water sorption or permeation properties of the films. Water sorption isotherms of alginate films, i.e., the control, the mixing (0.08 g CaCl_2 /4 g alginate), and the immersion (3 g/100 mL CaCl_2 solution) films, indicated such trend as shown in Fig. 1. All the films showed a typical

biphasic pattern of isotherm curves which was frequently observed in other biopolymer films such as zein films (Gennadios & Weller, 1994; Lai & Padua, 1998), cellulose-based films (Cruz, Torres, & Martin-Polo, 2001), and wheat gluten and soy protein isolate films (Gennadios & Weller, 1994). As shown in Fig. 1, water sorption properties of the mixing film were similar to that of the control films and degree of water sorption of these two films were higher than the immersion films. This result explains the difference in WVP between the immersion films and the other films (Table 3).

Table 4. Water solubility (WS) of alginate films at 25°C and 80°C¹

	MC (%, w.b.)	WS _{25°C} ²	WS _{80°C} ³
Control film	23.9±1.3d	-4	-
Mixing film			
0.04 g of CaCl ₂	25.8±0.5e	-	-
0.08 g of CaCl ₂	25.5±0.8e	-	-
0.12 g of CaCl ₂	26.2±0.1e	-	-
Immersion film			
1 g/100 mL CaCl ₂ soln	15.7±0.1a	-	-
2 g/100 mL CaCl ₂ soln	16.5±0.1ab	0.164±0.021a	0.217±0.007a
3 g/100 mL CaCl ₂ soln	17.3±0.0bc	0.166±0.007a	0.200±0.023a
5 g/100 mL CaCl ₂ soln	17.7±0.2c	0.167±0.021a	0.208±0.014a

¹Means of three replicates standard deviations. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P>0.05$) different by Duncan's multiple range tests.

²Water solubility determined at 25°C

³Water solubility determined at 80°C

⁴WS could not be determined due to disintegration of films.

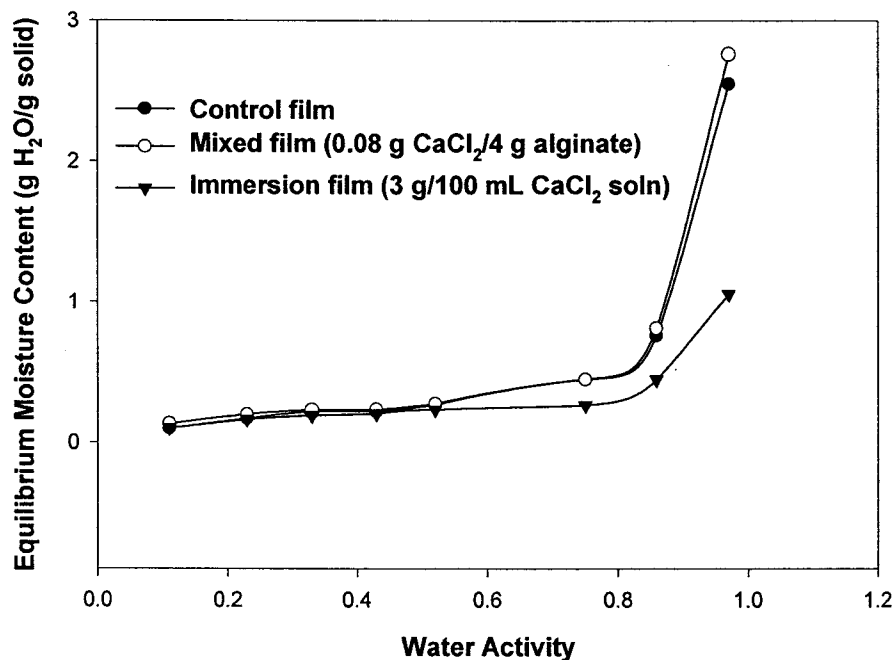


Fig. 1. Moisture sorption isotherms of alginate films.

Swelling ratio (SR)

Swelling ratio (SR) of films was used as a measure of the extent of crosslinking, similar to its use for protein films like collagen (Weadock, Olson, & Silver, 1984). Previously, the SR of the alginate films prepared by immersion method was found to strongly depend on soaking water temperature rather than soaking time (Rhim, Kim, & Kim, 2003). The temperature dependence of WS and SR of the alginate films prepared by immersion in 3 g/100 mL CaCl₂ solution are shown in Fig. 2. While the WS did not change considerably by the increase in temperature, the SR decreased linearly with temperature. This property of the films could be properly applied in food and non-food applications, such as a separating layer between heterogeneous food materials with different water activities or a coating materials in such conditions as high temperature with high moisture like single-use coffee cups or soup bowls made of paper.

Generally, physical and mechanical properties of alginate films were modified significantly by the crosslink with calcium ions in both the mixing films and the

immersion films. However, the degree of change of the immersion films was more pronounced than that of the mixing films. This is probably due to the structural differences between these films. Crosslinking between calcium ions and alginate molecule is an instantaneous process. In the mixing method, formation of the crosslink is so instantaneous that it cannot make a homogeneous in the sense of distribution of the crosslink, that is the distribution of the crosslink is not even in the entire films. They contain region of high crosslink density (i.e., cluster), which is dispersed within regions of low crosslink density. On the contrary, the crosslink density is relatively even in the films prepared by the immersion method. The difference in the crosslink density between the mixing films and the immersion films probably affected the physical and mechanical properties such as WVP, WS, TS, E, and water sorption behavior of the water resistant alginate films.

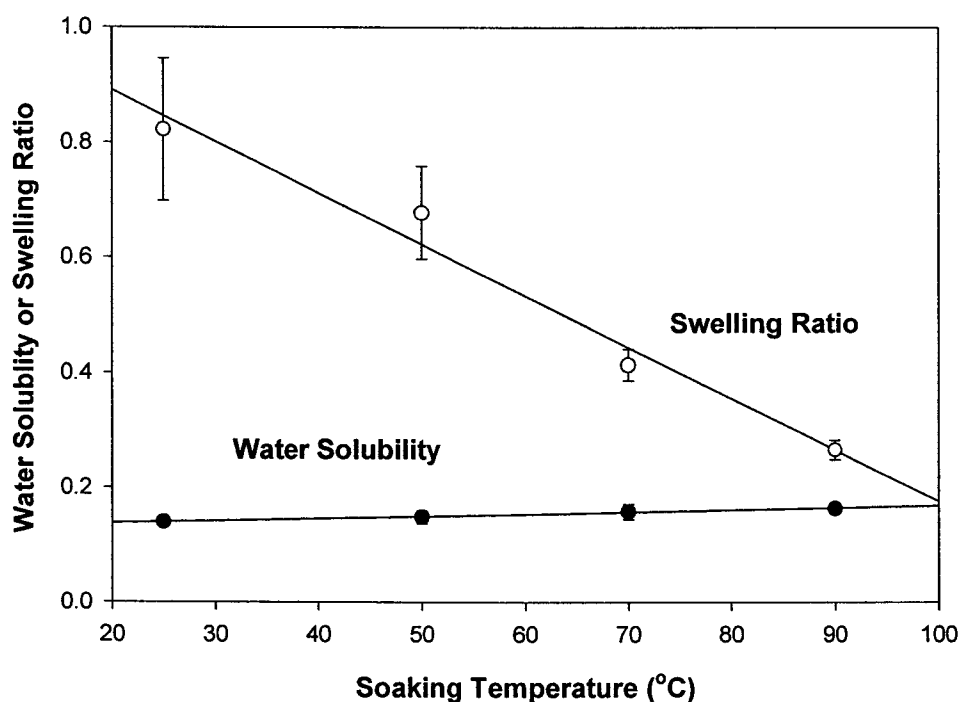


Fig. 2. Water solubility and swelling ratio of the alginate films prepared by immersion in 3 g/100 mL CaCl_2 solution for 5 min.

Implication

Reacting with calcium ions through immersion of alginate films in CaCl₂ solutions, water resistance increased significantly ($P < 0.05$) with increase in TS and decrease in WVP of the films. In addition, SR of the films decreased with soaking temperature without affecting WS. Such properties of the films could be utilized to make them as a natural water-insoluble film in food and non-food applications where plastic packaging cannot be applied. They can be used as a separating layer inside heterogeneous foods to prevent moisture migration between parts having different water activities and they can also be used as coating materials for single-use coffee cups or soup bowls made of paper. Especially, the water resistant edible film coated paper cups will be a help to alleviate the environmental concerns on non-biodegradable plastic solid waste by providing opportunity to replace polyethylene coated single-use paper cups.

References

1. ASTM. (1995). Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-95), Vol. 4.06, In: Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials. (pp. 697-704)
2. Avena-Bustillos, R. J., & Krochta, J. M. (1993). Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. *Journal of Food Science*, 58, 904-907.
3. Brodelius, P. (1984). Immobilization of cultural plant cells and protoplasts. In I. K. Vasil (Ed), *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*, Vol. 1, (pp. 535-546). London: Academic Press.
4. Chavez, M. S., Luna, J. A., & Garrote, R. L. (1994). Crosslinking kinetics of thermally preset alginate gels. *Journal of Food Science*, 59, 1108-1110, 1114.
5. De la Cruz, G. V., Torres, J. A., & Martin-Polo, M. O. (2001). Temperature effect on the moisture sorption isotherms for methylcellulose and ethylcellulose films. *Journal of Food Engineering*, 48, 91-94.

6. Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., & Voilly, A. (1998). Edible films and coatings: Tomorrow's Packaging: a Review. *Critical Reviews in Food Science*, 38, 299-313.
7. Draget, K. I., Østgaard, K., & Smidsrød, O. (1991). Homogeneous alginate gels: A technical approach. *Carbohydrate Polymers*, 14, 159-178.
8. Gennadios, A., & Weller, C. L. (1994). Moisture adsorption by grain protein films. *Transactions of ASAE*, 37, 535-539.
9. Gennadios, A., Weller, C. L., & Gooding, C. H. (1994). Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21, 395-409.
10. Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. L. (1993). Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, 58, 206-211.
11. Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., & THOM, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters*, 32, 195-198.
12. Guilbert, S. (1986). Technology and application of edible protective films. In M. Mthlouthi (Ed.), *Food Packaging and Preservation*, (pp. 371-394). New York: Elsevier Science Publishing.
13. Ikeda, A., Takemura, A., & Ono, H. (2000). Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 42, 421-425.
14. Kanig, J. L., & Goodman, H. (1962). Evaluative procedures for film-forming materials used in pharmaceutical applications. *Journal of Pharmaceutical Science*, 51, 77-83.
15. Kaletunec, G., Nussinovitch, A., & Peleg, M. (1991). Alginate texturization of highly acid fruit pulps and juices. *Journal of Food Science*, 55, 1759-1761.
16. Kester, J. J., & Fennema, O. R. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology*, 40, 47-59.
17. Kim, K. W., Ko, C. J., & Park, H. J. (2002). Mechanical properties, water vapor permeabilities and solubilities of highly carboxymethylated starch-based edible films. *Journal of Food Science*, 67, 218-222.
18. King, A. H. (1983). Brown seaweed extracts (Alginates). *Food Hydrocolloids*, 2,

115-188.

19. Krochta, J. M., & Mulder-Johnston, C. D. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technology*, 51, 61-73.
20. Labuza, T. P., Kaanane, A., & Chen, J. Y. (1985). Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. *Journal of Food Science*, 50, 385-391.
21. Lai, H. M., & Padua, G. W. (1998). Water vapor barrier properties of zein films plasticized with oleic acid. *Cereal Chemistry*, 75, 194-199.
22. Lazarus, C. R., West, R. L., Oblinger, J. L., & Palmer, A. Z. (1976). Evaluation of a calcium alginate coating and a protective plastic wrapping for the control of lamb carcass shrinkage. *Journal of Food Science*, 41, 639-641.
23. Moe, S. T., Draget, K. I., Skjåk-Bræk, G., & Smidsrød, O. (1995). Alginates. In A. M. Stephen (Ed.), *Food Polysaccharides and Their Applications*. (pp. 245-286) New York: Marcel Dekker, Inc.
24. Parris, N., Coffin, D. R., Joubran, R. F., & Pessen, H. (1995). Composition factors affecting the water vapor permeability and tensile properties of hydrophilic films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 1432-1435.
25. Pavlath, A. E., Gossett, C., Camirand, W., & Robertson, G. H. (1999). Ionomeric films of alginic acid. *Journal of Food Science*, 64, 61-63.
26. Pavlath, A. E., Voisin, A., & Robertson, G. H. (1999). Pectin-based biodegradable water insoluble films. *Macromolecular Symposium*, 140, 107-113.
27. Rhim, J. W., Kim, J. H., & Kim, D. H. (2003). Modification of Na-alginate films by CaCl_2 treatment. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 35, 217-221.
28. Rhim, J. W. (2002). Effect of temperature on water vapor permeability of soy protein isolate films. *Food Science and Biotechnology*, 11, 511-514.
29. Rhim, J. W., Park, J. W., Jung, S. T., & Park, H. J. (1997). Formation and properties of corn zein coated κ -carrageenan films. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 29, 1184-1190.
30. Rhim, J. W. (1998). Modification of soy protein film by formaldehyde. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 30, 372-378.
31. Rhim, J. W., Gennadios, A., Weller, C. L., Cezeirat, C., & Hanna, M. A. (1998). Soy

protein isolate-dialdehyde starch films. *Industrial Crops and Products*, 8, 195-203.

SAS Institute. (1988). *SAS/STAT Users Guide*. Release 6.03. Cary, NC.

32. Sothornvit, R., & Krochta, J. M. (2000). Water vapor permeability and solubility of films from hydrolyzed whey protein. *Journal of Food Science*, 65, 700-703.

33. Weadock, K., Olson, R. M., & Silver, F. H. (1984). Evaluation of collagen crosslinking technique. *Biomaterials Medical Devices and Artificial Organs*, 11, 293-318.

34. Williams, S. K., Oblinger, J. L., & West, R. L. (1978). Evaluation of a calcium alginate film for use on beef cuts. *Journal of Food Science*, 43, 292-296.

35. Wolf, W., Spiess, W. E. L., & Jung, G. (1985). Standardization of isotherm measurements (COST-Project 90 and 90 bis). In D. Simatos, J. L. Multon (Eds.), *Properties of water in foods*. (pp. 661-667). Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers.

제 4 절 지방산과 CaCl₂ 처리에 의한 알긴산 필름의 수분저항성 증진

임 중 환 (목포대학교 식품공학과)

서 론

합성 고분자는 가볍고 강도가 강하며 다양한 형태로 가공이 용이하여 산업적으로나 우리 생활의 전 분야에 걸쳐 널리 사용되고 있는데, 현재 전 세계적으로 매년 1억톤 이상이 생산되고 있으며, 앞으로도 그 생산량과 소비량은 계속 증가할 전망이다. 반면에 대부분의 합성고분자로 제조한 제품은 사용 후 폐기하였을 때 자연 중에서 쉽게 분해되지 않아 환경적인 부담을 가중시키는 주 요인으로 인식되면서 이를 대체할 수 있는 환경친화적인 소재의 개발에 관한 연구가 활발하게 이루어져 왔다. 이의 하나로 생고분자를 이용한 생분해성 소재의 개발에 관한 연구가 이루어졌는데, 식품포장분야에서도 지난 40여 년간 각종 탄수화물이나 단백질 및 왁스와 같은 재생이 가능한 생고분자를 사용하여 생분해성 또는 가식성 포장필름의 개발에 관한 연구가 이루어졌다(1-5). 이러한 생고분자 필름은 소비자에게는 간편성과 우수한 품질의 제품을 제공하고 생산자 측면에서는 새로운 개념의 포장으로서 새로운 제품의 개발과 품질 증진의 기회를 제공하는 장점이 있으나 대부분의 생고분자 필름은 옥수수단백이나 밀단백과 같이 소수성을 갖는 경우를 제외하고는 대부분 친수성을 나타내기 때문에 수증기 투과도가 높고 수분에 대한 저항성이 낮아 수분함량이 높은 제품의 포장에는 직접 사용할 수 없는 문제점이 있다(1,6,7). 이러한 천연적인 생고분자 필름이 갖는 문제점을 해결하기 위하여 필름의 분자간 또는 분자내에 가교결합을 형성시켜 생고분자 필름의 물성을 개선하려는 연구가 이루어져 왔다. 이를 위해 단백질 필름의 경우는 heat curing이나 UV curing과 같은 물리적인 방법을 사용하거나(8-10) formaldehyde, glutaraldehyde, dialdehyde starch, glyoxal 등을 사용하여 가교결합을 유도하는 화학적인 방법(11,12) 및 효소적인 방법(13,14) 등이 적용된 바 있으며, 탄수화물 소재 필름의 경우는 알긴산 필름이나 펙틴필름에 Ca 염을 사용하거나(15-18), 카라기난 필름에 K 염을 사용하여(19) 분자내 가교결합을 유도하여 물성을 증진시키는 연구가 이루어 졌다. 특히 생고분자 필름의 수증기 투과 저항성의 증진에 관한 연구가 다수 이루어졌는데(20-33), 생고분자 필름의 수분저항 특성을 증진시키기 위해서 소수성의 왁

스나 지방산 또는 지방산 에스테르 등을 이용하여 복합필름을 제조하는 방법에 대한 연구가 중점적으로 수행되었다(33-40).

생고분자 필름의 실용화를 위해서는 생고분자 필름의 수분저항성을 증진시키는 것이 필수적인 바, 본 연구에서는 알긴산을 기초로 하는 생고분자 필름과 지방산과의 복합필름을 제조하고 CaCl_2 처리에 의해 필름의 수분저항 특성의 증진효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

필름 제조용 알긴산은 Na-alginate (Junsei Chemical Co. Ltd., Japan)를 사용하였고, 복합필름 제조용 지방산은 lauric acid (Mallinckrodt Chemicals, Inc., U.S.A.), palmitic acid (Daejung Chemicals & Materials Co., Ltd., Korea), stearic acid (Duksan Pure Chemicals Co., Ltd., Korea) 및 oleic acid (Duksan Pure Chemicals Co., Ltd., Korea)를 사용하였다.

필름의 제조

알긴산 필름의 제조는 Rhim 등(15)의 방법에 따라 제조하였다. 우선 필름용액을 제조하기 위하여 알긴산 분말 4 g을 200 mL의 증류수와 함께 비이커에 넣고 hot plate 상에서 가열과 동시에 강하게 교반하면서 용해시키고 가소제로서 글리세린 2 g을 첨가하였다. 이외에도 4종의 지방산 (lauric acid, palmitic acid, stearic acid, oleic acid)을 사용하여 알긴산과의 복합필름을 제조하였는데, 복합필름의 제조는 Rhim 등(40)의 방법에 따라 증류수 200 mL에 글리세린 1 g과 지방산 1 g을 넣고 hot plate상에서 강하게 가열교반하면서 지방산을 용해시킨 후 homogenizer (T25 basic, IKA Labortechnik, Germany)를 사용하여 20,000 rpm에서 2분간 균질화시킨 후 알긴산 4 g을 넣고 다시 hot plate 상에서 강하게 가열 교반하면서 용해시켜 복합필름용액을 제조하였다. 용해된 필름 용액을 90°C의 수욕조에서 30분간 가열한 후 테플론을 코팅한 수평이 조절된 유리판 (30×24 cm)에 부은 후 상온에서 약 24시간 건조하였다. 건조가 끝난 후에는 필름을 유리판으로부터 떼어내어 실험용 필름으로 사용하였다. 또한 각 필름의 물성을 개선하기 위하여 Pavlath 등(17)과 Rhim 등(15)의 방법에 따라 위와 같이 제조된 알긴산 필름과 복합필름을 3% CaCl_2 용액에 3분간 침지한 다음 다시 건조하여 필름을 제조하였다. 모든 실험용 필름은 필름의 물성 측정항목에 따라 투습도 측정용은 7×7 cm, 수분용해도 측정용 및 등온흡습

곡선 측정용은 2×2 cm, 인장강도 및 신장률 측정용 시료는 10×2.54 cm 크기로 절단하여 사용하였다.

수분조절

모든 필름 시료는 25℃, 50% 상대습도로 조절된 항온항습기(Model FX 1077, (주)제이오텍)에서 48 시간 이상 수분함량을 조절한 후 필름의 특성 측정에 사용하였다.

필름의 두께

각 필름의 두께는 0.01 mm의 정밀도를 갖는 마이크로미터(Dial Thickness Gauge 7301, Mitutoyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 투습도 측정용 시료는 중심부와 주변 네 부위의 두께를 측정하고 그 평균값을 사용하여 투습계수의 계산에 사용하였으며, 인장강도 측정용 시료 역시 길이 방향으로 다섯 부위의 두께를 측정하여 그 평균값을 사용하여 필름의 인장강도 계산에 사용하였다.

색도

필름의 표면색을 색차계 (CR-300 Minolta Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 사용하여 Hunter L , a 및 b 값으로 측정하였다. 색도 측정은 필름의 시료를 색 좌표 값이 $L = 96.86$, $a = -0.02$, $b = 1.99$ 인 표준 백색판(Calibration Plate CR-143) 위에 놓고 필름의 중심과 주변 네 부위를 포함하여 다섯 부위의 색도를 측정하여 평균값으로 표시하였다. 이들 Hunter L , a 및 b 값으로부터 색차(Total Color Difference; ΔE)와 백색도(Whiteness Index; WI)를 다음 식에 의하여 계산하였다(40).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

여기에서 $\Delta L = L_{\text{standard}} - L_{\text{film}}$, $\Delta a = a_{\text{standard}} - a_{\text{film}}$, $\Delta b = b_{\text{standard}} - b_{\text{film}}$ 이다. 색도 측정용 샘플은 각 필름으로부터 2매 씩 취하였으며, 이를 3반복 실시하여 평균값으로 표시하였다.

필름의 미세구조

알긴산 필름과 지방산 복합필름 및 CaCl₂ 처리에 의한 필름의 표면과 내부의 미세구조를 조사하기 위하여 필름의 표면을 ion sputter를 이용하여 Au-Pb로 처리하고 가속전압 20 kV에서 전자주사현미경(Scanning Electron Microscope; Hitachi S-3500 N, Japan)을 사용하여 관찰하였다.

수분용해도

필름의 수분용해도 측정은 Rhim 등(15)의 방법에 따랐다. 즉, 수분용해도 측정용 필름 시료 3매를 취하여 105℃의 건조기에서 24시간 건조하여 필름의 건물 함량을 측정하고, 수분용해도 측정용 필름 3매를 따로 취하여 50 mL 용량의 비이커에 증류수 약 30 mL와 함께 넣고 입구를 parafilm으로 밀봉한 후 25℃의 정온기에 넣고 1시간 후에 물에 용해되지 않은 필름을 꺼내어 105℃의 건조기에서 24시간 건조하여 용해되지 않은 건물 함량을 측정하였다. 필름의 용해도는 초기의 건물함량에 대한 물에 용해된 양의 백분율로 나타냈으며, 각 필름의 수분용해도는 3회 반복 실시하여 평균값으로 나타냈다.

인장강도 및 신장률

필름의 인장강도(tensile strength; TS)와 신장률(elongation at break; E)은 ASTM 표준방법에 따라 Instron Universal Testing Machine(Model 4465, Instron Corp., Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다(15). 이 때 초기의 grip간의 거리는 5 cm이고, cross-head의 속도는 500 mm/min 이었다. 필름의 인장강도는 필름이 끊어질 때까지 기록된 최대의 장력을 필름의 초기의 단면적으로 나누어 계산하였으며, 필름의 신장률은 필름이 끊어질 때까지 늘어난 길이를 초기의 grip간 거리에 대한 백분율로 나타냈다. 인장강도 및 신장률 측정용 샘플은 각 필름으로부터 7매 씩 취하였으며, 이를 3반복 실시하여 평균값으로 표시하였다.

투습계수

필름의 투습계수(water vapor permeability; WVP)는 필름의 투습도(water vapor transmission rate; WVTR)를 측정한 후 다음 식에 따라 결정하였다.

$$WVP = (WVTR \times L) / \Delta p$$

여기서 WVTR은 필름의 투습도 ($\text{g/m}^2 \cdot \text{s}$), L 은 필름의 평균 두께(m), Δp 는 필름의 양쪽의 수증기압차(Pa)를 나타낸다. WVTR의 측정은 Rhim 등(15)이 사용한 방법을 따랐으며, WVP의 계산 시에 필름의 하부와 증류수의 표면 사이에 있는 공기의 저항에 의한 영향을 McHugh 등(6)의 방법에 따라 보정하였다. 투습도 측정용 샘플은 각 필름으로부터 2매 씩 취하였으며, 이를 3반복 실시하여 평균값으로 표시하였다.

등온 흡습곡선

각 필름의 등온흡습곡선을 Rhim 등(16)이 사용한 방법을 사용하여 25°C에서 측정하였는데, 포화염용액 (LiCl , $\text{KC}_2\text{H}_3\text{O}_2$, MgCl_2 , K_2CO_3 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, NaCl , KCl 및 KNO_3)을 사용하여 수분활성도를 각각 0.11, 0.23, 0.33, 0.43, 0.52, 0.75, 0.86 및 0.91로 조절하였다(41). 각 필름의 등온흡습곡선으로부터 수분활성도가 0.11부터 0.52까지의 값을 사용하여 다음과 같은 linearized BET (Brunauer-Emmett-Teller) 식을 사용하여 단분자층 수분함량을 결정하였다(42).

$$\frac{a_w}{(1-a_w)m} = \frac{1}{m_o C} + \frac{a_w(C-1)}{m_o C}$$

여기에서 a_w 는 수분활성도, m 과 m_o 는 각각 건량기준으로 표시된 필름의 수분함량 및 단분자층 수분함량, C 는 흡습의 엔탈피와 관련된 상수이다.

통계처리

각 필름의 인장강도, 신장률, 투습도 및 수분용해도는 각각 따로 제조한 필름을 실험단위로 하여 3회 반복 측정하였다. 각 필름의 특성치의 평균값과 표준편차를 SAS(43)의 General Linear Model을 사용하여 계산하였으며, 각 평균값의 유의적인 차이 검정은 유의수준 $\alpha=0.05$ 를 사용하여 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

필름의 두께 및 표면색

알긴산 필름과 지방산과의 복합필름 및 CaCl_2 를 처리한 필름의 두께 및 표면색은 Table 1에 표시한 바와 같다. 필름의 두께는 지방산 복합필름이 대조구인 알긴산 필름에

비해 사용한 지방산의 종류에 따라 25-30% 정도 두꺼운 필름이 형성되었는데, 이는 지방산의 첨가에 따라 고형분의 함량이 증가하였기 때문이다. CaCl₂처리에 의해 대조구 필름 및 지방산 복합필름 모두 필름의 두께가 감소하였는데 두께의 감소가 대조구 필름의 경우 CaCl₂처리 전후에 유의적인 차이 (p<0.05)를 나타냈으나 지방산 복합필름의 경우는 유의적인 차이가 없었다. Pavlath 등(17)과 Rhim 등(15,16)은 알긴산 필름을 CaCl₂용액으로 처리하였을 때 필름의 수용성 성분이 용해되어 제거되므로 CaCl₂용액으로 처리한 필름의 두께가 감소하였음을 보고한 바 있다. 본 연구의 결과도 이들의 결과와 일치하였으나 대조구 필름에 비해 지방산 복합필름의 경우 CaCl₂용액의 처리에 의해 필름의 두께가 감소하는 정도가 적은 것은 지방산과 복합필름을 형성하여 필름의 수분용해도가 감소한 때문으로 생각된다 (Fig. 5).

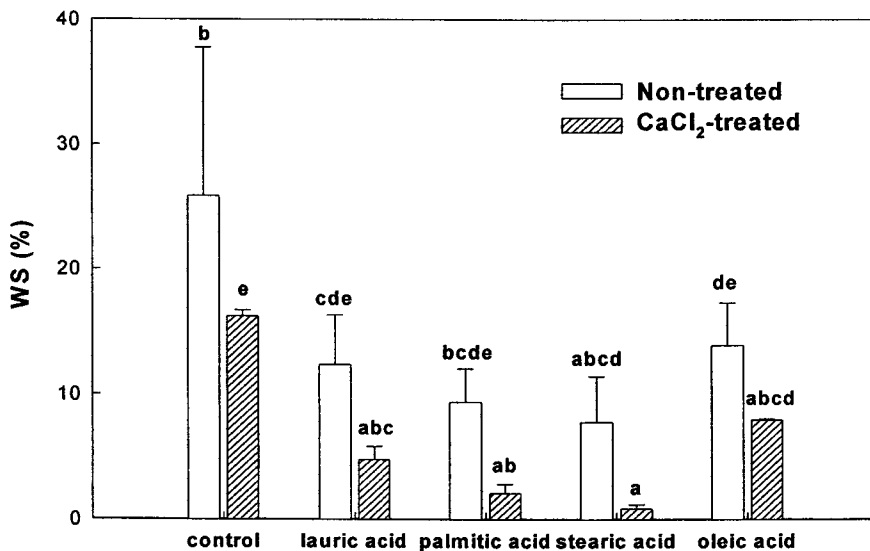


Fig. 5. Effect of fatty acids and CaCl₂ treatment on WX of the alginate-based films.

색차계를 사용하여 조사한 각 필름의 표면색 및 총색차 (ΔE)와 백색도 (WI)는 필름 간에 큰 차이를 나타내지 않았으나, 외관상 알긴산 필름은 투명하고 표면이 매끄러운 필름이 형성되었으나 지방산을 첨가한 복합필름은 모두 유백색의 반투명한 필름으로 oleic acid 필름을 제외하고는 표면이 다소 거친 필름이 형성되었다. 특히 lauric acid 필름의 경우는 표면이 가장 거친 필름이 형성되었는데, 이는 지방산이 충분히 용해되지 못하여 불

균일한 필름이 형성되었기 때문이며 이러한 결과 분자간의 결합력이 저하되어 결과적으로 필름의 물리적인 강도나 수분저항 특성에 영향을 미칠 것으로 판단된다.

그리고 이들 지방산 복합필름에서는 사용한 지방산의 종류에 따라 각기 다른 정도의 왁스냄새가 났는데, 특히 분자량이 적은 lauric acid 필름의 경우 왁스냄새가 심하게 났다. 이러한 지방산의 첨가에 따른 왁스냄새는 지방산 필름의 문제점 중의 하나로 식품과 직접 접촉하는 포장용으로 사용하기에는 부적절할 것으로 생각된다(26).

Table 1. Thickness and surface color of the alginate-based films¹⁾.

Films	Thickness (μm)	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ΔE	<i>WI</i>
control-N	56.7 \pm 2.4 ^b	92.0 \pm 0.2 ^{ab}	-0.12 \pm 0.03 ^b	1.09 \pm 0.1 ^a	4.9 \pm 0.2 ^{cd}	91.9 \pm 0.2 ^{abc}
control-T	53.0 \pm 2.2 ^a	91.6 \pm 1.0 ^a	-0.12 \pm 0.04 ^b	1.22 \pm 0.1 ^a	5.3 \pm 1.0 ^d	91.5 \pm 1.0 ^a
LA-N ²⁾	83.3 \pm 5.9 ^{de}	92.9 \pm 0.1 ^{cd}	0.10 \pm 0.1 ^d	2.34 \pm 0.2 ^b	4.0 \pm 0.1 ^{ab}	92.5 \pm 0.1 ^{cd}
LA-T	79.2 \pm 0.6 ^d	92.5 \pm 0.2 ^{bc}	-0.03 \pm 0.1 ^c	2.91 \pm 0.2 ^c	4.5 \pm 0.1 ^{bc}	91.9 \pm 0.2 ^{abc}
PA-N	80.1 \pm 2.9 ^d	92.8 \pm 0.1 ^{cd}	-0.1 \pm 0.04 ^{bc}	2.63 \pm 0.1 ^{bc}	4.1 \pm 0.1 ^b	92.4 \pm 0.1 ^{bcd}
PA-T	77.1 \pm 0.5 ^d	92.3 \pm 0.03 ^{bc}	-0.20 \pm 0.1 ^a	3.54 \pm 0.3 ^d	4.8 \pm 0.1 ^{cd}	91.5 \pm 0.1 ^a
SA-N	70.2 \pm 1.1 ^c	93.4 \pm 0.02 ^d	-0.03 \pm 0.02 ^c	2.54 \pm 0.1 ^b	3.5 \pm 0.02 ^a	92.9 \pm 0.01 ^d
SA-T	70.0 \pm 1.7 ^c	92.5 \pm 0.1 ^{bc}	-0.12 \pm 0.03 ^b	3.5 \pm 0.1 ^d	4.6 \pm 0.1 ^{bc}	91.8 \pm 0.1 ^{ab}
OA-N	71.3 \pm 1.6 ^c	92.6 \pm 0.2 ^{bc}	-0.21 \pm 0.01 ^a	2.64 \pm 0.1 ^{bc}	4.4 \pm 0.2 ^{bc}	92.1 \pm 0.2 ^{abc}
OA-T	69.7 \pm 2.1 ^c	92.2 \pm 0.3 ^{ab}	-0.20 \pm 0.1 ^a	2.90 \pm 0.3 ^c	4.8 \pm 0.2 ^{cd}	91.6 \pm 0.2 ^a

¹⁾ Means of three replicates \pm standard deviations. Any two means in the same column followed by the same letter are not significantly ($P>0.05$) different by Duncan's multiple range test.

²⁾ LA: lauric acid; PA: palmitic acid; SA: stearic acid; OA: oleic acid
T: CaCl₂ treated; N: non-treated

필름의 미세구조

알긴산 필름과 지방산과의 복합필름 및 CaCl₂용액으로 처리한 필름의 미세구조를 전자주사현미경(SEM)을 사용하여 관찰한 결과는 Fig. 1과 같았다.

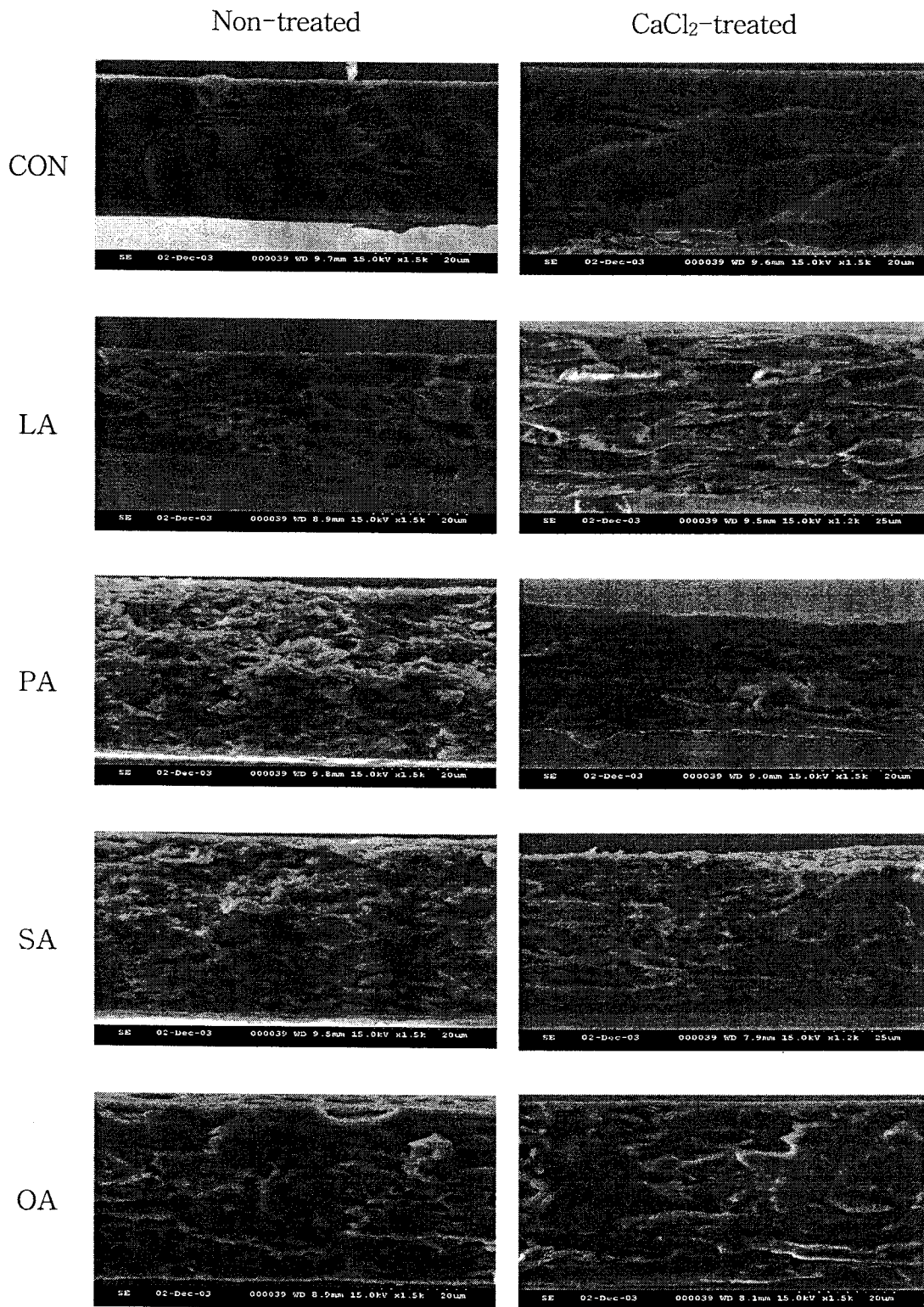


Fig. 1. SEM micrographs displaying the effect of fatty acids and CaCl₂ treatment of the alginate-based films.

알긴산 필름은 균일한 구조를 나타내고 있으나 지방산과의 복합필름을 형성하면서 그 구조가 바뀌는 모습을 관찰할 수 있었으며, 그 구조는 사용하는 지방산의 종류에 따라 달

랐다. 또한 CaCl_2 처리에 의해서도 필름의 내부구조가 변화하는 모습을 볼 수 있는데, 이는 Ca 이온에 의한 알긴산 분자간에 가교결합이 이루어 졌기 때문이다(17). 이러한 필름의 미세구조의 변화는 필름내의 분자간의 결합의 변화에 기인하는 것으로 이로 인해 필름의 인장강도, 신장률, 투습도 및 수분용해도 등의 물성이 변화할 것으로 판단된다.

인장강도 및 신장률

알긴산 필름과 지방산과의 복합 필름의 인장강도는 Fig. 2에 나타난 바와 같다.

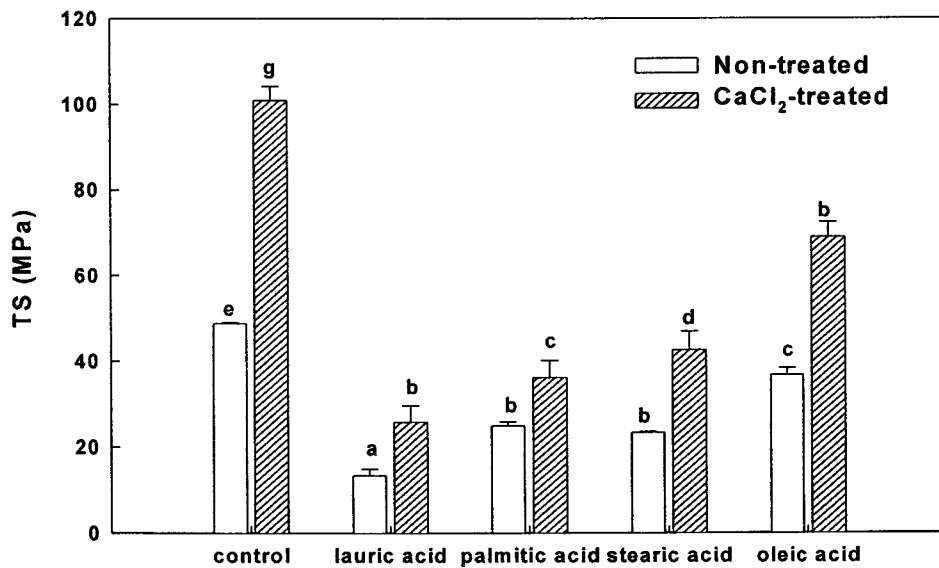


Fig. 2. Effect of fatty acids and CaCl_2 treatment on TS of the alginate-based films.

알긴산 필름의 인장강도는 48.8 MPa로서 탄수화물로 제조한 필름 특유의 강한 필름이 형성되었으나 지방산과의 복합필름을 형성하므로 인장강도가 크게 감소하였다. 이는 지방산 자체의 인장강도가 알긴산 필름의 인장강도에 비해 약하기 때문으로 지방산 복합필름에서 흔히 관찰되는 현상이다(32). Fig. 2에서 보는 바와 같이 복합필름의 인장강도는 사용한 지방산의 종류에 따라 알긴산 필름의 25-70% 정도 감소하였는데, lauric acid 첨가 필름의 인장강도가 가장 낮았으며, oleic acid 첨가 필름의 인장강도가 가장 높았다. 이는 lauric, palmitic, stearic acid와 같은 지방산이 구조적으로 강도가 약할 뿐만 아니라(20)

이들을 사용한 복합필름의 균질성과 관련이 있는 것으로 생각되는데(24,26), 앞서 지적한 바와 같이 lauric acid 첨가 필름의 표면이 가장 거칠었으며, oleic acid 첨가 필름이 가장 매끄럽고 균일한 필름이 제조되어 사용한 지방산의 종류에 따라 제조된 복합필름의 균질성에 차이가 있었으며, 결과적으로 필름의 인장강도에 영향을 미친 것으로 생각된다. 알긴산 필름뿐만 아니라 지방산 복합필름도 CaCl_2 처리에 의해 인장강도가 무처리구에 비해 1.5-2배 정도 증가하였는데, 이는 알긴산 분자 사슬 간에 칼슘염에 의한 가교결합이 형성되어 분자간의 결합력이 증가하였기 때문인데(17), 이러한 현상은 Rhim 등(15,16)의 결과와 일치한다.

알긴산 필름과 지방산 복합필름의 신장률은 Fig. 3에 나타난 바와 같다.

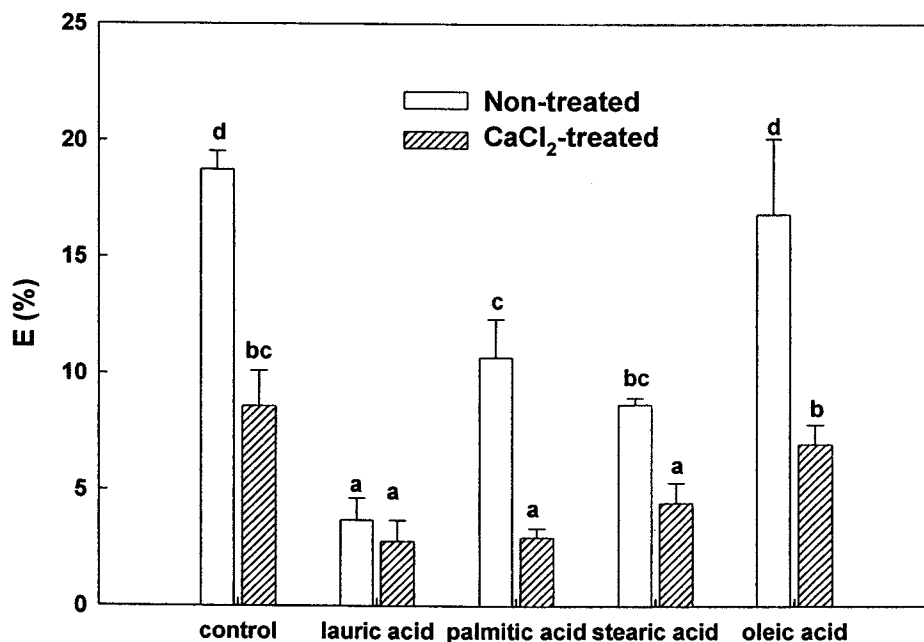


Fig. 3. Effect of fatty acids and CaCl_2 treatment on elongation at break(E) of the alginate-based films.

Oleic acid를 제외하고는 지방산의 첨가에 의해 필름의 신장률은 유의적으로 ($P < 0.05$) 감소하였다. 일반적으로 필름의 인장강도가 증가하면 필름의 신장률은 감소하는 것으로 알려져 있으나, 알긴산과 지방산 복합필름의 경우는 지방산의 첨가에 의해 인장강도와 신

장률이 모두 감소하였다. 이는 oleic acid를 제외한 다른 지방산들(lauric acid, palmitic acid, stearic acid)은 상온에서 고체상태로서 알긴산에 비해 부서지기가 쉬운 성질이 크기 때문인 것으로 생각된다. 모든 알긴산 필름은 CaCl₂의 처리에 의해 신장률이 유의적으로 (P<0.05) 감소하였다. CaCl₂의 처리에 의해 알긴산 필름의 신장률이 감소하는 것은 알긴산의 카르복실기와 칼슘이온 사이의 가교결합이 이루어졌음을 나타내는 증거로서 이전의 연구결과에서도 확인된 바 있다(15-17).

투습계수

알긴산 필름과 지방산 복합필름 및 CaCl₂ 처리한 필름의 투습계수(water vapor permeability; WVP)는 Fig. 4와 같다. 지방산과 복합필름을 제조함으로써 알긴산 필름의 WVP는 oleic acid를 제외하고는 현저하게 (P<0.05) 감소하였는데, stearic acid를 첨가한 경우가 가장 낮은 WVP값을 나타냈으며, 다음으로 palmitic, lauric acid 순으로 나타났다. 특히 stearic acid를 첨가한 경우는 WVP가 1.44±0.06 ng·m/m²·s·Pa에서 0.66±0.03 ng·m/m²·s·Pa로 2 배 이상 감소하였다. 일반적으로 지방산을 첨가한 복합필름의 WVP는 사용한 지방산의 불포화도와 사슬의 길이에 영향을 받는 것으로 알려져 있는데 지방산 사슬의 길이가 증가할수록 사슬의 분자운동이 감소하여 수증기의 투과도가 증가하게 되며(20), 또한 지방산의 불포화도가 증가할수록 분자의 부피가 커지고 분자의 이동도가 커져 수증기투과도가 증가하게 된다(22-26). 본 연구결과에서도 불포화지방산인 oleic acid를 첨가한 복합필름의 WVP가 가장 높았으며, 포화지방산 중에서는 분자량이 낮은 lauric acid 보다는 stearic acid를 첨가한 필름의 WVP가 낮게 나타났다. 모든 필름은 CaCl₂ 처리에 의해 WVP가 무처리군에 비해 17-29% 정도 감소하였다. 이는 CaCl₂에 의해 가교결합이 형성된 결과로서(15-17) 특히 수증기 차단성 증진효과가 가장 높은 stearic acid의 경우 지방산과 복합필름을 제조하고 CaCl₂를 처리하므로써 알긴산 필름의 WVP를 1.44±0.06 ng·m/m²·s·Pa에서 0.54±0.01 ng·m/m²·s·Pa로 2.7 배 정도 감소하였다.

수분용해도

필름의 수분에 대한 저항성을 조사하기 위하여 각 필름의 수분용해도를 측정된 결과는 Fig. 5와 같았다. 알긴산 필름의 수분용해도 역시 지방산을 혼합하므로 현저하게 감소하였는데, 지방산의 종류에 따른 영향은 WVP의 경우와 유사하였다. 즉, stearic acid를 사용한 복합필름의 수분용해도가 가장 낮았으며, 다음으로는 palmitic, lauric, oleic acid 순

이었다. 또한 이들 필름을 CaCl_2 로 처리하였을 때 수분용해도가 크게 감소하였으며, 이들 두 가지 처리방법을 함께 사용하므로 필름의 수분저항성이 더욱 크게 증가함을 알 수 있었다. 예를 들어 stearic acid와 복합 필름을 형성하고 CaCl_2 를 처리한 알긴산 필름은 수분용해도가 $25.9 \pm 11.9\%$ 에서 $0.9 \pm 0.3\%$ 로 약 30배 가량 감소하여 필름의 수분저항성을 크게 증가시킬 수 있었다. 이러한 결과로부터 지방산의 첨가와 CaCl_2 를 복합적으로 사용하여 알긴산 필름의 수분저항성을 효과적으로 증진시킬 수 있음을 알 수 있었다.

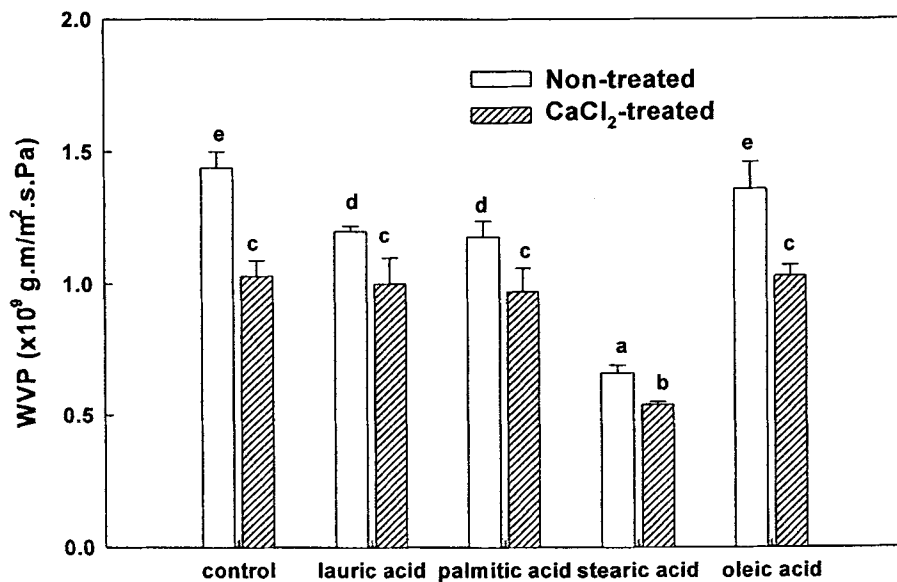


Fig. 4. Effect of fatty acids and CaCl_2 treatment on WVP of the alginate-based films.

등온흡습특성

알긴산 필름과 지방산 복합필름 및 CaCl_2 처리한 필름의 등온흡습곡선을 25°C 에서 조사한 결과는 Fig. 6에 나타난 바와 같다. 모든 알긴산 필름의 등온흡습곡선은 수분활성도가 증가함에 따라 수분활성도가 낮을 때에는 필름의 수분함량이 서서히 증가하다가 수분활성도가 높아지면 수분함량이 급격하게 증가하는 전형적인 두 단계의 변화(biphasic pattern)를 보이고 있는데, 이는 설탕과 같은 순수결정형의 물질이나(44) 대부분의 생고분자 필름(16)과 같이 수분의 흡습이 표면에서 주로 일어나는 물질의 등온흡습곡선에서 흔히 관찰되는 모습이다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 모든 필름은 수분활성도가 0.75 정도

까지는 수분활성도의 증가에 따라 수분함량의 증가가 서서히 일어나다가 0.75 이상에서는 수분함량의 증가가 급격하게 일어나고 있는데, 이는 수분활성도가 높아지면서 수분에 의한 필름표면에서의 수용성 성분의 용해가 시작되면서 수분이 필름표면의 하이드록실기와 수소결합을 형성하여 필름과 결합하는 수분의 양이 증가하기 때문이다(44). 설탕과 같은 결정형 물질의 등온흡습곡선상에서 결정이 용해되어 수분함량의 증가속도가 급증하기 시작하는 수분활성도를 deliquescent point라고 하는데, 설탕의 경우 이 값이 0.7-0.8의 범위에 있음이 알려져 있다(44). 본 연구의 결과에서도 이 값이 0.75 정도로서 설탕의 경우와 일치한다. 또한 사용한 지방산의 종류와 CaCl_2 의 처리 유무에 따라 등온흡습곡선이 다르게 나타났는데, 이는 알긴산 분자가 Ca 이온과 가교결합을 형성하여 필름의 친수성(hydrophilicity)이 감소하였기 때문이다. 일반적으로 친수성이 큰 물질일수록 수분흡습량이 커서 친수성이 낮은 물질보다 등온흡습곡선상에서 상부에 위치하게 되는데, 본 연구결과에서도 CaCl_2 를 처리한 모든 필름들이 무처리한 필름보다 수분함량이 낮아 CaCl_2 의 처리에 의해 필름의 친수성이 감소하였음을 알 수 있다. 그러나 CaCl_2 처리 유무에 관계없이 수분활성도 0.75 이하에서 lauric, palmitic stearic acid 복합필름의 수분함량이 알긴산 대조구 필름이나 oleic acid 복합필름에 비해 높게 나타났는데, 이는 예상외의 결과로서 이에 대한 확인이 필요할 것으로 생각된다. 이들 필름의 단분자층 수분함량을 수분활성도 0.52 이하의 데이터를 활용하여 BET 식을 사용하여 조사한 결과는 Table 2의 결과와 같았다. 이들 필름의 등온흡습곡선의 값들을 BET식을 사용하여 회귀분석을 한 결과 그 결정계수(R^2)가 모두 0.98을 상회하여 이들 필름의 등온흡습 데이터가 BET 식에 잘 적용됨을 알 수 있었다. Table 2의 결과에서 보는 바와 같이 CaCl_2 처리에 의해 모든 필름의 단분자층 수분함량이 감소하여 수분에 대한 저항성이 증가하였음을 알 수 있다.

결론적으로 지방산과의 복합필름을 형성하거나 CaCl_2 로 처리하거나 이들을 복합적으로 사용하여 알긴산 필름의 수분에 대한 저항특성을 증진시킬 수 있음을 확인하였다. 이와 같이 수분에 대한 저항성이 증진된 필름은 수분함량이 높은 식품의 포장에 사용하거나 이를 사용한 코팅 종이를 이용하여 냉동식품의 포장이나 호흡률이 높은 신선과채류의 포장용 상자에 이용이 가능할 것으로 생각된다.

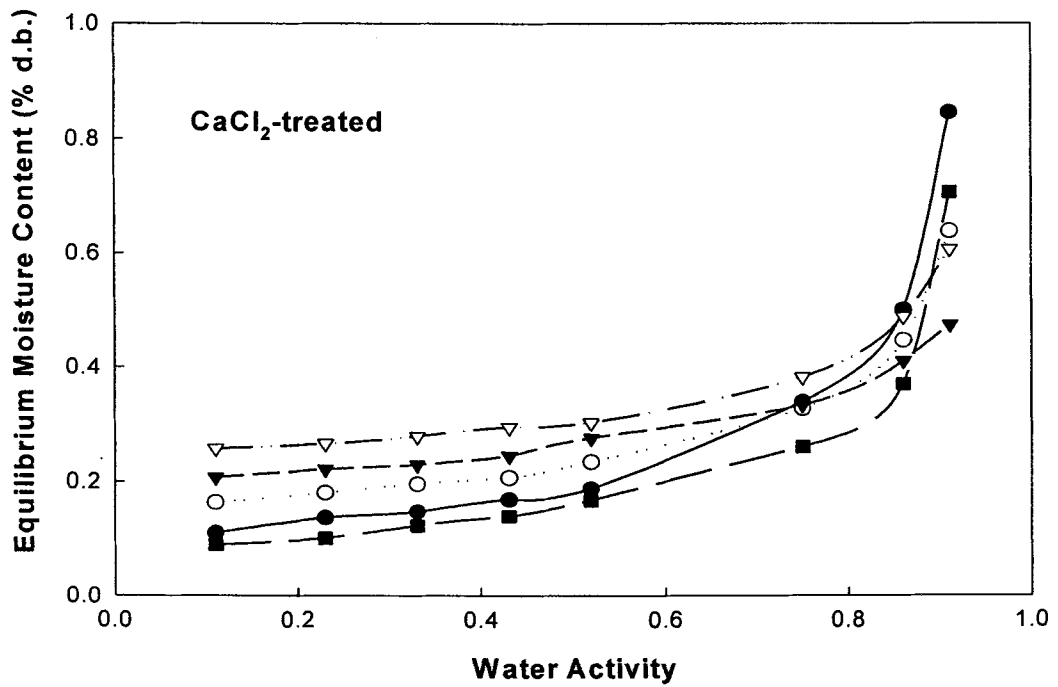
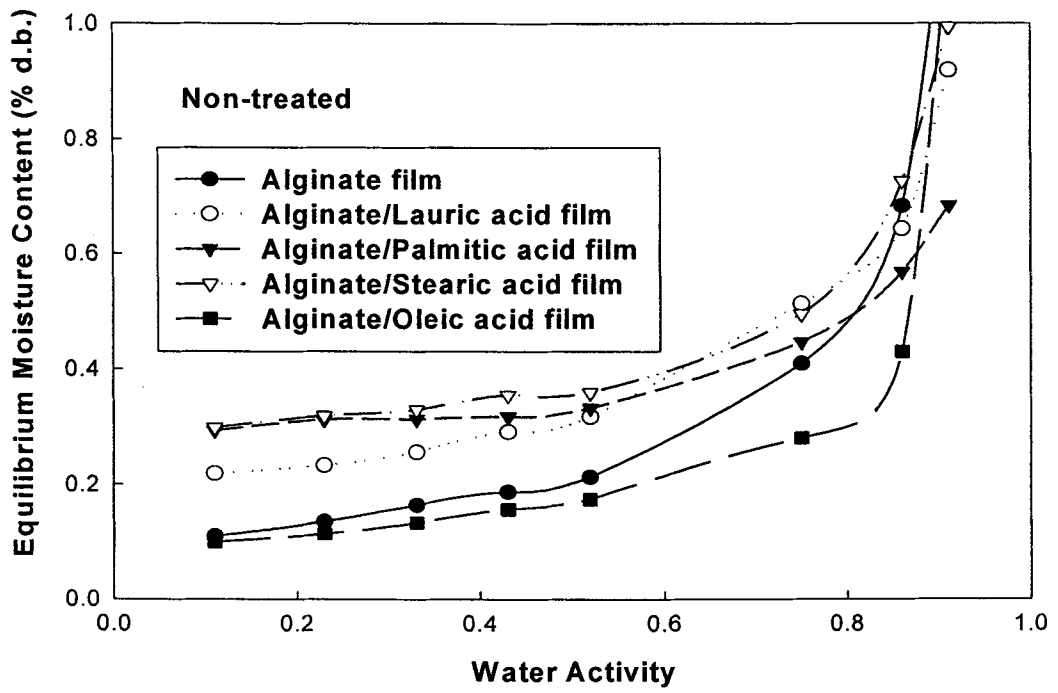


Fig. 6. Moisture sorption isotherms of alginate-based films.

Table 2. Effect of fatty acid and CaCl₂ treatment on the BET monolayer moisture content of the alginate-based films.

Films	BET monolayer moisture content (% d.b.)			
	Non-treated	R ²	CaCl ₂ -treated	R ²
Alginate (Control)	10.5	0.99	9.1	0.99
Alginate/Lauric acid	15.2	0.99	11.0	0.99
Alginate/Palmitic acid	15.7	0.98	12.9	0.99
Alginate/Stearic acid	17.2	0.98	14.4	0.98
Alginate/Oleic acid	8.5	1.00	8.1	1.00

요 약

알긴산 필름의 수분저항 특성을 증진시키기 위하여 지방산(lauric, palmitic, stearic, oleic acid)과 복합필름을 제조하고 CaCl₂용액으로 처리하고, 이들의 처리 효과를 필름의 두께, 표면색, 미세구조, 인장강도, 신장률, 투습도, 수분용해도 및 등온흡습곡선을 측정하여 조사하였다. 알긴산 필름은 지방산과의 복합필름을 형성하거나 CaCl₂ 처리를 하므로 필름의 미세구조가 크게 변하였다. 필름의 인장강도는 사용한 지방산의 종류에 따라 25-70% 정도 감소하였으며, CaCl₂ 처리에 의해 1.5-2 배 증가하였다. 필름의 신장률은 두 가지의 처리에 의해 모두 감소하였다. 투습도는 불포화 지방산인 oleic acid를 제외하고는 지방산과 복합필름을 제조하므로 유의적으로 ($p < 0.05$) 감소하였다. 수분용해도 역시 두 가지 처리에 의해 모두 감소하였는데, stearic acid의 경우는 두 가지 방법을 병용하여 사용하므로 수분용해도가 약 30배 정도까지 감소하였다. 모든 알긴산 필름의 등온흡습곡선은 전형적인 두 단계의 변화 양상을 나타냈으며, 그 전환점은 수분활성도 0.75의 범위였다. 등온흡습곡선과 단분자층 수분함량의 결과는 CaCl₂ 처리에 의해 필름의 친수성이 감소하였음을 나타냈다.

참 고 문 헌

1. Kester JJ, Fennema OR. Edible films and coatings: A review. Food Technol. 40(12): 47-59 (1986)

2. Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A. Edible films and coatings: Tomorrow's packagings; A review. *Crit. Rev. Food Sci.* 38: 299-313 (1998)
3. Krochta JM, De Mulder-Johnston C. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technol.* 51(2): 61-74 (1997)
4. Guilbert S, Gontard N, Gorris LGM. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 29: 10-17 (1996)
5. Cuq B, Gontard N, Guilbert S. Proteins as agricultural polymers for packaging production. *Cereal Chem.* 75: 1-9 (1998)
6. McHugh TH, Avena-Bustillos R, Krochta JM. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *J. Food Sci.* 58: 899-903
7. Gennadios A, McHugh TH, Weller CL, Krochta JM. Edible coatings and films based on proteins. In *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos-Carriedo (eds.), Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA. pp. 201-277 (1994)
8. Gennadios A, Ghorpade VM, Weller CL, Hanna MA. Heat curing of soy protein films. *Trans ASAE* 39: 575-579 (1996)
9. Rhim JW, Fu D, Gennadios A, Weller CL, Hanna MA. Properties of ultraviolet irradiation protein films. *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.* 32: 129-133 (2000)
10. Gennadios A, Rhim JW, Handa A, Weller CL, Hanna MA. Ultraviolet radiation affects physical and mechanical properties of soy protein films. *J. Food Sci.* 63: 225-228 (1998)
11. Rhim JW, Gennadios A, Weller CL, Cezeirat C, Hanna MA. Soy protein isolate-dialdehyde starch films. *Ind. Crops Prod.* 8: 195-203 (1998)
12. Rhim JW, Weller CL. Properties of formaldehyde adsorbed soy protein isolate films. *Food Sci. Biotechnol.* 9: 228-233 (2000)
13. Stuchell, YM, Krochta JM. Enzymatic treatments and thermal effects on edible soy protein films. *J. Food Sci.* 59: 1332-1337 (1994)
14. Motoki M, Aso H, Seguro K, Nio N. α_{s1} -casein film prepared using transglutaminase. *Agric. Biol. Chem.* 51: 993-996 (1987)

15. Rhim JW, Kim JH, Kim DH. Modification of Na-alginate films by CaCl₂ treatment. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 35: 217-221 (2003)
16. Rhim JW. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.* 37: 323-330 (2004)
17. Pavlath AE, Gossett C, Camirand W, Robertson GH. Ionomeric films of alginic acid. *J. Food Sci.* 64: 61-63 (1999)
18. Pavlath AE, Voisin A, Robertson GH. Pectin-based biodegradable water insoluble films. *Macromol. Symposium* 140: 107-113 (1999)
19. Park HJ, Rhim JW, Jung ST, Kang SK, Hwang KT, Park YK. Mechanical properties of carrageenan-based biopolymer films. *J. Kor. Soc. Pack. Sci. Technol.* 1: 38-50 (1995)
20. Koelsch C. Edible water vapor barrier: properties and promise. *Trends Food Sci Technol.* 51: 76-81 (1994)
21. Gennadios A, Brandenburg AH, Weller CL, Testin RF. Effects of pH on properties of wheat gluten and soy protein isolate films. *J. Agricul. Food Chem.* 41: 1935-1939 (1993)
22. Greener IK, Fennema O. Barrier properties and surface characteristics of edible bilayer films. *J. Food Sci.* 54: 1393-1399 (1989)
23. Greener IK, Fennema O. Evaluation of edible, bilayer films for use as moisture barriers for food. *J. Food Sci.* 54: 1400-1406 (1989)
24. Hagenmaier RD, Shaw PE. Moisture permeability of edible films made with fatty acid and (hydroxypropyl) methylcellulose. *J. Agricul. Food Chem.* 38: 1799-1803 (1990)
25. Kamper SL, Fennema O. Water vapor permeability of edible bilayer films. *J. Food Sci.* 49: 1478-1481, 1485 (1984)
26. Kamper SL, Fennema O. Water vapor permeability of an edible, fatty acid bilayer film. *J. Food Sci.* 49: 1482-1485 (1984)
27. Kamper SL, Fennema O. Use of an edible film to maintain water vapor gradient in foods. *J. Food Sci.* 50: 382-384 (1985)
28. Kester JJ, Fennema O. An edible film of lipids and cellulose ethers: Barrier properties to moisture vapor transmission and structural evaluation. *J. Food Sci.* 54: 1383-1389 (1989)

29. Martin-Polo M, Mauguin C, Voilley A. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 1. Influence of the film preparation technique. *J. Agric. Food Chem.* 40: 407-412 (1992)
30. Martin-Polo M, Voilley A, Blond G, Colas B, Mesnier M, Floquet N. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 1. Influence of the physical state. *J. Agric. Food Chem.* 40: 413-418 (1992)
31. Nelson KL, Fennema O. Methylcellulose films to prevent lipid migration in confectionery products. *J. Food Sci.* 56: 504-509 (1991)
32. Park HJ, Weller, CL, Vergano PJ, Testin RF. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. *J. Food Sci.* 59: 1361-1370 (1993)
33. Rico-Pena DC, Torres JA. Edible methylcellulose-based films as moisture permeable barriers in sundae ice cream cones. *J. Food Sci.* 55: 1468-1469 (1990)
34. Voidani F, Torres JA. Potassium sorbates permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings: Effect of fatty acids. *J. Food Sci.* 55: 841-846 (1990)
35. Wong DWS, Gastineau FA, Gregorski KS, Tillin SJ, Pavlath AE Chitosan lipid films: Microstructure and surface energy. *J. Agric. Food Chem.* 40: 540-544 (1992)
36. Morillon V, Debeaufort F, Blond G, Capelle M, Voilley A. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42: 67-89 (2002)
37. Baldwin EA, Nisperos MO, Hagenmaier RD, Baker RA. Use of lipids in coatings for food products. *Food Technol.* 51(6): 56-62, 64 (1997)
38. Greener I, Fennema O. Lipid-based edible films and coatings. *Lipid Technol.* 4: 34-38 (1992)
39. Callegarin F, Quezada-Gallo JA, Debeaufort F, Voilley A. Lipids and biopackaging. *JAOAC* 74: 1183-1192 (1997)
40. Rhim JW, Wu Y, Weller, CL, Schnepf M. Physical characteristics of emulsified soy protein-fatty acid composite films. *Sci. des Aliments* 19: 57-71 (1999)
41. Labuza TP, Kaanane A, Chen JY. Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. *J. Food Sci.* 50: 385-391 (1985)

42. Bell LN, Labuza TP. Determination of moisture sorption isotherms. In *Moisture Sorption: Practical Aspects of Isotherm measurement and Use*. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA. pp. 33-56 (2000)
43. SAS Institute, Inc. *SAS User's Guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1990)
44. Bell LN, Labuza TP. Moisture sorption isotherms. In *Moisture Sorption: Practical Aspects of Isotherm measurement and Use*. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA. pp. 14-32 (2000)

제 5 절 해조분말을 이용한 생분해성 필름의 제조

임 중 환 (목포대학교 식품공학과)

서 론

난분해성의 플라스틱 포장 폐기물에 의한 환경문제가 가중되면서 이의 대처 방법 중의 하나로 분해성 포장재의 사용이 요구되고 있다(1,2). 분해성 포장재에는 광분해성, 광분괴성, 생분해성 및 수용해성 포장재가 있는데(3), 최근에는 생물소재로부터 유래하는 생분해성 포장재에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(4-6). 생분해성 포장재의 소재로는 단백질이나 탄수화물과 같이 생물체(biomass)로부터 직접 추출하여 얻는 생고분자와 polylactic acid (PLA)와 같이 생물소재의 원료를 이용하여 합성한 합성고분자 및 polyhydroxyalkanoates (PHA)와 같이 미생물에 의해 생산하는 고분자가 있다(3). 그런데 이들 생물소재를 이용한 포장재들은 석유자원을 이용하여 제조하는 합성고분자와는 달리 재생이 가능한(renewable) 원료를 사용하여 제조하므로 자원고갈에 대한 부담이 없는(sustainable) 소재일 뿐 만 아니라 사용후 폐기하더라도 자연 중에서 생분해되거나 사료화 및 퇴비화가 가능하여 환경친화적인 포장재로서 우수한 특성을 갖고 있다. 그러나 이들 생분해성 포장재가 아직 상업적으로 널리 사용되고 있지 않고 있는데, 이러한 이유 중의 하나가 이들 소재가 현재 널리 사용되고 있는 합성고분자에 비해 가격이 높아 경제적인 측면에서 경쟁력이 떨어진다는 점이다. 일부에서는 이들 사용량이 증가하면 단가가 낮아져 가격경쟁력이 있을 것으로 예측하고 있으나 현재로서는 기대하기 어려운 실정이다. 이러한 점을 감안할 때 가격이 저렴한 생분해성 물질을 사용하여 생분해성 포장재를 개발할 필요가 있다. 이러한 관점에서 생고분자를 이용한 포장재의 개발에 관한 연구를 살펴보면 대부분이 순도가 높은 탄수화물이나 단백질을 소재로 사용하여 사용한 물질에 대한 포장재의 특성을 조사하는데는 적합하나 실용적인 측면에서는 제조비용이 높아 실용화에 저해 요인이 되고 있다. 따라서 생물소재로부터 단백질이나 탄수화물을 순수분리하지 않고 단순하게 처리한 생물소재를 직접 활용하여 분해성의 포장재를 제조한다면 많은 장점이 있을 것으로 기대된다. 이러한 연구는 현재까지 보고된 예가 별로 없는데, Rhim 등(7)은 카라기난을 다량 함유하고 있는 미이용 해조자원인 풀가사리 분말을 이용하여 생분해성 필름의 제조하여 그 이용 가능성을 제시한 바 있으며, Cao와 Chang(8)은 대두를 분쇄한 후 수분 추출물을 이용하여 생분해성 필름을 제조하여 그 특성을 보고하였다.

한편 우리나라의 해안지역에서는 다양한 종류의 해조류가 서식하고 있으며 최근에는 양식기술의 발달로 인하여 미역, 다시마 등이 매년 과잉 생산되고 있으나 이들은 주로 건장품이나 염장품과 같이 부가가치가 낮은 단순가공제품으로 가공되고 있어 경제성이 낮을 뿐만 아니라 많은 해조가공부산물 (미역줄기)이 그대로 해양에 투기되어 해양오염을 유발하고 있다. 따라서 본 연구에서는 해조분말을 활용하여 생분해성 필름을 제조하고 그 특성을 조사하므로써 생분해성 포장재로서의 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

염장처리를 하지 않은 미역(*Undaria pinnatifida*)잎, 미역줄기, 미역귀, 다시마(*Laminaria japonica*), 툃(*Hizikia fusiforme*)을 전남 완도 소재의 해조가공공장에서 구입하여 60℃의 열풍건조기에서 12시간 건조한 후 hammer형 고속분쇄기 (명성기계)를 사용하여 180 mesh 크기로 분쇄하여 냉장보관하면서 필름 제조용 시료로 사용하였다.

일반성분

해조분말의 수분, 조단백질, 조지방, 조섬유, 조회분을 A.O.A.C.법(9)에 의하여 측정하여 모든 성분을 건량기준으로 표시하였다.

필름의 제조

해조필름의 제조를 위해 해조로부터 알긴산이 잘 추출될 수 있는 방법을 선정하기 위하여 Nishide 등(10)이 해조류로부터 알긴산 추출을 위해 사용한 방법을 수정한 Yoon⁽¹¹⁾의 방법에 따라 산 처리법, 알칼리 처리법, 산·알칼리 병용법, 열수처리법, 고압처리법으로 전처리를 한 후 이를 이용하여 필름을 제조하였다. 예비실험 결과 산·알칼리 병용법이 필름제조에 가장 우수한 것으로 밝혀져 이 후로는 산·알칼리 병용법을 사용하여 해조필름을 제조하였다. 즉, 해조 분말 5 g을 200 mL의 1% (w/v) Na₂CO₃용액에 넣고 hot plate 상에서 가열과 동시에 강하게 교반하면서 용해시킨 후 1 N HCl용액 7 mL을 가하여 충분히 용해시킨 후 가소제로서 glycerol 2 g을 첨가하여 혼합하였다. 이 용액을 90℃의 수욕조에서 30분간 가열한 후 테플론을 코팅한 수평이 잡힌 유리판 (30 cm×24 cm)에 부어 상온에서 약 24시간 건조하여 필름을 제조하였다. 이 때 필름의 물성을 개선하기 위하여 CaCl₂를 처리하여 필름내의 알긴산 분자와 Ca 이온간의 가교결합을 형성하도록 하

였는데(12), CaCl₂의 처리방법에 따라 두 가지 방법으로 해조필름을 제조하였다. 첫째는 해조필름용액의 제조 시에 0.12 g의 CaCl₂를 혼합하여 가교결합을 유도한 필름이고, 둘째는 Rhim 등(13,14)의 방법에 따라 일단 해조 필름을 제조한 후 필름을 3%의 CaCl₂용액에 5분간 침지한 후 건조시켜 가교결합을 형성시킨 필름이다. 이때 침지과정이나 건조과정 중에 필름의 수축이나 변형이 일어나는 것을 방지하기 위하여 1차 건조된 필름을 유리판에서 떼어내지 않은 채로 필름의 상부에 CaCl₂용액 100 mL를 부어 5분간 반응시킨 후 용액을 제거하고 다시 상온에서 3~4시간 건조하여 필름을 제조하였다. 두 가지 필름 모두 건조가 끝난 후에 유리판에서 떼어내어 필름의 특성 측정항목에 따라 투습도 측정 및 색도 측정용은 7 cm×7 cm, 수분용해도 측정용은 2 cm×2 cm, 인장강도 및 신장률 측정용 시료는 10 cm×2.54 cm 크기로 절단하여 사용하였다.

수분조절

모든 필름 시료는 25℃, 50% 상대습도로 조절된 항온항습기(Model FX 1077, Jeiotech)에서 48 시간 이상 수분함량을 조절한 후 필름의 특성 측정에 사용하였다.

필름의 두께

각 필름의 두께는 0.01 mm의 정밀도를 갖는 마이크로미터 (Dial Thickness Gauge 7301, Mitutoyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 투습도 측정용 시료는 중심부와 주변 네 부위의 두께를 측정하고 그 평균값을 사용하여 투습계수의 계산에 사용하였으며, 인장강도 측정용 시료 역시 길이 방향으로 다섯 부위의 두께를 측정하여 그 평균값을 사용하여 필름의 인장강도 계산에 사용하였다.

색도

필름의 표면색을 색차계 (CR-300 Minolta Chroma Meter, Minolta Camera Co., Osaka, Japan)를 사용하여 Hunter L , a 및 b 값으로 측정하였다. 색도 측정은 필름의 시료를 색 좌표 값이 $L = 96.86$, $a = -0.02$, $b = 1.99$ 인 표준 백색판(Calibration Plate CR-143) 위에 놓고 필름의 중심과 주변 네 부위를 포함하여 다섯 부위의 색도를 측정하여 평균값으로 표시하였다. 이들 Hunter L , a 및 b 값으로부터 색차(Total Color Difference; ΔE)를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

여기에서 $\Delta L = L_{\text{standard}} - L_{\text{film}}$, $\Delta a = a_{\text{standard}} - a_{\text{film}}$, $\Delta b = b_{\text{standard}} - b_{\text{film}}$ 이다. 색도 측정용

샘플은 각 필름으로부터 2장 씩 취하였으며, 이를 3반복 실시하여 평균값으로 표시하였다.

인장강도 및 신장률

필름의 인장강도(tensile strength; TS)와 신장률(elongation at break; E)은 ASTM⁽¹⁵⁾ 표준방법의 따라 Instron Universal Testing Machine (Model 4465, Instron Corp., Canton, MA, USA)을 사용하여 측정하였다. 이 때 초기의 grip간의 거리는 5 cm이고, cross-head의 속도는 500 mm/min 이었다. 필름의 인장강도는 필름이 끊어질 때까지 기록된 최대의 장력을 필름의 초기의 단면적으로 나누어 다음과 같이 계산하였다.

$$TS = F_{max}/A$$

여기에서 F_{max} 는 필름이 끊어질 때의 최대 강도 (N), A는 필름의 단면적 (m^2)을 나타낸다.

필름의 신장률은 다음 식에 따라 필름이 끊어질 때까지 늘어난 길이를 초기의 grip간 거리에 대한 백분율로 나타냈다.

$$\%E = (L/L_0) \times 100$$

여기에서 L_0 는 grip간의 거리 즉, 샘플의 초기길이 (cm)이고, L은 필름이 끊어지는 순간까지 늘어난 길이 (cm)이다. 인장강도와 신장률은 각 필름으로부터 7개의 샘플을 취하여 측정하였으며, 이를 3회 반복 실시하여 그 평균값으로 표시하였다.

투습도

필름의 투습도는 ASTM 표준방법(16)을 사용하여 측정하였다. 즉, Poly(methylmethacrylate)로 제작한 투습컵을 사용하여 상부에 1 cm의 공간이 생기도록 18 mL의 증류수를 넣고, 투습도 측정용 필름을 투습컵의 입구(지름 4.6 cm)에 밀착시켜 밀봉한 후 무게를 측정하여 25°C와 50% RH로 조절되고 3.3 m/s의 속도로 공기가 순환되는 항온항습기에 넣고 8시간 동안 매 1시간 간격으로 투습컵의 무게를 0.0001 g의 정밀도로 측정하였다. 각 필름의 WVP의 계산은 다음 식에 따라 실시하였다.

$$WVP = (WVTR \cdot X)/\Delta p$$

여기에서 WVTR은 실제로 측정된 필름을 통한 투습속도 ($g/m^2 \cdot s$)이고, X는 필름의 두께 (m), Δp 는 투습컵에 장착된 필름 양면의 분압차 (Pa)이다.

WVP의 계산 시에 필름의 하부와 증류수의 표면 사이에 있는 공기의 저항에 의한 영향을 McHugh 등(17)과 Gennadios 등(18)의 방법에 따라 보정하였다. 각 필름의 투습계수

는 각 필름당 2매의 샘플을 취하였으며, 3회 반복 실험을 실시하여 평균값으로 나타냈다.

수분용해도

필름의 수분용해도(water solubility; WS)는 Rhim 등(19)의 방법에 따라 측정하였다. 먼저 수분용해도 측정용 필름 3매를 취하여 105℃의 건조기에서 24시간 건조하여 필름의 건물함량을 측정하고, 수분용해도 측정용 필름 3매를 따로 취하여 50 mL 용량의 비이커에 증류수 약 30 mL와 함께 넣고 입구를 parafilm으로 밀봉한 후 각 25℃ 정온기에 넣고 가끔 흔들어 주면서 일정 시간 후에 물에 용해되지 않은 필름을 꺼내어 105℃의 건조기에서 24시간 동안 건조시켜 건물함량을 측정하였다. 해조필름의 수분용해도는 다른 생고분자 필름에 비해 높기 때문에 수분용해도 측정 시에 물에 용해시키는 시간을 10분으로 단축하여 측정하였다. 필름의 용해도는 초기의 건물에 대한 물에 용해된 양의 백분율로 나타냈다. 각 필름의 용해도는 3회 반복실험을 실시하여 평균값으로 나타냈다.

통계처리

각 필름의 색도, 인장강도 및 신장률, 투습도 및 수분용해도는 각각 따로 제조한 필름을 실험단위로 하여 3회 반복 측정하였다. 각 필름의 특성치의 평균값과 표준편차를 SAS(20)의 General Linear Model을 사용하여 계산하였으며, 각 평균값의 유의적인 차이 검정은 유의수준 $\alpha = 0.05$ 를 사용하여 Duncan's multiple range test를 실시하여 조사하였다.

결과 및 고찰

일반성분

필름제조에 사용된 해조분말의 일반성분은 Table 1과 같았다.

Table 1. Proximate analysis of various marine algae (unit: g/100 g solid)

Marine Algae	Crude protein	Crude lipids	Crude ash	Carbohydrate ¹⁾
leaf of sea mustard	25.1±0.3	3.9±0.1	24.7±0.1	46.3±0.1
stem of sea mustard	9.7±0.3	1.3±0.03	46.7±0.3	42±0.2
sporophyll of sea mustard	13.8±0.1	5.1±0.5	30.1±0.03	50.9±0.2
sweet tangle	10.1±0.04	2.1±0.3	26.5±0.6	61.4±0.3
fusiforme	17±0.1	1.9±0.3	18.6±2.2	62.5±1.1

¹⁾ By subtracting moisture, protein, lipid and ash contents from the total.

Table 1에서 보는 바와 같이 이들 해조류는 회분과 탄수화물의 함량이 높은 것으로 나타났다. 이는 일반적으로 해조류에는 다량의 무기질과 다당류가 함유되어 있기 때문이다. Goo 등(21)은 갈조류에는 Ca를 비롯한 무기질과 다당류가 다량 함유되어 있으며, 이들 다당류의 대부분이 알긴산이며 이외에 중성다당인 laminaran과 fucoidan과 같은 황산기를 갖는 산성다당이 다량 함유되어 있음을 밝힌 바 있다. 건물기준으로 표시한 탄수화물의 함량은 톳이 가장 높았으며, 다음으로는 다시마, 미역귀, 미역잎, 미역줄기 순이었다. 이는 Yoon(11)이 다시마, 미역, 톳을 사용하여 열수추출법, 알칼리 추출법, 산알칼리 병용법을 사용하여 알긴산을 추출한 결과 톳이 알긴산을 가장 많이 함유하고 있다는 결과와 일치하고 있다. 그러나 Do 등(22)은 다시마, 미역, 톳의 총식이섬유함량이 각각 50.7%, 47.2%, 42.6%이라 하였다. 이는 본 연구의 결과와 다소 차이가 있으나 이러한 차이는 사용한 시료간의 차이에 기인하는 것으로 생각된다. 실제로 해조의 성분은 채취 시기나 채취 장소에 따라서도 달라지는 것으로 알려져 있다.

필름 형성능

예비실험을 통해 필름의 형성이 가장 잘 되는 것으로 밝혀진 산·알칼리 병용법을 사용하여 해조필름을 제조한 바 미역과 다시마분말은 필름이 잘 만들어졌으나 톳은 필름이 형성되지 않았다. 이는 톳이 알긴산의 함량이 높아 필름 형성능이 높을 것으로 기대했던 것과는 다른 결과이나 현재 사용하는 방법으로는 톳 필름을 제조할 수 없어 이후로는 필름 형성능이 높았던 미역과 다시마를 사용하였다. 미역의 경우는 부위별로 미역잎, 미역줄기 및 미역귀를 사용하여 필름을 제조하였다. 특히 CaCl₂ 첨가필름의 경우, 알긴산 필름의 경우(13,14)와 마찬가지로 첨가량이 일정량 이상으로 증가하면 용액의 점도가 높

아저 필름의 제조가 불가능하여 그 첨가농도를 0.12 g (즉, 0.024 g CaCl₂/g seaweed powder)로 결정하였다.

이렇게 제조된 해조필름은 상하층이 균일하지 않았다. 즉, 유리 면과 접한 하층은 매끄럽고 균일하였으나 공기층과 접한 상층부는 다소 거친 표면을 이루었다. 이는 필름 상하층이 균일하지 않음을 의미하는데 즉, 필름용액이 건조되는 동안 밀도가 큰 알긴산 분자가 아래층으로 이동하고 상대적으로 밀도가 적은 거친 입자들이 위층에 배열되었기 때문으로 생각된다. 미역귀와 다시마로 제조한 필름은 stiffness가 낮은 부드러운 필름이 제조되었으며, 미역잎으로 제조한 필름은 다른 필름에 비해 치수안정성이 다소 떨어졌으며, 미역줄기로 제조한 필름은 다른 해조필름에 비해 외관상 우수한 필름이 형성되었다.

필름의 표면색

Hunter *L*, *a*, *b* 및 ΔE 값으로 표시한 각 필름의 표면색은 Table 2에 나타난 바와 같다. 일반적으로 해조의 종류에 따라 그리고 미역필름의 경우 사용 부위에 따라 필름의 표면색에 현저한 차이가($p < 0.05$) 있었다. 육안으로 관찰했을 때 미역잎으로 만든 필름은 미역의 녹색을 나타냈으며, 미역줄기로 만든 필름은 녹색정도가 다소 낮았고, 다시마로 만든 필름은 진한 갈색을 미역귀로 만든 필름은 옅은 갈색을 나타냈다. 이는 녹색도-홍색도를 나타내는 Hunter *a*값에서 나타나는 바와 같다. 즉, 미역잎으로 제조한 필름의 Hunter *a*값이 가장 낮고, 다음이 미역줄기로 만든 필름이었으며, 미역귀와 다시마로 제조한 필름은 이들보다 유의적으로 높은($p < 0.05$) 값을 나타내고 있다.

Table 2. Surface color of marine algae powder films¹⁾

Marine Algae	Mixing Films				Immersion Films			
	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ΔE	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ΔE
leaf of sea mustard	27.7±0.73 ^a	-1.98±0.19 ^a	8.07±0.69 ^a	69.46±0.69 ^d	28.45±3.34 ^a	-1.09±0.18 ^b	7.62±1.49 ^a	68.66±3.39 ^d
stem of sea mustard	48.64±1.33 ^d	3.15±0.66 ^d	31.99±0.31 ^d	56.87±0.99 ^b	59.62±1.94 ^e	1.66±0.18 ^c	12.06±1.31 ^b	38.64±1.65 ^a
sporophyll of sea mustard	42.37±1.24 ^c	11.71±0.36 ^g	30.05±1.53 ^d	62.42±0.53 ^c	48.18±0.65 ^d	6.97±0.31 ^e	24.94±0.94 ^c	54.28±0.75 ^b
sweet tangle	36.66±0.61 ^b	9.13±0.36 ^f	23.47±0.81 ^c	64.58±0.25 ^c	28.45±3.34 ^a	-1.09±0.18 ^b	7.62±1.49 ^a	68.66±3.39 ^d

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means followed by the same letter are not significantly ($p > 0.05$) different by Duncan's multiple range test.

다시마 필름을 제외한 미역필름은 모두 CaCl₂용액에 침지하여 제조한 필름의 밝기가 높게 나타났는데 이는 이들 필름을 CaCl₂용액에 침지하고 건조하였을 때 표면에 흰색의 분말이 생겨 Hunter L 값이 증가한 것으로 나타났다. 이들 미역필름의 표면에 생긴 흰색 분말은 미역에 다량 함유되어 있는 해조다당류인 푸코이당이 표면에서 결정화를 이룬 것으로 생각된다⁽²¹⁾.

인장강도 및 신장률

해조 필름의 인장강도와 신장률은 Table 3 에 나타난 바와 같다. CaCl₂의 처리방법에 따라 해조필름의 인장강도에 차이가 있었는데, 모든 해조필름의 인장강도는 침지필름이 혼합필름에 비해 높게 ($p < 0.05$) 나타났다. 이는 알긴산 필름의 경우와 일치하는 결과이다 (13,14). 모든 해조 필름에서 CaCl₂를 직접 첨가하여 제조한 필름보다는 CaCl₂용액에 침지하여 제조한 필름의 두께가 유의적인 차이($p < 0.05$)를 보이며 낮았는데, 이는 필름을 CaCl₂용액에 침지하는 중에 필름의 성분이 용해되어 제거되었기 때문이다. 이러한 현상은 알긴산 필름(12-14)과 펙틴 필름⁽²³⁾의 경우에서도 관찰된 바 있다. 인장강도는 해조의 종류별로는 미역잎으로 제조한 필름의 인장강도가 가장 높았으며, 다음으로 미역줄기, 다시마, 미역귀 순이었다. 모든 필름의 경우 CaCl₂용액에 침지하여 제조한 필름의 인장강도가 CaCl₂를 직접 첨가하여 제조한 필름보다 인장강도가 적게는 2% (다시마 필름)에서 많게는 92.4% (미역줄기 필름)까지 증가하였다.

Table 3. Tensile strength (TS) and elongation at break (E) of marine algae powder films¹⁾

Marine Algae	Mixing Films			Immersion Films		
	Thickness (μm)	TS (MPa)	E (%)	Thickness (μm)	TS (MPa)	E (%)
leaf of sea mustard	124.17 \pm 3.41 ^c	10.41 \pm 1.06 ^e	37.39 \pm 1.4 ^{c,d}	116.2 \pm 5.05 ^b	12.17 \pm 1.04 ^f	30.87 \pm 2.67 ^{b,c}
stem of sea mustard	142.42 \pm 2.71 ^f	3.83 \pm 0.04 ^c	28.38 \pm 5.25 ^b	108.31 \pm 3.15 ^a	7.37 \pm 1.02 ^d	17.91 \pm 2.07 ^a
sporophyll of sea mustard	133.11 \pm 0.97 ^{d,e}	1.48 \pm 0.16 ^a	56.61 \pm 6.85 ^f	129.99 \pm 1.64 ^{c,d}	1.84 \pm 0.04 ^{a,b}	48.98 \pm 0.85 ^e
sweet tangle	137.1 \pm 5.25 ^{e,f}	2.32 \pm 0.38 ^{a,b}	53.96 \pm 5.03 ^{e,f}	135.35 \pm 3.96 ^{d,e}	2.77 \pm 0.47 ^{b,c}	39.91 \pm 2.53 ^d

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means followed by the same letter are not significantly ($p > 0.05$) different by Duncan's multiple range test.

일반적으로 필름의 신장률은 인장강도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보이는데, 본 연구의 결과에서도 이러한 경향이 관찰되었다. 즉, 해조필름의 신장률은 미역줄기, 미역잎, 다시마, 미역귀 필름 순으로 28.38-56.61%의 값을 나타냈으며, CaCl₂용액에 침지하여 제조한 필름의 신장률이 CaCl₂를 직접 첨가하여 제조한 필름보다 유의적으로(p<0.05) 감소하였다. 이러한 현상은 알긴산 필름(13,14)의 경우에서 관찰된 바와 같았다.

투습도

해조분말 필름의 투습계수는 Table 4 에 나타난 바와 같았다. 해조필름의 투습도는 미역줄기로 제조한 필름의 투습도가 가장 낮았으며, 다음으로 미역잎 필름, 미역귀 필름 및 다시마 필름의 순으로 증가하였다. 알긴산 필름의 투습도(14)가 1.42 ng · m/m² · s · Pa인데 비해 해조필름의 투습도는 종류에 따라 1.65-3.67배 높게 나타났는데 이는 해조 필름에는 알긴산 이외에 다량의 불용성 성분과 다른 성분들이 있어 구조적으로 치밀하지 못한 필름이 형성되었기 때문이다. 알긴산 필름의 경우와는 달리 해조필름은 CaCl₂처리방법에 따른 투습도에 미치는 영향이 다소 상이한 현상을 보였다. 즉, 미역귀 필름을 제외하고는 모두 CaCl₂용액에 침지하여 제조한 필름의 투습도가 CaCl₂를 직접 첨가하여 제조한 필름의 투습도보다 다소 증가하였다. 이는 알긴산 필름의 경우(13,14) CaCl₂의 처리방법에 따라 침지필름의 투습도가 첨가필름의 투습도에 비해 감소했던 것과 대조되는 결과로서 균일하지 못한 해조분말 필름의 분자구조에 기인하는 것으로 판단된다.

Table 4. Water vapor permeability (WVP) of marine algae powder films¹⁾

Marine Algae	Mixing Films		Immersion Films	
	Thickness (μm)	WVP (ng · m/m ² · s · Pa)	Thickness (μm)	WVP (ng · m/m ² · s · Pa)
leaf of sea mustard	126.9±4.08 ^b	3.50±0.03 ^b	122.17±4.67 ^{a,b}	4.02±0.45 ^{b,c}
stem of sea mustard	127.3±8.53 ^b	2.34±0.18 ^a	114.43±4.29 ^a	2.86±0.27 ^a
sporophyll of sea mustard	129.9±4.29 ^b	4.94±0.37 ^d	132.5±3.72 ^{b,c}	4.38±0.13 ^c
sweet tangle	134.4±4.04 ^{b,c}	5.21±0.41 ^d	142.7±12.54 ^c	6.28±0.31 ^e

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means followed by the same letter are not significantly (p>0.05) different by Duncan's multiple range test.

수분 용해도

필름의 수분용해도는 수분에 대한 저항성을 나타내는 지표로서 포장재의 수분저항성은 수분함량이 높은 식품에 사용되거나 습도가 높은 상태에서 사용되는 포장재에 요구되는 중요한 성질로서 해조분말 필름의 수분함량과 수분용해도는 Table 5에 표시된 바와 같다. 해조필름의 수분함량은 CaCl₂ 첨가필름은 해조의 종류에 따라 15.57-28.73%의 값을 나타냈으며, CaCl₂ 용액 침지필름은 21.52-32.10%의 값을 나타냈다. 이와 같이 해조 필름의 수분함량이 해조의 종류에 따라 큰 차이를 나타내는 것은 그 성분함량의 차이에 기인하는 것으로 생각된다. 알긴산 필름의 경우 필름의 수분함량은 CaCl₂ 처리방법에 따라 침지필름의 수분함량이 첨가필름의 수분함량에 비해 현저하게 낮았는데(13,14), 해조필름의 경우는 침지필름의 수분함량이 첨가필름에 비해 다소 높게 나타났다. 이는 해조필름을 구성하는 알긴산에 비해 보수력이 높은 다른 성분들이 함유되어 있기 때문으로 생각된다. CaCl₂ 첨가필름의 수분용해도가 해조의 종류에 따라 31.85-52.74%를 나타냈으며, CaCl₂ 용액 침지필름의 수분용해도는 24.44-32.11%로 크게 감소하였다. 이는 알긴산 필름(13,14)에서도 관찰된 현상이다.

Table 5. Water solubility of marine algae powder films¹⁾

Marine Algae	Mixing Films		Immersion Films	
	M.C. (%)	WS (%)	M.C. (%)	WS (%)
leaf of sea mustard	15.57±0.49 ^a	40.79±2.21 ^c	21.52±1.05 ^{b,c}	24.44±3.6 ^a
stem of sea mustard	18.92±0.79 ^b	52.74±4.06 ^d	27.81±1.54 ^d	30.67±2.54 ^b
sporophyll of sea mustard	28.73±2.30 ^d	48.95±3.01 ^d	28.38±4.22 ^d	23.40±1.16 ^a
sweet tangle	23.15±1.22 ^c	31.85±3.98 ^b	32.10±0.66 ^e	32.11±1.64 ^b

¹⁾Each value is the mean of three replicates with the standard deviation. Any two means followed by the same letter are not significantly ($p>0.05$) different by Duncan's multiple range test.

CaCl₂ 처리에 의해 해조 필름의 물성이 변화함을 알 수 있었는데, 이는 Pavlath 등(12,23)과 Rhim 등(13,14)이 지적한 바와 같이 다당류에 함유되어 있는 카르복실기와 Ca 이온 사이에 가교결합(ionic crosslink)이 형성되었기 때문이다. 그리고 CaCl₂의 처리방법에 따라 필름의 물성의 차이가 있는 것은 그 결합의 정도에 차이가 있기 때문인 것으로 생각되는데, 첨가필름의 경우 가교결합이 필름 전체에 균일하게 형성되지 않는데 반해 침

지필름의 경우는 친수성의 카르복실기가 표면에 노출되어 필름내에 균일한 가교결합이 형성되기 때문으로 생각된다. 즉, Rhim(14)이 지적한 바와 같이 가교결합 밀도의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

비록 알긴산 필름에 비해 물성은 다소 떨어지나 해조분말을 이용하여 필름의 제조가 가능함을 확인하였다. 이러한 사실은 해조분말로 필름 외에 기타 생분해성 포장재의 개발에 이용할 수 있는 가능성이 있음을 시사하는데, 미역분말을 이용한 compression molding 예비실험결과에서 컵 형태의 용기의 제작이 가능함을 확인한 바 있다. 이는 알긴산을 사용하는 것 보다 원료비를 1/3 이하로 줄일 수 있어 현재 문제가 되고 있는 생고분자 포장재의 경제성 제고에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

해조분말을 이용하여 산·알칼리 병용법으로 알긴산을 추출하고 필름의 물성 증진을 위하여 두 가지의 CaCl_2 처리방법 (즉, CaCl_2 를 필름용액에 직접 첨가하는 방법과 필름을 제조한 후 필름을 CaCl_2 용액에 침지하여 가교결합을 유도하는 방법)을 적용하여 생분해성 필름을 제조하고 그 물성을 비교하였다. 사용된 해조분말 (미역 잎, 미역줄기, 미역귀, 다시마, 툇) 중 툇을 제외하고는 모두 필름이 제조되었다. 이들 해조 필름의 물성에 대한 CaCl_2 처리방법의 영향은 수분용해도 외에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 비록 이들 해조 필름의 인장강도, 투습도, 수분용해도와 같은 필름의 물성이 순수한 알긴산으로 제조한 필름의 물성에 비해 떨어지나 본 연구의 결과는 미이용 해조분말이나 해조가공 부산물로 얻어지는 해조분말을 이용하여 새로운 생분해성 포장소재로 사용할 수 있는 가능성이 있음을 나타냈다.

문 헌

1. Aminabhavi, T.M., Balundgi, R.H. and Cassidy, P.E. A review on biodegradable plastics. Polym. -Plast. Technol. Eng. 29: 235-262 (1990)
2. Petersen, K., Nielsen, P.V., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M.B., Nilsson, N.H. and Mortensen, G. Potential of biobased materials for food packaging. Trends Food Sci. Technol. 10: 52-68 (1999)
3. Tuil, R.V., Paul, F., Lawther, M. and Weber, C.J. Properties of biobased packaging

materials, pp. 13-44. In: *Biobased Packaging Materials for the Food Industry, Status and Perspectives*. Weber, C.J. (ed.), The Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark (2000)

4. Kaplan, D.L., Mayer, J.M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A.L. and Stenhouse, P.S. Fundamentals of biodegradable polymers, pp. 1-42. In: *Biodegradable Polymers and Packaging*. Ching, C., Kaplan, D.L. and Thomas, E.L. (eds.) Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, UK (1993)

5. Guilbert, S., Cuq, B. and Gontard, N. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Add. Contam.* 14: 741-751 (1997)

6. Krochta, J.M. and De Mulder-Johnston, C. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technol.* 51: 61-73 (1997)

7. Rhim, J.W., Park, S.Y. and Kim, M.S. Preparation of biodegradable films using glue plants. *Food Sci. Biotechnol.* 11: 280-284 (2002)

8. Cao, Y.M. and Chang, K.C. Edible films prepared from water extract of soybeans. *J. Food Sci.* 67: 1449-1454 (2002)

9. A.O.A.C. Official Methods of Analysis, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1984)

10. Nishide, E., Kinoshita, Y., Anzai, H. and Uchida, N. Distribution of hot-water extractable materials, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 1619-1622 (1988)

11. Yoon, M.O. Rheological properties of alginate extracted from seaweeds and isolation of alginate-degradation bacteria. M.S. Thesis, Mokpo National University (2002)

12. Pavlath, A.E., Gossett, C., Camirand, W. and Robertson, G.H. Ionomeric films of alginic acid. *J. Food Sci.* 64: 61-63 (1999)

13. Rhim, J.W., Kim, J.H. and Kim, D.H. Modification of Na-alginate films by CaCl₂ treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 217-221 (2003)

14. Rhim, J.W. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensm. -Wiss. u. -Technol.* (2004) (in press)

15. ASTM. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, Vol. 8.01, pp. 182-190. In: *Annual Book of ASTM Standards*. American Society for Testing

and Materials, Philadelphia, USA (1995)

16. ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-95), Vol. 4.06, pp. 697-704. In: Annual Book of ASTM Standards. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA (1995)

17. McHugh, T.H., Avena-Bustillos, R. and Krochta J.M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. J. Food Sci. 58: 899-903 (1993)

18. Gennadios, A., Weller, C.L. and Gooding, C.H. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. J. Food Eng. 21: 395-409 (1994)

19. Rhim, J.W., Gennadios, A., Weller, C.L., Cezeirat, C. and Hanna, M.A. soy protein isolate-dialdehyde starch films. Ind. Crops Prod. 8: 195-203 (1998)

20. SAS Institute, Inc. SAS Users Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (1998)

21. Goo, J.G., Jo, K.S., Do, J.R. and Woo, S.J. Isolation and purification of fucoidans from *Laminaria religiosa* and *Undaria pinnatifida* in Korea. J. Korean Fish. Soc. 28: 227-236 (1995)

22. Do, J.R., Kim, E.M., Koo, J.G. and Jo, K.S. Dietary fiber contents of marine algae and extraction condition of the fiber. J. Korean Fish. Soc. 30: 291-296 (1997)

23. Pavlath, A.E., Voisin, A. and Robertson, G.H. Pectin-based biodegradable water insoluble films. Macromol. Symp. 140: 107-113 (1999)

제 6절 방사선 조사에 의한 알긴산 용액의 저분자화

임 중 환 (목포대학교 식품공학과)

서 론

천연섬유질 다당류인 알긴산의 기능이 밝혀지면서 알긴산을 식품, 화장품, 의료용 소재 등으로 이용하기 위한 연구가 진행되고 있다. 하지만 상온에서 용해 시간이 길고, 농도의 증가에는 고점도 특성을 보임에 따라 그 사용에 제한이 되고 있다. 이러한 단점들을 해결하기 위해 저분자 알긴산의 필요성이 제기 되었고, 현재까지 저분자 알긴산의 효용에 대한 보고는 계속해서 발표되고 있다. You와 Shim(1999)등은 생분해성, 가식성 film으로서의 저농도 알긴산이 수증기 투과율과 유연성 증대에 이점이 있다고 보고 하였고, Kim와 Cho(2000)은 저분자 알긴산이 cholesterol과 Cd의 체외 배출효과가 우수하였고, 혈중 glucose 농도를 저하시키는데 효과적이었다고 보고하였다. 또 Chang 등(1998)은 알긴산 가수분해물이 어육연제품에 있어서 어묵의 주요 부패균인 *Bacillus. sp.*의 증식을 억제하여 저장성을 증대한다고 보고하였다. 저분자 알긴산을 제조하기 위해서는 화학적 분해 및 효소분해법으로 가수분해하는 방법들이 연구 중에 있으나, 분자량 조절이 힘들고, 수율이 낮으며, 환경문제를 일으키는 문제점을 안고 있다. 따라서 이러한 문제점을 보완하는 간편하고 정확한 분해 방법을 찾아 검증함으로써 효율성을 높일 수 있는 방법의 개발이 필요하다.

현재 고분자 물질의 분자량 측정에는 viscosity, light scattering(LS), gel permeation chromatography(GPC), ultracentrifuge, maldi 방법들이 사용되고 있다. 하지만 그 측정에는 간단한 방법으로부터 복잡한 방법까지 있고, 정확성 역시 비교적 정확한 것부터 부정확한 것까지 다양하다. 이러한 분자량 측정 방법에 있어 보다 간편하고 정확한 결과를 제시할 수 있도록 본 연구에서는 viscosity와 GPC를 함께 측정하여 상관관계를 나타냄으로써 분해한 알긴산의 분자량에 대한 신뢰도를 높이며 나아가 각 조건에서 분해 된 알긴산을 바탕으로 원하고자 하는 분자량을 얻을 수 있는 최적 분해조건을 알아야 한다.

한편 방사선 조사에 의한 고분자자의 저분자화방법은 방사선이 고분자물질을 통과할 때 고분자의 원자나 원자단, 분자등을 전리시켜 이온을 생성하게 되는 데 이와 같은 성질을 지닌 방사선을 전리 방사선(ionizing radiation)이라 하고 식품 및 의료 산업에서 이용될 수 있는 방사선은 γ 선, X선, 전자선(electron ray)이 있다. 고분자 화학에서 이용되는 방

사선의 대표적인 반응은 중합반응(polymerization), 크래프트 중합(Kraft polymerization), 가교(bridgebuilding), depolymerization이 보고되어 졌고(Pyun과 Nor, 1988), 특히 알긴산의 경우에는 방사선(^{60}Co gamma ray)의 선량이 증가함에 따라 중합도(polymerization degree)가 감소한다는 연구가 발표된 바 있다(Yang과 Lee, 1977).

본 연구에서는 고분자인 알긴산을 방사선량을 달리하여 저분자로 분해한 다음, 분해한 시료를 방사선량 변화에 따른 분자량을 측정하고, 고유점도(intrinsic viscosity)를 측정하여 분자량과 점도의 관계식인 Mark-Houwink Equation constant를 산출하였다.

재료 및 방법

재료

상업상의 알긴산은 알긴산염(alginic acid, sodium salt, Aldrich Chemical Co. Ltd)을 사용하였고, 농도에 따른 수용액 특성을 살펴보기 위하여 5가지(3, 4, 5, 6, 7% w/w)의 알긴산 수용액을 제조하였다.

감마선 조사

알긴산의 방사선 조사는 5%의 용액을 한국원자력 연구소에 있는 감마선 조사시설(선원: Co-60, 10만 Ci)을 이용하여 실온에서 시간당 일정 선량으로 2~100 kGy의 총 흡수 선량을 얻도록 하였으며(Fig. 1), 조사한 시료는 동결건조(SFDSF 12, Sam-Won Freezing Engineering Co., Korea)하여 30 mech 이하로 분말화 시킨 후 실험에 사용하였다.

감마선 조사 후의 겔보기 점도 측정

감마선 조사 처리 직후 알긴산의 겔보기 점도는 Brookfield viscometer (RVDV-1⁺, Brookfield Eng Lab. Inc., U.S.A)의 spindle No. 7과 Brookfield viscometer (LVDV-1⁺, Brookfield Eng Lab. Inc., U.S.A)의 spindle No. 4를 이용하여 전단응력(shear stress)와 전단속도(shear rate)를 측정하였다. 이때 $20\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 shear rate를 0.3~50 rpm으로 조정하여 반복 측정하였다.

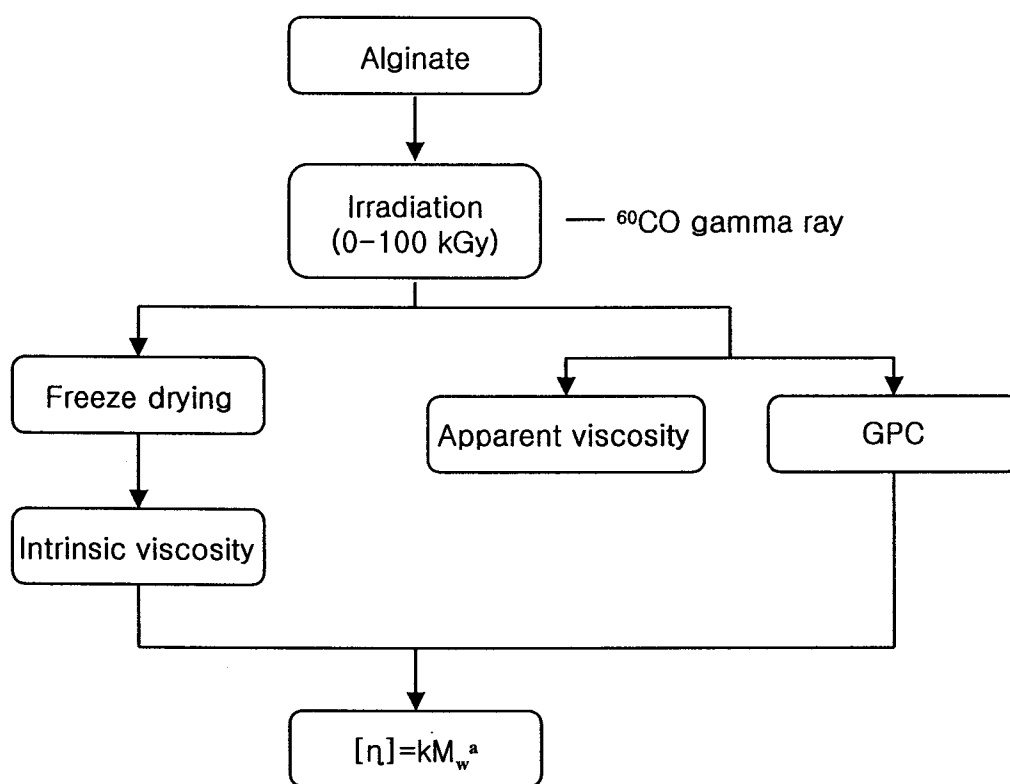


Fig. 1. Preparation of alginate solution using irradiation.

고유점도 측정

25℃로 유지한 항온기에 capillary 점도계(Cannon Instrument Co. No. 300, U.S.A)를 설치하고 방사선 조사와 유기산 처리를 거친 알긴산 용액(1-5% w/w)을 10 mL 넣은 뒤 30분간 항온기에 방치한 후 비점도(specific viscosity: η_{sp})를 측정하였다(Vega 등, 2001). 시료 용액의 비점도를 구한 다음 아래의 식으로부터 고유점도를 구하였다(Park 등, 1995).

$$\text{Relative viscosity}(\eta_{rel}) : \eta_s/\eta_o$$

$$\text{Specific viscosity}(\eta_{sp}) : (\eta_s - \eta_o)/\eta_o = \eta_{rel} - 1$$

$$\text{Intrinsic viscosity}([\eta]) : \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_s - \eta_o}{\eta_o \cdot C}$$

where, η_s : viscosity of irradiated solution

η_o : viscosity of H₂O

C : concentration

Gel Permeation Chromatography (GPC)

Gel permeation chromatography는 Ikeda 등 (2000)의 방법에 따라 감마선 조사를 거친 알긴산과 raw alginic acid 5% 용액의 분자량(M.W) 측정을 위해 사용되었다. 시료는 solvent(0.1 N NaNO₃)에 녹여 0.3%로 하고 0.45 μ l syringe filter에 filtration 후 주사하였다. GPC의 detector, column, flow rate, injection volume은 각각 RI750F, ultrahydrogel 500, 1 ml/min, 100 μ l로 하였다.

Mark-Houwink equation

감마선 조사에 의한 alginic acid의 저분자화 정도는 Vega 등 (2001)의 polymer의 분자량(M_w)과 intrinsic viscosity([\eta])와의 관계를 나타낸 Mark-Houwink 식을 이용하였다.

$$[\eta] = KM_w^a$$

여기서 [\eta]는 intrinsic viscosity이고, k, a는 solvent/polymer 쌍의 매개 변수를 M_w 는 polymer의 평균분자량을 나타낸다.

결과 및 고찰

알긴산 용액의 점도 특성

알긴산 용액을 3-7% (w/w)로 제조하여, 각각의 점도특성을 살펴보았다(Fig. 2). 이는 감마선 조사 전 가장 적절한 점도특성을 가지는 용액을 선택하기 위하여 시행한 실험으로써 조사 후 모든 시료에서 겔보기 점도를 확인할 수 있는 범위를 설정하였다. 감마선 조사를 위한 알긴산 용액의 농도는 Brookfield viscometer RVDV- I⁺과 LVDV- I⁺에서 모두 측정 가능하며 물에 대한 용해가 용이하고 동결 건조 후 최대한 많은 양의 고형분을 획득할 수 있는 5%(w/w)가 가장 적당하였다. Fig. 2에서와 같이 alginate 수용액은 항복치(yield stress)를 갖는 pseudoplastic 유체로 나타났으며, 이는 Marco 등 (1996)의 연구결과와 일치함을 볼 수 있었다.

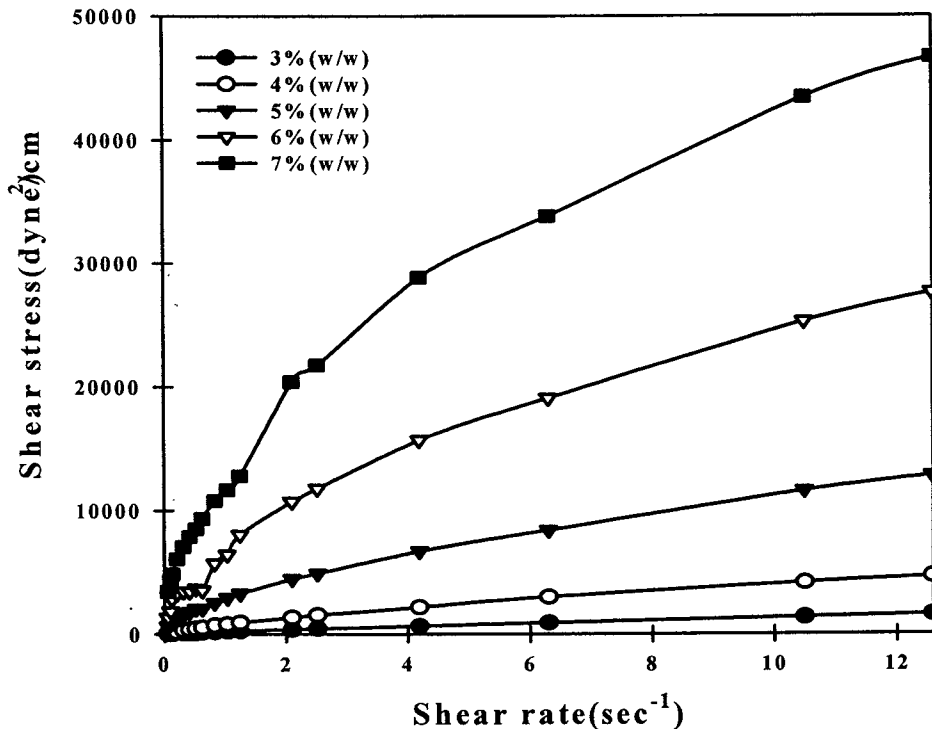


Fig. 2. The viscosity properties of alginate solution as affected by alginate concentrations before γ -irradiation treatment.

감마선 조사 후의 겔보기 점도 변화

감마선 조사량에 따른 alginate 용액의 겔보기 점도를 측정하여 감마선 조사가 알긴산에 어떠한 영향을 주었는지를 살펴보았다(Fig. 3). 감마선 조사량이 증가함에 따라 겔보기 점도가 현저하게 감소하는 것을 볼 수 있으며, 감마선 조사량이 100 kGy이었을 때

에는 50 kGy와 거의 동일하게 나타남으로써, 50 kGy이상에서 알긴산의 분해가 거의 이루어 졌음을 알 수 있었다. Fig. 4.에서 보는 바와 같이 감사선을 2 kGy 조사했을 시의 겔보기 점도는 12,800 cP, 4 kGy에서는 6,670cP, 10 kGy에서는 13,370 cP로 10 kGy까지는 겔보기 점도가 급격히 감소하였으며, 이후에는 완만히 감소함을 볼 수 있었다.

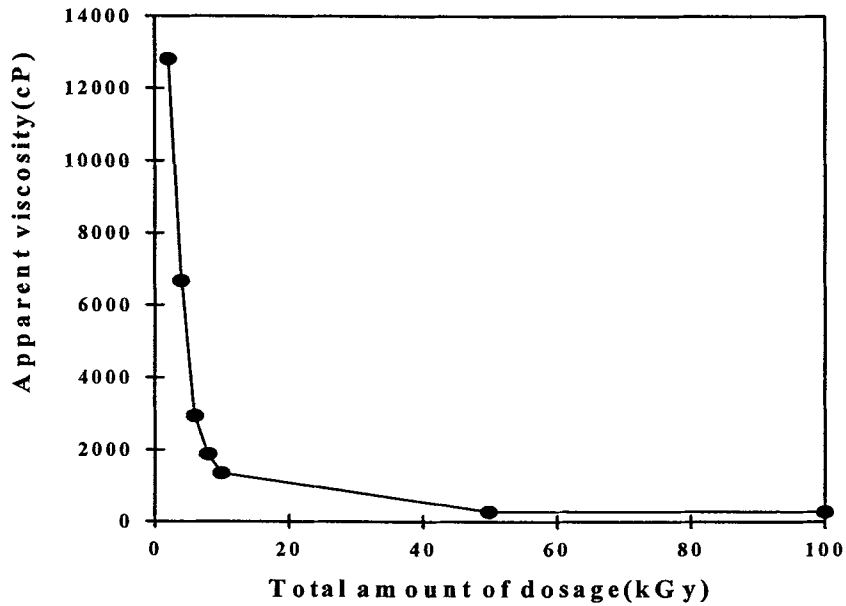


Fig. 3. Changes in extent of degradation of alginic acid with dose of γ -irradiation.

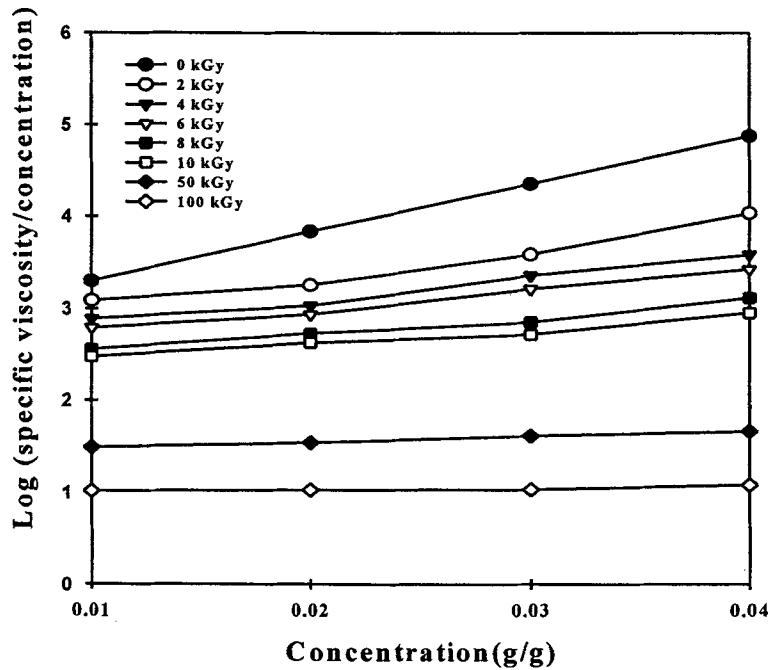


Fig. 4. Changes in reduced viscosity of alginate solution γ -irradiated at

different dose.

방사선량에 따른 고유점도의 변화

감마선 조사량에 따른 알긴산의 고유점도($[\eta]$)는 상대점도(η_{rel})와 비점도(η_{sp})를 거쳐 산출할 수 있었다. 감마선 조사량에 따른 $\log \eta_{sp}/C$ 값을 확인함으로써 조사량에 따라 고유점도가 감소함을 예측할 수 있었고, 100 kGy의 감마선이 조사된 알긴산 시료를 제외하고 모든 시료의 $\log \eta_{sp}/C$ 값이 높은 정확성($R^2=0.964\sim0.999$)을 보였다(Fig. 4). 감마선 조사 후의 시료 용액의 고유점도와 분자량 측정 결과(M.W.)는 Fig. 5와 같다. Fig. 5에서 보여지듯이 감마선이 2 kGy 조사되었을 때 고유점도가 500(g/g)이었고, 10 kGy 조사되었을 때 200(g/g)으로, 10 kGy 이하에서는 급격히 감소하였으며, 10 kGy 이상의 감마선량에서는 완만히 감소하는 것을 볼 수 있었다. 감마선 조사량의 증가에 따른 고유점도의 감소는 전분을 이용한 연구(Kang 등, 1999)와 후추 가루를 이용한 연구 보고(Humphreys 등, 1970)와 같은 경향을 나타내었다. 또한 이 같은 방사선 조사선량과 점도와의 관계를 이용하여 농산물의 방사선 검지에 대한 연구결과 보고(Toru와 Setsuko, 1996)가 발표되고 있다.

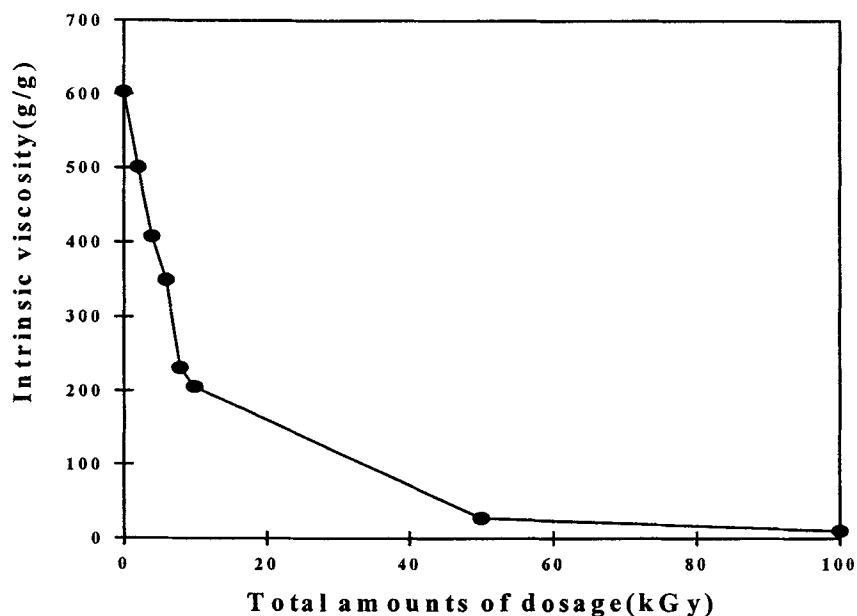


Fig. 5. Changes in intrinsic viscosity of alginate solution γ -irradiated at different doses.

방사선량에 따른 분자량의 변화

감마선 조사량에 따른 알긴산의 분자량 변화를 측정하기 위해 GPC를 이용하여 분자량을 측정하였다. 알긴산의 분자량 측정은 PEG를 표준품으로 하여 표준 곡선을 나타내고

(Fig. 6) 분자량을 산출하였다. 방사선을 조사함에 따라 생성되는 반응의 종류는 중합 (polymerization), 가교(bridgebuilding), 분해(degradation)등이 있다(Pyun과 Nho, 1988). 알긴산의 경우, 중합도(polymerization degree)가 감소한다는 보고(Yang과 Lee, 1977)와 방사선이 조사될 때 sodium alginate가 분해 되는 과정이 보고(Naotsugu 등, 2000)된 바 있다. 감마선 조사량과 알긴산의 분자량의 변화는 Fig. 7에서 보는 바와 같다.

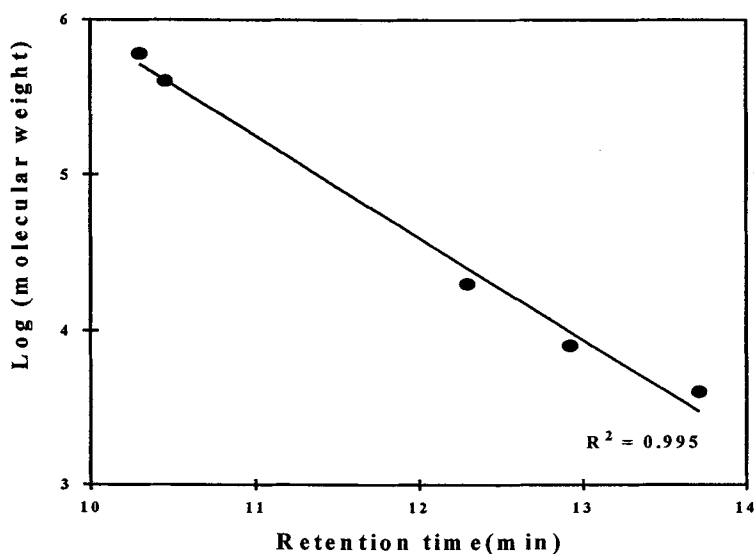


Fig. 6. Universal calibration curve of the GPC chromatogram.

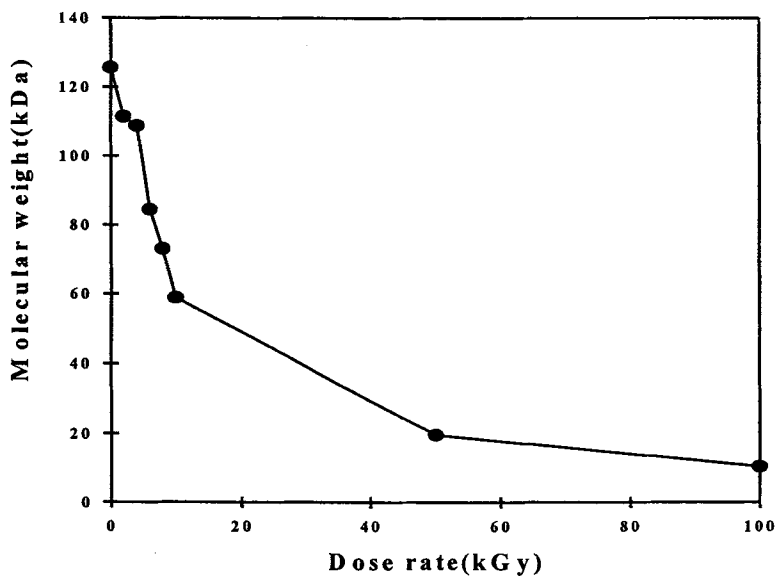


Fig. 7. Changes in molecular weight of alginate solution γ -irradiated at different doses.

2 kGy 조사 시에 알긴산의 분자량은 111,000 Da, 10 kGy 조사시에는 58,000 Da으로 10 kGy 이하의 조사량에서는 분자량이 급격히 감소하고, 10 kGy 이상의 조사량부터는 서서히 감소함을 보여주어 감마선 조사량에 따른 알긴산의 고유점도의 변화와 같은 경향을 보여주었다. 알긴산의 분자량이 감마선 조사량의 증가에 따라 감소하는 본 실험의 결과는 Toru와 Setsuko(1996)의 방사선을 이용한 후추의 연구결과와 유사점을 보였다.

고유점도와 분자량의 상관관계

알긴산의 분자량과 고유점도와의 관계를 나타낸 Mark-Houwink equation에 대한 연구는 가열에 따른 분해 방법(Marco 등,1996), 초음파에 따른 분해 방법(Gura 등, 1998), 산에 의한 분해 방법(Olav, 1970) 등이 보고되어 있다. 이들의 결과는 반응 상수(K)는 $5.075 \times 10^{-2} \sim 2.0 \times 10^{-5}$, 반응 차수(a)는 0.716~1.0 으로 비교적 넓은 편차를 보였는데, 이는 알긴산 시료의 차이 및 알긴산을 저분자화 하는 방법과 분석조건 즉 용매, 온도 등에 따라 상이한 결과가 나왔다고 판단된다.

감마선 조사 후, 알긴산의 분자량(MW)과 고유점도($[\eta]$)의 변화는 Fig. 9에 직선화시켜 나타내었으며, 분자량이 증가함에 따라 고유점도는 감소하여, 키토산을 이용한 Rong와 Min(1998)의 연구결과와 유사한 경향을 보였다. 또 분자량과 고유점도의 관계 뿐 아니라 감마선 조사량과 고유점도의 관계 및 감마선 조사량과 분자량의 관계가 실험 결과를 통해 일정한 관계가 존재함을 알 수 있었고, 각 factor(분자량, 고유점도, 감마선 조사량)의 관계식을 산출할 수 있었다(Table 1). Fig. 8, 9에서 보는 바와 같이, 각 factor들 간의 관계는 대단히 높은 정확성($R^2=0.967 \sim 0.998$)을 나타냈다.

Table 1. Equations for dose rate of γ -irradiation, intrinsic viscosity, molecular weight of alginate.

Factor	Equation
$[\eta]$, Dose rate	$[\eta] = 1.763 \times 10^3 \text{ Dose}^{-1.0667} \quad (R^2=0.9592)$
M.W, Dose rate	$Mw = 4.064 \times 10^5 \text{ Dose}^{-0.595} \quad (R^2=0.9358)$
$[\eta]$, M.W	$[\eta] = 3.417 \times 10^{-6} Mw^{1.5151} \quad (R^2=0.9285)$

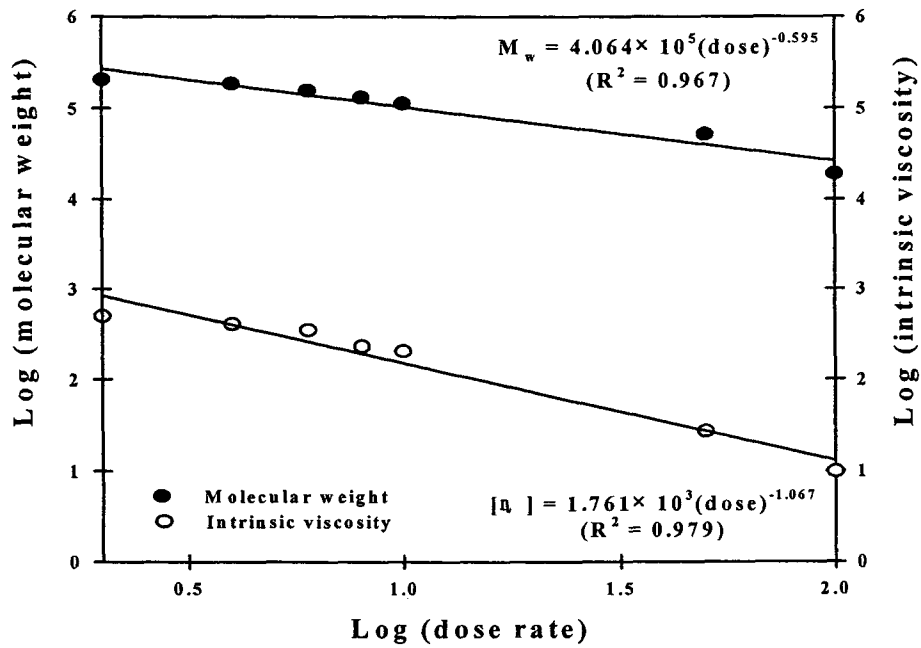


Fig. 8. Changes in intrinsic viscosity and molecular weight due to the dose rate of γ -irradiation.

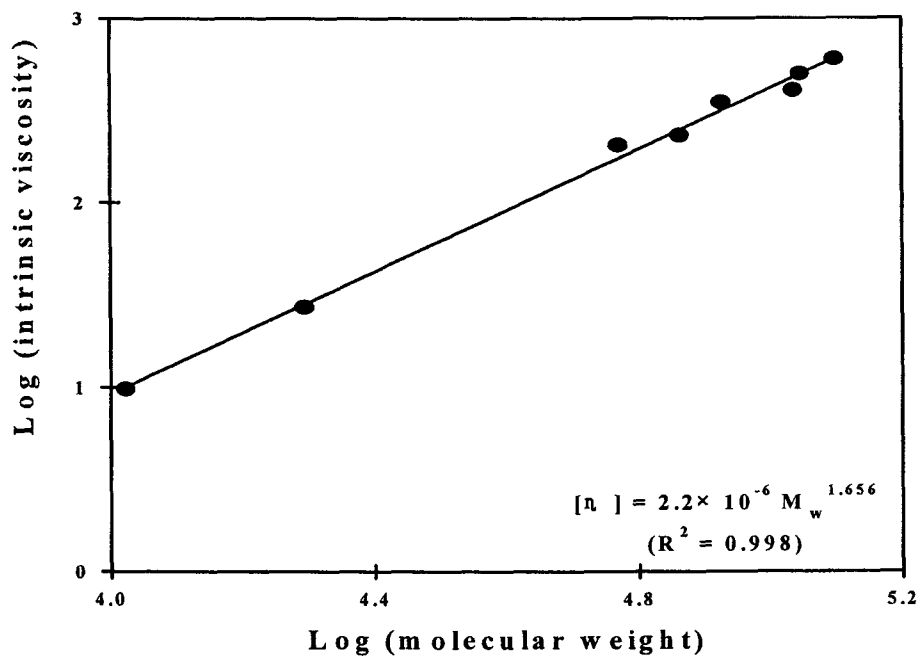


Fig. 9. Effects of molecular weight on the intrinsic viscosity of γ -irradiation alginate.

참 고 문 헌

- You, B.J. and Shim, J.M. Effects of processing conditions on physical properties of alginate film. *Korean J. Food Soc.* 32(5):582-586(1999)
- Kim, Y.Y. and Cho, Y.J. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. Changes in viscosity, average molecular weight and chemical structure of depolymerized alginat. *J. Korean Fish. Soc.* 33(4):325-330(2000)
- Chang, D.S., Cho, H.R., Lee, H.S., Pa가, M.Y. and Lim, S.M. Development of alginate acid hydrolysate as a natural food preservative for fish meat paste products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30(4):823-826(1998)
- Pyun, H.C. and Nho, Y.C. The utilization of radiation in polymer industries. *Polymer* 12(5):389-397 (1988)
- Yang, J.S. and Lee, S.R. Effects of ionizing radiation on the extraction yield and viscosity of alginate. *Korean J. Food Sci. Technol.* 9(3):194-198(1977)
- Vega, M.P., Lima, E.L. and Pinto, J.C. In-line monitoring of weight average molecular weight in solution polymerizations using intrinsic viscosity measurements. *Polymer.* 42: 3909-3914 (2001)
- Park, S.M. and Lee, K.T. Effects of pH and molecular weight on the intrinsic viscosity of carboxymethyl chitin. *J. Korean Fish. Soc.* 28(4), 487-491 (1995)
- Ikeda, A., Takemura, A. and Ono, H. Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers.* 42: 421-425 (2000)
- Marco, M., Mauro, M. and Fabiana, S. Rheological behaviour of aqueous dispersions of algal sodium alginates. *Journal of Food Engineering.* 28: 283-295 (1996)
- Kang, I.J., Byun, M.W., Yook, H.S., Bae, C.H., Lee, H.S., Kwon, J.H. and Chung, C.K. Production of modified srarches by gamma irradiation. *Radiation Physics Chem.* 54: 425-430 (1999)
- Humphreys, E.R. and Howells, G.R. Degradation of sodium alginate by v-irra- diation and by oxidative-reductive depolymerization. *Carbohydrate Research.* 16: 65-69 (1971)
- Toru, H. and Setsuko T., Detection of irradiation peppers by viscosity measurement at extremely high pH. *Radiat. Phys. Chem.* 48(1): 101-104 (1996)

- Naotsugu, N., Hiroshi, M., Fumio, Y. and Tamikazu, K. Radiation-induced degradation of sodium alginate. *Polymer Degradation and Stability*. 69: 279-285 (2000)
- Gura, E., Huckel, M. and Muller, P.J. Specific degradation of hyaluronic acid and its rheological properties. *Polymer Degradation and Stability*. 59: 297-302 (1998)
- Olav, S. Solution Properties of Alginate. *Carbohydrate Research*. 13: 359-372 (1970)
- Rong, H.C. and Min, L.T. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *Biological Macromolecules*. 23: 135-141 (1998)

제 7 절 유기산에 의한 알긴산의 저분자화

Degradation of alginate by organic acid hydrolysis

임 종 환 (목포대학교 식품공학과)

서 론

통상적인 algin은 alginic acid, sodium salt이고, 직선상의 다당류(glycurocid acid)인데, 이것은 *Phaeophyceae*科 갈색 해초에서 추출한다. 알긴산은 식품 산업에서 유화제, 증점 안정제, 청정제등 식품첨가물로 이용되어 왔고, 최근 기능성 식품으로서 각광을 받고 있다. 알긴산은 농도가 증가에 따라 고점성으로 인한 식품고유의 특성을 잃게 되는 등의 문제로 식품 산업에 이용하는데 있어서 제한을 받고 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해 고분자 알긴산을 저분자로 분해하는 연구가 활발히 진행 중이며, 국내에서는 염산(HCl)의 농도와 가열 온도를 달리하여 분해하는 산가수분해 방법이 보고된 바 있다(Lee 등, 1998). 그러나 산가수분해 방법은 생산현장에서 공정의 제어가 힘들고 탈염공정이 필요하게 되며, 염산의 잔존 위험성의 문제가 야기될 수 있는 단점 등이 있을 수 있어, 생산공정이 비교적 간단하고 식품으로 섭취할 때 안정성이 충족될 수 있는 분해 방법이 절실한 실정이다.

현재까지 polysaccharide를 분해하는 방법으로는 화학적 분해 방법, 효소 분해 방법 등이 주로 이용되었으나, 위에 언급했듯이 생산공정이 복잡하고 식품으로서 안정성이 결여되는 단점이 있다. 특히 알긴산은 1%의 수용액에서 pH가 6~8이고, 점성이 안정할 때는 pH가 6~9이고, 60°C 이상 가열하면 점도가 낮아진다는 특성을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 유기산의 종류와 농도, 그리고 분해 온도를 설정하여 알긴산을 저분자로 분해하고자 하였다.

연구재료 및 방법

재료

알긴산은 알긴산염 (alginic acid, sodium salt, Aldrich Chemical Co. Ltd)을 사용하였고, 분해에 사용된 유기산은 citric acid (Aldrich Chemical Co.), formic acid (Showa Co., Japan), ascorbic acid (Dae Heung Pharm. Co., Korea)이었고, 대조군으로 HCl (Duksan Pure Chemical. Co. LTD., Korea)을 사용하였다.

겉보기 점도(apparent viscosity) 측정

Citric acid의 pH 범위는 2~7로 하였다. 각 pH용액별로 5%의 알긴산 용액을 만든 후, 겉보기 점도는 Brookfield viscometer (LV DV-II⁺, Brookfield Eng. Lab. Inc., U.S.A.)로 측정하였고, 이 때 사용한 spindle은 No. 4이었다. 온도별 알긴산의 분해정도를 측정하기 위해서 pH 2의 알긴산 용액을 25-90℃의 온도 범위에서 교반한 후, incubator에서 25℃까지 냉각하여 겉보기 점도를 측정하였다.

유기산 종류(formic acid, ascorbic acid)를 달리하여 위와 같은 방법으로 겉보기 점도를 측정하였고, 대조군으로서는 HCl을 사용하였다.

탁도(turbidity) 측정

알긴산 1%(g/g) 수용액을 시료로 하여, pH 2~8 (citric acid solution)의 범위와 온도 22-85℃ (aqueous solution)의 범위의 혼탁도를 spectrophotometer (Shimadzu, UV-1201, Japan)를 이용하여 흡수 파장 500 nm에서 측정하였다.

색도(color) 측정

pH와 온도 변화에 대한 겉보기 점도를 측정한 후, colorimeter(Color Techno System. Co., Jc-801, Japan)를 이용하여 색도를 측정하였다. 측정값은 L*(명암), a*(적색도), b*(황색도)로서 나타내었다.

결과 및 고찰

pH, 온도 및 산의 종류에 따른 알긴산의 점도 변화

pH 변화와 온도 변화에 따른 알긴산의 분해정도를 알아보기 위해 측정한 겉보기 점도는 Fig. 1, 3과 같았다. Citric acid의 pH에 따른 알긴산의 겉보기 점도에서는 pH 7에서부터 pH 3까지의 변화는 13,360~16,400 cP의 범위를 보여주어 알긴산의 변화를 살펴볼 수 없었으나, pH 3이하의 급격한 변화가 일어남으로써 pH 2의 경우 5,320 cP의 겉보기 점도를 보여주었다(Fig. 1). 이는 알긴산이 pH 3이하에서 분해가 일어나는 것으로 사료되며, carboxyl 기를 가지고 있는 물질이 물에 녹아 수소이온을 끌어들이고, 일정 pH 이하에서 수소이온이 α-1, 4 결합을 공격하여 분자 사슬이 절단된다는 Park과 Lee (1995)의 연구결과에 부합되었다. 따라서 본 연구에서는 pH 2의 농도로 고정하여 알긴산의 분해

실험을 수행하였다.

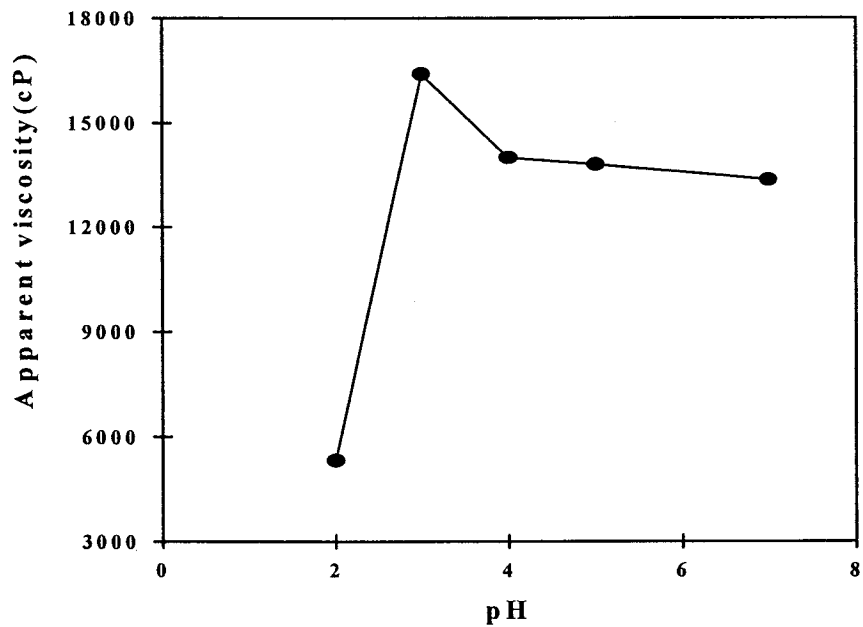


Fig. 1. Changes in apparent viscosity with different pH at 10 rpm.

온도에 따른 알긴산의 상태 변화를 살펴보기 위하여 25-90℃의 온도 범위에서 알긴산을 교반한 뒤 incubator에서 일정 온도(25℃)로 유지시킨 후, 겔보기 점도를 측정하였다(Fig. 2).

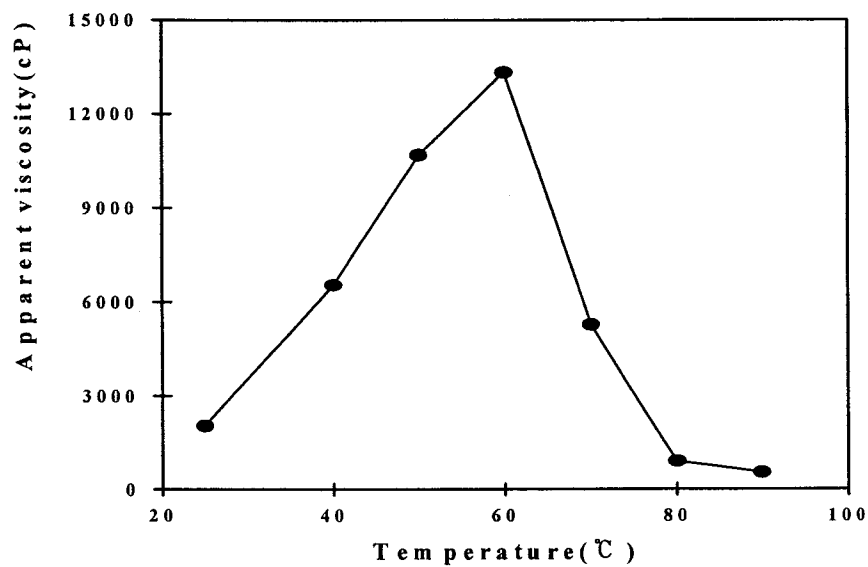


Fig. 2. Changes in apparent viscosity with different temperature at 10 rpm.

25℃에서 온도가 증가할수록 알긴산의 겔보기 점도는 상대적으로 높아졌으나, 60℃를 정점으로 하여 겔보기 점도가 떨어짐을 확인할 수 있었다.

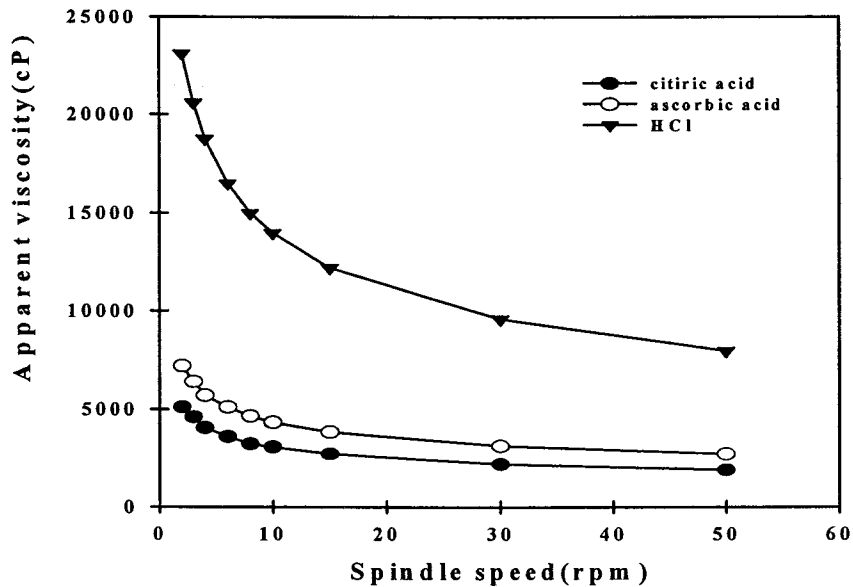


Fig. 3. Changes in apparent viscosity with different organic acid.

알긴산을 pH 2의 유기산 종류 (citric acid, ascorbic acid, formic acid)에 따라서 분해한 결과는 HCl (pH 2)의 대조군과 비교하여 Fig. 12에 나타내었다. 동일한 pH의 범위에서 HCl 보다 ascorbic acid와 citric acid의 겔보기 점도가 더 낮음을 보여주었다. Formic acid의 경우 교반 후 알긴산이 침전되는 현상을 보여주어 본 실험 결과에는 나타낼 수가 없었다.

pH와 온도에 따른 혼탁도 변화

Turbidity(혼탁도)는 각 유기산의 pH와 온도 변화에 따른 알긴산의의 성상 변화를 살펴 보기 위해서 측정하였다. 순수한 물을 통과하는 빛의 양을 100T%로 설정되었을 때 Fig. 4.7-1의 pH의 변화에 따른 겔보기 점도의 변화와 유사하게 혼탁도는 pH 3까지는 40-45T% 값을 유지하였지만, 그 이후부터는 급격히 감소하여 16T%까지 이르는 것을 볼 수가 있었다(Fig. 4). 온도에 따른 혼탁도 T%값은 22-85℃의 온도 범위에서 42-53%의 증가하는 경향을 보이지만, 온도에 대한 알긴산의 turbidity의 변화는 거의 없는 것으로 사료된다.

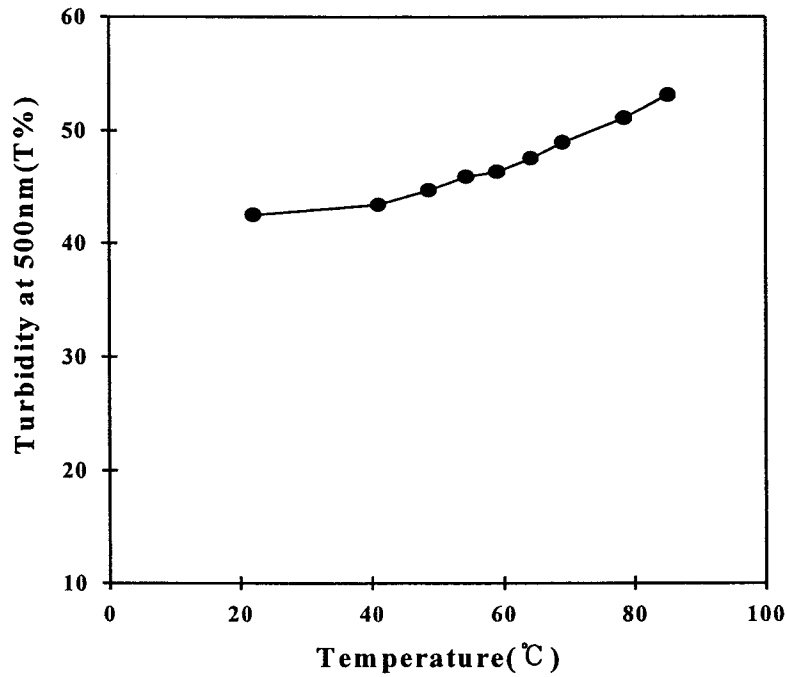


Fig. 5. Turbidity of 1%(g/g) alginate solution with different temperature.

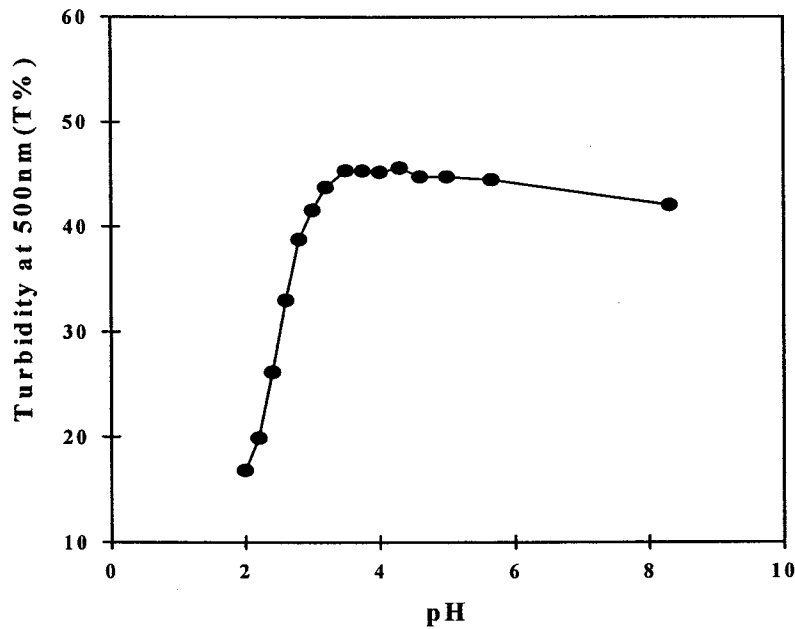


Fig. 4. Turbidity of 1%(g/g) alginate solution with different pH.

알긴산의 색도 변화

pH와 온도 변화에 따른 알긴산의 색도의 변화를 관찰하기 위해 색차계를 이용하여 L^* , a^* , b^* 값을 나타내었다(Table 1, 2). pH의 변화에 따른 색의 변화에서는 밝고 어둠을 나타내는 L^* 에서 30.29~41.82의 범위를 보여주어 pH가 감소함에 따라 밝아졌고, 적색도 a^*

와 황색도 b*에서는 차이를 보여주지 않았다. 온도 변화에 따른 알긴산의 색도 변화에서는 38.86~42.66의 L* 변화를 보여주었으나, pH에 비하여 상대적으로 차이를 보였다 할 수 없었으며, a*과 b* 역시 유사한 결과를 보여주었다.

Table 1. Color of alginate solution in various pH conditions.

pH	L*	a*	b*
2	41.82	-3.37	8.24
3	33.47	-4.03	7.40
4	31.28	-3.67	7.51
5	31.55	-3.76	7.98
control	30.29	-3.96	8.15

Table 2. Color of alginate solution in various temperature conditions.

Temp.(°C)	L*	a*	b*
25	42.66	-4.46	6.20
40	40.62	-4.20	6.42
50	41.42	-3.77	6.83
60	40.61	-3.93	6.97
70	37.22	-4.41	5.22
80	37.43	-4.13	5.66
90	38.86	-3.78	6.72

유기산 첨가에 따른 알긴산의 분자량

기존의 산에 의한 알긴산의 저분자화의 단점인 탈염과정과 강산의 잔존 여부를 보완하기 위해 유기산에 의한 알긴산의 분자량 변화를 살펴보았다(Table 3). 우선 citric acid를 이용한 pH 별 알긴산의 분자량 변화를 보면, pH 3 이하에서 무처리 알긴산의 분자량보다 높은 수치의 결과 나왔고, pH 4에서는 64,636 Da로서 감마선 조사량 8 - 10 kGy의 저분자 효과 있는 것으로 나타났다. Citric acid를 사용한 pH 2 조건하에서 온도의 저분자 효과는 40°C에서 교반 했을 경우 205,797 Da, 60°C에서 164,196 Da, 90°C에서 30,491 Da의 분자량 결과가 나옴으로서, 일정 온도 이상으로 가열 했을 경우에 저분자 효과 있음을 알 수 있었다. 낮은 온도에서의 분자량 증가는 일반적인 gum류의 특성인 일정 온도에서 가열한 후 냉각 시, 분자가 응집되어 gel화 되어 분자량이 증가하는 것으로 판단된다(Alan, 1997). 유기산 종류(ascorbic acid, formic acid)를 달리한 알긴산의 분자량 변화를 살펴보면, ascorbic acid가 98,784 Da으로 저분자 효과가 가장 컸으며, 이는 방사선 조사량 6-4 kGy의 효과를 보이는 것으로 나타났다. 대조군으로 사용한 HCl은 저분자 효과

가 저조하였으며, 앞선 pH 별 효과와 같이 citric acid는 분자량이 커지는 결과가 나왔다. Formic acid는 교반 과정 중 알긴산이 침전되는 현상을 보여 분자량을 측정할 수 없었다. 유기산 첨가에 따른 알긴산의 물리적, 화학적 특성에 관한 연구는 현재 사용중인 산가수 분해 방법을 보완할 수 있는 것으로 사료된다.

Table 3. Effects of molecular weight of alginate according to different pH, temperature and organic acid.

	pH			Temperature			Organic acid		
	pH 2	pH 3	pH 4	40℃	60℃	90℃	HCl	ascorbic acid	citric acid
Molecular weight (Dalton)	193,658	139,620	64,636	205,797	164,196	30,491	138,212	98,784	183,558

참고문헌

1. Alan, I. Thickening and Gelling for Food. Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall. U.K. pp.1-21 (1997)
2. Gura, E., Huckel, M. and Muller, P.J. Specific degradation of hyaluronic acid and its rheological properties. *Polymer Degradation and Stability*. 59: 297-302 (1998)
3. Humphreys, E.R. and Howells, G.R. Degradation of sodium alginate by γ -irradiation and by oxidative-reductive depolymerization. *Carbohydrate Research*. 16: 65-69 (1970)
- Ikeda, A., Takemura, A. and Ono, H. Preparation of low-molecular weight alginic acid by acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*. 42: 421-425 (2000)
4. Kang, I.J., Byun, M.W., Yook, H.S., Bae, C.H., Lee, H.S., Kwon, J.H. and Chung, C.K. Production of modified starches by gamma irradiation. *Radiation Physics Chem.* 54: 425-430 (1999)
5. Marco, M., Mauro, M. and Fabiana, S. Rheological behaviour of aqueous dispersions of algal sodium alginates. *Journal of Food Engineering*. 28: 283-295 (1996)
6. Olav, S. Solution Properties of Alginate. *Carbohydrate Research*. 13: 359-372 (1970)
7. Park, S.M. and Lee, K.T. Effects of pH and molecular weight on the intrinsic viscosity of carboxymethyl chitin. *J. Korean Fish. Soc.* 28(4), 487-491 (1995)

8. Rong, H.C. and Min, L.T. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *Biological Macromolecules*. 23: 135-141 (1998)
9. Toru, H. and Setsuko T., Detection of irradiation peppers by viscosity measurement at extremely high pH. *Radiat. Phys. Chem.* 48(1): 101-104 (1996)
10. Vega, M.P., Lima, E.L. and Pinto, J.C. In-line monitoring of weight average molecular weight in solution polymerizations using intrinsic viscosity measurements. *Polymer*. 42: 3909-3914 (2001)

제 8 절 방사선 조사에 의한 분말상태 알긴산의 저분자

임 중 환 (목포대학교 식품공학과)

서 론

알긴산은 α -L-guluronic acid와 β -D-mannuronic acid가 1-4 결합으로 구성된 물질로서, 미역이나 다시마 등의 갈조류에 함유되어 있다(Mori 등, 1981; Nishimune 등, 1991). 이러한 알긴산은 고분자 다당류로 분자량, 결합순서와 방법에 따른 구조의 다양성에 따라 겔 형성능력, 점도 증진능력, 수분 흡수능력, 결합능력, 점착능력, 유희능력 및 필름 형성능력 등의 광범위한 특성을 가져 식품, 화장품, 제지 및 의약품 등 여러 분야의 산업적 응용에 검토되어 왔다(Kennedy 등, 1984; McNeely와 Pettitt, 1973). 또한 최근에는 알긴산의 난소화성 특성을 부각시켜 식이 섬유로써 변비 치유, 비만 억제, 항암작용 및 인체 내 독성 발취 억제효과도 보고된 바 있다(Park 등, 1994).

현재까지 많이 사용되는 고분자의 분해방법으로는 가수분해와 화학적 분해 그리고 효소분해법 등이 있다. Kim과 Cho (2000)는 가열가수분해의 방법으로 저분자의 알긴산의 점도, 평균분자량 및 분자구조의 변화를 살펴보았는데, 가열에 의한 점도와 평균분자량 사이에 밀접한 상관관계를 나타내었고, Ikeda 등 (2000)은 phosphoric acid를 이용하여 분해한 뒤 시간에 따른 수율과 분자량을 나타내어 효율성을 강조하였다. 그러나 이 모든 방법은 분해시간, pH, 화학약품이나 효소의 투여량 등 여러 가지 조건들을 함유하고 있어 균일한 분자량의 알긴산을 얻기는 힘들고 공정이 복잡하여 산업적 측면에서 이용하기에는 힘든 실정이다. 이에 좀더 간편하고 원하는 분자량을 얻을 수 있는 방법인 감마선 조사방법이 제시되었다. 감마선 방법은 전자선 발생 자체가 전원에 의해서 조절이 가능하여 공정제어, 신속·정확성, 에너지 효율성, 소비자 수용성 등의 측면에 장점이 있어 활발한 연구활동이 이루어지고 있다. 보통 감마선은 살균처리를 위해서 사용되는데, Kang 등 (1999)은 전분에 감마선을 조사가 안정성이 높고 저분자인 전분을 만들 수 있다고 하였다. 알긴산에서는 산화-환원 depolymerization과 감마선 조사의 방법이 Humphreys와 Howells (1971)에 의해서 식품 첨가물로서 사용이 가능하다고 보고되었다.

감마선은 분자 중합체를 이루는 결합에 자유 라디칼을 형성하여 결합을 끊어주는 역할을 하는데, 용액의 물분자가 이 작용의 촉매로 작용하는 것으로 알려져 있어, 알긴산 분말 형태보다 용액에 방사선을 조사하는 방법으로 이루어져 왔다(Molins, 2001; Naotsugu

등., 2000). 그러나 용액 상태의 알긴산에 감마선을 조사하는 분해 방법은 분해 효과가 좋다는 장점이 있지만, 감마선 조사 시의 공기 조성에 따라 품질변화가 일어날 수 있다는 단점도 가지고 있다.

따라서, 감마선 조사법을 이용한 알긴산의 저분자화에 있어서, 알긴산의 용액 상태와 분말 상태에서의 감마선 조사 결과를 비교하여 감마선량에 따른 알긴산 저분자화 효과를 정립하고 그 효율성의 조사할 필요가 있다. 본 연구에서는 기존의 수용액 상태에서의 감마선 조사의 복잡한 공정(Humphreys 등, 1970)을 피하고자, 수용액 상태가 아닌 건조 분말 상태에서 감마선을 조사하여 그 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 알긴산은 알긴산염 (Alginic acid, sodium salt, Aldrich Chemical Co.)을 사용하였다.

감마선 조사

방사선 조사는 한국원자력 연구소에 있는 감마선 조사시설(선원: Co-60, 10만 Ci)을 이용하여 실온에서 시간당 일정 선량률로 2-100 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였으며, 용액 상태의 시료는 동결건조 (SFDSF 12, Sam-Won Freezing Engineering Co., Korea)한 후 30 mesh 이하로 분말화하여 사용하였다.

고유점도 측정

25℃로 유지한 항온기에 capillary 점도계 (Cannon Instrument Co. No. 300, U.S.A)를 설치하고 방사선 조사를 거친 시료의 비점도 (specific viscosity: η_{sp})를 측정하여 고유점도를 구하였다(Vega 등, 2001; Park과 Lee, 1995).

분자량 측정

감마선 조사를 거친 알긴산 시료는 Gel Permeation Chromatography를 통해 분자량 (M.W.)을 측정하였다. 시료는 0.1 N NaNO₃의 용매에 녹여 0.3%로 하고 0.45 μ l syringe filter에 filtration 후 주사하였다. GPC의 detector, flow rate, injection volume은 각각 RI750F, 1 ml/min, 100 μ l로 하였다. Column은 ultrahydrogel linear(6-13 μ m, 7.8×300 mm,

Waters, U.S.A.)를 ultrahydrogel guard column을 연결하여 사용하였다. 분자량 표준 곡선은 PEG(Polyethylene glycol, Showa Chemicals. INC. Japan)를 분자량 표준품으로 하여 나타내었다.

Mark-Houwink Equation

감마선 조사에 의한 알긴산의 저분자화 정도는 polymer의 분자량 (M_w)과 intrinsic viscosity ($[\eta]$)와의 관계를 나타낸 Mark-Houwink 식을 이용하였다(Vega 등, 2001).

$$[\eta] = KM_w^a$$

여기서 $[\eta]$ 는 intrinsic viscosity이고, k , a 는 intrinsic viscosity와 분자량의 관계에서 결정되는 상수값이다.

결과 및 고찰

감마선량에 따른 고유점도의 변화

감마선 조사량에 따른 알긴산의 고유점도($[\eta]$)는 상대점도(η_{re})와 비점도(η_{sp})를 거쳐 산출할 수 있었다. 감마선량에 따른 $\log \eta_{sp}/C$ 값을 확인함으로써 조사량에 따라 고유점도가 감소함을 예측할 수 있었고, 100 kGy의 감마선이 조사된 알긴산 시료를 제외하고 용액 상태에서 감마선을 조사한 시료와 분말 상태에서 감마선을 조사한 시료 모두 $\log \eta_{sp}/C$ 값이 높은 정확성($R^2=0.964\sim0.999$)을 보였다(Fig.1). 감마선 조사 후의 알긴산 시료의 고유점도 변화 결과는 Fig. 2와 같다. 용액 상태에서 감마선을 조사한 알긴산 시료는 선량이 2 kGy 조사되었을 때 고유점도가 500(g/g)이었고, 10 kGy 조사되었을 때 200(g/g)으로, 10 kGy 이하에서는 급격히 감소하였으며, 10 kGy 이상의 감마선량에서는 완만히 감소하는 것을 볼 수 있었고, 이에 반해 분말 상태에서 감마선을 조사한 시료는 용액 상태의 시료보다 고유점도의 변화가 크지 못했다. 그러나 두 시료 모두의 고유점도 변화는 10 kGy 이하의 저선량에서 급격히 감소하고, 10 kGy 이상의 고선량에서는 그 변화가 완만한 경향을 보여 주었다. 또한 감마선 조사량과 알긴산의 고유점도와는 일정한 관계가 있음을 알 수 있었고 Fig. 3에 직선화시켜 나타낼 수 있었다. 그 결과 알긴산 용액과 분말 상태에 있어서 모두 감마선 조사량과 고유점도는 일정한 관계가 있음을 알 수 있었고, 그 관계는 매우 연관성($R^2=0.956\sim0.979$)이 높았다. 감마선 조사량의 증가에 따른

고유점도의 감소는 전분을 이용한 Kang 등(1999)의 연구결과와 같은 경향을 나타내었고, 또한 이 같은 방사선 조사선량과 점도와의 관계를 이용한 농산물의 방사선 검지에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Toru와 Setsuko, 1996).

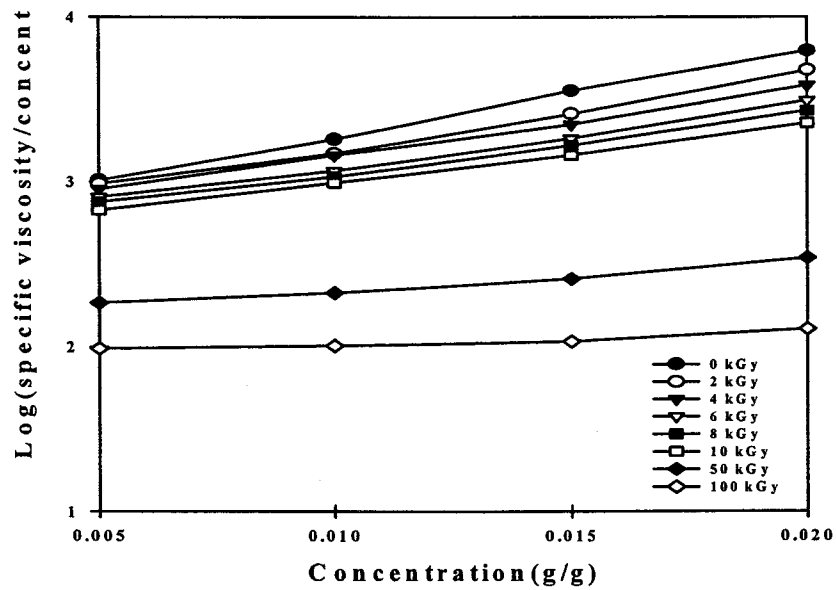


Fig. 1. Changes in reduced viscosity of alginate powder γ -irradiation at different doses.

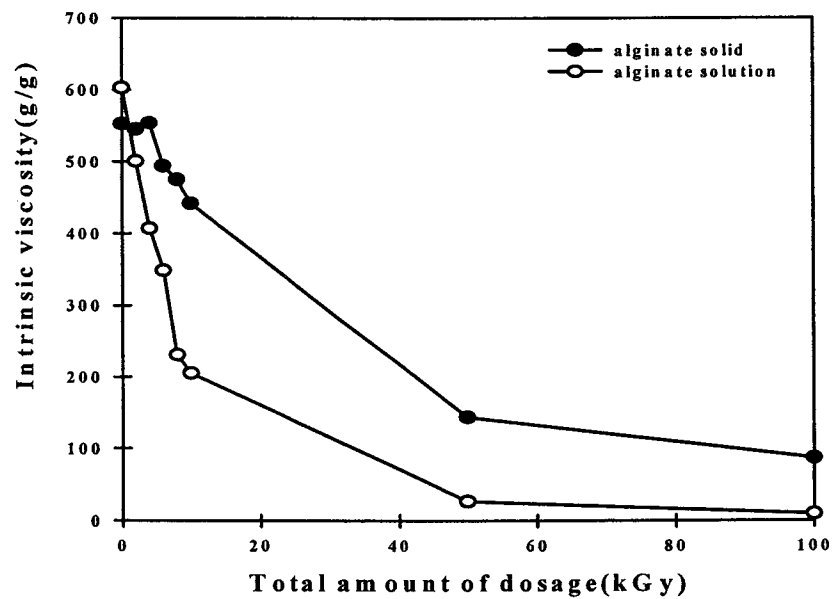


Fig. 2. Changes in intrinsic viscosity of alginate solution and solid form treated with γ -irradiation at different doses.

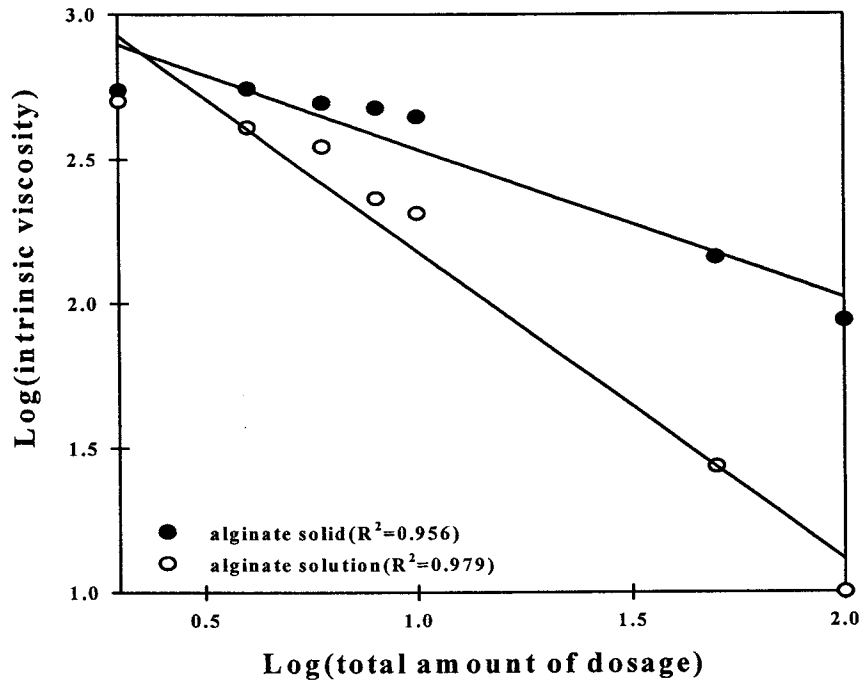


Fig. 3. Linearized plot between intrinsic viscosity and γ -irradiation dose rate.

방사선량에 따른 분자량의 변화

감마선 조사량에 따른 알긴산의 분자량 변화를 측정하기 위해 GPC를 이용하여 분자량을 측정하였다. 분자량 계산은 PEG(Polyethylene glycol) 표준 곡선(M.W.:1,000~400,000)을 통해 산출하였다. 감마선 조사량에 따른 알긴산의 분자량의 변화는 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 알긴산의 용액 상태에서 감마선을 조사한 시료는 2 kGy 조사 시에 알긴산의 분자량이 111,000 Da, 10 kGy 조사 시에는 58,000 Da으로 10 kGy 이하의 조사량에서는 분자량이 급격히 감소하고, 10 kGy 이상의 조사량부터는 서서히 감소함을 보여주었고, 분말 상태에서 감마선을 조사한 시료는 용액 상태의 시료와 비교하여 10 kGy 이하의 비교적 저선량 조사 시에는 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 10 kGy 이상의 고선량에서는 용액 상태의 시료보다 분자량 감소가 둔화되는 것을 볼 수 있었다. Fig. 5는 감마선 조사량에 따른 분자량의 변화를 직선화하여 나타내었고, 그 결과는 분말 상태에서 감마선을 조사한 시료보다 용액 상태에서 감마선을 조사한 시료가 저분자화 효과가 좋다는 결론을 얻을 수 있었고, 그 원인은 Naotsugu 등(2000)의 연구결과와 같이 용액 상태의 물이 감마선이 조사 될 때 일어나는 자유 라디칼 형태에 촉매제로 사용되어 분해가 빠르게 일어났다고 판단된다. 알긴산의 분자량이 감마선 조사량의 증가에 따라 감소하는 본 실험의 결과는 Toru와 Setsuko(1996)의 방사선을 이용한 후추 점성 변화의 연구결과와 유사점을 보였다.

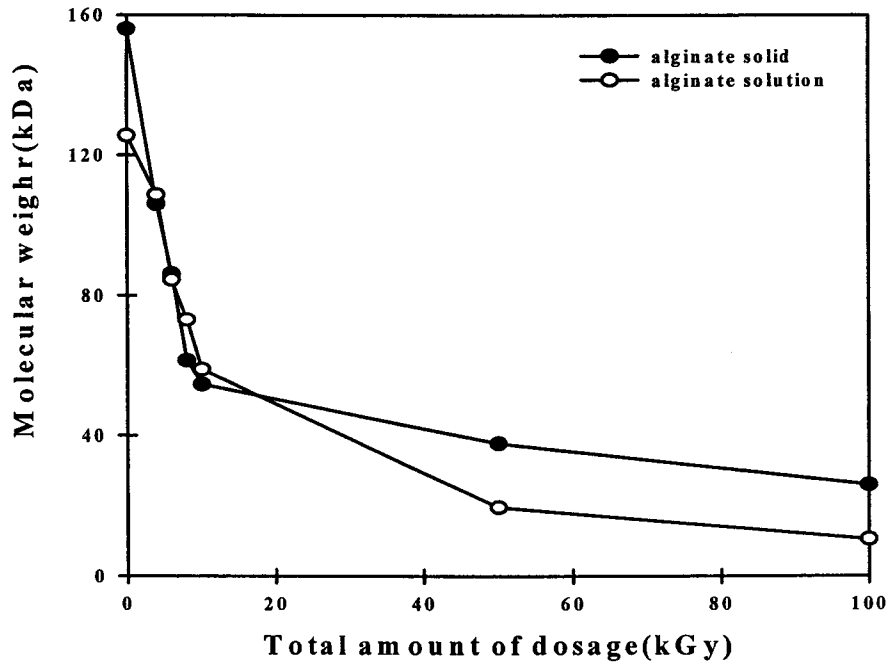


Fig. 4. Effects of γ -ray dose rate on the molecular weight of alginate.

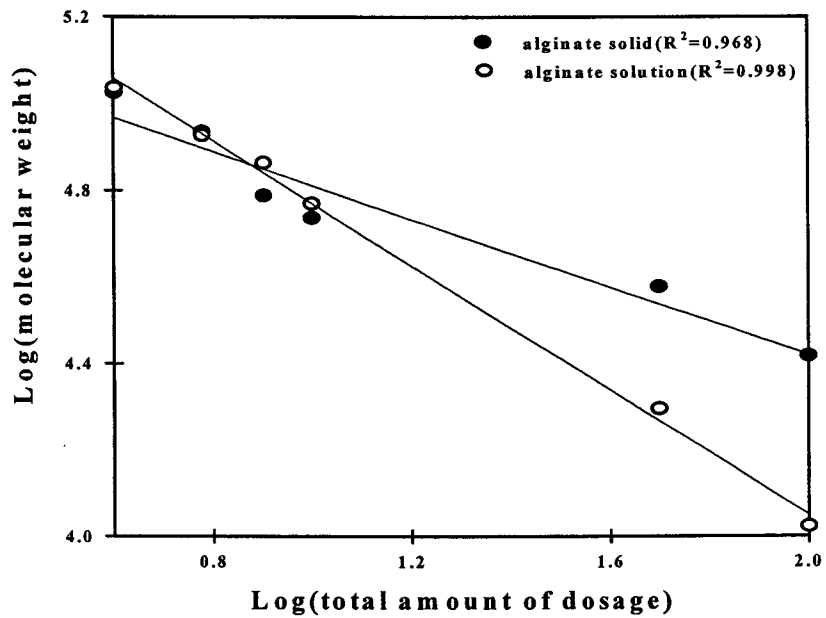


Fig. 5. Linearized plot between molecular weight and γ -irradiation dose rate.

알긴산의 고유점도와 분자량

감마선 조사 후, 알긴산의 분자량(M.W.)과 고유점도($[\eta]$)의 변화는 Fig. 6에 직선화시켜 나타내었으며, 분자량이 증가함에 따라 고유점도는 감소하여, 키토산을 이용한 Rong와

Min(1998)의 연구결과와 유사한 경향을 보였다. 알긴산을 용액 상태에서 감마선을 조사한 결과는 $[\eta] = 0.23 \times 10^{-5} \text{ Mw}^{1.60}$ ($R^2=0.994$)였고, 분말 상태에 감마선을 조사한 결과는 $[\eta] = 6.86 \times 10^{-5} \text{ Mw}^{1.39}$ ($R^2=0.925$)였다.

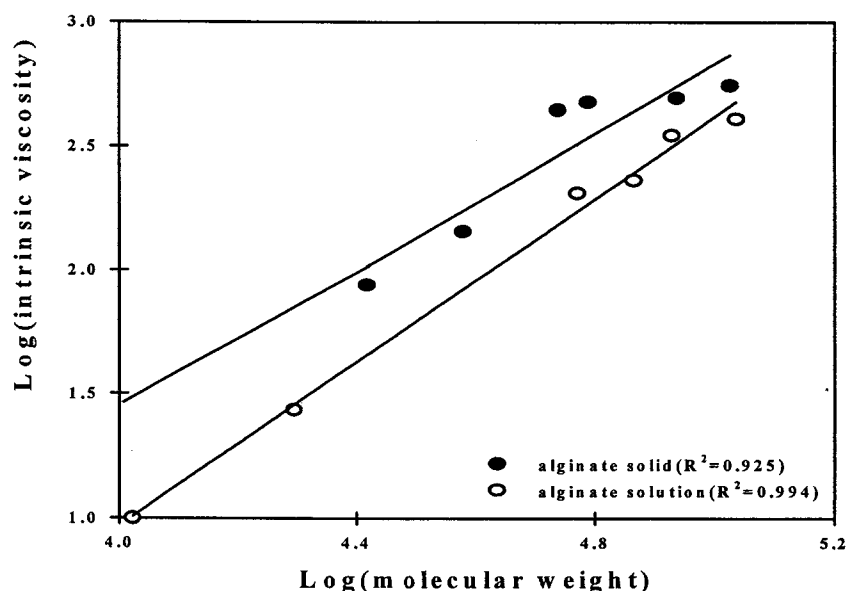


Fig. 6. Effects of the molecular weight on the intrinsic viscosity of γ -irradiated alginate solution and solid form.

참고문헌

1. Humphreys, E.R. and Howells, G.R. Degradation of sodium alginate by γ -irradiation and by oxidative-reductive depolymerization. *Carbohydrate Research*. 16: 65-69 (1971)
2. Kang, I.J., Byun, M.W., Yook, H.S., Bae, C.H., Lee, H.S., Kwon, J.H. and Chung, C.K. Production of modified starches by gamma irradiation. *Radiation Physics Chem.* 54: 425-430 (1999)
3. Naotsugu, N., Hiroshi, M., Fumio, Y. and Tamikazu, K. Radiation-induced degradation of sodium alginate. *Polymer Degradation and Stability*. 69: 279-285 (2000)
4. Park, S.M. and Lee, K.T. Effects of pH and molecular weight on the intrinsic viscosity of carboxymethyl chitin. *J. Korean Fish. Soc.* 28(4), 487-491 (1995)
5. Rong, H.C. and Min, L.T. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution. *Biological Macromolecules*. 23: 135-141 (1998)

6. Toru, H. and Setsuko T., Detection of irradiation peppers by viscosity measurement at extremely high pH. *Radiat. Phys. Chem.* 48(1): 101-104 (1996)
7. Vega, M.P., Lima, E.L. and Pinto, J.C. In-line monitoring of weight average molecular weight in solution polymerizations using intrinsic viscosity measurements. *Polymer.* 42: 3909-3914 (2001)

제 9 절 알긴산을 이용한 어유의 미세 캡슐화

임 중 환 (목포대학교 식품공학과)

서 론

미세캡슐화 기술은 고체, 액체, 기체상의 물질을 특정 조건하에서 일정한 속도로 방출할 수 있도록 포장하는 기술로서 식품, 제약, 섬유 산업 등에서 이용되고 있다. 캡슐을 제조하는 방법은 내부 목적 물질에 따라 압출 성형법, 분무 건조법, 동결 건조법, fluidized bed, emulsion method 등(Gibbs 등, 1999; Henrist 등, 1999; Murillo 등, 2002; Heinzelmann과 Franke, 1999; Hildebrand, 2000)이 있다. 캡슐은 내부물질과 피복물질로 구성되고 모양은 물질 구조에 따라 크게 영향을 받는다. 피복물질은 내부물질의 방출을 억제하고 반응성이 작아야 하며 외부 환경으로부터 내부물질을 보호해야 한다. 따라서 내부물질에 따라 사용되는 피복물질의 선택이 달라지며 현재 gum arabic, dextrin, maltodextrin, starch, 알긴산 등이 주로 사용되고 있다. 특히 알긴산에 칼슘이온을 첨가하면 열에 안정한 gel을 형성하고 칼슘이온이 내부로 확산되어 경화된다. 이 작용에 의해 내부물질을 포집하며 점도가 높은 고지방 식품을 캡슐화할 수 있다(Gibbs 등, 1999; Alan, 1997).

알긴산에 칼슘이온을 첨가하면 열에 안정한 gel을 형성하고 칼슘이온이 내부로 확산되어 경화된다. 이 작용에 의해 내부물질을 포집하며 점도가 높은 고지방 식품을 캡슐화할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 열, 온도 등 정제어유의 산패에 영향을 미치는 제조 환경을 최소화하기 위해, 유화법을 이용하여 정제어유, 알긴산, 유화제, 경화제의 농도를 달리한 캡슐을 제조하고 동시에 감마선에 의해 저분자화된 알긴산의 피복물질로서의 적용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

캡슐화 실험에 사용된 피막 물질로 알긴산염(Alginate acid, sodium salt, Hyundai Chemical Co. LTD., Korea)을 사용하였고 내부 물질로 정제어유 (DHA 30.3%, EPA 7.1%, Maruha Co. LTD., Japan), 유화제로 span-80 (Duksan Chemical Co. LTD.,

Korea)을 사용하였다. 그 밖에 시약으로 copper(II) acetate (Junsei Chemical Co. LTD., Japan), oleic acid (Showa Chemical Co., Japan), n-hexane, ethanol (Daejung Chemical Co. LTD., Korea)을 사용하였다.

캡슐의 제조

제조과정 중에 어유에 손상을 줄 수 있는 유기용매나 열을 사용하지 않기 위해 유화법 (Jiang 등, 2001)을 이용하여 정제어유가 함유된 알긴산 캡슐을 제조하였다. 알긴산 용액과 정제어유, 유화제를 각각 농도를 달리한 용액을 homogenizer로 3분 동안 10,500 rpm에서 교반하여 유화액을 제조하였다. 이 유화액을 교반기로 1,200 rpm을 유지시키며 CaCl₂ 용액 10 g을 1.4 mL/min의 속도로 첨가하고, 상온에서 4시간 동안 교반하면서 경화시켰다. 이 용액을 원심분리(10,000×G, 30min)하여 상층액과 침전물을 분리하고 침전물은 에탄올 20mL로 각각 2회씩 세척하고, 동결건조하여 냉동(-20℃) 보관하였다. 미세 캡슐의 제조 공정은 Fig. 1에 요약하여 나타내었으며, 그 제조 조건은 Table 1과 같다.

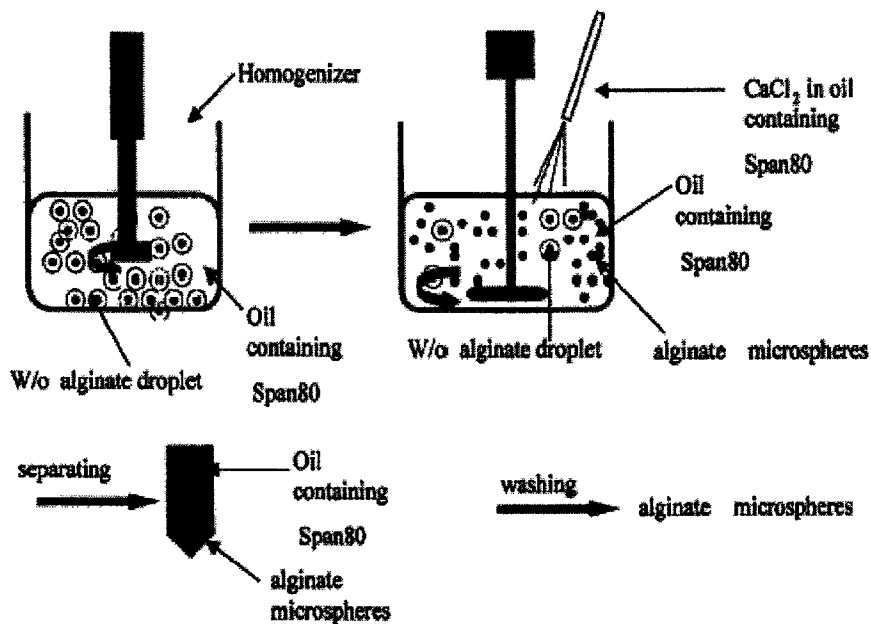


Fig. 1. Emulsion method for the preparation of alginate microspheres.

Table 1. Process conditions of fish oil microspheres prepared by emulsion method.

Sample No.	Concentration of CaCl ₂ (% w/w)	Concentration of wall material (% w/w)	Concentration of core material (% w/w)	Concentration of Span 80 (% w/w)
1	0.25	1.25	1.00	1.00
2	0.50	1.25	1.00	1.00
3	0.75	1.25	1.00	1.00
4	1.00	1.25	1.00	1.00
5	1.00	0.75	1.00	1.00
6	1.00	1.00	1.00	1.00
7	1.00	1.25	1.00	1.00
8	1.00	1.50	1.00	1.00
9	1.00	1.25	0.25	1.00
10	1.00	1.25	0.50	1.00
11	1.00	1.25	0.75	1.00
12	1.00	1.25	1.00	1.00
13	1.00	1.25	1.00	0.75
14	1.00	1.25	1.00	1.00
15	1.00	1.25	1.00	1.25
16	1.00	1.25	1.00	1.50

캡슐의 수율 측정

수율 측정 방법은 Chang과 Ha(2000)의 방법을 변형하여 측정하였다. 미세 캡슐의 수율을 측정하기 위하여 정제어유에 oleic acid를 20%(w/w) 농도로 첨가하여 이를 내부 물질로 하였다. 캡슐 공정을 종료시킨 후, 원심분리를 통한 상층액에 n-hexane을 첨가하여 10초간 진탕하고 1시간 동안 정치시켜 캡슐화에 참여하지 않은 지방산을 완전히 추출하였다. 추출액에 3%(w/v) copper(II) acetate 용액을 첨가하여 발색시킨 후, UV-spectrophotometer(220S, Hitachi Co., Japan)로 665nm에서 흡광도를 측정하여 수율을 계산하였다. 미세 캡슐 공정 중 캡슐화에 참여하지 못하고 노출되는 지방산을 정량하기 위하여 표준곡선을 다음과 같이 작성하였다. 정제어유와 oleic acid를 8:2(w/w)로 혼합한 용액을 농도별 (0.1-0.4 %, w/w)로 제조하여 n-hexane을 전체 부피의 1/2을 첨가 후 1시간 동안 정치시켜 지방산을 완전히 추출하고, 3% copper(II) acetate 용액으로 발색시켜 665 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선을 작성하였으며, 수율 측정 방법은 Fig. 2에 요약하였다.

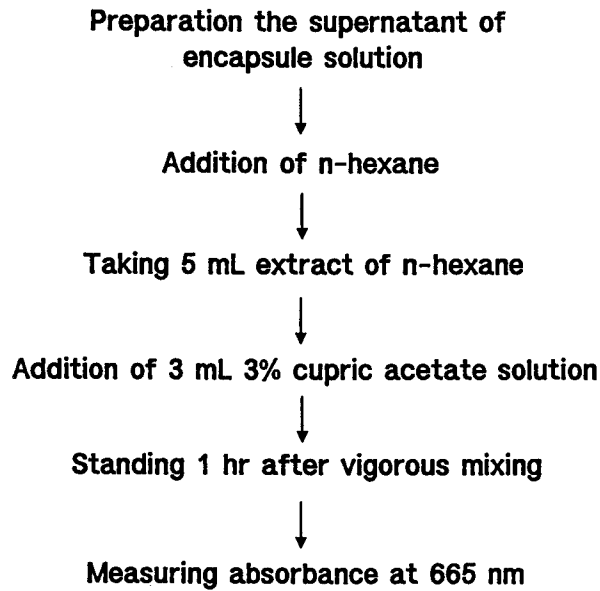


Fig. 2. Schematic diagram for the analysis of encapsulation yield by 3% copper(II) acetate colorization.

Chang과 Ha(2000)은 반응표면분석법을 통한 캡슐화 연구에서 내부물질과 피복물질의 비, 분산매의 온도, 유화제의 농도 등 캡슐화 제조 조건을 최적화 하였고, 이 과정에서 copper(II) acetate를 이용한 정제어유의 간접적인 정량 방법과 gas chromatography에 의한 직접적인 측정 방법과의 비교를 통하여 높은 상관관계($R^2=0.997$)가 있음을 보고하였다.

결과 및 고찰

캡슐의 수율 측정

지방산의 정량 및 분석에는 주로 gas chromatography(Laakso 등, 2002)와 high performance liquid chromatography(Kotecka 등, 2003) 방법이 사용된다. 본 실험의 지방산 정량에 사용된 방법은 Chang과 Ha(2000)의 방법을 응용한 것으로 정제어유와 일정한 비율로 섞여 있는 oleic acid를 spectrophotometer를 이용하여 간접적으로 정량하였다. 농도별로 제조한 내부물질의 용액에 3%(w/v) copper(II) acetate 용액을 첨가하여 발색을 시킨 후, spectrophotometer를 이용한 200-900 nm 범위의 scanning (Fig. 3)을 통해 내부물질의 최대 흡수 파장(665 nm)을 밝히고, 665 nm의 파장에서 농도별 내부물질의 흡광도를 측정하여 표준곡선 (Fig. 4)을 나타내었다.

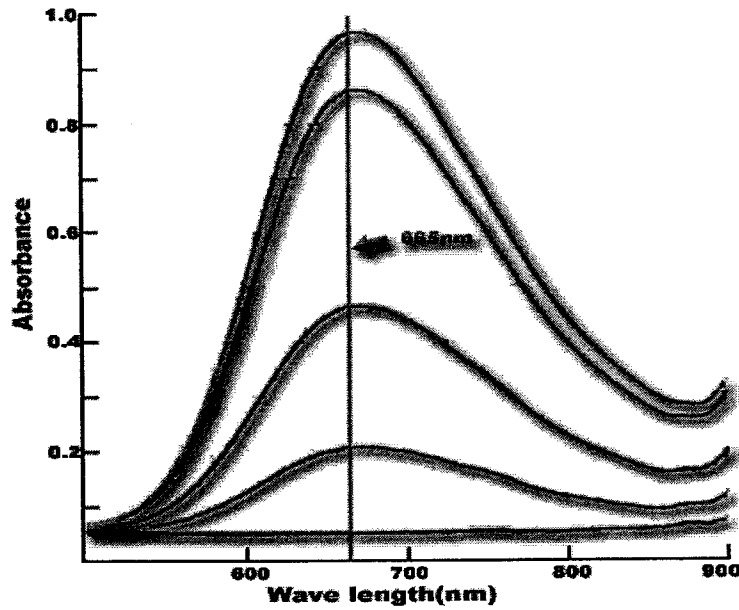


Fig. 3. Scanning curve for the determination maximum absorption wavelength of core material.

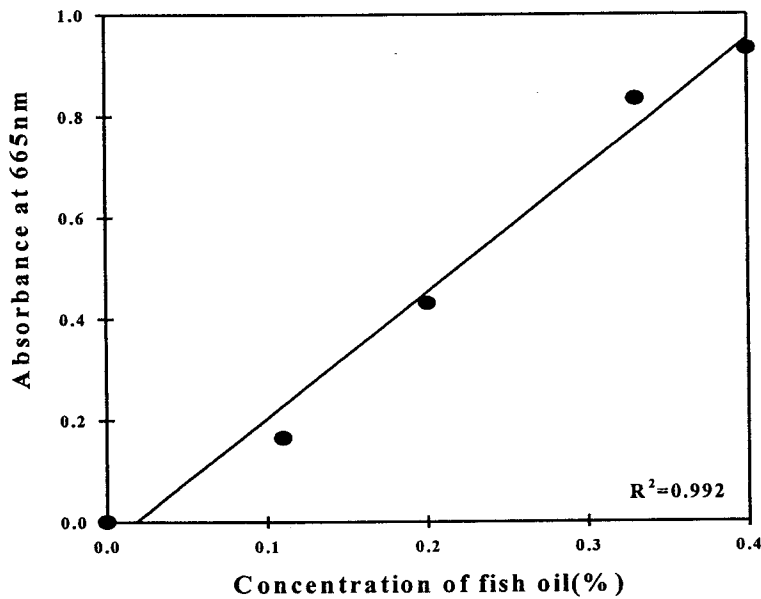


Fig. 4. Standard curve for the calculation of the yield of micro-encapsulation by 3% copper(II) acetate colorization.

CaCl₂ 농도에 따른 수율의 변화

CaCl₂는 캡슐화 과정에서 일어나는 알긴산의 gel화 반응에 경화제로 작용한다. 알긴산 나트륨 용액 내에 CaCl₂를 혼합하게 되면 알긴산 분자 내의 카르복실기에서 Na⁺ 이온이 떨어져 나오며 Ca²⁺ 이온이 두개의 카르복실기에 결합을 하여 알긴산 분자 구조를 망상

구조로 만든 후, 시간이 경과함에 따라 알긴산 분자내로 확산되어 단단한 gel 구조를 형성하게 된다(Ana 등, 1999).

CaCl₂ 농도에 따른 캡슐의 수율 변화를 살펴보기 위해 알긴산과 내부물질 그리고 유화제의 농도를 각각 1.25%, 1.00%, 1.00%(w/w)로 고정하고 CaCl₂의 농도를 0.25-1.00%(w/w)의 범위에서 캡슐을 제조하였다. CaCl₂ 농도에 따른 캡슐의 수율 변화는 Fig. 5와 같다. 0.25%의 농도에서 90%의 수율을 나타냈으며 0.50-1.00%의 농도에서는 94%의 일정한 수율을 보였다. Ana 등(1999)은 CaCl₂의 농도에 따른 알긴산 gel의 두께 변화에 대한 실험을 통하여 calcium 이온의 양이 많아질수록 gel의 두께는 증가하며 일정 임계점을 기준으로 gel의 두께가 일정해진다고 보고하였으며, 그 원인으로는 일정한 알긴산 분자 내에 결합할 수 있는 calcium 이온은 한계가 있으며 알긴산과 결합하지 못한 calcium 이온은 더 이상 알긴산의 gel화 반응에 관여하지 못하기 때문으로 판단하였다. 본 실험에서 캡슐의 수율 변화가 CaCl₂의 농도가 0.50%에서 임계점을 갖는 현상은 0.50% 이상의 CaCl₂ 농도는 캡슐의 외벽을 구성하는 알긴산 gel화 반응에 더 이상 관여하지 않아 내부물질을 봉입하는 수율에도 영향을 받은 것으로 사료된다.

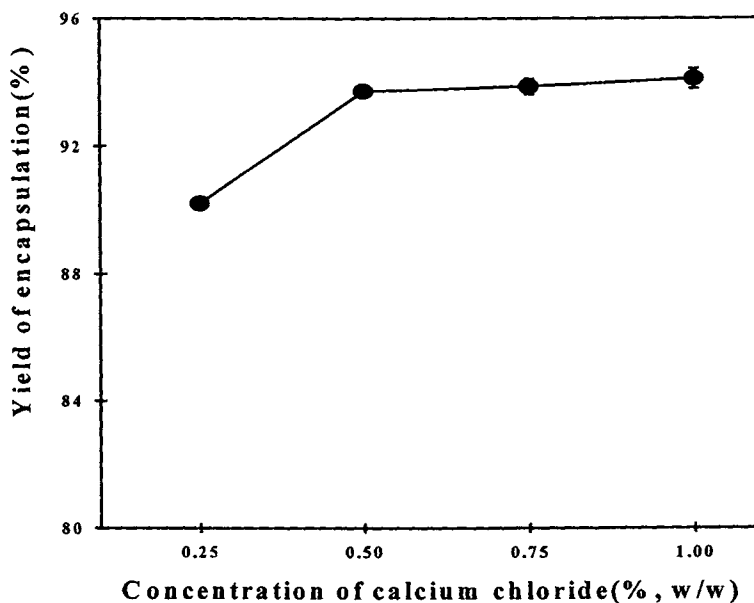


Fig. 5. Effects of microencapsulation yield on the concentration of calcium chloride.

알긴산 농도에 따른 수율의 변화

CaCl₂, 내부물질 그리고 유화제의 농도를 모두 1.00%(w/w)로 고정하고 알긴산의 농도

를 0.75-1.50%(w/w)로 범위에서 캡슐을 제조하여 알긴산 농도에 따른 캡슐의 수율 변화를 측정하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 알긴산의 농도가 0.75-1.25%(w/w)의 범위에서는 캡슐의 수율이 93-94%로 일정하고 1.50%(w/w)의 농도에서 다소 감소하는 결과를 보였다. 캡슐의 피복 역할을 하는 알긴산 gel은 알긴산 분자내의 carboxyl기에 calcium 이온이 결합하여 형성이 되는데, calcium 이온의 양보다 상대적으로 알긴산 내의 binding site가 많아지게 되면 calcium 이온이 캡슐화에 참여하지 않는 알긴산 분자에 결합하는 경우가 발생되어 캡슐을 이루고 있는 알긴산 gel의 강도가 상대적으로 약화되어 수율에 영향을 미친 것으로 사료된다. 따라서 1.25%(w/w)의 알긴산 농도는 1.00%(w/w)의 CaCl₂와 적절히 결합할 수 있는 임계 농도이며, 1.25%(w/w) 이상의 알긴산 농도에서는 캡슐의 수율이 감소된다고 판단된다. Ana 등(1999)은 알긴산의 농도가 증가할수록 gel 두께의 감소를 calcium 이온과 결합하는 알긴산 분자의 양이 많아 gel화에 참여하지 않는 알긴산 분자에도 calcium 이온이 결합하여 생긴 결과라고 보고하였다. Lim과 Jwa(1999)는 멸치 어유 포집을 위한 알긴산의 미세 캡슐화 실험을 통해 알긴산의 농도(0.2-1.0%,w/w)가 증가할수록 입자 크기가 작았고 미세 캡슐의 형태와 유화안정성이 양호하였으며 수율 역시 높다고 추정하였다. 또한 You와 Lim(2002)은 알긴산을 이용한 에스테르 화합물의 캡슐화 실험을 통해 알긴산의 농도가 증가함에 따라 gel화된 matrix의 공극구조가 치밀해져 내부물질의 잔존량이 증가하고 유화안정성(emulsion stability index)과 유화능(emulsion activity index)이 증가하는 경향을 나타내었다고 보고하였다.

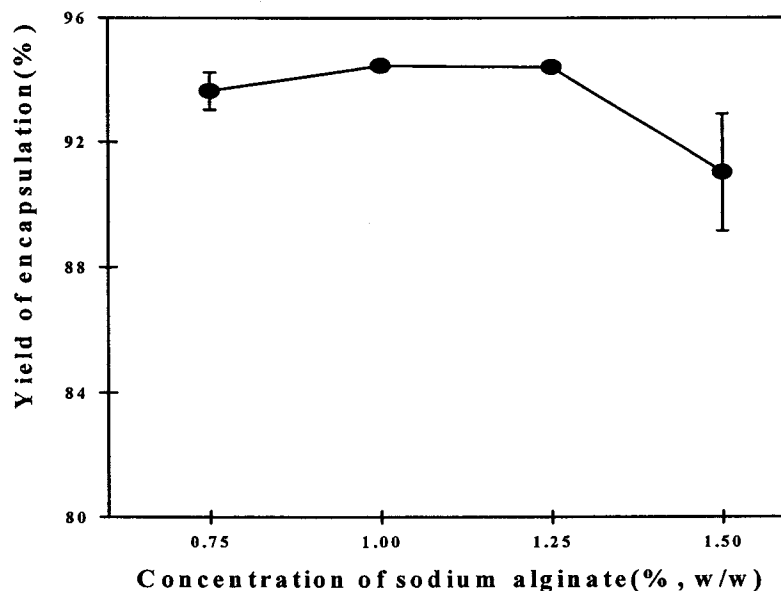


Fig. 6. Effects of microencapsulation yield on the concentration of sodium alginate.

내부물질 농도에 따른 수율의 변화

내부물질 첨가량에 따른 수율 변화를 관찰하기 위해 CaCl_2 , 알긴산 그리고 유화제를 각각 1.00%, 1.25%, 1.00%(w/w)의 농도로 첨가하고, 내부물질은 정제어유와 oleic acid를 8:2(w/w)의 비율로 섞어 0.25-1.00%(w/w)의 농도 범위에서 캡슐을 제조하였다. 내부물질의 농도가 0.25%(w/w)일 경우 캡슐의 수율은 약 80%로 나타났고 0.75%(w/w)에서는 94%, 1.00%(w/w)에서는 93%로 측정이 되었다. 내부물질의 농도가 증가할수록 캡슐의 수율이 증가하는 경향을 보였으며, 0.75%(w/w) 이상의 농도에서 수율이 일정해짐을 관찰할 수 있었다(Fig. 7). 이는 유화법을 이용한 캡슐 제조 공정에서 손실되는 내부 물질의 양은 항상 일정하기 때문에 내부물질의 양이 증가함에 따라 캡슐의 수율이 증가 하였다고 판단된다. Han 등(2003)은 DHA의 산화방지를 위한 알긴산 gel 포집의 항산화 효과에 대한 연구를 통해서 내부물질인 DHA 첨가량이 증가할수록 알긴산 캡슐에 포집되는 efficiency가 증가한다고 보고하여 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다.

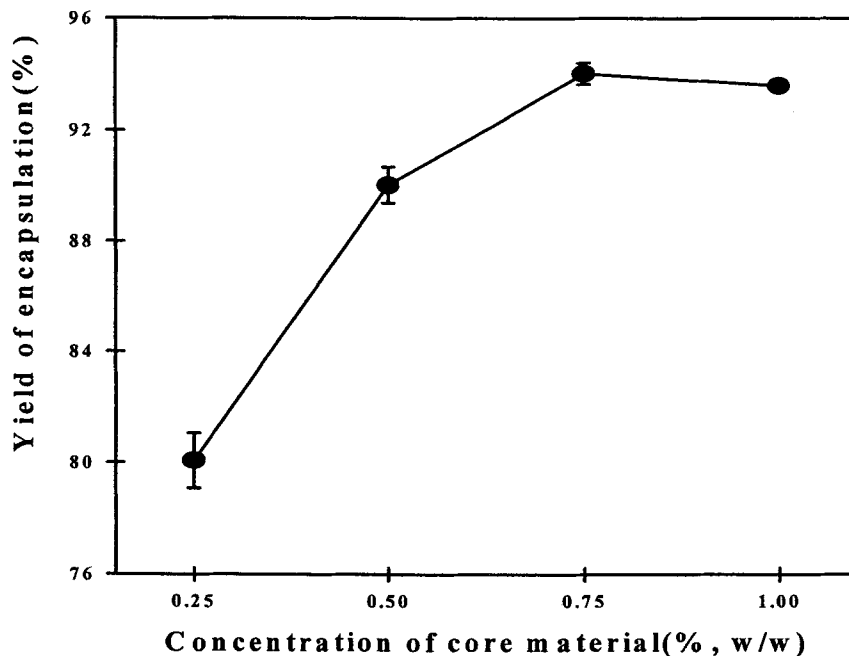


Fig. 7. Effects of microencapsulation yield on the concentration of core material.

유화제 농도에 따른 수율의 변화

유화법을 이용한 정제어유 미세 캡슐화 공정 중 초기 단계에서 유화제 첨가를 통해 정

제어유-유화제-알긴산의 수중유적형 (O/W형) 유화계를 이루게 된다. 또한 유화액의 안정성이 높을수록 미세 캡슐화 공정의 효율을 증가시킬 수 있다고 알려져 있다(Chang과 Cho, 1998). 소수성 물질이 캡슐화 되는 원리는 유화제의 비극성 탄화수소 부분이 소수성인 내부물질과 결합하고 극성의 carboxyl기는 피복물질을 함유하는 수분층과 결합하여 소수성 물질이 유화제를 매개로 하여 친수성 물질에 둘러싸여 지는 것이다(Chang 등, 2000). 유화제를 제외한 다른 공정 변수인 CaCl_2 , 알긴산, 내부물질을 각각 1.00%, 1.25%, 1.00%(w/w)의 농도로 첨가하고 유화제의 농도를 0.75-1.50%(w/w)의 범위에서 유화제 농도에 따른 캡슐 수율의 변화를 살펴보았다. Fig. 8에서와 같이 본 실험 범위의 유화제 농도는 알긴산을 이용한 정제어유 캡슐의 수율에 94-95%의 일정한 영향을 미치는 것으로 나타났다.

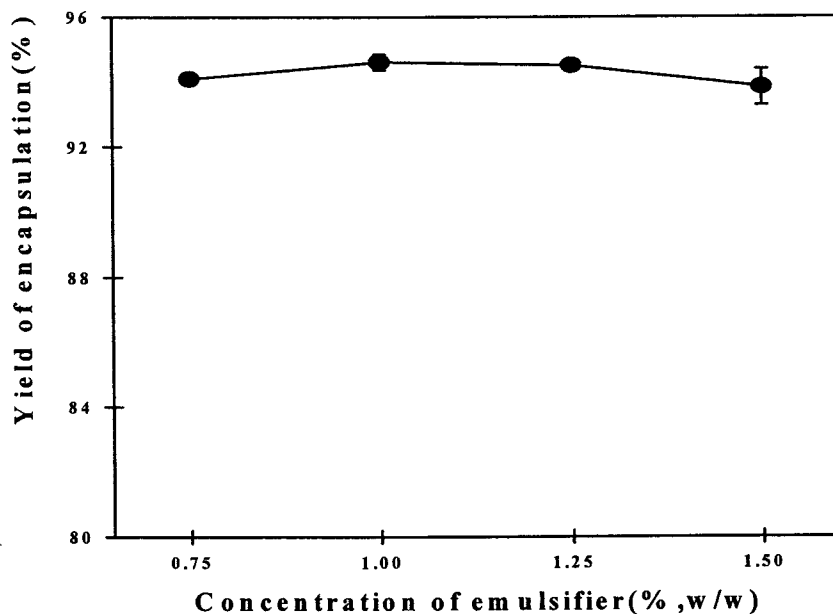


Fig. 8. Effects of microencapsulation yield on the concentration of emulsifier.

저분자 알긴산 적용에 의한 수율의 변화

캡슐의 높은 수율을 얻기 위한 각 공정 변수 (CaCl_2 , 알긴산, 내부물질, 유화제)의 최적 조건에 피복 물질로서 감마선을 조사하여 저분자화 된 알긴산을 적용하여 수율의 변화를 관찰하였다(Fig. 9). 0-100 kGy 선량의 감마선을 조사한 알긴산 캡슐의 수율은 유의차 없이 93-95%로 거의 일정하였고, 특히 10, 50 kGy의 감마선이 조사된 알긴산을 이용한 캡슐의 수율이 각각 95.0%와 94.5%로 나타나 다른 알긴산에 비해 다소 높게 측정되었다. 일반적으로 피복물질의 점도가 높을수록 봉입되는 내부물질의 양이 증가하는 것으로 알

려져 있고, Jiang 등(2001)은 알긴산을 이용한 BSA의 봉입에 관한 실험을 통해 알긴산의 농도가 증가할수록 캡슐의 수율이 높아지는 현상을 알긴산 농도의 증가가 점도를 증가시켜 봉입효율이 증가하는 것으로 판단하였다. 그러나 본 실험에서는 점도가 낮은 저분자 알긴산을 피복물질로 사용한 캡슐의 수율은 고분자 알긴산을 이용한 캡슐의 수율에 비해 낮지 않은 결과가 나타났으며, 이 결과를 바탕으로 캡슐화 공정에 있어 고분자 알긴산을 저분자 알긴산으로 대체할 수 있는 적용성을 확인할 수 있었다.

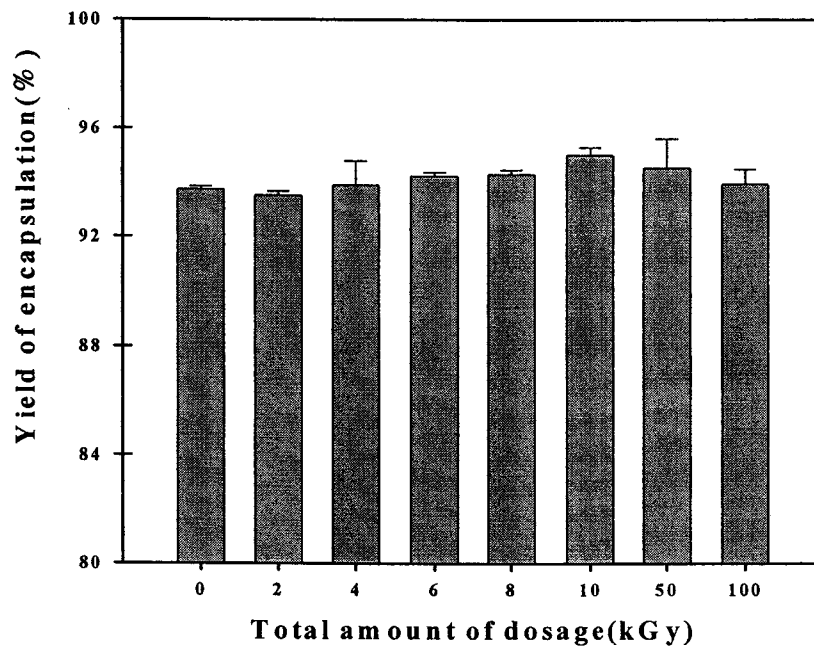


Fig. 9. Yield of microencapsulation prepared by the low-molecular alginate γ -irradiated.

참고문헌

1. Ana, B., Manuel M. and Domingo, C. Formation of calcium alginate gel capsules: Influence of sodium alginate and CaCl_2 concentration on gelation kinetics. *J. Bioscience and Bioengineering*. 88(6): 686-689 (1999)
2. Chang, P.S. and Cho, G.B. Optimization of the conditions for the O/W emulsion containing ω_3 polyunsaturated fatty acid. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30(5): 1114-1119 (1998)
3. Chang, P.S. and Ha, J.S. Optimization of fish microencapsulation by response surface methodology and its storage stability. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(3):

646-653 (2000)

4. Chang, P.S., Ha, J.S., Roh, H.J. and Choi, J.H. Optimization of conditions for the microencapsulation of α -tocopherol and its storage stability. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(4): 843-850 (2000)
5. Han, S.C., Heo, E.J., Lee, K.Y., Kim, Y.Z. and Kim J.C. Antioxidant effect of vitamin-C/alginate gel-entrapped liposomes for resistance of DHA autoxidation. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 18(3): 229-233 (2003)
6. Jiang, G., Jee, U.K., Maeng P.J. and Hwang, S.J. Evaluation of alginate microspheres prepared by emulsion and spray method for oral vaccine delivery system. *J. Korean Pharm. Sci.* 31(4): 241-256 (2001)
7. Kotecka, B.M., Rieckmann, K.H., Davis, T.M.E., Batty, K.T. and Ilett, K.F. Comparison of bioassay and high performance liquid chromatographic assay of artesunate and dihydroartemisinin in plasma. *Acta Tropica.* 87: 371-375 (2003)
8. Laakso, T.S., Laakso, I. and Hiltunen, R. Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. *Analytica Chimica Acta.* 465: 39-62 (2002)
9. Lim, S.B. and Jwa, M.K. Microencapsulation of anchovy oil by sodium alginate. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28(4): 890-894 (1999)
10. You, B.J. and Lim, Y.S. Effects of emulsifying conditions and alginate concentration of encapsulation ester compounds on retention rate of core material in microcapsules prepared with sea tangle alginates. *J. Korean Fish. Soc.* 35(6): 654-659 (2002)

제 10 절 해조소금의 성분 특성

김동한 (목포대학교 식품영양학과)

서 론

소금은 인체의 생리기능을 유지하기 위해 없어서는 안되는 무기물일 뿐만 아니라, 식생활에서 음식의 맛과 식품 저장을 위하여 널리 사용되어 왔다. 소금의 원료는 암염, 호염, 정염, 해수 등이나 삼면이 바다로 둘러싸인 우리나라는 대부분의 소금을 염전에서 천일염 형태로 생산하여 왔다. 최근에는 외국에서 값싼 천일염, 암염 등이 수입되고 있을 뿐만 아니라 다양한 형태로 가공된 기계염과 재제염, 가공염이 생산 유통되고 있다.

소금은 체내에서 세포막의 전압조절에서부터 혈압 조절 등 신체기능 어디에나 관련이 있고 특히 Na^+ 은 체액의 osmolarity와 혈장의 부피 유지, 신경흥분, 근육수축 및 영양소의 이동에 중요한 역할을 하나 Na^+ 과 고혈압과의 관계 등을 고려하여 소금의 과잉 섭취를 제한하고 있다(1). 특히 한국인은 일반적으로 음식을 짜게 섭취하는 경향이 있어 생리적인 소금 요구량보다 많은 소금을 섭취하는 경향이 있다(2,3). 소금에 대한 연구로는 소금의 종류에 따른 과산화 효과와 보들연변이성(4), 죽염의 약리작용(5) 등의 연구와 발효식품에서 소금이 김치(6-9)나 오이지(10)의 발효에 미치는 영향에 대한 보고가 있다. 그러나 소금의 제조와 그 특성에 관한 연구는 극히 미미하여 돌소금의 생산구조와 정제염(11)에 관한 보고와 소금 종류별 무기물 조성(12,13)과 외형구조(14)에 대한 부분적인 연구만 있을 뿐이다. 해조소금(조염)은 해초를 건조하게 구워서 분말로 만든 가공염의 일종으로 제주도나 일본 사람들에 의해 소량씩 제조되어진 바 있다(15). 해조소금의 염도는 90% 내외이고, 인체에 유익한 칼륨과 칼슘 등 각종 미네랄이 많이 포함되어 있으며, 특히 칼륨은 소금의 과잉섭취가 원인이 되는 각종 가공식품에서 소금대신 대체할 수 있는 무기물(16)로 주목되고 있다.

따라서 본 연구에서는 해조류를 식품으로 가공하는 과정에서 생성되는 부산물을 이용하여 무기물이 보강된 가공염(특수염)을 제조할 목적으로 해조소금의 무기물 조성과 이화학적 특성을 토대로 해조소금 제조에 적당한 해조류를 1차 선별하고 아울러 해조소금의 품질을 향상시킬 수 있는 방안을 모색하고자 한다.

재료 및 방법

재료

해조소금 제조에 사용한 해조류로 미역(sea mustard ; *Undaria pinnatifida*), 다시마(sea tangle ; *Laminaria japonica*), 김(laver ; *Porphyra yezoensis*), 툇(seaweed fusiforme ; *Hizikia fusiforme*), 파래(green laver ; *Enteromorpha compressa*)이었으며, 이들을 2001년 전남 목포와 완도의 건어물시장에서 구입하여 충분히 건조시킨 후 40 mesh로 분쇄하여 사용하였다. 소금제조에 사용한 바닷물은 전남 해남군 소재 염전에서 바닷물을 1차 농축한 19° Be 의 바닷물을 사용하였다.

해조소금의 제조

해조분말 10 g을 증발접시에 취하고 동량의 바닷물 농축액(19° Be)을 첨가하고 105℃에서 12시간 건조하여 수분을 제거한 후 550℃에서 20시간 회화시켰다. 회화물은 50 mL의 증류수로 용해한 후 Whatman No. 41(ashless) 여과지로 여과하였다. 잔류하는 불용해성 물질을 50 mL의 증류수를 사용하여 2~3회 세척하고 여과액을 105℃에서 증발 건조하여 해조소금을 제조하였다. 소금의 수율은 해조류 10 g와 바닷물 10 mL의 혼합물에서 얻어지는 소금 량을 3반복 이상 실시하여 평균값으로 표시하였다.

일반성분 분석

해조소금의 pH와 ORP(산화환원전위)는 1% 소금용액으로 조제한 후 pH-meter(Orion 920A, U.S.A)를 이용하여 측정하였고, 소금함량은 Mohr법(17), 물 불용해성분은 AOAC 법⁽¹⁸⁾, 해조류의 수분, 조지방, 조단백질, 조섬유, 회분은 식품공전(17)에 준하여 측정하였다.

색과 표면구조

제조된 소금의 색은 색도계(Chromameter CR-200, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였고, 소금의 표면구조는 소금을 건조한 후 ion-sputter를 이용하여 Au-Pb로 처리하고 가속전압 20 kV 에서 SEM(Scanning Electron Microscope; Hitachi S-3500N, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

무기물 함량

해조류의 무기물 함량은 시료 0.2 g에 HNO₃ 2 mL와 증류수 8 mL를 가하여 microwave digester(Questron Co. QMAX 4000, U.S.A)로 140~180℃에서 분해한 후 20 mL로 정용하였으며, 해조소금은 0.1% 용액을 직접 분석시료로 사용하였다. 무기물 함량은 ICP(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer; Varian Liberty 100, U.S.A)를 이용하여 측정하였다. ICP 분석조건은 plasma: 15.0 L/min, Auxiliary: 1.5 L/min, Pump speed: 25.0 rpm, Carrier gas flow: 75 psi, Nebulizer: 150 kPa, Integration time: 3 sec로 하였다.

결과 및 고찰

해조류의 성분특성

해조소금 제조에 사용한 해조류의 일반성분은 Table 1과 같이 수분함량의 차이도 있으나 해조류 종류 별로 차이가 심하여 조지방은 미역이 3.33%로 많았으나 툇은 0.73%로 낮았고, 조단백질은 김과 파래가 각각 37.24%와 31.43%로 높았으며 미역이 10.37%로 제일 적었다. 조섬유는 툇과 다시마가 김이나 파래에 비하여 현저히 많았고, 해조소금 제조 시 무기질 조성에 중요한 요인이 되는 회분함량은 김이 9.81%로 적었고 미역이 22.78%로 제일 많았으나 김을 제외하고는 회분함량은 다른 성분에 비하여 해조류 간에 차이가 적었다. 한편 Kang(19) 등은 김이 미역이나 파래보다 조단백질 함량이 풍부하였으며 회분은 파래가 24.41%로 김이나 미역의 11.31, 12.30% 보다 많았다고 보고하여 다소 차이가 있었다.

Table 1. Proximate composition of seaweeds

(Unit: %)

	Moisture	Crude fat	Crude protein	Ash	Crude fiber
Laver	6.89	1.52	37.24	9.81	1.02
Sea tangle	12.27	1.32	15.18	16.09	13.56
Sea mustard	9.86	3.33	10.37	22.78	3.97
Seaweed fusiforme	11.21	0.73	12.19	19.72	21.89
Green laver	9.36	1.89	31.43	21.49	1.14

이들 해조류의 무기성분을 ICP로 분석한 결과는 Table 2와 같이 대체적으로 K가 가장 많았으며 다음으로 Na, Ca, Mg 순이었고, Al과 Zn은 소량 함유되어 있었다. 중금속으로 Cu와 Ni, Cr, Pb, Cd를 미량 함유하고 있었으나 Na나 K를 다량 함유하고 있어 ICP 분석에 어려움이 있었다. 또한 해조류 종류별로 무기성분 함량은 차이가 심하여 파래와 다시마, 툫에서 K함량이 많았고, Na는 K와는 대조적으로 미역에서 현저히 많았다. Ca 함량은 툫과 미역, 다시마가 김이나 파래에 비하여 많았다.

Table 2. Mineral composition of seaweeds

(Unit: 1,000 ppm)

	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Laver	3.242	3.097	5.115	18.565	0.260	- ¹⁾	-	0.044	0.019	-	0.001	0.003	0.001
Sea tangle	6.931	5.098	6.672	34.545	0.106	-	-	0.080	0.002	0.006	-	0.001	-
Sea mustard	7.459	6.551	39.850	2.705	0.202	-	-	0.033	0.006	0.002	0.001	0.001	0.001
Seaweed fusiforme	9.376	4.790	8.383	32.545	0.585	-	-	0.014	0.003	0.001	0.001	0.001	0.001
Green laver	2.850	5.940	10.310	36.570	1.879	-	-	0.029	0.012	0.003	0.007	0.003	0.001

¹⁾ Not determined

소금의 성분

19° Be의 바닷물 농축액을 이용하여 제조한 소금의 일반 특성은 Table 3과 같이

Table 3. Physicochemical characteristic of salts

	Yield(g)	Insoluble solid(g)	Color			pH	ORP (mV)	NaCl (%)
			L	a	b			
Dried salt	2.817	-	92.40	0.13	4.43	8.87	158.5	84.6
Ashed salt	1.605	0.339	94.27	-0.22	1.93	7.71	147.8	89.6

550°C에서 회화시킨 경우 수율은 건조만 한 소금에 비하여 현저히 줄어들었으며 물 불용해성분이 생성되는 대신 소금의 순도는 89.6%로 증가하였다. 제조한 소금 용액의 pH는 건조만 한 소금의 pH 8.87보다 회화시킨 소금은 pH 7.71로 중성에 가까웠고 ORP도 158.5 mV에서 147.8 mV로 감소하였다. 소금의 색은 회화시킨 경우 회화 후에 물 불용해성분이 제거되었기 때문에 L-값이 증가하고 b-값이 감소하여 밝고 흰색에 가까워 졌다.

제조한 소금의 무기성분은 Table 4와 같이 회화시킨 경우 건조만 한 소금에 비하여

Na와 K, Ca는 증가하였으나 Mg 함량은 감소하여 회화시킨 경우 Mg는 일부가 산화 휘발되거나 물 불용해성분으로 전환된 것이 아닌가 생각되었다. 또한 회화시킨 소금이 건조만 한 소금에 비하여 Zn과 Cu, Ni는 조금 감소하는 추세이었는데 이는 회화시킬 경우 소금중의 무기물 일부가 물에 불용해성분으로 바뀌어 제거되었기 때문인 것으로 판단되었다.

Table 4. Mineral contents of salts

(Unit : 1,000 ppm)

	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Dried salt	1.61	57.92	178.20	15.71	-	0.002	0.007	0.012	0.015	0.051	0.008	0.019	0.002
Ashed salt	2.77	16.97	219.50	28.78	-	0.001	0.007	0.006	0.005	0.025	0.011	0.018	-

해조소금의 성분 특성

해조류에 바닷물 농축액을 첨가하여 건조 회화시켜 제조한 해조소금의 일반 특성은 Table 5와 같다.

Table 5. Physicochemical characteristic of various seaweed salts

	Yield(g)	Insoluble solid(g)	Color			pH	ORP (mV)	NaCl (%)
			L	a	b			
Laver	2.23	0.75	95.87	-0.02	1.79	7.63	163.6	92.0
Sea tangle	2.67	0.95	95.72	-0.11	1.82	8.73	111.5	91.1
Sea mustard	3.10	1.04	95.62	-0.03	2.02	8.79	187.9	94.6
Seaweed fusiforme	2.52	1.12	95.02	-0.05	2.12	7.78	116.3	92.2
Green laver	2.47	1.53	96.27	-0.15	1.98	7.54	179.4	90.3

소금의 수율은 미역이 3.10 g으로 가장 높았고 다음으로 다시마이었으며 김이 2.23 g으로 가장 낮았다. 소금의 순도는 미역소금이 94.6%로 높았으며 파래소금이 90.3%로 가장 낮았으나 물 불용해성분은 파래소금이 많았고 김과 다시마소금은 적었다. 해조소금의 pH는 미역과 다시마소금이 높아 각각 pH 8.79와 pH 8.73 이었으며 ORP는 다시마소금이 111.5 mV로 가장 낮았고 다음으로 톳소금 이었으며 미역소금에서 가장 높았다. 해조소금은 건조만 한 소금에 비하여 ORP 가 낮았는데, ORP의 저하는 해조소금이 건조만 한 소금에 비하여 신체내의 ORP를 낮추어 줄 수 있어 체내 과산화물에 의한 장애를 줄일 수 있다고 판단되기 때문에 바람직할 것으로 생각되었다. Ha(4) 등도 기계염이 과산화물 생

성 촉진능이 높았으나 구운소금은 다소 낮았고, 가공염이 천일염에 비하여 보들연변이 효과가 낮았다고 보고한 바 있다. 한편 소금의 색은 L-값과 a-, b-값이 각각 95.02~96.27, -0.02~-0.15, 1.79~2.12로 Table 3의 소금물만 회화시킨 소금의 L-값 94.27에 비하여 조금 밝을 뿐 a- 와 b-값은 유사하였고, 사용한 해조류의 종류에 관계없이 색은 백색에 가까웠는데 이는 회화시켜 물 불용해성분을 여과 제거하였기 때문인 것으로 판단되었다.

해조소금의 무기성분은 Table 6과 같이 Na 다음으로 K 함량이 높아 건조만 한 소금과는 현저한 차이가 있었고 건조만 한 소금에 많았던 Mg는 줄어든 대신에 Ca가 증가하였다. 한편 Ha(14) 등은 천일염의 무기질 함량은 Mg가 5883~10266 ppm으로 가장 많았고 다음으로 K와 Ca가 각각 1662~3701 ppm, 579~1037 ppm 이라 하였으며, Park(13) 등은 국내산 천일염이 수입산에 비하여 K와 Mg 함량이 많았다고 보고하였고, Jo(12) 등은 천일염을 구울 경우 NaCl은 84.3±4.63%에서 96.6±0.71%로 증가한 대신 Mg와 Ca가 현저히 감소하였다고 보고한 바 있다. 중금속 함량도 Zn과 Al이 조금 증가하였고 Ni이 감소하였을 뿐 건조만 한 소금이나 회화시킨 소금과 큰 차이는 없었다. 해조소금 종류별로는 K는 미역소금의 경우 2.59%로 건조만 한 소금과 같은 수준이나 다른 해조소금은 11.56~17.34%로 현저히 증가하였고 다시마소금이 가장 많았다. Ca는 다시마 소금에서 1.24%로 높았고 파래와 미역소금에서 낮았으며, Mg는 다시마와 툇소금에서 낮은 함량을 보였다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 해조소금의 수율은 미역소금이 높아 해조소금 제조에 유리하였으나 무기성분 조성은 소금의 과잉 섭취 시 문제가 되는(1) Na 대신에 K와 Ca 함량이 많은 다시마 소금이 좋을 것으로 판단되었다.

Table 6. Mineral composition of various seaweed salts

(Unit: 1000 ppm)

	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Laver	8.19	1.37	268.20	115.60	0.006	-	0.004	0.013	-	0.019	0.004	0.016	0.001
Sea tangle	12.39	0.42	218.40	173.40	0.011	0.002	0.014	0.064	0.009	0.014	0.005	0.027	-
Sea mustard	7.59	0.62	235.90	25.91	0.003	0.001	0.001	0.019	0.014	0.006	0.001	0.015	-
Seaweed fusiforme	9.82	0.56	207.60	170.00	0.010	0.017	0.002	0.052	0.015	0.001	0.003	0.017	-
Green laver	6.21	5.35	216.90	158.90	0.001	0.001	0.003	0.022	0.013	0.010	0.006	0.026	0.001

소금물 농도의 영향

해조소금 제조시 수율이 높고 다른 해조류에 비하여 가공 시 부산물이 많이 발생하는

미역을 이용하여 소금물의 농도를 달리하여 제조한 해조소금의 일반 특성은 Table 7과 같다.

Table 7. Effect of salt concentration on physicochemical characteristics of sea mustard salts

	Yield(g)	Insoluble solid(g)	pH	ORP (mV)	NaCl (%)
0%	1.55	0.65	10.68	-44.5	77.47
4%	1.80	0.70	10.24	-44.2	81.73
10%	2.05	0.90	9.48	-1.5	91.26
15%	2.45	0.85	8.67	159.1	92.43
20%	2.85	0.80	7.39	184.7	95.94

해조소금의 수율 과 NaCl 함량은 소금물의 농도가 증가할수록 증가하였으나 물 불용해 성분은 10% 소금물을 사용하였을 때 가장 많았다. 해조소금물의 pH는 미역만을 사용한 경우 pH 10.68에서 소금물의 농도가 증가할수록 pH는 낮아졌고 ORP도 미역만을 사용한 소금의 -44.5 mV에서 20% 소금물을 사용한 경우는 184.7 mV로 증가하였다.

무기성분은 Table 8과 같이 소금물의 농도가 증가하면 Na 함량은 근소하게 감소하나 Ca와 Mg는 현저하게 증가하였고, K는 소금물의 농도가 10%까지 증가할 때는 증가하나 그 이상의 농도에서는 큰 차이는 없었다. 중금속 함량은 일정하지 않았으며 Pb와 Zn, Cu 가 미량 검출되었을 뿐 Cd, Cr, Ni, Mn 등은 흔적량 존재하였다.

Table 8. Effect of salt concentration on mineral composition of sea mustard salts

(Unit: 1000 ppm)

	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
0%	0.390	0.007	244.8	14.85	-	-	-	0.013	0.016	-	0.003	0.028	0.001
4%	0.600	0.011	243.3	15.71	-	-	0.001	0.003	0.009	-	0.002	0.024	0.001
10%	2.035	0.023	243.1	19.55	-	-	-	0.026	-	-	0.003	0.014	0.001
15%	6.248	0.583	241.8	18.73	-	-	-	0.029	0.007	-	-	0.009	0.001
20%	9.627	0.725	240.6	19.69	0.004	-	-	0.025	0.014	-	-	0.025	-

소금의 표면구조

소금의 외형 및 표면구조를 주사식 전자현미경(SEM)을 이용하여 1,800배로 관찰한 결

과는 Fig. 1과 같다.

건조만 한 소금은 표면이 불규칙하고 일정한 형태가 없는 구조를 이루고 있으나 550℃에서 회화시킨 경우에는 표면이 매끈하고 모서리의 각이 둔화되었다. 미역소금은 회화시킨 소금보다 표면이 매끈하고 모서리도 둥근 형태로 변형되었다. Ha(14) 등은 소금에 특징적인 육각형의 결정구조를 가지나 천일염은 다른 무기물이나 이물질에 의해 결정구조의 핵이 중복되면서 겹을 이루고 있고, 구운 소금은 열처리로 인해 용융되어 소금의 결정구조가 파괴되고 불규칙한 둥근 형태로 변형되었다고 보고한바 있다.

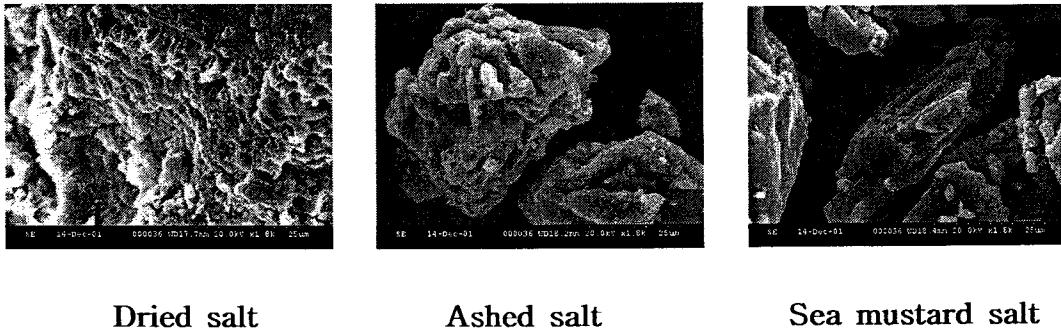


Fig. 1. Comparison of some kinds of salt viewed in the scanning electron microscope($\times 1,800$)

요 약

해조류와 소금물을 이용하여 해조소금을 제조하고 이화학적 특성과 무기성분을 비교하였다. 해조소금 제조에 사용한 해조류의 회분함량은 미역이 22.78%로 많았고 김이 9.81%로 적었으나 무기성분으로 미역은 Na 함량이 많은 반면 다시마와 툇은 K와 Ca 함량이 많았다. 건조만 한 소금을 회화시켜 물 불용해성분을 제거하면 소금의 순도가 증가하여 색이 밝아졌으며 pH와 ORP가 저하하였고, K와 Ca 함량은 증가하나 Mg가 감소하였다. 해조소금의 수율은 미역소금에서 높았고 ORP는 다시마와 툇소금에서 낮았으며, K와 Ca 함량은 미역소금에 비하여 다시마와 툇소금이 현저히 많았다. 해조소금 제조시 소금물의 농도가 증가하면 소금의 수율과 순도는 증가하나 pH는 저하하였고, ORP와 Ca와 Mg 함량이 증가하였다. 해조소금을 SEM에 의해 표면관찰 한 바 소금의 외형이 작고 특징적인 결정구조를 보였다.

참 고 문 헌

1. Lee, J.E. Salt and hypertension. Korean J. Nephrology 11, Suppl.6: 56-60(1992)
2. Park, R.S., Kim, S.J. and Lee, L.H. Survey on sodium content of low salt diet at 27 hospitals. Korean J. Nutrition 10: 38-43(1977)
3. Chung, K. R. A survey on the sodium chloride content of common restaurant meals in Seoul area. Korean J. Food Sci. Technol. 19: 475-479(1987)
4. Ha, J.O. and Park, K.Y. Comparison of autooxidation rate and comutagenic effect of different kinds of salt. J.Korean Associ. Cancer prevention 4: 44-51(1999)
5. Yang, J.S., Kim, O.H., Chung, S.Y., Yoo, T.M., Roh, Y.N., Yi, S.Y., Chung, M.W., Ahn, M.R., Choi, H.J. and Rheu, H.M. Pharmacological evaluation of bamboo salt. J. Appl. Pharm. 7: 178-184(1999)
6. Shin, M.S. and Lee, H.S. The properties of Salts and their effects on salts vegetables. J. Korean Home Economic Association 21: 55-63(1983)
7. Kim, S.D. Salting and Fermentation of *kimchi*. J. Food Sci. Technol. 9:187-196(1997)
8. Shin, D.H., Jo, E.J. and Hong, J.S. Chemical composition of improted table salts and *kimchi* preparation test. J. Fd Hyg. Safety 14: 277-281(1999)
9. Park, S.J., Park, K.Y. and Jun, H.K. Effects of commercial salts on the growth of *kimchi*-related microorganisms. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 806-813(2001)
10. Park, M.W. and Park, Y.K. Changes of physicochemical and sensory characteristics of *oiji*(Korean pickled cucumbers) prepared with different salts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 419-424(1998)
11. Jeong, K.J. The production system of tol salt at Guom village in Cheju island. J. Korean Bulletin Geography 32:87-104(1998)
12. Jo, E.J. and Shin, D.H. Study on the chemical compositions of sun-dried, refined, and processed salt produced in chonbuk area. J. Fd Hyg. Safety 13: 360-364(1998)
13. Park, J.W., Kim, S.J., Kim, S.H., Kim, B.H., Kang, S.K., Nam, S.H. and Jung, S.T. etermination of mineral and heavy metal contents of various salts. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1442-1445(2000)
14. Ha, J.O. and Park, K.Y. Composition of mineral contents and external structure of

- various salts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 413-418(1998)
15. Korea Dietary Safety Civil Committee, The all kinds of salt. International seminar on salt(Korea · China · Japan), pp.1-33(2000)
 16. Suphsorn, C., Ramu, M.R., Joseph, A.L. and Mahmood, A.K. Fatty acids and sensory acceptance of a dietary sodium-potassium fish sauce. J. Agric. Food Chem. 31: 14-17(1987)
 17. The ministry of health and welfare, Food standard code, Seoul, Korea(2000)
 18. AOAC: Official Method of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA(1995)
 19. Kang, M.H., Kim. Y.B. and Lee, S.R. Digestibility of some Korean seaweeds through an animal experiment. Korean J. Nutrition 9: 69-75(1976)

제 11 절 소금의 종류를 달리한 고추장의 발효 특성

김 동 한 (목포대학교 · 식품영양학과)

서 론

우리나라 고유의 전통 발효식품인 고추장은 독특한 맛과 기호성 때문에 간장, 된장과 더불어 식생활에서 빼놓을 수 없는 중요한 조미식품으로 찹쌀 등 전분과 고춧가루를 주 원료로 하여 *koji*, 소금 등을 섞어 발효시켜 제조한다(1). 고추장의 품질은 원료의 종류와 배합비율, 담금 방법, *koji*의 종류 등에 따라 달라지고 지역에 따라 담그는 방법에도 차이가 있으며(2,3), 또한 소금이 숙성과정에서 발효미생물의 선택과 활동을 규제하여 고추장 고유의 풍미에 영향을 미친다(4).

소금은 생체 내에서 신경이나 근육의 조절과 신진대사, 삼투압 조절, 산과 알칼리의 균형 유지 등 인체의 생리기능에서 없어서는 안되는 무기물이며(5), 음식의 맛과 식품 저장 을 위하여 널리 사용되고 있다. 최근에는 외국에서 값싼 천일염, 암염 등이 수입되고 있 어 소금의 품질차이가 심할 뿐만 아니라 다양한 형태로 가공된 기계염과 제재염, 가공염 이 생산 유통되고 있다(6-8). 해조소금은 해조류를 이용한 가공소금으로 염도는 94% 내 외이고, 인체에 유익한 칼륨과 칼슘 등 각종 무기질이 많이 포함되어 있으며 특히 칼륨은 소금의 과잉섭취가 원인이 되는 각종 가공식품에서 소금대신 대체할 수 있는 무기물로 주목되고 있다(9). 그러나 발효식품에서 소금의 영향에 대한 연구는 극히 미미하여 김치 발효에 미치는 소금 종류의 영향에 대한 연구(10-12)와 천일염으로 제조한 된장의 발효 특성에 관한 보고(13) 등이 있을 뿐이다.

이에 본 연구에서는 소금의 종류를 달리하여 고추장을 제조하고 소금이 고추장의 숙성 과정에서 미생물상과 효소활성도 및 이화학적 특성에 미치는 영향을 비교 검토하였다.

재료 및 방법

재료

고추장 제조용 찹쌀과 콩, 고춧가루, 엿기름은 농협 하나로마트에서 구입하였으며, *koji* 는 토박이순창(주)에서 제조한 밀가루 *koji*를 사용하였다. 소금은 천일염(NaCl 80% 이상)과 제재염 (NaCl 88% 이상)은 대한염업(주), 죽염(NaCl 93% 이상)은 영진그린(주) 제

품을, 해조소금(NaCl 94% 이상)은 실험실에서 제조(9)하여 사용하였다.

고추장의 제조

고추장 담금은 분쇄한 찹쌀에 엿기름 가루와 물을 혼합하여 가열 호화 시킨 후 *koji*와 고춧가루를 혼합하고 Table 1과 같이 시험구별로 NaCl 농도가 10%되게 소금의 종류를 달리하여 제조하였다. 제조한 고추장은 4 L의 플라스틱 용기에 담아 20℃에서 12주간 숙성시켰다.

일반성분

고추장의 일반성분은 기준미증분석법(14)에 준하여 다음과 같이 측정하였다. 수분은 105℃ 건조법으로, 총질소는 micro-Kjeldahl법, 소금은 Mohr법, pH는 시료 10 g을 동량의 증류수로 희석하여 pH-meter(Orion 920A, USA)로 직접 측정하였고, 적정산도는 pH를 측정한 시료에 0.1 N NaOH를 가하여 pH 8.3이 될 때까지 적정하여 그 소비 mL로 표시하였다. 총당은 5% HCl로 4시간 가수분해 한 후 환원당과 같이 Somogyi변법으로, 알코올은 산화법, 아미노태 질소는 Formol 적정법, 암모니아태 질소는 Folin법으로 정량하였다.

수분활성도와 점조도

수분활성도는 Rotronic ag hygroskop(BT-RS1, Swiss)를 사용하여 20℃에서 측정하였고, 점조도는 Brookfield viscometer(Model DV-II+, USA.)를 이용하여 20℃에서 spindle No. 7의 회전속도 0.3 rpm에서 1분이 경과된 후의 값을 사용하여 계산하였다.

색도와 ORP

색도는 색차계(Chromameter CR-200, Minolta, Japan)로 측정하여 Hunter scale에 의해 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값과 $\Delta E = [(L_0 - L_1)^2 + (a_0 - a_1)^2 + (b_0 - b_1)^2]^{1/2}$ 값으로 표시하였고, 고추장의 산화환원전위는 고추장을 2배 희석한 후 ORP-meter(Orion 525A+, USA)를 이용하여 직접 측정하였다.

생균수

생균수 측정은 고추장 1 g을 멸균 생리식염수로 10진법에 따라 희석한 후 호기성 세균은 trypticase soy agar(15), 통성 혐기성 세균은 APT agar(16)를 사용하여 평판 도말한 후 1.5% agar를 덮어 중층하였고, 효모는 rose bengal agar배지(17)를 사용하여 평판 도

말법으로 28℃에서 1~3일간 배양한 후 계수 하였다.

효소활성도

고추장 5 g을 증류수로 희석하여 100 mL로 정용하고 실온에서 2시간 진탕 추출한 후 동양여지 No.2로 여과한 것을 조효소액으로 사용하였다. 효소활성도는 전분 액화력은 Fuwa의 blue value 변법⁽¹⁸⁾에 준하여 측정된 후 활성도는 10분 전후의 흡광도 차이에 희석배수를 곱하여 표시하였다. 전분 당화력은 芳駕 등의 방법⁽¹⁸⁾에 준하여 고추장 1 g에서 1 시간 반응 후 생성되는 환원당 량을 DNS법으로 정량하여 glucose량(μM)으로, 단백질 분해력은 Anson-萩原法⁽¹⁹⁾에 준하여 pH 3.0, 6.0 (편의상 산성, 중성 protease로 함)으로 구별하여 측정된 후 고추장 1 g에서 30분에 생성하는 tyrosine량(μM)으로 활성도를 나타냈다.

관능검사

12주간 숙성시킨 고추장을 20명의 식품영양학과 학생들을 대상으로 맛, 향기, 색깔과 종합적인 기호도를 각 항목별로 최고 7점 최저 1점으로 7단계 평가하여 얻은 성적을 SAS package⁽²⁰⁾로 분산분석을 하고 Duncan's multiple range test에 의해 통계 처리하였다.

결과 및 고찰

미생물상

소금의 종류를 달리하여 제조한 고추장의 숙성 중 미생물상의 변화는 Fig. 1과 같이 효모수는 담금 직후 $1.7\sim 2.9\times 10^5$ CFU/g이었으나 숙성 2주 경에 급격히 증가하여 10^6 CFU/g 이상을 유지하여 8~10주에 $5.8\sim 8.9\times 10^6$ CFU/g에 도달했으며 이후에는 감소하는 경향이였다. 이는 개량식 고추장의 효모수가 전 숙성 기간에 $10^5\sim 10^6$ CFU/g의 분포를 보였던 Jung 등⁽²¹⁾의 결과와 유사하였으나 전통식 고추장은 숙성 8주 이후에 10^3 CFU/g이하로 감소하였던 Kwon 등⁽²²⁾의 결과와 차이가 있었다. 호기성 세균수는 숙성 2~4주에 해조소금을 첨가한 B구를 제외하고는 10^9 CFU/g 수준으로 급격히 증가하나 이후 감소하는 경향이였다. 혐기성 세균은 숙성 중기까지는 큰 차이가 없었으나 8주 이후에 증가하는 추세를 보였고 균수는 호기성 세균보다 10배 이상 적었다. 이러한 결과는 고추장의 총 세균수가 숙성 중에 $10^6\sim 10^7$ CFU/g 수준이었고 56~70%가 *Bacillus*속이었던

보고(23)에 비하여 세균수가 많았으나, 전통식 고추장의 호기성 세균수는 숙성 6~10주 사이에 10^8 CFU/g으로 담금 직후보다 10배 이상 증가되었다는 보고(24)와 유사한 경향이 었다. 소금 종류별로 고추장의 미생물은 특징적인 차이는 없었지만 효모수는 죽염 첨가 고추장에서 조금 적었고, 호기성 세균은 해조소금 첨가 고추장에서 적었으며 천일염과 제 재염 첨가 고추장이 2~6주 경에 조금 많은 편이었다. 한편 김치의 경우 죽염이 산막효모 인 *Pichia membranaefaciens*와 산 생성균인 *Lactobacillus plantarum*의 생육을 억제하였 다고 보고(12) 된 바 있다.

Table 1. Mixing ratio of raw materials for preparation of *kochujang*

(unit : g)

	Glutinous rice	Red pepper powder	Wheat <i>koj</i> <i>i</i>	Soybean	Salt	Malt	Water
Control	560	720	300	270	370	20	1760
A	560	720	300	270	370	20	1760
B	560	720	300	270	370	20	1760
C	560	720	300	270	370	20	1760

Control: sun dried salt, A: refined salt, B: seaweed salt, C: bamboo salt

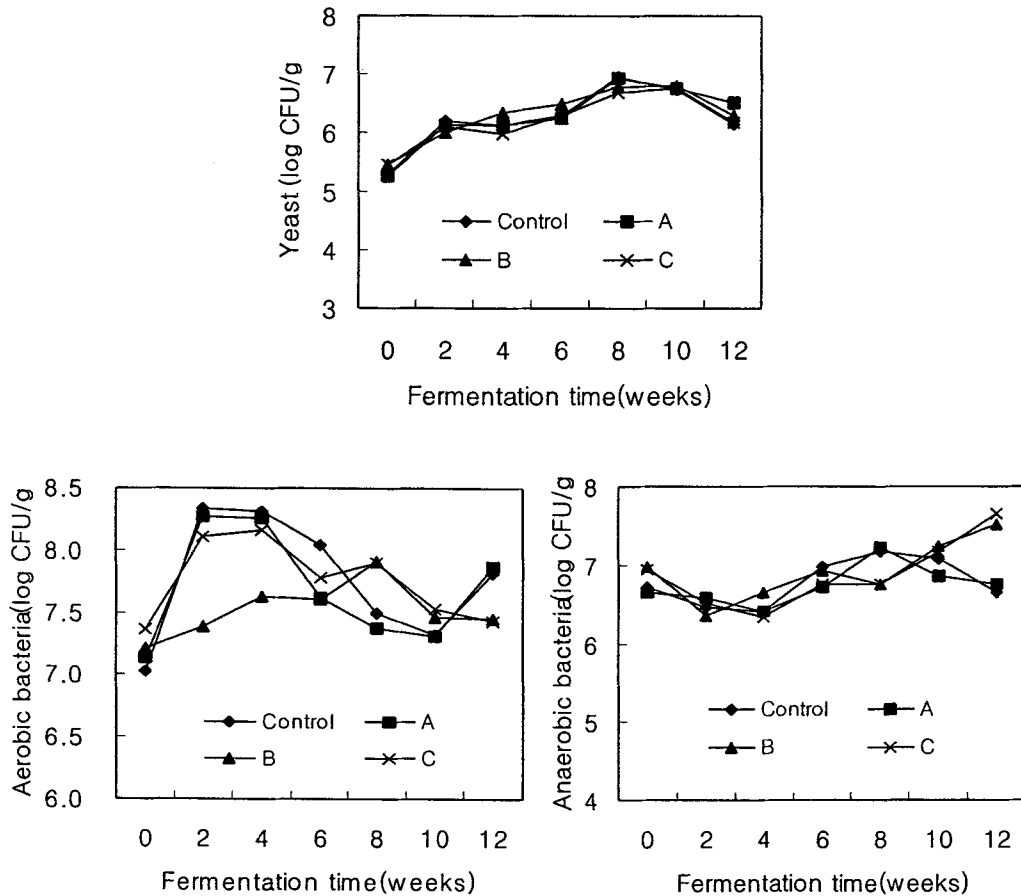


Fig. 1. Effect of different kind of salts on the viable cell counts of microorganism of *kochujang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table1.

효소활성

고추장 숙성과정중의 효소의 활성은 Fig. 2, 3과 같다. 전분액화효소인 α -amylase의 경우 담금 직후보다 숙성 2주 경에 2배정도 증가하였으나 그 이후의 효소활성도 변화는 적었다. β -amylase는 숙성 초기보다 6주 경에 급격히 증가하였고 그 이후에 효소활성도가 높아 고추장은 *koji*에서 유래하는 효소 이외에도 숙성과정중의 미생물 증식에 의해 생성되는 효소가 복합적으로 숙성에 관여하는 것으로 판단되었다. 단백질분해효소의 경우 담금 직후에는 산성과 중성 protease의 활성이 유사하였으나 산성 protease는 숙성 4~8주에 높은 활성을 보이거나 그 이후에는 감소하였다. 반면 중성 protease는 숙성 초기보다 8주 이후에 높은 활성을 보였다. 소금의 종류별로는 amylase 활성의 경우 시험구별 차이는 없었으나, protease는 죽염 고추장에서 산성protease 활성이 조금 높은 경향이였다. 한편 Lee(2)의 경우 amylase는 10~40일, protease는 40~50일 경에, Kim 등(25)은 산성

protease 와 β -amylase 모두 40~50일 경에 최대의 활성을 보였고, Lee 등(4)은 담금 초기에 이들 효소활성이 높았다고 보고된 바 있어 고추장의 효소 활성도는 *koji*나 담금 조건에 따라 차이가 심하였다.

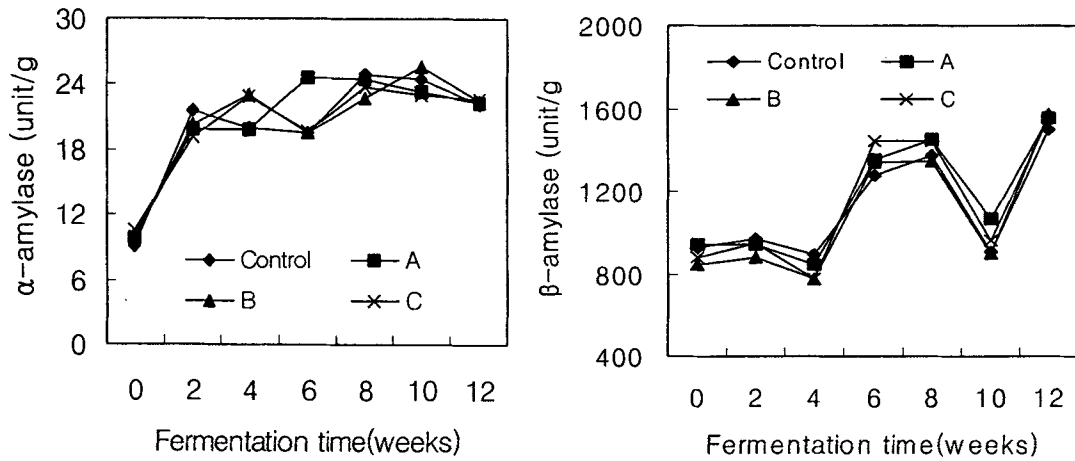


Fig. 2. Effect of different kind of salts on the amylase activities of *kochujang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table 1.

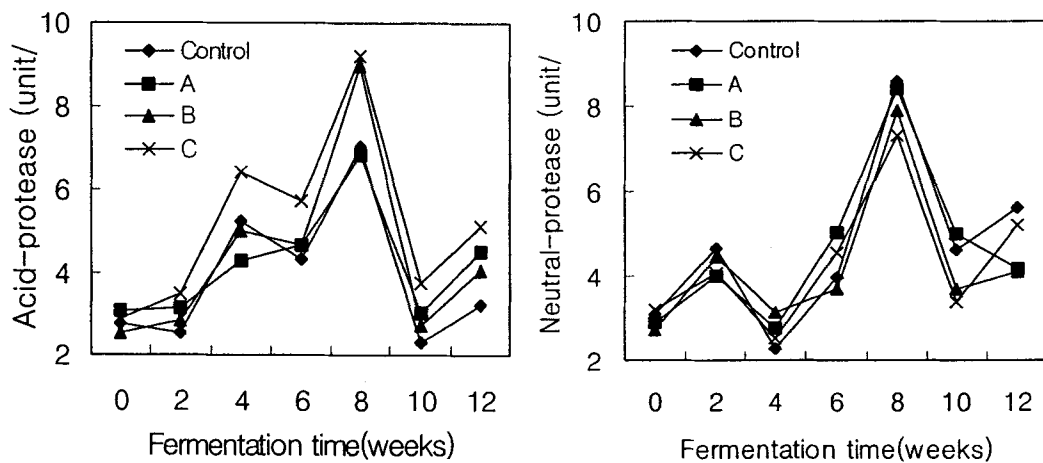


Fig. 3. Effect of different kind of salts on the protease activities of *kochujang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table 1.

색도와 점조도

소비자가 품질을 평가할 때 중요한 지표가 되는 고추장의 색도를 Hunter 색도계로 측

정한 결과는 Table 2와 같이 숙성이 진행되면서 밝기에 해당하는 L-과 적색도인 a-값, 황색도인 b-값 모두 점진적으로 저하하였고, 저하는 숙성 초기인 4주 이내에 주로 진행되었으며 b-값의 저하가 심하였다. 시험구간에는 죽염고추장(C)에서 이들 값이 낮아 12주 숙성 후에도 a-와 b-값이 낮았고, 다음으로 해조소금 첨가 고추장 순이었다. Moon 등 (28)은 고추장의 색도는 orange pink 계열로 주파장이 594~597 nm 범위이나 숙성이 진행되면서 조금씩 길어져 색도는 저하하였다고 보고한 바 있다. Total color difference인 ΔE 값의 변화는 Fig. 4와 같이 천일염과 제재염 첨가 고추장은 담금 직후의 색도 변화가 심하나 죽염 첨가 고추장은 숙성 4주 이후에 급격히 증가하였고 해조소금은 숙성 후기에 변색이 심하였다. 이들 고추장의 색도는 전통고추장의 전국 평균 L-, a-, b-값이 각각 16.03, 20.42, 9.71이었던 보고(26)에 비하여 숙성이 완료되어도 L-과 a-값이 현저히 높았는데 이는 고추장의 갈변이 빛과 공기에 의하여 주로 진행되고(27), Maillard 반응에 의한 HMF와 그 산화 중합체가 변색의 요인(22)이 되나 본 실험 고추장은 용기에 밀폐하여 숙성시켰기 때문에 상대적으로 갈변이 적었던 것으로 판단되었다.

Table 2. Effect of different kind of salts on the color values of *kochujang* during fermentation at 20°C

Fermentation time(weeks)		<i>Kochujang</i>			
		Control	A	B	C
0	L	36.03	35.20	35.51	35.05
	a	27.79	27.64	27.64	25.13
	b	25.85	25.21	23.43	22.40
2	L	34.12	33.48	33.21	34.81
	a	25.95	26.01	25.32	25.00
	b	21.41	21.28	20.89	20.15
4	L	32.80	32.49	32.62	32.79
	a	25.31	24.44	24.91	24.93
	b	20.46	20.02	20.28	20.28
6	L	33.56	33.38	32.82	31.38
	a	24.83	24.49	24.84	21.91
	b	20.59	19.84	19.90	17.30
8	L	32.96	33.11	32.68	31.16
	a	25.24	24.47	24.26	21.88
	b	20.44	20.20	19.70	17.49
10	L	33.24	33.29	32.74	31.46
	a	24.49	24.32	24.14	21.84
	b	20.05	20.19	19.69	17.53
12	L	32.95	32.87	32.32	31.36
	a	24.05	24.06	23.49	20.58
	b	20.18	20.04	19.09	17.55

¹⁾See footnotes in Table 1.

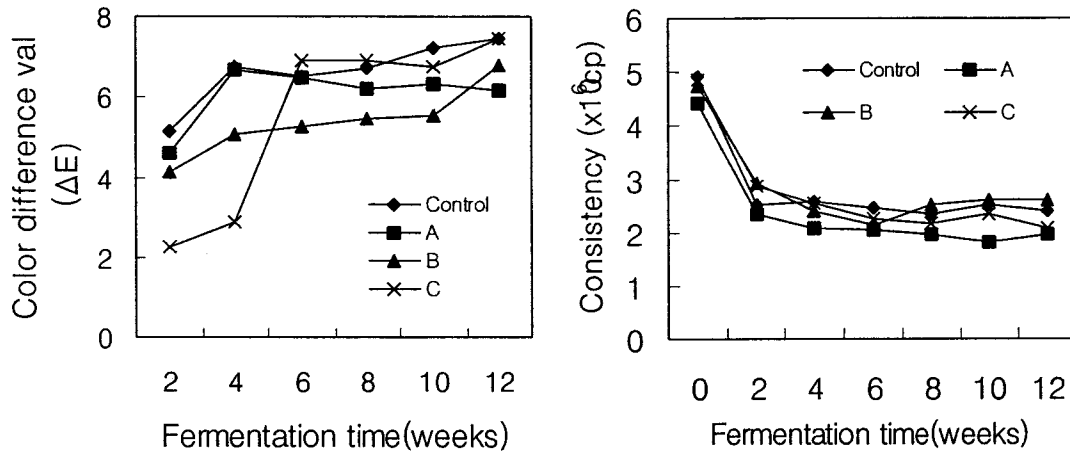


Fig. 4. Effect of different kind of salts on the total color difference value and consistency of *kochojang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table 1.

고추장의 점조도는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 담금 직후에 급격히 저하하였으나 2주 이후에는 완만한 저하를 보였고, 시험구별로는 제재염을 사용한 고추장의 점조도가 낮았고 해조소금과 천일염을 사용한 고추장에서 조금 높은 경향이였다. 이러한 변화는 숙성 초기인 처음 10일 동안 점도가 급격히 낮아졌던 Moon(28) 등의 결과와 유사하였고, 전분 액화 효소의 활성이 담금 직후보다 숙성 후기에 높았던 점으로 미루어 보아 고추장의 점조도는 전분질원의 분해 이외에도 원료성분의 구조적인 영향을 받는 것으로 판단되었다 (29).

일반성분

고추장의 일반성분은 Table 3과 같이 소금과 총질소 함량은 숙성중에 수분증발과 원료성분의 분해에 의한 상대적인 증가로 인하여 근소한 증가를 보였으며 소금 농도는 해조소금 첨가구에서 조금 낮았다. 총당은 숙성이 진행되면서 감소하여 12주 숙성 후에는 제재염 첨가 고추장에서 14.5%로 제일 적었고 해조소금과 죽염 첨가 고추장이 각각 16.31%와 16.13%로 조금 높았다. 고추장은 숙성중 *koji*와 세균의 증식에 의해 생성되는 전분분해효소에 의하여 총당이 환원당으로 전환되나 당의 일부는 미생물의 생육에 이용되거나 알콜, 유기산 등으로 전환되기 때문이다.

Table 3. Effect of different kind of salts on the sodium chloride, total nitrogen, and total sugar contents of *kochujang* during fermentation at 20°C

(unit : %)

	Fermentation time(weeks)	<i>Kochujang</i>			
		Control	A	B	C
NaCl	0	10.18	10.18	9.93	10.29
	4	10.13	10.51	10.18	10.45
	8	10.06	10.53	10.05	10.41
	12	11.12	11.25	10.76	10.88
Total nitrogen	0	1.33	1.29	1.31	1.28
	4	1.43	1.40	1.39	1.39
	8	1.44	1.44	1.52	1.46
	12	1.59	1.58	1.56	1.51
Total sugar	0	22.98	22.54	23.26	23.12
	4	20.21	20.06	20.85	20.85
	8	17.90	16.95	18.85	18.22
	12	15.95	14.50	16.31	16.13

¹⁾See footnotes in Table 1.

수분과 수분활성도

고추장의 수분과 수분활성도는 Fig. 5와 같이 수분은 담금 직후 52.08~53.21%이었으나 숙성이 진행되면서 증가하여 12주 숙성 후에는 55.01~57.03%로 증가되었다. 수분활성도는 숙성 중에 수분이 증가하였음에도 불구하고 감소하여 12주 숙성 후에는 0.797~0.802로 감소하였다. 시험구간에는 제재염과 죽염첨가 고추장에서 수분활성도의 저하가 조금 큰 경향이였다. 고추장의 수분은 숙성 중에 여러 가수분해효소에 의하여 원료성분이 분해됨에 따라 유리수가 증가되어 증가되며(22), 수분활성도의 감소는 고분자 물질이 분해되어 저분자화 됨에 따라 용질의 몰 비율이 증가하기 때문이다(30). 한편 일반 가정 고추장의 수분함량이 평균 46.71%이나 수분활성도는 0.79이었던 Shin 등(26)의 보고에 비하여 본 실험구의 수분함량이 많았는데 이는 밀폐하여 숙성시켜 수분의 증발이 적었기 때문이며, 개량식 고추장이 전통식에 비하여 효소활성도가 높기 때문에 원료성분의 분해율이 높다는 것을 의미한다.

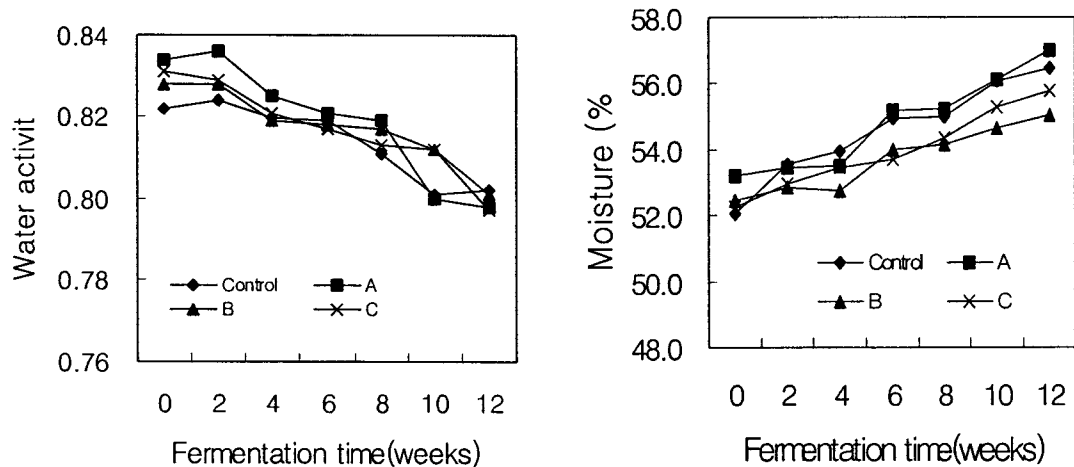


Fig. 5. Effect of different kind of salts on the moisture content and water activity of *kochujang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table 1.

pH와 적정산도, 산화환원전위

고추장의 pH와 적정산도의 변화는 Fig. 6과 같다. pH는 소금 종류에 따라 담금 직후에도 차이가 심하였으며 숙성이 진행되면서 pH는 저하하여 12주 숙성 후에는 천일염 고추장이 pH 4.76으로 제일 낮고 죽염 고추장이 pH 5.25로 높았다

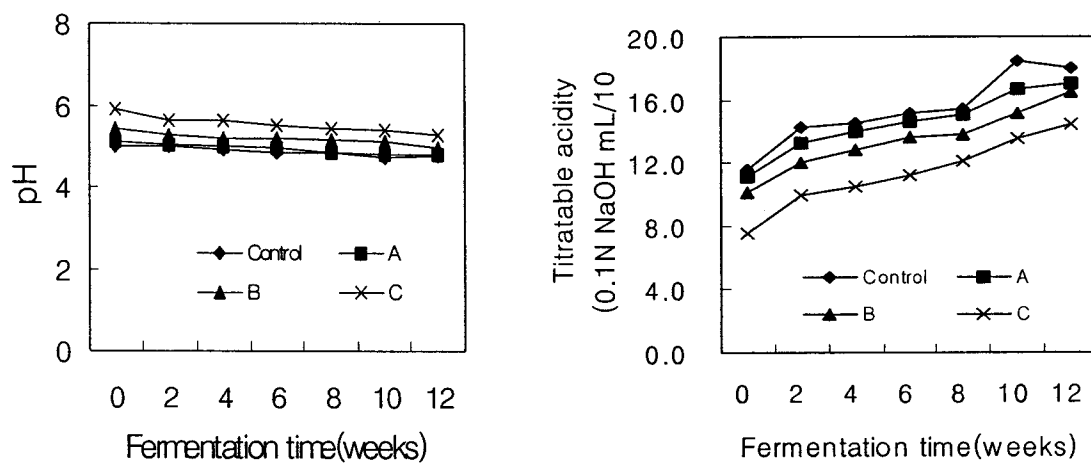


Fig. 6. Effect of different kind of salts on the pH and titratable acidity of *kochujang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table 1.

. 적정산도는 담금 직후 7.5~11.6 mL/10 g에서 숙성이 진행되면서 증가되어 12주 숙성 후에는 죽염 고추장이 14.4 mL/10 g으로 낮았고 천일염 고추장이 18.0 mL/10 g으로 제일 높아 pH 변화와 유사한 경향이였다. 이러한 경향은 소금 종류별 무기질 함량이 달라 된장의 pH와 산도가 달랐다는 Kim 등(13)의 보고와 유사하였고, 전통고추장의 pH와 산도가 pH 4.60, 27.26 mL/10 g이었던 보고(26)에 비하여 산도는 낮았다.

산화환원전위는 Fig. 7과 같이 담금 직후에 -16.3~-74.3 mV로 소금종류에 따라 차이가 있었으며 숙성이 진행되면서 저하하여 12주 숙성 후에는 죽염과 해조소금 첨가 고추장이 각각 -197.9와 -195.2 mV로 제일 낮았다. 산화환원전위가 숙성 중에 -200 mV 이하로 저하하면 호기성균의 증식이 억제되거나 혐기성균의 증식 조건이 유리하게 되며(31), 숙성 후기의 세균수(Fig. 1)의 변화와 상관성이 있는 것으로 추정되었다.

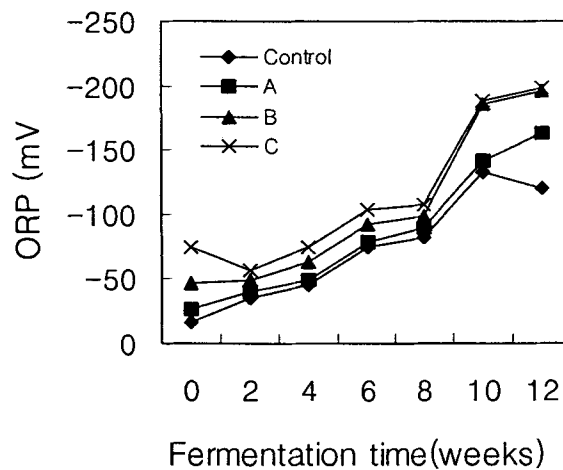


Fig. 7. Effect of different kind of salts on the ORP of *kochujang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table 1.

환원당과 알콜

고추장의 단맛을 결정하는 환원당은 Fig. 8과 같이 숙성이 진행되면서 증가하여 4~6주에 17.22~17.94%로 최고에 달했으며 이후 서서히 감소하여 12주 숙성 후에는 제재염 첨가 고추장이 12.24%로 제일 낮았고 해조소금과 죽염 고추장은 각각 14.86%와 14.68%로 높았다. Lee(2)는 *koji*를 사용한 고추장의 환원당은 숙성 20~30일에 최대 19~20%까지 증가한 후 감소하여 숙성 후에는 13~14% 정도였다고 보고하여 본 실험 결과와 유사하였으나, Kim(3)은 재래식 고추장의 숙성은 자연환경에서 발효가 진행되는 관계로 효소 반응이 늦어 환원당 함량이 낮은 수준이라고 보고한 바 있다. 고추장의 풍미에 중요한 역

할을 하는 알콜의 생성은 숙성 중에 점진적으로 증가하여 12주 숙성 후에는 환원당의 감소가 심하였던 제재염 첨가 고추장은 1.48%에 달했으나 해조소금 고추장이 1.08%로 제일 낮았다.

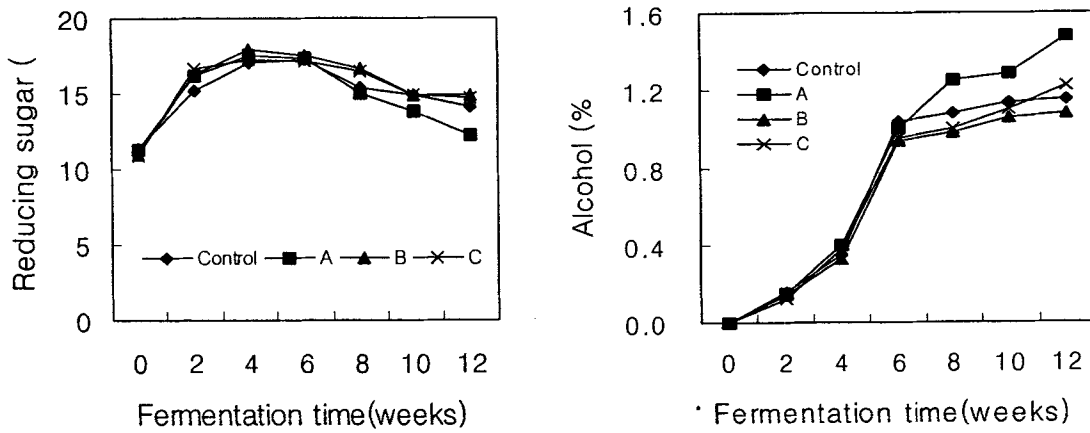


Fig. 8. Effect of different kind of salts on the reducing sugar and alcohol contents of *kochujang* during fermentation at 20°C.

¹⁾See footnotes in Table 1.

이상의 결과로 볼 때 고추장의 환원당은 숙성 중에 알콜의 생성이나 적정산도가 증가함에 따라 감소하는 것으로 판단되었으며(22), 알콜 함량은 담금 시 효모를 첨가한 경우 숙성 30~40일경에 2.10~2.42%에 달했던 Lee(2)와 전통식 고추장의 알콜이 평균 2.69%에 달했던 Shin(26) 등의 보고에 비하여 낮은 수준이었다. 또한 Jung 등(21)은 고추장은 숙성 초기에는 *Candida*속 효모가 40% 분포빈도를 보이나 숙성 15~21일 후에는 *Zygosacch. rouxii*와 *Sacch. cerevisiae*가 가장 높은 분포빈도를 보였다고 보고한 바 있어 알콜의 생성은 효모의 분포비율과 유사한 경향이였다.

질소성분

고추장의 단백질은 숙성과정에 protease에 의해 아미노산으로 분해되면서 구수한 맛을 내게 된다. 질소성분의 경우 Table 4와 같이 아미노태 질소는 숙성 2주 경에 급격히 증가하여 0.30~0.32%에 달했고 그 이후에는 근소한 증감을 보이나 천일염과 제재염을 사용한 고추장은 12주에 0.26%와 0.27%로 감소하였다. 이는 개량식 고추장의 아미노태 질소가 0.248~0.269%(2), 0.205~0.230%(25)이었던 보고와 유사하였으며, 일반적으로 고추장의 아미노태 질소는 개량식이 재래식 고추장에 비하여 높다고 보고된 바 있다(30). 고추장의 바람직하지 않은 풍미와 관련된 암모니아태 질소는 숙성 4~6주까지 증가하나 그

이후에 감소하였고 감소의 정도는 아미노태 질소와 같이 제재염과 천일염 고추장에서 심하였다. 한편 이러한 질소성분의 변화는 단백질 분해효소 활성도의 변화(Fig. 3)와 일치하지 않아 미생물상의 변화 등 복합적인 관계에 의한 것으로 생각되었다.

Table 4. Effect of different kind of salts on the amino and ammonia nitrogen contents of *kochujang* during fermentation at 20°C

	Fermentation time(weeks)	<i>Kochujang</i>			
		Control	A	B	C
Amino nitrogen (%)	0	0.14	0.14	0.15	0.15
	2	0.32	0.30	0.30	0.28
	4	0.31	0.30	0.31	0.28
	6	0.29	0.29	0.30	0.32
	8	0.30	0.30	0.29	0.29
	10	0.29	0.30	0.29	0.30
	12	0.26	0.27	0.30	0.32
Ammonia nitrogen (mg%)	0	5.88	6.06	5.54	5.60
	2	7.56	5.88	5.60	5.88
	4	8.65	7.00	8.68	7.00
	6	7.84	8.96	8.40	8.96
	8	6.60	7.00	7.16	7.10
	10	7.00	5.88	7.52	7.28
	12	5.60	5.04	7.00	6.16

¹⁾See footnotes in Table 1.

관능검사

소금의 종류를 달리하여 제조한 고추장을 12주간 숙성시켜 관능 검사한 결과는 Table 5와 같다. 고추장의 맛은 죽염 첨가 고추장이 천일염이나 제재염 첨가 고추장에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 좋았고 다음으로 해조소금 첨가 고추장이 양호하였다. 색은 죽염 고추장이 천일염이나 제재염에 비하여 양호하였고($p < 0.05$), 향기는 유의성은 없으나 천일염과 해조소금 첨가 고추장이 좋은 평가를 받았다. 고추장의 전체적인 기호도는 죽염과 해조소금 첨가 고추장이 천일염이나 제재염 첨가 고추장에 비하여 좋은($p < 0.05$) 평가를 받아 소금 종류에 따라 고추장의 관능치는 차이가 있었다.

Table 5. Effect of different kind of salts on the sensory evaluation of *kochujang* aged for 12 weeks

<i>Kochujang</i>	Taste	Color	Flavor	Overall acceptability
Control	3.60±0.88 ^{b)}	4.40±0.99 ^{bc)}	4.70±1.22 ^{a)}	3.85±1.09 ^{b)}
A	3.70±1.08 ^{b)}	4.05±0.76 ^{c)}	4.15±1.14 ^{a)}	4.00±1.17 ^{b)}
B	4.25±1.02 ^{ab)}	4.95±1.10 ^{b)}	4.70±1.08 ^{a)}	4.85±0.81 ^{a)}
C	4.50±1.28 ^{a)}	5.75±1.16 ^{a)}	4.60±1.14 ^{a)}	5.50±1.43 ^{a)}

¹⁾See footnotes in Table 1.

²⁾Values are mean ± standard deviation.

³⁾Means with the same letter in column are not significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

요 약

천일염, 제재염, 해조소금, 죽염을 사용하여 고추장을 제조하고 숙성중의 품질특성을 조사하여 사용한 소금의 종류에 따른 영향을 조사하였다. 고추장의 효모수는 죽염 첨가 고추장에서 적었고 호기성 세균수는 해조소금 첨가구에서 적었다. 산성 protease활성도는 죽염 첨가 고추장에서 높았으나 amylase의 차이는 없었다. 고추장의 색도는 죽염고추장이 L-과 a-, b-값 모두 낮았으며 ΔE 값의 변화는 제재염과 해조소금 고추장이 적었다. 고추장 숙성중의 수분활성도의 저하는 제재염에서 심하였고, 점조성은 해조소금 첨가구에서 높았다. 고추장의 총당 함량은 해조소금과 죽염고추장에서 높았다. 적정산도는 죽염 첨가 고추장이 낮았으며, ORP의 저하는 해조소금과 죽염첨가 고추장에서 심하였다. 고추장의 환원당은 제재염 첨가구에서 낮았으나 알콜의 생성은 많았다. 아미노태 질소와 암모니아태 질소는 숙성 중기에 높았으며 천일염과 제재염 첨가 고추장에서 적었다. 고추장의 맛과 색은 죽염 첨가 고추장이 좋았으며, 향기는 제재염 첨가구가 낮아 전체적인 기호도에서 죽염과 해조소금 고추장이 양호하였다.

참 고 문 헌

1. Cho, H.O., Kim, J.G., Lee, H.J., Kang, J.H. and Lee, T.S. Brewing method and composition of traditional *kochuzang* (red pepper paste) in junrabook-do area. J. Korean Agric. Chem. Soc. 24: 21-28 (1981)

2. Lee, T.S. Studies on the brewing of *kochujang*(red papper paste) by the addition of yeasts. J. Korean Agri. Chem. Soc. 22: 65-90 (1979)
3. Kim, Y.S. Studies on the changes in physicochemical characteristics and volatile flavor compounds of traditional *kochujang* during fermentation. Ph. D. Dissertation, King Sejong Univ., Seoul (1993)
4. Lee, K.S., Kim, D.H. Trial manufacture of low-salted *kochujang*(red pepper soybean paste) by the addition of alcohol. Korean J. Food Sci. Technol. 17: 146-154 (1985)
5. Lee, J.E. Salt and hypertension. Korean J. Nephrology 11, Suppl. 6: 56-60(1992)
6. Ha, J.O. and Park, K.Y. Composition of mineral contents and external structure of various salts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27: 413-418 (1998)
7. Park, J.W., Kim, S.J., Kim, S.H., Kim, B.H., Kang, S.K., Nam, S.H. and Jung, S.T. etermination of mineral and heavy metal contents of various salts. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1442-1445 (2000)
8. Korea Dietary Safety Civil Committee, The all about salts. International seminar on salt(Korea · China · Japan), pp.1-33 (2000)
9. Kim, D.H., Rhim, J.H. and Lee, S.B. Characteristics of seaweed salts prepared with various seaweeds. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 62-66 (2003)
10. Shin, M.S. and Lee, H.S. The properties of salts and their effects on salts vegetables. J. Korean Home Economic Association 21: 55-63 (1983)
11. Shin, D.H., Jo, E.J. and Hong, J.S. Chemical composition of imported table salts and *kimchi* preparation test. J. Fd Hyg. Safety 14: 277-281 (1999)
12. Park, S.J., Park, K.Y. and Jun, H.K. Effects of commercial salts on the growth of *kimchi*-related microorganisms. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 806-813 (2001)
13. Kim, S.H., Kim, S.J., Kim, B.H., Kang, S.K. and Jung, S.T. Fermentation of *denjang* prepared with sea salts. Korean J. Food Sci. Technol. 6: 1365-1370 (2000)
14. Official Methods of Miso Analysis. pp. 1-34. Institute of Miso Technologists, Tokyo (1968)
15. Thomas, Y.D., Lulwewes, W.J., and Kraft, A.A. A convenient surface plate method for bacteriological examination of poultry. J. Food Sci 46: 1951-1952 (1981)
16. Merck. pp.66. Handbook of microbiology. USA (1965)
17. Martin, E.P. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for

- estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69: 215-232 (1965)
18. Fuwa, H.A. A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate. *J. Biochem.* 41: 583-588 (1954)
 19. Anson, M.L. Estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 22: 79-89 (1938)
 20. SAS Institute Inc. *SAS User' s Guide: Statistical Analysis system*, Cary, NC. USA. (1992)
 21. Jung, Y.C., Choi, W.J., Oh, N.S. and Han, M.S. Distribution and physiological characteristics of yeasts in traditional and commercial *kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 253-259 (1996)
 22. Kwon, Y.M. and Kim, D.H. Effects of sea tangle and chitosan on the physicochemical properties of traditional *kochujang*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 977-985 (2002)
 23. Lee, J.M., Jang, J.H., Oh, N.S. and Han, M.S. Bacterial distribution of *kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 260-266 (1996)
 24. Kim, D.H. Effect of condiments on the microflora, enzyme activities and taste components of traditional *kochujang* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 264-270 (2001)
 25. Kim, K.H., Bae, G.S. and Lee, T.S. Studies on the quality of *kochujang* prepared with grain and flour of glutinous rice. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 29: 227-236 (1986)
 26. Shin, D.H., Kim, D.H., Choi, U., Lim, D.K. and Lim, M.S. Studies on the physicochemical characteristics of traditional *kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 157-161 (1996)
 27. Kim, M.S., Ahn, Y.S. and Shin, D.H. Analysis of browning factors during fermentation of *kochujang*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 1149-1157 (2000)
 28. Moon, T.W. and Kim, Z.U. Some chemical physical characteristics and acceptability of *kochujang* from various starch sources. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 31: 387-393 (1988)
 29. Shin, D.H., Kim, D.H., Choi, U., Lim, M.S. and An, E.Y. Physicochemical characteristics of traditional *kochujang* prepared with various raw materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 907-912 (1997)

30. Kim, D.H. and Lee, J.S. Effect of condiments on the physicochemical characteristics of traditional *kochujang* during fermentation. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 353-360 (2001)
31. James, M.J. Modern Food Microbiology, 6th ed., pp.45-47. APAC, Nevada, USA (2000)

제 12 절 해조류를 첨가한 두부의 품질 특성과 저장성

김 동 한 (목포대학교 식품영양학과)

서 론

두부는 대두의 수용성 단백질을 추출 응고시킨 gel상의 식품(1)으로 소화율이 높고, 단백질의 아미노산 조성이 동물성 단백질과 유사하여 곡류 위주의 식생활에서 부족한 lysine등 필수아미노산 함량이 높다(2). 두부의 gel화는 대두단백질의 11S globulin에 의해 진행되나(3) 일부 단백질은 응고되지 않고 두유청으로 배출되기 때문에 두부의 수율과 품질은 응고제의 종류(4,5)와 pH(6)에 따라 달라진다. 또한 대두의 품종(7,8)과 수침조건(9), 가열온도(10,11) 등에 의해서도 두부의 수율과 영양성분은 차이가 있다(12). 두부의 영양성분을 보강하기 위해서는 두부 제조 시 우유(13) 또는 팜유(14), 코코넛(15) 등을 첨가하는 연구가 시도된 바 있다. 최근에는 두부의 기능성과 저장성 향상을 위하여 오미자와 매실즙(16)과 녹차(17), 마늘(18), 클로넬라(19) 등을 첨가하거나, 응고제로 키토산(20) 또는 젖산 칼슘(21) 등의 효과가 검토된 바 있다. 한편 두부는 수분 함량이 높고 단백질 등 영양성분이 풍부하여 쉽게 부패(22)하기 때문에 포장 후 마이크로파 처리(23)를 하거나 두부 침지액에 소금과 유기산, 보존료(24-26) 등을 첨가하여 저장성을 향상시킨바 있다.

해조류는 무기질과 비타민이 풍부하고 세포막 또는 세포간 물질로 다량 함유된 알긴산은 Ca^{++} 등 +2가 이온에 의하여 gel화 하는 특성이 있으며(27), 알긴산은 장내미생물중 *Bifidobacterium sp*의 비율은 증가시키나 *Bacteriodes sp* 등의 생육은 억제하고(28), 함초는 약리효과 이외에도 항산화 활성(29) 등 여러 생리활성이 있는 것으로 보고 된바 있다.

따라서 본 연구에서는 해조류를 첨가하여 두부를 제조하면 기존의 두부와는 조직감이나 기호성이 다르며 다당류나 무기질 등 영양적인 기능성을 향상(30)시킬 수 있으리라 사료되어 다시마와 함초 마쇄물을 두유에 혼합하여 제조한 두부의 품질특성과 저장성을 비교 검토하였다.

재료 및 방법

재료

두부 제조에 사용된 대두는 국내산 대두를 재래시장에서, 다시마(*Laminaria japonica*)는 목포 건어물시장에서 신선한 것을 구입하였고, 함초(*Salicornia herbacea*)는 전남 신안군 해역에서 2003년 8월 중순에 채취하여 냉동 보관하면서 사용하였다.

두부의 제조

대두를 수돗물(10~15℃)에 15시간 침지한 후 가수량을 9배로 하여 waring blender로 5분간 마쇄하여 여과포로 여과하여 비지를 제거하고, 해조류 마쇄물을 첨가하여 100℃에서 10분간 가열 처리하였다. 다시마와 함초는 수돗물에 일정시간 침지하여 건조물의 40배되게 가수한 후 Waring blender로 3분간 마쇄하여 pulp상으로 대두에 대하여 1.4, 2.8, 4.2%(두유에 5, 10, 15%) 또는 2.1%되게 첨가하였다. 두부의 응고는 두유와 해조류 혼합물을 80~85℃로 조절하고 20%로 제조한 응고제(MgCl₂, CaCl₂, Ca-acetate, acetic acid)를 가하여 응고시킨 후 소형의 두부틀(16×16×16cm)에 옮겨 12.0g/cm²의 압력으로 10분간 압착하여 성형하였다. 이때 두부의 수율은 두유 혼합물 1ℓ에서 얻어지는 무게로 표시하였고, 이하 모든 측정치는 3반복 이상 실시하여 얻은 평균값으로 하였다.

두부의 저장

두부를 6×6×1.5cm의 크기로 절단하여 멸균 용기에 넣고 2.5배량의 증류수로 침지한 후 공기 중에서 낙하하는 미생물의 오염을 줄이기 위하여 뚜껑을 덮어 30℃에서 0~4일간 저장하였다.

일반성분 분석

두부의 일반성분은 AOAC법(31)에 준하여 수분은 105℃ 건조법, 총질소는 micro-kjeldahl법, 회분은 550℃ 회화법으로, pH는 pH-meter(Orion 920A), 산화환원전위(ORP)는 ORP-meter(Orion 525+, USA)를 이용하여 직접 측정하였다.

두부순물과 침지액의 탁도

두부 제조 시 배출되는 순물의 탁도는 두유청을 동양여지 No. 2로 여과하여 여액의 흡광도를 비색계(Shimadzu UV-1601, Japan)로 440 nm(4)에서, 두부 저장 중 침지액의 탁도는 600 nm 에서 측정하였다(26).

적정산도와 아미노태 질소

두부 저장 중 적정산도는 두부 1 g 또는 침지액은 10 mL를 phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH로 적정하였고, 아미노태 질소는 Formol 적정법으로 정량하였다.

두부의 색도

두부의 색도는 색차계(Chromameter CR 200, Minolta, Japan)로 측정하여 Hunter색차계인 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값으로 나타냈다.

두부의 Hardness 측정

두부의 hardness는 두부를 일정크기(2.0×2.0×1.5 cm)로 절단하여 Rheometer (Compac-100, Sun Scientific Co., Japan)로 측정하였다. 측정 mode는 mastication, max. weight: 10 kg, crosshead speed: 100 mm/min, chart speed: 10 mm/min, adaptor는 No. 25를 사용하여 60%의 변형을 주었다.

두부의 무기성분 분석

무기물 함량은 두부 10 g을 550℃에서 회화시킨 후 6N HCl 20 mL를 4회 나누어 가하여 용해시킨 후 25 mL로 정용하고 Whatman No. 41(ashless)로 여과하여 분석 시료로 사용하였다. 분석조건은 ICP(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer, Varian Liberty 100, USA)를 이용하여 plasma: 15.0 L/min, auxiliary: 1.5 L/min, pump speed: 25.0 rpm, carrier gas flow: 75 psi, nebulizer: 150 kPa, integration time: 3 sec로 하였다.

세균수 측정

마쇄한 두부를 멸균 생리식염수를 이용하여 10진법으로 희석한 후 호기성 세균은 Tryptic soy agar, 혐기성 세균은 APT agar에 희석 도달한 후 그 위에 1.5% agar를 도말하여 30℃에서 1~2일간 배양한 후 colony counter로 계수하였다(26).

관능검사

응고제의 종류를 달리하여 제조된 두부를 15명 pannel로 하여금 조직감, 외관, 씹은맛,

비린맛, 풍미, 종합적인 기호도에 대하여 관능적으로 평가하여 최고 7점 최저 1점으로 7 단계 평점 하였다. 관능검사로 얻어진 data는 SPSS program(SPSS 10.0, SPSS Institute, USA)(32)를 이용하여 분산분석 후 Duncan's multiple range test에 의해 통계처리 하였다.

결과 및 고찰

해조류 첨가량의 영향

두유에 다시마와 함초 마쇄물의 첨가량을 0~4.2%로 달리하여 제조한 두부의 일반 특성은 Table 1과 같다. 두부 제조시 다시마와 함초의 첨가량이 증가하면 두부 응고에 필요한 응고제(MgCl₂)의 첨가량과 두부의 수율, 두부순물의 탁도는 증가하였으나 증가의 정도는 다시마가 함초에 비하여 현저하였다. 반면 두부와 순물의 pH도 다시마와 함초의 첨가량이 증가할수록 저하하였다. 이는 두유의 gel화가 Mg 등 +2가 ion이 대두단백질의 aspartic acid나 glutamic acid의 carboxyl group이나 histidine의 imidazole group 등과 결합으로 이루어지나(6), 다시마에 함유된 알긴산도 Mg⁺⁺ 이온에 의하여 gel을 형성(27)하기 때문에 다시마의 첨가는 함초와는 달리 두부의 수율이 증가되는 것으로 판단되었다.

Table 1. Effect of seaweed concentration on prepared of tofu coagulated with magnesium chloride

	Seaweed conc.(%)	Coagulant added(%)	Yield (g/L)	Whey absorbance	pH	
					Whey	Tofu
Control	0	0.16	175.3	0.18	5.89	6.04
<i>Laminaria japonica</i>	1.4	0.21	199.0	0.21	5.85	6.03
	2.8	0.33	232.6	0.71	5.76	5.95
	4.2	0.36	248.3	0.78	5.69	5.88
<i>Salicornia herbacea</i>	1.4	0.15	186.4	0.23	5.86	6.02
	2.8	0.16	188.8	0.29	5.84	5.91
	4.2	0.18	189.7	0.31	5.77	5.90

이들 두부의 이화학적 특성은 Table 2와 같이 두부 수율이 증가되었던 다시마 첨가량이 많은 구일수록 수분함량이 높고 조단백질과 회분 함량은 감소하는 경향 이었다. 두부

의 색은 다시마와 함초의 첨가량이 증가하면 두부가 첨가한 해조류에 의하여 옅은 푸른 색을 띄기 때문에 L-값이 낮아지고 b-값이 증가하는 경향을 보였다.

Table 2. Effect of seaweeds concentration on physicochemical characteristics of tofu coagulated with magnesium chloride

	Seaweed conc.(%)	Moisture (%)	Crude Protein(%)	Ash (%)	Hunter' s color value		
					L	a	b
Control	0	76.23	13.83	1.21	88.44	-2.06	13.81
<i>Laminaria japonica</i>	1.4	78.32	13.80	1.16	81.48	-4.71	18.17
	2.8	79.46	12.65	1.15	76.92	-5.19	18.62
	4.2	82.25	12.30	0.98	72.61	-5.25	20.52
<i>Salicornia herbacea</i>	1.4	76.65	13.74	1.06	79.78	-5.08	18.51
	2.8	76.69	13.65	1.07	75.41	-5.16	19.05
	4.2	78.55	13.53	1.09	72.04	-5.29	20.78

응고제의 종류의 영향

응고제를 $MgCl_2$ 와 $CaCl_2$, Ca-acetate, acetic acid(HAc)로 달리하여 해조 두부를 제조한 결과는 Table 3, 4와 같다. 두부 제조시 응고제의 첨가량은 응고제의 종류에 따라 차이가 심하여 다시마를 첨가 두부에서 $CaCl_2$ 와 Ca-acetate의 첨가량이 현저히 많았으며, 두부의 수율도 Mg^{++} 보다는 Ca^{++} ion의 첨가시 높았고 순물의 탁도는 낮았다. 이러한 경향은 미역을 첨가한 두부에서도 유사하여 Ca^{++} ion이 Mg^{++} 보다 알긴산과 gel 형성능이 강한 것으로 보고(33)된 바 있다. 또한 두유의 pH가 낮을수록 응고제의 첨가량이 증가하였다는 Kroll(6)의 보고와 유사하였고, 순물의 혼탁도는 단백질의 응고효율과 밀접한 상관관계를 가지나 두부의 수율과 순물의 탁도는 응고제를 달리하는 경우 상관성이 없는 것으로 판단되었다(4). 한편 HAc는 다시마를 첨가한 경우에 두부 수율이 낮았으나 함초를 첨가한 경우에는 큰 차이가 없었는데 이는 유기산에 의한 두유의 응고는 대두 단백질

Table 3. Effect of various coagulant on prepared of tofu

	Coagulant	Coagulant added(%)	Yield (g/L)	Whey absorbance	pH	
					Whey	Tofu
Control	MgCl ₂	0.16	179.5	0.35	5.91	6.10
	MgCl ₂	0.25	201.3	0.72	5.84	5.61
<i>Laminaria japonica</i>	CaCl ₂	0.75	234.1	0.61	5.54	5.52
	Ca-acetate	0.80	232.2	0.28	5.85	5.29
	Acetic acid	0.26	191.4	0.34	4.72	4.68
<i>Salicornia herbacea</i>	MgCl ₂	0.17	192.4	0.37	5.83	6.03
	CaCl ₂	0.19	194.6	0.25	5.70	5.89
	Ca-acetate	0.22	205.7	0.43	5.73	5.83
	Acetic acid	0.17	198.9	0.39	4.99	4.40

1) Seaweed concentration was 1.4%

이 등전점 침전(16)에 의하기 때문이다. 두부와 순물의 pH는 대조구에 비하여 다시마나 함초를 첨가한 두부 모두 낮아졌고 특히 HAc를 이용한 두부에서 제일 낮아 Ca-acetate를 첨가한 두부와 차이가 있었다.

두부의 수분은 Table 4와 같이 해조류를 첨가하면 대조구에 비하여 수분량은 많아져 HAc로 함초 두부를 제조한 구에서 제일 많았고, 조단백질은 수율과 수분량이 증가함에 감소하는 경향이였다. 반면 두부의 회분량은 응고제의 첨가량이 많았던 구에서 특징적으로 높았으며, 두부의 색은 다시마보다 함초를 첨가한 두부가 대조구에 비하여 L-값이 낮아지고 b-값이 높아 조금 어두운 푸른색을 띄었다.

Table 4. Effect of various coagulant on physicochemical characteristics of tofu

	Coagulant	Moisture (%)	Crude Protein(%)	Ash (%)	Hunter' s color value		
					L	a	b
Control	MgCl ₂	76.13	14.00	1.11	88.47	-1.57	13.57
	MgCl ₂	78.64	13.65	1.08	82.05	-4.20	15.95
<i>Laminaria japonica</i>	CaCl ₂	78.78	12.85	1.58	81.28	-4.16	15.39
	Ca-acetate	78.50	13.30	1.71	79.87	-4.25	15.44
	Acetic acid	78.76	13.30	0.54	81.43	-4.13	16.17
<i>Salicornia herbacea</i>	MgCl ₂	77.56	13.37	1.20	76.75	-4.23	18.94
	CaCl ₂	76.96	13.30	1.23	76.44	-4.10	19.94
	Ca-acetate	78.87	12.95	1.24	76.13	-4.09	19.19
	Acetic acid	79.77	13.13	0.42	77.26	-3.81	19.17

1) Seaweeds concentration were 1.4%

초산과 Ca염의 영향

두부 제조시 영양상 Ca의 급원이 될 수 있으며 pH를 저하시켜 두부의 저장성을 향상시킬 수 있으리라고 판단되는 Ca-acetate와 HAc를 응고제로 선발하고, 해조류의 첨가량은 두부의 수율과 이화학적 특성을 고려하여 2.1%로 고정시켜 제조한 두부의 이화학적 특징은 Table 5, 6과 같다.

Table 5. Comparison of tofu prepared from soybean milk and seaweeds

	Seaweeds	Coagulant adde(%)	Yield (g/L)	Whey absorbance	pH	
					Whey	Tofu
	None	0.18	200.2	0.40	5.56	6.13
Ca-acetate	<i>L. japonica</i>	0.84	238.4	0.39	5.70	6.29
	<i>S. herbacea</i>	0.21	212.1	0.46	5.73	6.09
	None	0.13	203.8	0.87	5.20	5.11
Acetic acid	<i>L. japonica</i>	0.29	207.7	0.48	4.87	4.54
	<i>S. herbacea</i>	0.18	200.2	0.43	5.10	4.84

1) Seaweed concentration was 2.1%

응고제의 첨가량은 다시마를 첨가하여 제조한 두부에서 현저히 많았고, 두부의 수율은 다시마를 첨가하여 Ca-acetate로 응고시킨 구가 238.4 g으로 제일 높았으며 다른 시험구도 해조류를 첨가하지 않은 구에 비해 조금 높은 수준이었다. 그러나 순물의 탁도는 HAc를 응고제로 한 해조류 무첨가구와 다시마 첨가구에서 높았고, pH는 응고제로 Ca-acetate를 첨가한 경우에는 두부의 pH가 순물보다 높았으나 HAc를 첨가한 경우 두부의 pH가 낮았다. 두부의 수분과 조단백질 함량은 Table 6과 같이 Ca-acetate로 응고시킨 두부가 HAc로 응고시킨 두부에 비하여 수분함량이 많은 대신 조단백질은 적어 응고제로 MgCl₂를 사용한 Table .12-2의 결과와는 차이가 있었다. 또 회분 함량은 Ca-acetate구가 응고제로 첨가된 Ca ion 때문에 많았으나, 두부의 견고성은 HAc로 응고시킨 두부에서 높았고 해조류의 첨가로 증가되었다. 이러한 경향은 미역을 첨가한 두부(33)에서도 HAc로 응고시킨 두부가 견고성이 제일 높고 미역의 첨가로 탄성과 응집성, 부서짐성이 증가하여 텍스처 특성이 달라졌던 결과와 유사하였다.

Table 6. Comparison of physicochemical characteristic of tofu prepared from soybean milk and seaweeds

Seaweeds	Moisture (%)	Crude Protein(%)	Ash (%)	Hardness (g/cm ²)	Hunter' s color value			
					L	a	b	
Control	80.20	12.57	1.05	755.3	86.13	-1.70	13.61	
Ca-acetate	<i>L. japonica</i>	80.75	11.85	1.68	743.5	80.68	-3.55	15.23
	<i>S. herbacea</i>	79.25	12.26	1.19	692.6	75.30	-4.08	19.16
Control	78.21	13.36	0.64	809.9	87.08	-1.45	13.57	
Acetic acid	<i>L. japonica</i>	78.33	13.23	0.71	865.3	82.12	-2.86	15.43
	<i>S. herbacea</i>	80.10	13.04	0.66	856.4	77.12	-3.70	19.23

1) Seaweed concentration was 2.1%

두부의 무기물 조성은 Table 7과 같이 K>Ca>Mg>Na 순이었으며 Ca-acetate으로 응고시킨 두부가 HAc로 응고시킨 두부에 비하여 Ca 와 K, Mg 함량이 많았으나 Na은 HAc로 응고시킨 두부에서 많았다. 이는 Ca-acetate로 응고시키는 경우 Ca ion이 Na ion 과 단백질의 carboxyl group과의 결합에서 경쟁하기 때문에 두부에 상대적으로 적게 잔류하는 것으로 판단되었다. 또한 해조류의 첨가는 해조류에 들어 있는 무기물의 보강으로 무첨가구에 비하여 이들 무기물 함량이 증가되었다.

Table 7. Comparison of mineral contents of tofu prepared from soybean milk and seaweeds

		(Unit: ppm)			
	Seaweeds	Ca	K	Mg	Na
	Control	892.9	1266.3	319.4	98.0
Ca-acetate	<i>L. japonica</i>	925.9	1294.7	340.8	199.2
	<i>S. herbacea</i>	897.8	1275.9	331.5	172.2
	Control	399.9	1117.3	204.4	112.2
Acetic acid	<i>L. japonica</i>	475.5	1156.7	226.6	181.7
	<i>S. herbacea</i>	460.4	1148.4	246.6	160.9

해조류를 첨가한 두부를 관능평가 한 결과는 Table 8과 같다. 응고제는 Ca-acetate가 HAc로 응고시킨 두부에 비하여 관능적으로 우수하였으며, 해조류를 첨가한 두부는 짧은

맛과 비린맛이 적으나 향과 전체적인 기호도에서 무첨가 두부에 비해 낮은 평가를 받았다. 반면 조직감은 Ca-acetate로 응고시킨 무첨가구가, 겉모양은 함초를 첨가하여 Ca-acetate로 응고시킨 두부가 양호한 판정을 받았으나 시험구와 관능 평가 항목에 따라 차이가 심하였다.

Table 8. Sensory evaluation of tofu prepared from soybean milk and seaweeds

Sensory attributes	Ca-acetate			Acetic acid		
	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>
Texture	5.00±1.51 ^{a)}	4.87±1.13 ^{ab)}	4.67±1.44 ^{ab)}	3.93±1.11 ^{ab)}	4.20±0.94 ^{ab)}	4.03±1.10 ^{ab)}
Appearance	5.00±1.13 ^{a)}	3.93±0.70 ^{b)}	5.07±1.53 ^{1 a)}	4.93±0.88 ^{a)}	3.33±1.11 ^{b)}	4.67±1.35 ^{ab)}
Astringent taste	5.13±1.64 ^{a)}	4.87±1.41 ^{ab)}	3.93±1.44 ^{bc)}	2.93±0.80 ^{cd)}	3.13±1.30 ^{cd)}	2.67±1.40 ^{d)}
Beany flavor	5.20±1.15 ^{a)}	4.33±0.90 ^{ab)}	3.60±1.12 ^{bc)}	4.20±1.37 ^{b)}	3.47±1.06 ^{bc)}	2.73±1.62 ^{c)}
Odor	5.20±1.37 ^{a)}	4.60±1.12 ^{ab)}	4.13±1.13 ^{bc)}	4.06±1.10 ^{bc)}	3.47±0.99 ^{cd)}	3.23±1.10 ^{d)}
Overall acceptability	5.60±0.99 ^{a)}	4.80±1.08 ^{b)}	4.73±1.03 ^{b)}	4.40±0.83 ^{b)}	3.47±0.83 ^{c)}	3.17±0.99 ^{d)}

1) Values are mean±standard deviation.

2) Means with the same letter in column are not significantly different by duncan' s multiple range test(p<0.05).

해조 두부의 저장성

두부에 증류수를 2.5배량 가하여 뚜껑을 덮고 30℃에서 4일간 저장하면서 침지액의 탁도를 조사한 결과는 Table 9와 같이 저장시간이 지남에 따라 탁도는 증가하나 Ca-acetate로 응고시킨 두부보다는 HAc로 응고시킨 두부에서 탁도의 증가가 적었고, 대조구 보다는 해조류를 첨가한 두부에서 침지액의 탁도가 낮았다. 두부의 변질시 미생물의 증식에 의한 점질물의 생성(22)으로 침지액의 탁도가 증가하며, 이 등(26)은 침지액의 탁도를 조사하면 두부의 부패 정도를 간접적으로 알 수 있다고 보고 한 바 있다.

Table 9. Changes in turbidity of soaking solutions of tofu during storage at 30℃

Storage time(day)	Ca-acetate			Acetic acid		
	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>
0	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01
1	0.36	0.30	0.29	0.17	0.03	0.11
2	0.40	0.32	0.31	0.18	0.09	0.17
3	0.43	0.35	0.30	0.19	0.12	0.18
4	0.57	0.33	0.29	0.27	0.15	0.19

두부 저장 중 두부와 침지액의 pH와 적정산도는 Table 10, 11과 같다. pH는 저장 중에 저하하다가 다시 증가하는 경향을 보이거나 pH의 증가폭은 대조구에서 심하였고, 시험구간에는 HAc로 제조한 두부와 다시마 첨가 두부에서 pH의 변화는 적었다. 적정산도는 저장 중에 증가하나 Ca-acetate로 제조한 두부와 HAc로 제조한 대조구는 침지액이 저장 중에 증가되었다가 감소하는 경향을 보여 pH변화와 유사한 변화를 보였다. 저장 중에 pH가 저하되다가 증가하는 이유는 두부의 단백질이 분해되면서 생성되는 아미노산이나 저분자의 peptide에 의한 완충작용 때문이며(24), HAc로 응고시킨 두부는 등전점 침전에 의하기 때문에 Ca-acetate로 응고시킨 두부에 비하여 단백질간의 결합력이 상대적으로 낮아 pH가 저하함에 따라 다시 플립현상이 일어난 것이 아닌가 판단되었다.

Table 10. Changes in pH of soaking solutions and tofu during storage at 30℃

	Storage time(day)	Ca-acetate			Acetic acid		
		Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>
Soaking solu.	0	6.23	6.34	6.28	5.61	4.78	5.18
	1	5.11	5.47	5.16	4.85	4.63	4.76
	2	5.16	5.61	5.28	4.68	4.50	4.62
	3	5.41	6.10	5.78	4.77	4.45	4.59
	4	6.65	6.37	6.53	5.01	4.54	4.68
Tofu	0	6.17	6.59	6.57	5.64	4.91	5.11
	1	5.79	6.07	5.92	5.05	4.70	5.04
	2	6.04	5.71	5.87	5.26	4.73	4.87
	3	6.08	5.72	5.85	5.27	4.33	4.73
	4	6.15	5.97	6.04	5.96	4.34	4.74

Table 11. Changes in titratable acidity of soaking solutions and tofu during storage at 30°C

	Storage time(day)	Ca-acetate			Acetic acid		
		Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>
Soaking solu. (0.1N NaOH mL/10mL)	0	0.02	0.03	0.02	0.22	0.30	0.25
	1	1.01	1.28	1.12	1.58	1.91	1.84
	2	1.08	1.59	1.28	2.00	2.51	2.45
	3	0.76	1.37	0.64	1.81	2.75	2.37
	4	0.47	1.34	0.40	1.58	3.25	2.42
Tofu (0.1N NaOH mL/g)	0	0.12	0.15	0.11	0.22	1.11	0.93
	1	1.11	1.03	0.83	2.06	3.06	2.11
	2	1.55	1.51	1.86	2.20	3.40	2.52
	3	1.64	1.25	1.53	2.33	3.88	2.75
	4	1.68	1.63	1.53	2.36	4.80	3.86

저장중의 산화환원전위(ORP)는 Table 12와 같이 저장기간에 따라 ORP는 저하하였으나 침지액은 HAc로 응고시킨 함초 첨가 두부를 제외하고는 3일 이후에는 다시 증가하는 경향을 보였다. 그러나 ORP가 -200mV 이하로 저하할 때 혐기성 세균의 증식이 유리해 진다고 볼 때(34) 두부의 저장에 미치는 영향은 적을 것으로 판단되었으며, 시험구간에는 응고제는 HAc로 응고시킨 두부가 Ca-acetate로 응고시킨 두부에 비하여 ORP는 높은 수준이었다.

Table 12. Changes in oxidation-reduction potential of soaking solutions and tofu during storage at 30°C

(Unit: mV)

	Storage time(day)	Ca-acetate			Acetic acid		
		Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>
Soaking solu.	0	-132.8	-127.0	-105.5	-96.1	-81.9	-85.1
	1	-153.7	-151.0	-146.5	-118.9	-113.0	-104.8
	2	-196.5	-154.8	-190.6	-124.7	-118.6	-110.7
	3	-260.4	-175.7	-237.9	-135.7	-135.7	-105.4
	4	-182.4	-160.3	-197.9	-126.8	-96.5	-99.1
Tofu	0	-107.1	-131.6	-117.3	-88.8	-78.9	-86.7
	1	-118.2	-125.3	-115.0	-75.6	-77.0	-76.7
	2	-120.4	-117.6	-115.2	-81.7	-72.8	-70.8
	3	-140.7	-127.6	-119.9	-67.6	-51.2	-53.1
	4	-171.5	-158.1	-165.4	-141.5	-117.8	-116.3

두부와 침지액중의 아미노태 질소는 Table 13에서와 같이 저장기간이 경과함에 따라 증가하였으나 침지액에 비하여 두부의 아미노태 질소함량이 현저히 많았으며, 두부는 저장 2~3일 경에 최고치에 달했고 그 이후에는 감소하였다. 시험구간에는 다시마나 함초의 첨가로 아미노태 질소 생성은 적었고, HAc로 응고시킨 두부는 Ca-acetate에 비해 저장 초기에 아미노태 질소 함량이 높아 두부의 응고시 결합이 느슨함을 알수 있었다.

두부의 저장중 세균수의 변화는 Table 14와 같이 저장 전에는 호기성 세균이 많았으나 저장 1일에 호기성 세균과 혐기성 세균 모두 두부의 초기 부패에 해당하는 10^7 CFU/g에 달했고(17), 저장 2~3일 최고치에 달한 후에는 불규칙한 증감을 보였다. 또한 무첨가구 보다는 해조류 첨가 두부가 세균수가 증가가 적었으며 시험구간에는 함초 보다는 다시마 첨가구가, 응고제는 HAc로 응고시킨 두부에서 세균수의 증식은 적었다. 이들을 종합하여 볼 때 두부 제조시 해조류를 첨가하면 저장성을 향상시킬 수 있었으며, HAc를 응고제로 하여 다시마를 첨가하는 것이 함초를 첨가하여 응고제로 Ca-acetate를 이용하는 것보다 효과적이었다.

Table 13. Changes in amino nitrogen content of soaking solutions and tofu during storage at 30℃

(Unit: mg%)

	Storage time(day)	Ca-acetate			Acetic acid		
		Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>
Soaking solu.	0	2.66	2.30	2.24	2.65	2.80	2.38
	1	2.80	2.52	2.79	2.94	2.94	3.09
	2	3.51	2.36	3.21	3.22	2.37	3.22
	3	4.92	4.34	4.18	4.05	4.18	3.92
	4	5.74	4.62	4.35	4.36	4.18	4.05
Tofu	0	42.0	42.1	38.4	63.1	59.6	59.5
	1	52.5	56.3	59.5	70.1	70.1	73.5
	2	56.1	59.5	63.0	77.2	63.0	63.0
	3	70.2	45.5	59.6	56.4	45.5	45.4
	4	48.6	38.5	45.5	48.9	38.4	42.0

Table 14. Changes in bacterial counts of soaking solutions and tofu during storage at 30°C

(Unit: log. number CFU/g)

	Storage time(day)	Ca-acetate			Acetic acid		
		Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>	Control	<i>L. japonica</i>	<i>S. herbacea</i>
Aerobic bacteria	0	5.19	5.14	5.30	4.59	4.73	4.67
	1	7.39	7.33	7.40	7.39	7.14	7.20
	2	9.32	8.74	9.09	9.15	8.52	8.26
	3	8.99	9.14	9.26	8.30	7.85	8.49
	4	9.57	8.88	8.96	8.83	8.20	8.66
Anaerobic bacteria	0	4.20	4.43	4.75	4.53	4.24	4.45
	1	7.45	7.39	7.41	7.36	7.00	7.34
	2	9.28	8.72	9.01	8.63	8.30	8.41
	3	8.89	8.81	8.89	8.45	8.18	8.32
	4	8.88	8.84	8.75	8.36	7.90	8.26

요 약

두유에 미역과 다시마를 0~4.2% 혼합하여 두부를 제조하고 품질 특성과 저장성을 비교하였다. 다시마를 첨가한 두부가 함초에 비하여 응고제의 첨가량과 수율이 많았으나 수분량이 많아 조단백질은 적었다. 두부의 색은 해조류 첨가로 L-값과 a-값이 감소하고 b-값은 증가하였다. 응고제는 Ca이 Mg ion보다 해조두부의 수율이 높아 다시마 첨가구에서 238.4g/L이었고, 두부의 pH는 해조류의 첨가로 낮아지며 HAc로 응고시킨 구에서 제일 낮았다. 두부의 회분함량은 Ca-acetate로 응고시킨 두부가 HAc에 비하여 많았으나, 견고성은 HAc로 응고시킨 두부에서 높았고 해조류의 첨가로 증가되었다. 두부의 무기물 조성은 K>Ca>Mg>Na 순이었으며, Ca-acetate로 응고시킨 두부가 K와 Mg 함량이 많았다. Ca-acetate로 응고시킨 두부가 관능적으로 우수하였으며, 해조류 첨가시 짙은맛과 비린맛이 적었으나 전체적인 기호도는 무첨가구가 양호하였다. 두부를 증류수에 침지하여 30°C에서 저장할 때 HAc로 응고시킨 두부가 침지액의 탁도 증가와 pH의 변화, 적정산도의 증가가 적었으며 ORP는 높았다. 다시마와 함초를 첨가한 두부의 저장 중 아미노태질소의 생성은 적었으며 세균수는 저장 1일 후에 10⁷CFU/g에 달했으나, 세균수는 HAc로 응고시킨 다시마 첨가두부에서 적었고, Ca-acetate로 응고시킨 무첨가 두부에서 많았다.

참 고 문 헌

1. Kamel BS, deMan JM. Composition and properties of bean curd made from Ontario soybeans. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 15: 273-276 (1982)
2. Wee JJ, Lee HJ. Coprecipitation characteristics of cheese whey and soybean proteins. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 26: 199-204 (1983)
3. Mori T, Nakamura T, Utsumi S. Gelation mechanism of soybean 11S globulin: Formation of soluble aggregates as transient intermediates. *J. Food Sci.* 47: 26-30 (1981)
4. Tsai SJ, Lan CY, Kao CS, Chen SC. Studies of the yield and quality characteristics of tofu. *J. Food Sci.* 46: 1734-1740 (1981)
5. Shimada K, Matsushita S. Effects of Salts and denaturants on thermocoagulation of roteins. *J. Agric. Food Chem.* 29: 15-20 (1981)
6. Kroll R D. Effect of pH on the binding of calcium ions by soybean proteins. *Cereal Chem.* 61: 490-495 (1984)
7. Wang HL, Swain EW, Kwolek WF. Effect of soybean varieties on the yield and quality of tofu. *Cereal Chem.* 60: 245-248 (1983)
8. Rajini M, Dianne TT, Perry KWNg. Evaluation of soybean varieties for soymilk and tofu production potential using laboratory-developed procedures. *Food Sci. Biotechnol.* 11: 470-476 (2002)
9. Choi KS, Kim SH. Changes in soluble sugars and soybean curd yield with increased steeping time during soybean curd processing. *Korean J. Food and Nutr.* 12: 401-406 (1983)
10. Iwabuchi S, Yamauchi F. Effects of heat and ionic strength upon dissociation-association of soybean protein fractions. *J. Food Sci.* 49: 1289-1294 (1984)
11. Escueta EE, Bourne MC, Hood LF. Effect of boiling treatment of soymilk on the composition, yield, texture and sensory properties of tofu. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 19: 53-56 (1986)
12. Miskovsky A, Stone MB. Effects of processing on curd yield and nutrient composition of rapid hydration hydrothermal cooking and traditionally processed soymilk and soybean curd. *J. Food Sci.* 52: 1542-1544 (1987)

13. Kim TY. Studies on the preparation and physicochemical characteristics of the soybean curd by adding cow's milk and the soybean curd cheese. Ph. D. Dissertation, Wonkwang Univ., Iksan (1994)
14. Yamano Y, Miki E, Fukui Y. Effect of palm oil on the texture of soybean protein gel. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 28: 131-135 (1981)
15. Escueta EE, Bourne MC, Hood LF. Effect of coconut cream addition to soymilk on the composition, texture, and sensory properties of tofu. *J. Food Sci.* 50: 887-890 (1985)
16. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. Preparation and shelf-life of soybean curd coagulated by fruit juice of *Schizandra chinensis* and *Prunus mume*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 1087-1092 (2000)
17. Jung JY, Cho EJ. The effect of green tea powder levels on storage characteristics of tofu. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* 18: 129-135 (2002)
18. Park YJ, Nam YL, Jeon BR, Oh NS, In MJ. Effects of gallic addition on quality and storage characteristics of soybean curd. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 46: 329-332 (2003)
19. Kim SS, Park MK, Ph NS, Kim DC, Han MS, In MJ. Studies on quality characteristics and shelf-life of *Chlorella* soybean curd. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 46: 12-15 (2003)
20. Chun KH, Kim BY, Hahm YT. Extension of tofu shelf-life with water soluble degraded chitosan as a coagulant. *J. Korean Soc. Nutr.* 28: 161-166 (1999)
21. Lee MY, Kim SD. Shelf-life and quality characteristics of tofu coagulated by calcium lactate. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 412-419 (2004)
22. Shirakawa T. On the Slimy Spoilage of tofu. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 32: 1-5 (1985)
23. Wu NT, Salunkhe DK. Extending shelf-life of fresh soybean curds by package microwave treatments. *J. Food Sci.* 42: 1448-1450 (1977)
24. Pontecorvo AJ, Bourne MC. Simple methods for extending the shelf life of soy curd in tropical areas. *J. Food Sci.* 43: 969-972 (1978)
25. Miskovsky A, Stone MB. Effects of chemical preservatives on storage and nutrient composition of soybean curd. *J. Food Sci.* 52: 1535-1537 (1987)

26. Lee KS, Kim DH, Baek SH, Choun SH. Effects of coagulants and soaking solutions of tofu on extending its shelf life. Korean J. Foods Sci. Technol. 22: 116-122 (1990)
27. Luh N, Flink JM, Karel M. Fabrication, characterization, and modification of the texture of calcium alginate gels. J. Food Sci. 42: 976-981 (1977)
28. Kuda T, Oyamada A, Fujii T. Effects of depolymerised sodium alginate on human fecal flora and intestinal environment. Nippon Suisan Gakkaishi, 60: 85-90 (1994)
29. Park SH, Kim KS. Isolation identification of antioxidant flavonoids from *Salicornia herbacea* L. J. Korean Soc. Appi. Biol. Chem. 47: 120-123 (2004)
30. Kim DH, Lim MS, Kim YO. Effect of seaweeds addition on the physicochemical characteristics of soybean curd. J. Korean Soc. Food Nutr. 25: 249-254 (1996)
31. AOAC. : Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA (1990)
32. SPSS. SPSS Program . Version 10.0. SPSS Insitiute, Chicago, IL, USA (2000)
33. Kim DH, Lim MS, Kim YO. Effects of different coagulants on quality of tofu prepared from soybean milk and sea mustard. Theses of Mokpo National Univ. 13: 533-543 (1995)
34. James MJ. Modern Food Microbiology, 6th ed. APAC. Nevada, USA. pp.45-47 (2000)

제 13 절 해조소금의 제조 및 특성

김 동 한 (목포대학교 식품영양학과)

서 론

소금은 인체의 생리기능을 유지하기 위해 필수적인 무기물일 뿐만 아니라, 식생활에서 음식의 맛 조절과 식품의 저장을 위하여 널리 사용되어 왔다. 삼면이 바다로 둘러싸인 우리나라는 대부분 염전에서 생산되는 천일염을 소금으로 이용하여 왔으나 암염이나 호염, 정염 등이 이용되기도 한다. 외국의 값싼 천일염, 암염 등이 수입되고 있으나 국내산 천일염과는 염도나 무기물 조성 등 차이가 있고, 최근에는 기계염과 재제염, 가공염, 죽염 등 다양한 형태의 소금이 생산 이용되고 있다. 소금은 체내에서 세포막의 전압과 혈압 조절 등 생리기능과 관련이 있고 특히 Na^+ 은 체액의 osmolarity와 혈장의 부피 유지, 신경흥분, 근육수축 및 영양소의 이동에 중요한 역할을 하나 Na^+ 과 고혈압과의 관계 등을 고려하여 소금의 과잉 섭취를 제한하고 있다(1). 소금의 인체에 대한 영향은 소금의 종류에 따른 과산화 효과와 보들연변이성(2), 죽염의 약리작용(3)과 생리활성(4) 등의 보고가 있다. 또한 소금이 발효식품 제조 시 김치(5-7)나 오이지(8,9), 고추장(10) 등에 미치는 영향에 대한 연구가 있으나, 한국인은 김치나 장류, 젓갈류 등을 통한 소금의 섭취가 생리적인 요구량보다 많은 경향이 있다(11,12).

그러나 소금의 제조와 그 특성에 관한 연구는 극히 미미하여 들소금의 생산구조와 정제염(13)에 관한 보고와 소금 종류별 무기물 조성(14,15)과 외형구조(16)에 대한 연구 등이 있을 뿐이다. 해조소금(조염)은 해초를 건조하거나 구워서 만든 가공염의 일종으로 제주도나 일본에서 소량씩 제조되어진 바 있다(17). 해조소금의 염도는 90% 내외이고, 일반 소금과는 달리 인체에 유익한 칼륨과 칼슘 등 각종 무기물을 많이 포함하고 있으며, 특히 칼륨은 소금의 과잉섭취가 원인이 되는 각종 발효식품에 소금대신 대체할 수 있는 무기물(18)로 주목되고 있다. 따라서 본 연구에서는 해조류를 가공하는 과정에서 얻어지는 부산물을 이용하여 무기물이 보강된 가공소금을 제조할 목적으로 제조한 해조소금의 성분 특성(19)에 이어서 미역과 다시마를 이용하여 제조조건을 달리한 해조소금의 품질 특성을 비교 검토하였다.

재료 및 방법

재료

해조소금 제조에 사용한 미역(sea mustard ; *Undaria pinnatifida*)과 다시마(sea tangle ; *Laminaria japonica*)는 2002년 전남 목포의 건어물시장에서 구입하여 충분히 건조시킨 후 40 mesh로 분쇄하여 사용하였다. 소금제조에 사용한 바닷물은 전남 해남군 소재 염전에서 바닷물을 1차 농축한 19°Be의 바닷물을 사용하였다.

해조소금의 제조

회화법은 해조분말 10 g을 증발접시에 취하고 동량의 바닷물 농축액(24°Be)을 첨가하여 105°C에서 12시간 건조하여 수분을 제거한 후 550~800°C에서 4~14시간 회화시켰다. 회화물은 50 mL의 증류수로 용해한 후 Whatman No. 41(ashless) 여과지로 여과하고, 잔류하는 불용해성 물질은 50 mL의 증류수를 사용하여 2~3회 세척하고 여과액을 105°C에서 증발 건조시켜 해조소금을 제조하였다. 또한 건조법에 의한 삼투압 추출방법을 이용한 해조소금은 5 mm 정도로 절단한 해조류에 바닷물 농축액을 동량 혼합한 후 105°C에서 건조시켜(1~6회) 석출된 소금을 5배량의 증류수로 용해시킨 후 건조하여 제조하였다. 소금의 수율은 해조류 10 g와 바닷물 10 mL의 혼합물에서 얻어지는 소금량을 3반복 이상 제조하여 평균값으로 표시하였다.

일반성분 분석

해조소금의 pH와 ORP(산화환원전위)는 1%로 조제한 소금용액에 pH-meter(Orion 920A, U.S.A)를 이용하여 직접 측정하였고, 알칼리도는 methyl red를 지시약으로 하여 0.1N HCl로 적정하였으며, 소금함량은 Mohr법(20), 물 불용해성분은 AOAC법(21)에 준하여, 색은 색도계(Chromameter CR-200, Minolta, Japan)를 이용하여 측정하였다.

무기물 함량

해조소금의 무기물 함량은 0.1% 용액을 직접 분석시료로 하여 ICP(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer; Varian Liberty 100, USA)를 이용하여 측정하였다. ICP 분석조건은 plasma: 15.0 L/min, Auxiliary: 1.5 L/min, Pump speed: 25.0 rpm, Carrier gas flow: 75 psi, Nebulizer: 150 kPa, Integration time: 3 sec로 하였다.

결과 및 고찰

회화법에 의한 해조소금

바닷물 농축액을 건조(대조구)하거나 550~800℃로 회화온도를 달리하여 제조한 해조소금의 일반 특성은 Table 1과 같다. 회화온도가 높을수록 소금의 수율과 물 불용해 성분은 감소하여, 소금은 가열온도가 높아짐에 따라 승화되는 비율이 증가하였고 가열하면 소금 중에 함유되어 있는 무기물들이 소금과 반응하여 물에 난용성인 염을 생성하였다. 물 불용해 성분의 색도는 회화온도가 증가함에 따라 L-값은 증가하나 a-와 b-값은 감소하여 회화온도가 높아짐에 따라 물 불용해성 성분은 밝고 회색에 가까운 색을 띄었다. 소금의 pH는 회화온도가 높아질수록 저하하여 알칼리도는 감소하였는데 이는 회화 온도가 높을수록 소금 이외에도 알칼리성 무기성분이 승화되어 감소하기 때문인 것으로 판단되었다. 산화환원전위(ORP)는 소금을 가열처리하면 증가하였으나 650℃이상의 온도에서는 다시 저하하는 경향이였다.

바닷물 농축액에 미역 또는 다시마를 동량 첨가하여 회화시킨 해조소금의 경우는 Table 2와 같이 회화온도가 높아질수록 소금의 수율과 물 불용해 성분은 감소하나, 바닷물 농축액만을 가열한 구에 비하여 많았다. 물 불용해 성분의 색도도 L-값은 증가하고 b-값은 근소하게 저하하였으며, 색은 바닷물 농축액만을 회화시킨 경우보다 어두운 색을 띄나 회화온도가 높아지면 L-값이 증가하여 밝은 색을 띄었다. 소금의 pH는 회화온도가 높아짐에 따라 저하하여 알칼리도는 감소하였고 산화 환원전위는 700℃까지는 증가하나 그 이상의 온도에서는 저하하는 경향이였다. 시험구간에는 다시마로 제조한 해조소금이 미역소금에 비하여 pH가 높아 알칼리도가 높았으나 산화환원 전위는 낮았다.

Table 1. Effect of incineration temperature on physicochemical characteristic of seawater salts

	Temp. (°C)	Yield (g)	Insoluble solid(g)	Insoluble solid color			pH	ORP (mV)	Alkalinity (0.1N HCl mL/g)
				L	a	b			
	100	2.92	-	-	-	-	9.29	11.5	0.89
	550	2.07	0.92	93.63	0.32	2.05	7.52	233.2	0.22
	600	1.96	0.81	94.90	0.29	1.79	7.20	236.6	0.21
Sea water	650	1.89	0.75	95.45	0.05	1.67	7.11	233.0	0.19
	700	1.74	0.73	96.01	-0.05	1.59	6.93	232.6	0.18
	750	1.66	0.72	96.88	-0.18	1.55	6.84	202.5	0.16
	800	1.48	0.67	97.98	-0.29	1.38	6.81	191.4	0.15

Table 2. Effect of incineration temperature on physicochemical characteristic of seaweed salts

	Temp. (°C)	Yield (g)	Insoluble solid(g)	Insoluble solid color			pH	ORP (mV)	Alkalinity (0.1N HCl mL/g)
				L	a	b			
Sea mustard	550	2.91	1.04	54.00	-0.53	1.95	8.45	238.7	0.38
	600	2.88	1.02	59.26	-0.50	1.10	8.14	258.0	0.29
	650	2.73	0.91	68.56	-0.23	0.97	7.62	267.0	0.26
	700	2.63	0.85	73.56	0.11	0.71	7.51	294.6	0.21
	750	2.54	0.84	76.86	0.43	0.52	7.30	289.3	0.18
	800	2.48	0.78	78.41	0.75	0.03	6.99	278.5	0.12
Sea tangle	550	3.09	1.05	51.97	-0.93	1.92	8.27	230.5	0.39
	600	2.89	1.02	58.59	-0.89	1.14	8.12	243.5	0.31
	650	2.81	0.93	61.10	-0.69	1.00	7.96	282.0	0.31
	700	2.69	0.88	67.17	-0.31	0.60	7.85	284.4	0.26
	750	2.55	0.82	71.78	-0.25	0.57	7.67	238.0	0.23
	800	2.51	0.79	76.33	-0.04	0.20	7.44	202.3	0.20

회화온도를 달리한 해조소금의 무기성분을 ICP로 분석한 결과는 Table 3, 4와 같이 바닷물 농축액만 회화시킨 경우(Table 3) 건조염은 Na 다음으로 Mg 함량이 많았으며 다음으로 K가 높았다. 그러나 이를 회화시킨 경우는 회화 온도가 증가함에 따라 700°C까지 Na와 K 함량은 증가하는 대신 Mg는 현저히 감소되었고 Ca도 조금 증가하는 경향이어서 건조만 한 소금과는 차이가 있었다. 해조소금은 건조만 한 소금에 많았던 Mg는 줄어든 대신에 K와 Ca 함량이 증가하여 해조소금의 무기성분은 Na 다음으로 K 함량이 높았다. 해조류 간에는 다시마를 이용한 해조소금의 K 함량이 현저히 많았으며 Ca 함량도 조금 많은 경향이였다. 중금속 함량도 건조만 한 소금이나 회화시킨 소금과 큰 차이는 없었고, Fe와 Zn, Cu, Ni, Cr, Pb 등이 미량 검출되었으나 이들 금속은 시료 용액이 Na나 K를 다량 함유하고 있는 소금물이기 때문에 ICP 분석에 어려움이 있었다. 이러한 결과는 Ha(16) 등의 천일염의 무기질 함량은 Mg가 가장 많았고 다음으로 K와 Ca순이었으며, Jo(14) 등의 천일염을 구울 경우 NaCl은 84.3±4.63%에서 96.6±0.71%로 증가한 대신 Mg와 Ca가 현저히 감소하였다는 보고와 유사하였다. 또한 Park(15) 등은 국내산 천일염이 수입산에 비하여 K와 Mg 함량이 많았다고 보고한 바 있다.

Table 3. Effect of incineration temperature on mineral composition of seawater salts

(Unit: 1000ppm)

	Temp.(°C)	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Sea water	100	2.26	61.24	194.5	18.9	-	-	0.01	0.04	0.03	0.02	0.01	0.02	-
	550	2.75	11.19	254.2	27.5	-	-	0.01	0.04	0.03	0.01	0.01	0.03	-
	600	3.11	10.93	262.2	28.5	-	-	0.01	0.03	0.03	-	0.01	0.02	-
	650	3.13	9.01	263.3	28.7	-	-	0.01	0.03	0.03	-	0.01	0.02	-
	700	3.28	6.73	272.2	30.3	-	-	0.02	0.03	0.03	-	-	0.02	-
	750	4.01	6.31	265.9	29.9	-	-	0.02	0.03	0.01	-	-	0.01	-
	800	4.87	5.91	258.2	26.3	-	-	0.02	0.02	0.01	-	-	0.01	-

Table 4. Effect of incineration temperature on mineral composition of seaweed salts

(Unit: 1000ppm)

	Temp (°C)	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Sea mustard	550	8.71	3.46	251.7	54.2	-	-	0.02	0.08	0.03	-	-	0.02	-
	600	8.96	2.58	248.7	49.7	-	-	0.02	0.06	0.02	-	-	0.03	-
	650	9.04	2.19	247.3	63.6	-	-	0.02	0.07	0.02	-	-	0.03	-
	700	9.47	0.85	238.5	58.2	-	-	0.01	0.04	0.01	-	-	0.03	-
	750	11.36	0.24	229.6	57.0	-	-	0.01	0.04	0.01	-	-	0.04	-
	800	11.68	0.15	221.3	56.9	-	-	0.01	0.02	0.02	0.01	-	0.02	-
Sea tangle	550	8.63	4.55	243.3	121.7	-	-	-	0.06	0.04	-	-	0.01	-
	600	9.78	3.95	249.4	124.3	-	-	-	0.04	0.02	-	-	0.03	-
	650	11.62	3.35	245.3	127.5	-	-	-	0.02	0.02	-	-	0.03	-
	700	12.32	0.99	241.0	118.7	-	-	-	0.03	0.01	-	-	0.02	-
	750	12.36	0.34	240.9	112.7	-	-	0.01	0.03	0.01	-	-	0.03	-
	800	12.41	0.21	238.9	104.5	-	-	0.01	0.01	0.03	0.01	-	0.03	-

24°Be의 바닷물 농축액을 이용하여 700°C에서 해조소금을 제조할 때 회화시간을 4~12시간으로 달리하여 제조한 소금의 일반 특성은 Table 5와 같다. 회화시간이 길어짐에 따라 소금의 수율과 물 불용해성 성분량은 감소하였으나 물 불용해성분의 색도는 L-값이 증가하여 밝은 색을 띄었다. 제조한 소금 용액의 pH는 회화시간이 증가함에 따라 점차 중성에 가까운 pH를 보여 알칼리도는 감소하였고 ORP도 점차 증가하는 경향이였다. 해

조류 간에는 다시마를 이용한 해조소금이 pH가 높아 알칼리도가 조금 높았으며, ORP는 낮았다.

회화시간을 달리하여 제조한 소금의 무기성분은 Table 6과 같이 회화시간이 길어지면 K 함량은 증가하고 Mg은 감소하였으나 회화온도의 증가에 의한 차이보다는 적었다. Ca 은 8시간까지는 증가하나 그 이후에는 감소하는 경향이었고 Na 함량도 4시간 이후에는 감소하였다. 이는 고온에서 장시간 회화시키는 경우 Mg 뿐만 아니라 Na나 Ca도 일부가 승회되거나 물 불용해성분으로 전환되는 것이 아닌가 생각되었다. 해조소금의 중금속 함량도 회화시간이 증가하더라도 특징적인 차이는 볼 수 없었다. 이러한 결과들로 미루어볼 때 다시마를 이용한 해조소금의 제조가 미역에 비하여 pH가 높아 알칼리도가 높으며 산화환원전위도 낮고, 무기성분 조성도 소금의 과잉 섭취시 문제가 되는 Na(1) 대신에 K 함유량이 많은 다시마가 해조소금 제조에 유리할 것으로 판단되었다.

Table 5. Effect of incineration time on physicochemical characteristic of seaweed salts

	Incineration time	Yield (g)	Insoluble solid(g)	Insoluble solid color			pH	ORP (mV)	Alkalinity (0.1N HCl mL/g)
				L	a	b			
Sea mustard	4	2.61	0.84	65.64	-1.14	2.43	8.29	108.1	0.28
	6	2.49	0.83	68.40	-0.98	2.95	8.33	115.3	0.25
	8	2.47	0.79	72.78	-0.67	3.44	8.15	121.0	0.23
	10	2.44	0.77	75.94	-0.64	3.54	7.76	134.3	0.22
	12	2.42	0.71	76.69	-0.45	4.02	7.68	149.0	0.21
Sea tangle	4	2.66	0.72	54.33	-1.53	-0.98	8.45	97.0	0.31
	6	2.60	0.68	54.34	-1.49	-0.44	8.40	106.3	0.27
	8	2.43	0.66	57.36	-1.48	-0.15	8.21	115.5	0.26
	10	2.34	0.66	58.72	-1.42	0.34	8.01	124.1	0.24
	12	2.27	0.61	60.34	-1.38	0.58	7.95	129.5	0.23

1) Incineration temperature: 700°C

Table 6. Effect of incineration time on mineral composition of seaweed salts
(Unit: 1000ppm)

	Incineration time	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Sea mustard	4	9.66	0.39	297.6	54.1	-	-	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	-
	6	9.69	0.31	291.2	52.8	0.01	-	0.01	0.02	0.02	0.02	-	0.02	-
	8	10.96	0.28	292.8	54.7	0.01	-	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	-
	10	10.27	0.24	293.6	58.3	0.01	-	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	-
	12	9.29	0.23	294.4	58.7	0.01	-	0.01	0.01	0.02	0.02	-	0.02	-
Sea tangle	4	10.01	0.48	321.6	77.1	-	-	0.01	0.01	-	0.02	-	0.02	-
	6	10.82	0.43	314.8	76.1	0.01	-	0.02	-	0.01	0.02	0.01	0.02	-
	8	11.43	0.36	314.3	76.9	0.01	-	0.01	-	0.01	0.02	-	0.02	-
	10	10.91	0.37	313.6	77.6	0.01	-	0.01	-	-	0.03	-	0.02	-
	12	9.76	0.35	314.9	78.5	0.01	-	0.02	-	0.01	0.02	-	-	-

1) Incineration temperature: 700°C

건조법에 의한 해조소금

미역과 다시마를 5 mm 정도 되게 절단한 후 동량의 바닷물을 1~6회 가하면서 105°C에서 건조하여 해조류의 성분을 삼투압으로 추출하여 제조한 해조소금은 Table 7에서 보는바와 같이 수율은 바닷물의 첨가 횟수가 증가함에 따라 증가하였고 미역에서 조금 높았다. 반면 해조소금의 pH는 바닷물의 첨가 횟수가 증가함에 따라 저하하나, 회화시킨 소금과는 달리 미역으로 제조한 소금이 다시마에 비하여 pH는 현저히 높았다. 건조에 의한 삼투압 추출로 제조한 소금의 ORP도 회화소금과는 달리 현저히 낮아 -71.5~-128.4 mV이었고 3회 건조까지는 감소하나 그 이후에는 증가하였다. 이러한 ORP의 저하는 건조에 의한 삼투압 추출로 제조한 해조소금이 회화시켜 제조한 소금에 비하여 신체내의 ORP를 낮추어 줄 수 있어 체내 과산화물에 의한 장애를 줄일 수 있다고 판단(10)되기 때문에 바람직할 것으로 생각되었다. Ha(2) 등은 기계염이 과산화물 생성 촉진능이 높았으나 구운 소금은 다소 낮았고, 가공염이 천일염에 비하여 보들연변이 효과가 낮았다고 보고한 바 있다. 소금의 알칼리도도 건조 횟수가 증가하면 낮아졌다.

Table 7. Effect of seawater addition time on physicochemical characteristic of osmosis seaweed salts

	Addition time	Yield(g)	pH	ORP(mV)	Alkalinity (0.1N HCl mL/g)
Sea mustard	1	1.46	9.58	-112.6	0.89
	2	2.34	9.68	-116.4	0.88
	3	3.40	9.82	-128.4	0.96
	4	4.71	8.73	-86.5	0.58
	5	5.87	8.29	-71.5	0.46
	6	7.81	8.09	-72.0	0.36
Sea tangle	1	1.14	7.71	-107.6	1.05
	2	2.30	7.83	-125.5	0.85
	3	3.25	7.62	-128.8	0.84
	4	4.17	6.93	-112.6	0.51
	5	5.32	6.70	-93.1	0.41
	6	6.33	6.53	-92.8	0.36

건조에 의한 삼투압 추출에 의하여 해조소금을 제조하고 남은 미역과 다시마를 700℃에서 회화시켜 제조한 해조소금은 Table 8과 같이 소금의 수율과 물 불용해성분은 증가하나 일반 회화소금에 비하여 적었다. 소금의 pH도 바닷물 첨가 횟수가 많아지면 점점 증가하였으나 다시마로 제조한 소금에서 높아 Table 7과는 대조적이었다. 반면 ORP는 2~4회 건조 처리 시 높았으나 특징적이지는 않았으며, 소금의 알칼리도는 감소하는 경향이 있었다.

건조에 의한 삼투압 추출로 제조한 해조소금의 무기성분은 Table 9와 같이 바닷물의 첨가 횟수가 증가될수록 해조소금의 Mg함량은 증가하였으나 Ca는 감소되었고, Na 함량은 4회 처리까지는 증가되나 그 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 또한 다시마로 제조한 해조소금이 미역에 비하여 K 함량이 많았으며 바닷물의 첨가 횟수가 증가되면 감소되나 감소 정도는 다시마에서 심하였다.

Table 8. Effect of seawater addition times on seaweed salts in physicochemical characteristic of osmosis remained seaweed

	Addition time	Yield (g)	Insoluble solid(g)	Insoluble solid color			pH	ORP (mV)	Alkalinity (0.1N HCl mL/g)
				L	a	b			
Sea mustard	1	0.63	0.42	55.84	-0.86	0.29	7.81	249.2	0.38
	2	0.91	0.38	55.49	-0.85	0.39	7.96	280.7	0.35
	3	1.13	0.49	55.53	-0.67	1.08	8.17	273.3	0.30
	4	1.29	0.54	55.19	-0.57	1.11	8.28	266.4	0.23
	5	1.65	0.60	54.97	-0.45	2.26	8.49	261.9	0.19
	6	1.66	0.61	54.07	-0.39	2.28	8.51	259.5	0.18
Sea tangle	1	0.53	0.42	62.87	-0.46	1.32	8.35	228.6	0.36
	2	0.60	0.39	61.31	-0.38	1.37	8.37	255.2	0.38
	3	0.84	0.45	60.30	-0.35	2.08	8.53	261.5	0.38
	4	1.00	0.51	59.72	-0.34	2.18	8.59	262.3	0.35
	5	1.22	0.58	55.34	-0.33	2.49	8.67	257.4	0.34
	6	1.34	0.60	53.01	-0.31	2.98	8.78	246.3	0.29

Table 9. Effect of seawater addition time on mineral composition of osmosis seaweed salts

(Unit: 1000ppm)

	Addition time	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Sea mustard	1	5.74	37.62	215.6	5.5	-	-	-	0.03	0.03	0.01	-	0.01	-
	2	4.51	38.47	236.5	15.6	-	-	0.01	0.05	0.04	-	-	0.01	-
	3	4.48	40.50	236.0	5.3	-	-	0.01	0.05	0.04	0.01	-	0.02	-
	4	4.39	43.31	240.9	4.6	-	-	-	0.05	0.05	0.01	-	0.03	-
	5	3.35	44.92	229.9	4.5	-	-	-	0.04	0.05	0.01	-	0.03	-
	6	2.99	44.66	223.8	4.2	-	-	-	0.03	0.04	0.01	-	0.04	-
Sea tangle	1	5.36	36.65	203.9	2.4	-	-	0.01	0.03	0.03	0.01	-	0.05	-
	2	5.20	48.35	208.7	7.1	-	-	0.02	0.04	0.02	0.01	0.01	0.04	-
	3	5.19	52.35	213.2	46.9	-	-	-1	0.05	0.03	-	-	0.04	-
	4	5.09	52.63	215.1	5.0	-	-	-	0.04	0.02	-	-	0.03	-
	5	4.54	54.70	218.2	2.4	-	-	0.01	0.04	0.02	-	0.01	0.03	-
	6	4.07	54.51	219.	32.0	-	-	-	0.03	0.01	-	-	0.02	-

이는 회화법으로 제조한 해조소금에 비하여 Mg 함량이 현저하게 많으나 K와 Ca 함량은 낮아 차이가 있었고, Na 함량도 조금 낮은 수준이었다. 기타 중금속은 Zn과 Cu, Pb 등이 미량 검출되고 Al과 Mn, Cd 등은 흔적량이 검출되었으나 Table 3에서와 마찬가지로 시료에 Na와 Mg, K 함량이 많은 관계로 분석에 어려움이 있어 시험구간에 유의적인 차이는 볼 수 없었다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 해조소금은 회화처리보다는 건조에 의한 삼투압 추출에 의해 제조하는 것이 ORP도 낮고 알칼리도도 높아 유리할 것으로 판단되었으나 무기물 조성에서는 회화법으로 제조한 해조소금이 K과 Ca 함량이 많아 회화법이나 건조법이 각각 장단점이 있었다.

한편 건조법에 의해 해조소금을 제조고 남은 미역과 다시마의 잔류물을 회화시켜 제조한 소금의 무기성분은 Table 10과 같이 바닷물의 첨가 횟수가 증가함에 따라 Mg와 Ca 함량은 감소되었으나 Na 함량은 4회 처리까지는 조금 증가되었고, K 함량은 3회 이후에 감소하는 경향을 보였다. 또한 회화 처리만 한 해조소금에 비하여 K 함량이 적었는데 이는 건조과정에서 다른 무기물에 비하여 K이 쉽게 삼투압 추출되었기 때문인 것으로 판단되었다.

Table 10. Effect of seawater addition times on seaweed salts in mineral composition of osmosis remained seaweed

(Unit: 1000ppm)

	Addition time	Ca	Mg	Na	K	Al	Mn	Fe	Zn	Cu	Ni	Cr	Pb	Cd
Sea mustard	1	10.21	3.28	270.5	23.6	-	-	-	0.04	0.03	0.02	0.01	0.01	-
	2	7.93	2.87	288.7	24.4	-	-	0.02	-	-	-	-	-	-
	3	7.27	.21	296.2	26.0	-	-	-	0.04	0.02	-	-	0.02	-
	4	5.76	0.64	296.0	21.9	-	-	-	0.05	0.05	-	-	0.02	-
	5	5.66	.53	288.4	20.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	5.59	.42	287.8	19.8	-	-	-	0.02	0.03	-	-	0.03	-
Sea tangle	1	13.76	.27	261.8	137.8	-	-	-	0.03	0.03	-	-	0.02	-
	2	11.35	.01	273.5	111.1	-	-	0.02	0.02	0.02	-	-	0.06	-
	3	11.87	2.98	285.5	96.1	-	-	0.01	0.05	-	-	0.01	-	-
	4	11.09	.03	286.1	74.9	-	-	0.01	0.05	0.04	-	-	0.01	-
	5	10.62	.58	285.8	63.0	-	-	-	0.02	0.01	-	-	0.01	-
	6	9.72	.71	285.2	55.7	-	-	0.01	0.02	0.01	-	0.01	0.03	-

요 약

미역과 다시마를 이용하여 회화와 건조조건을 달리하여 해조소금을 제조하고 이화학적 특성과 무기성분을 비교하였다. 회화온도가 높아지면 소금의 수율과 물 불용해 성분은 감소하였으며, pH는 저하하여 알칼리도와 ORP는 감소하였다. 다시마로 제조한 해조소금이 미역소금에 비하여 pH가 높아 알칼리도가 높았으며, ORP는 700℃ 이상의 온도에서는 저하하여 다시마소금에서 낮았다. 소금의 무기물 조성은 회화온도가 증가함에 따라 K와 Ca 함량이 증가하였고 Mg는 감소하였다. 해조소금은 K과 Ca 함량이 현저히 증가하였으며 Mg는 감소하였고, K 함량은 미역보다 다시마에 많았다. 회화시간이 증가함에 따라 해조소금의 수율은 감소하였고 pH는 중성에 가까워지며 ORP는 증가하였다. 다시마를 이용한 해조소금이 미역에 비하여 pH는 높고 ORP는 낮았다. 해조소금의 K 함량은 회화시간이 증가함에 따라 증가되었으나 Ca 함량은 8시간 이상, Na는 4시간 이상 회화시킨 경우 감소되었다. 건조에 의해 제조한 해조소금은 바닷물의 첨가횟수가 증가함에 따라 수율은 증가되었고, 해조소금의 pH는 미역이 다시마에 비하여 높았다. 3회 건조에 의해 제조된 해조소금의 ORP는 -128.8mV로 회화소금에 비하여 현저히 낮았으나 그 이상의 건조로 증가되었다. 해조소금의 무기물 조성은 건조 횟수가 증가함에 따라 Mg 함량은 현저히 증가하였으나 Ca는 감소하였으며, 다시마로 제조한 소금에서 K 함량은 많았다. 건조에 의해 해조소금을 제조하고 남은 잔사를 회화시킨 경우에는 바닷물의 첨가 횟수가 증가함에 따라 pH는 증가되었고 ORP는 감소되었다.

**제 5 장 (제 3 세부과제) 해조류의 생물학적 생체 이용성 조사
및 사료화 연구**

박 재 인 (강원대학교 축산가공학과)

김 창 혁 (강원대학교 축산가공학과)

제 1 절 기능성 사료첨가제로서 해조류 및 해조부산물의 가치 및 생물학적 생체이용성 평가

박 재 인 (강원대학교 축산학과)

서 론

국내 연안에는 다양한 종류의 갈조류가 서식하고 있으며, 양식 기술의 발달로 인하여 미역, 다시마 등은 매년 과잉 생산되고 있는 실정이다. 갈조류에는 Ca를 비롯한 무기질과 다당류가 다량 함유되어 있으며, 중성다당인 laminaran과 황산기를 함유한 산성다당이 다량 함유되어 있는데, 그 대표적인 함황 산성다당으로서 fucoidan을 들 수 있다. Fucoidan은 혈액 중에 존재하는 함황 산성다당인 heparin과 생리적 특성이 유사하여 항혈액응고 작용(Bernardi and Springer, 1962), 항암 및 항AIDS 등(Collic 등, 1991)의 활성을 지니고 있다. Shibata 등(1999)은 fucoidan이 위암세포에 *Helicobacter pylori*가 흡착하는 것을 저해하는 효과가 있다고 보고하였고, Shibata 등(1999)은 fucoidan에 항궤양 효과가 있다고 하였다. 또한 *in vitro*에서 L-fucose는 *Campylobacter jejuni*의 장관세포 부착 저해 효과(Cinco 등, 1984)가 있는 등 그 생리적 기능이 매우 다양한 것으로 알려져 있다.

최근 갈조류의 특성을 이용한 여러 연구가 진행 중에 있으나, 항균제나 항생제를 대체할 수 있는 천연물 이용에 대한 연구는 미진한 실정이다. 현재 우리 나라에서 일반적으로 사용되고 있는 사료첨가제로는 항생제, 생균제, 효소 등을 꼽을 수 있으나, 항생제는 소득 수준의 향상과 소비자들의 인식이 바뀌어 세계적으로 규제 대상이 되면서 그 사용이 점차 감소하는 경향에 있기 때문에 항생제를 대체할 새로운 천연물에 관심이 고조되고 있다. 이와 같이 유해미생물에 대한 방어적인 역할 이외에 사료효율의 개선할 수 있는 항생제 대용의 생리활성 천연물의 탐색은 대단히 어려운 일이라 할 수 있을 것이다.

따라서 본 시험은 항생제를 대체할 수 있는 천연물 탐색의 일환으로 툯에서 추출한 fucoidan을 *in vitro* 및 *in vivo* 시험을 통하여 병아리 장내에서의 항균효과를 조사하였으며, 이들 fucoidan의 첨가가 소화율과 밀접한 관계를 지니고 있는 장내 음모세포의 길이 변화에 미치는 영향을 조사하여 항생제 대체원으로서의 이용가능성을 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

가. 시험재료

시험에 사용한 해조류는 국내 연안산 미역, 미역부산물(미역귀와 미역줄기의 1:1(v/v)혼합) 및 톳 건조분말을 사용하였으며, 동해안에서 채취한 파래, 일반해조 및 청각 등의 성분도 조사하였다. 시험에 사용된 모든 시약은 특급 시약을 이용하였다.

나. 일반성분 분석법

수분은 105°C 상압건조법, 조지방은 Soxhlet분석법, 조단백질은 kjeldahl정량법, 회분은 550°C 건식회화법에 따라 분석하였다(AOAC, 1990). 구성 아미노산 조성은 HPLC Pump Water 510, Gradient Controller WatersTM Automated, Tunable Absorbance Detector WatersTM 486, Differential Refractometer WatersTM 410, Control Module Water Temperature로 구성된 Waters PICO · TAG(USA)사의 Amino Acid Analysis System을 이용하여 High performance liquid chromatography(HPLC)로 정량하였다.

다. 발효공정 및 가스크로마토그래피

발효 조건은 미역과 옥분을 혼합(4:3)시, 총중량이 150g이 되도록 하였으며, 이때 수분 함량은 60%가 되도록 조정하였다. 또 발효에 필요한 미생물은 lactobacillus와 asperzillus를 1:1로 혼합하여 이용하였으며, 발효 시 미생물 첨가량은 각 처리 당 1.5g으로 하였다.

처리구는 옥분+증류수, 미역, 미역+옥분, 옥분+증류수+미생물, 미역+미생물 및 미역+옥분+미생물 처리구를 두었으며, 각 처리구는 30°C 암실에서 0, 10, 20 및 30일간 배양하였다.

지방산 분석용 standard는 marine전용 standard를 이용하였으며, 이때 Gas chromatography의 운전조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating condition of Gas chromatography

Instrument	
Detector	FID, 260°C
Cat No.	2 - 4152
Oven Temp.	200°C
Column	Omegawax 320, 30cm×0.32mm ID
Carrier	He, 25cm/sec
Injection	1 μ m, PUFA-1, split 100:1

라. Fucoïdan의 추출법

Fucoïdan의 추출은 구 등(1995)의 방법에 준하여 Fig. 1과 같이 실시하여 Crude fucoïdan을 얻었다. 간략히 소개하면, 건조 갈조를 85%(V/V) methyl alcohol에서 2 시간 동안 환류시키고 이의 잔사를 0.2N HCl(pH 2.0) 65°C에서 1 시간동안 추출한 후 가제와 filter paper로 여과하였다. 이후 0.1N NaOH 수용액으로 중화하고 CaCl₂로 침전시킨 후 3,000×g에서 10분간 원심분리 하였다. 상등액을 증류수로 투석하고 ethyl alcohol로 탈수 침전시켜 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 동결건조 하였다.

제조된 crude fucoïdan 추출 전의 갈조류 건조분말의 중량과 여기서 추출된 물질의 건조중량 비율로 추출 수율을 구하였다.

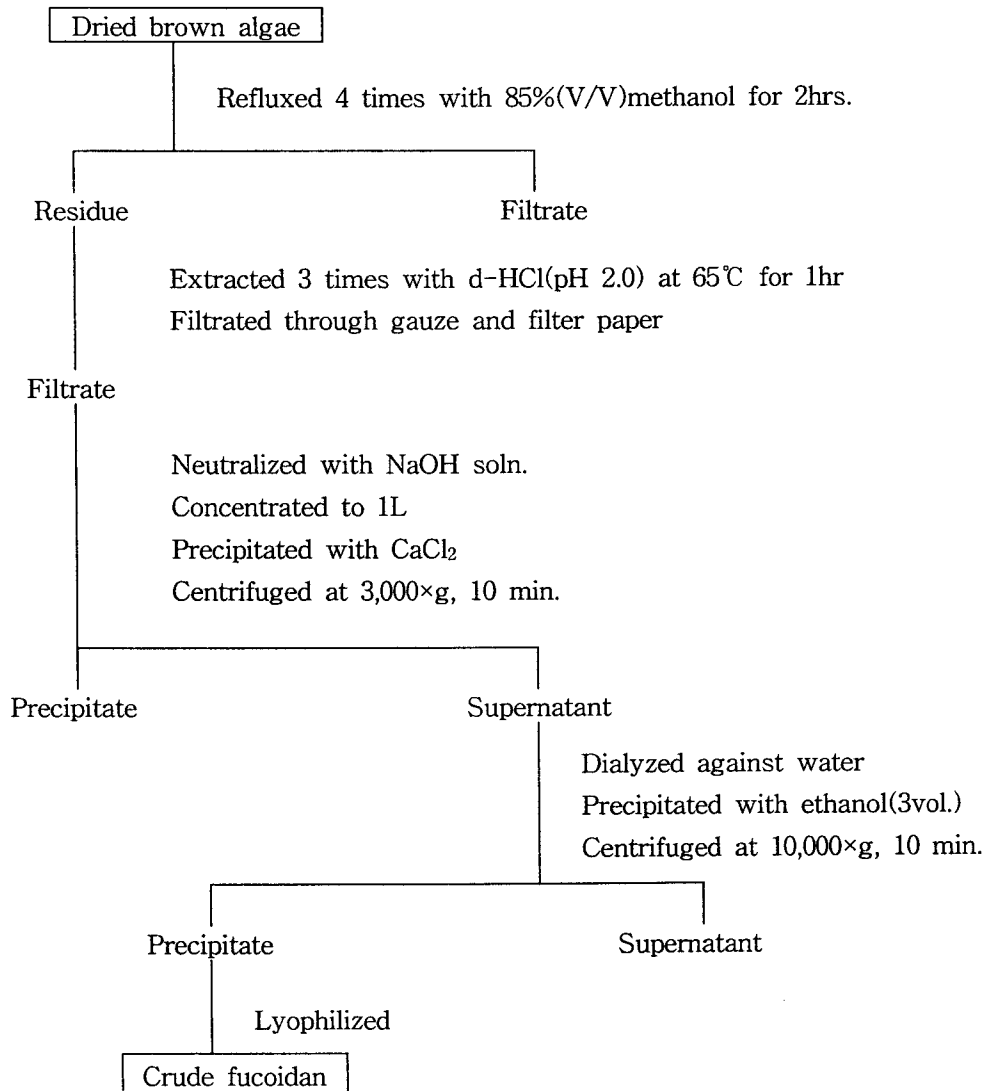


Figure 1. Extraction procedure of crude fucoïdians from dried brown algae

마. *in vitro*상에서의 항균능력 검사

*In vitro*상에서 fucoidan의 항균능력을 검사하기 위하여 병원성 미생물과 유산균에 대한 inhibition zone test와 성장시험을 실시하였다. 실험에 사용된 미생물은 강원대학교 동물자원과학대학 동물식품미생물학실험실과 유가공실험실에서 각각 분리, 보관 중인 병원성 미생물 *Escherichia coli* O157:H7 ki 91039, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076과 유산균으로는 *Lactobacillus bulgaricus* LB-12와 *Lactobacillus casei* 01을 분양받아 사용하였다.

a) Inhibition zone test

Escherichia coli, *Salmonella typhimurium* 및 *Salmonella enteritidis*를 Tryptic soy broth에 1% 접종하고 37°C에서 24시간 배양하여 Tryptic soy agar 평판배지 위에 각각 0.1ml씩 도말하고 항균능력 검사용 paper disk에 갈조류 추출 fucoidan을 각각 1,000ppm/ml, 3,000ppm/ml, 5,000ppm/ml 및 10,000ppm/ml 농도의 수용액이 되도록 멸균수에 녹여 40mg씩 점적하여 배지위에 올려놓았다. 이 평판배지를 37°C에서 24시간 배양한 후, 억제환(inhibition zone)을 측정하였다.

Lactobacillus bulgaricus 및 *Lactobacillus casei* 는 MRS agar 평판배지에 같은 방법으로 37°C에서 48시간 배양한 후, 억제환을 측정하였다.

b) 미생물 성장시험

Fucoidan이 미생물의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 121°C에서 15분간 멸균한 0.1% pepton 용액에 농도가 각각 1,000ppm/ml, 3,000ppm/ml, 5,000ppm/ml 및 10,000ppm/ml 가 되도록 fucoidan 추출물을 희석한 후, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Lactobacillus bulgaricus* 및 *Lactobacillus casei*를 접종하여 병원성 미생물은 37°C에서 24시간 배양하여 Tryptic soy agar 평판배지에 각각 0.1ml씩 도말하여 총균수를 측정하였으며, 유산균은 37°C에서 48시간 배양하여 MRS agar 평판배지에 각각 0.1ml씩 도말하여 유산균수를 측정하였다.

바. 사육실험 및 *in vivo*적 항균시험

a) 공시동물

공시동물은 경기도 안산 소재의 강남 부화장에서 공급받은 육계 옹추 총 96수를 공시하였고 체중은 실험 개시 시와 종료 시 총 2회 측정하여 공시병아리의 증체량을 측정하

였다. 공시병아리는 3일령에 *Salmonella typhimurium*로 감염시킨 병원성 미생물 오염 처리구와 감염시키지 않은 비 오염 처리구로 나누었으며, 오염 처리구는 처리구 전체에 10^5 cfu 수준의 *Salmonella typhimurium*을 음용수에 첨가하여 병원성 미생물에 감염시켰다. 오염 처리구는 일반육계 초기사료에 갈조류 추출 fucoidan, 미역부산물 건조분말, 톳 건조분말, yeast cell debris(YCD) 및 항생제를 첨가하여 이들의 육계에 대한 병원성 미생물 저해효능을 알아보기 위해, 대조구를 포함 6개의 처리구를 두었으며 각 처리당 3마리씩 4반복하여 공시하였다. 비 오염 처리구에는 대조구와 항생제 첨가구의 2개구를 두어 3마리씩 4반복하여 공시하였다. 공시병아리에 물과 사료는 자유급식 하였으며, 모든 처리구는 실험시작 7일째에 희생시켜 fucoidan의 *in vivo* 상에서의 항균능력 실험과 형태학적 관찰 실험의 시료로 사용하였다.

b) *in vivo* test

In vivo 상에서 fucoidan이 미생물에 미치는 영향을 알아보기 위하여 *Salmonella typhimurium*에 오염된 처리구의 공시병아리를 희생시켜 무균적으로 개복하였고, 맹장을 적출하였으며 이를 8,000rpm으로 5분간 homogenization (JANKE & KUNKEL IKA-Labortechnik, Ultra-turrax T 25, Germany)한 후, 총균수(Total bacterial count, TBC), 젖산균수(Lactic acid bacterial count, LAB), 대장균수(Coliform bacterial count, CBC)와 *Salmonella typhimurium*의 생균수(Viable Cell Count)를 측정하였다.

*Salmonella typhimurium*의 생균수(Viable Cell Count)는 희석된 시료를 Selenite cysteine broth에서 38°C에 24시간 배양하여 salmonella shigella agar 평판배지에 도말, 38°C에서 24시간 배양 후 MPN 수치를 구하여 환산하였으며, 총균수(Total bacterial count, TBC)는 희석된 시료를 Tryptic soy agar에서 38°C에 24시간 배양 후 colony 수를 측정하여 구하였고, 젖산균수(Lactic acid bacterial count, LAB)는 희석된 시료를 MRS agar에 도말하여 38°C에 48시간 배양 후 측정하였다. 대장균수(Coliform bacterial count)는 희석된 시료를 Violet red bile agar에서 38°C에 24시간 배양 후 측정하였다.

사. 소장 내 villus의 길이 측정

희생된 공시병아리를 개복하여 대장의 일부를 적출하였고 이를 10% 포르말린에 고정하여 광학 현미경 관찰에 사용하였다. 광학현미경 관찰용 시료는 통상적인 방법으로 급속 동결하여 embedding 한 후, microtome(Bright instrument Co LTd, Clinicut 60 cryostat, England)을 사용하여 8 μ m 내외의 절편을 얻어 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 시행하였

다. Villi의 길이는 광학현미경에 micrometer를 장착하여 처리구 당 7개 부분 이상을 관찰하여 평균치를 구하였다.

아. 용모조직의 입체구조(전자현미경) 관찰

희생된 공시병아리를 개복하여 대장의 일부를 적출하였고 이를 2.5% glutaraldehyde 용액에 2시간 전고정한 후, 0.2M phosphate buffer(pH 7.4)로 수세한 다음 2N NaOH 용액에 침적하였다. 3-7일 후 2% osmium tetroxide로 2시간 후 고정하여 에탄올 계열에서 탈수하였다. 이를 *tert*-Butyl alcohol로 치환, 동결건조 하였으며 Au-Pb로 코팅하여 주사전자현미경(Hitachi S-3500N, JAPAN)으로 관찰하였다.

자. 맹장 내 미생물의 전자현미경 관찰

희생된 공시병아리를 개복하여 맹장을 적출하였고 이를 2.5% glutaraldehyde 용액에 2시간 전고정한 후, 0.2M phosphate buffer(pH 7.4)로 수세한 다음, 2% osmium tetroxide로 2시간 후 고정하여 에탄올 계열에서 탈수하였다. 이를 *tert*-Butyl alcohol로 치환, 동결건조 하였으며 Au-Pb로 코팅하여 주사전자현미경(Hitachi S-3500N, JAPAN)으로 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 일반성분

국내 연안산(완도) 미역, 툇 및 미역부산물(미역귀와 미역줄기의 1:1(v/v) 혼합)의 구성 성분 분석 결과는 Table 2~3과 같다. Table 2는 해조류의 일반성분 분석결과로서 단백질, 칼슘 및 인의 함량이 일반 육계 초기사료의 일반성분과 비교하여 비슷하거나 더 높은 것으로 나타났다. 단백질 함량은 일반 육계 초기 사료(20%)와 비교하여 미역의 경우 더 높은 함량을 나타내었고, 툇과 미역 부산물은 다소 낮은 함량을 나타내었다. 칼슘 함량은 미역부산물의 경우, 육계 초기사료(0.8%)와 비슷한 함량을 나타내었고, 미역과 툇은 육계 초기사료보다 높은 함량을 나타내었다. 인의 함량은 툇을 제외한 미역과 미역부산물의 경우, 육계 초기사료(0.65%)와 비슷한 함량을 나타내었다.

Table 2. Chemical composition of marine algae

Chemical composition	Species ¹⁾			
	A	B	C	D
Ingredient(%)				
moisture	6.56	9.56	6.84	11.24
Crude protein	22.07	15.15	11.51	20.00
Crude fat	1.52	1.74	2.99	5.58
Crude ash	29.31	19.05	49.08	4.78
Ca	1.08	1.71	0.88	0.80
P	0.53	0.23	0.60	0.65
ME(kcal/kg)	3793.61	2857.63	3655.76	3100.00

¹⁾ Means species of marine algae

A : *Undaria pinnatifida*

B : *Hizikia fusiforme*

C : Mixture of *Undaria pinnatifida*

(Blade of *U. pinnatifida* and sporophylls of *U. pinnatifida*)

D : Feed for broiler chicks

해조류 아미노산 조성의 결과는 Table 3과 같다. 해조류의 아미노산 조성은 필수아미노산 10가지를 중심으로 톳과 미역부산물의 lysine함량이 떨어질 뿐, 다른 아미노산에 있어서는 비슷하거나 우수함을 알 수 있었다.

동해안에서 채취한 해조의 성분을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 조단백질 함량에 있어서는 파래가 Table 2의 미역이나 톳에 비하여 우수하였으며, 청각에 비하여도 높은 것으로 나타났다. Ca 함량에 있어서는 일반해조의 함량이 3.88%로 기타 다른 해조류에 비하여 비교적 높은 것으로 나타났다. 에너지 수준은 일반해조가 가장 높게 나타났는데 이는 단백질이나 지방함량이 다른 해조에 높지 않은 점으로 미루어 이는 기타 다른 영양소에 유래된 에너지보다도 탄수화물 유래 에너지가 높았기 때문인 것으로 사료된다. Table 2와 3의 결과로 미루어 해조의 사료적 가치 및 경제성을 고려하였을 때에는 각 종류별 부산물을 분리하여 사료화 하는 것보다는 이용 가능한 해조 부산물을 혼합하여 이용함으로써 부산물자원의 수급을 원활히 함으로서 경제적 가치를 향상시킴과 동시에 각 해조류의 영양소 상보작용을 도모함으로써 해조부산물의 사료적 가치를 향상시킬 수 있을 것으로 여겨진다.

Table 3. Amino acid compositions of marine algae

Amino acid	Species ¹⁾			
	A	B	C	D
Moisture	6.56	9.56	6.84	11.24
Crude protein	22.07	15.15	11.51	15.01
Essential AA:				
Arginine	0.31	0.84	0.565	0.060
Histidine	0.625	0.55	1.11	0.424
Isoleucine	0.285	0.28	0.155	0.357
Leucine	1.33	0.55	0.535	0.797
Methionine	0.4	0.3	0.325	0.188
Phenylalanine	0.765	0.45	0.495	0.487
Threonine	1.13	0.74	0.635	0.449
Valine	0.585	0.41	0.365	0.566
Lysine	0.57	0.11	0.11	0.689
Non-essential AA:				
Aspartic acid	3.28	0.92	0.975	0.966
Glutamic acid	2.64	1.39	1.585	2.851
Serine	0.765	0.73	0.62	0.619
Glycine	0.8	0.71	0.475	0.718
Alanine	1.265	none	0.725	0.655
Proline	1.14	none	0.68	0.974
Tyrosine	0.46	0.45	0.41	0.370
Cystine	0.16	0.09	0.12	0.295
Total	18.51	8.52	9.885	12.465

¹⁾ Means species of marine algae

A : *Undaria pinnatifida*

B : *Hizikia fusiforme*

C : Mixture of *Undaria pinnatifida*

(Blade of *U. pinnatifida* and sporophylls of *U. pinnatifida*)

D : Wheat bran

Table 4. Chemical composition of marine algae(East sea)

Chemical composition(%)	Green laver	Seaweed	Seaweed(청각)
Moisture	13.00	6.00	6.00
Crude Protein	33.07	15.13	8.81
Crude fat	1.54	1.60	1.60
Crude Ash	23.74	30.40	44.79
Ca	0.52	3.88	1.74
P	0.54	0.30	0.23
GE(kcal/kg)	2949.09	4423.61	3913.30

해조류의 아미노산 조성의 결과는 Table 3과 같다. 해조류의 아미노산 조성은 필수아미노산 10가지를 중심으로 툃과 미역부산물의 Lysine함량이 떨어질 뿐 다른 아미노산에 있어서는 비슷하거나 우수함을 알 수 있었다. Table 5는 동해안에서 채취한 해조류의 아미노산 조성으로 파래나 청각 등은 Table 3의 미역이나 툃과는 전혀 상이한 아미노산 조성을 갖는 것을 알 수 있었다. 위에서도 언급한 바와 같이 각 해조마다 상이한 아미노산 조성을 갖는다는 것은 각 해조를 혼합했을 때에 보다 바람직한 아미노산 조성을 기대할 수 있다. 즉 동물 사료를 이용할 때 식물성 사료와 동물성 사료를 혼합함으로써 각 영양소간의 상보작용 효과를 얻음으로서 사료의 품질을 향상시키는 것과 경향을 같이 한다고 볼 수 있다. 물론 현 단계에서는 검토가 이루어지지 않았으나 앞으로 이를 검토할 필요성이 있으며, 이의 검토가 이루어지는 대로 사양시험을 수행하여 해조류의 사료첨가제로서의 가치를 확인할 것이다.

나. 발효공정에 의한 화학성분의 변화

미역 자체만으로도 일반 육계 초기사료와 비교해서 그리 크게 차이가 나는 성분은 없어 사료로서 이용 가능하다고 판단되나, 본 시험에서는 해조류의 사료적 가치를 향상시킬 방법으로 발효공정을 이용하여 영양소 함량을 증진시키는 효과를 얻을 수 있었다.

Table 6에서 보듯이 발효처리에 의해 조단백질, 조회분, 칼슘, 인 및 에너지에서 커다란 변화를 나타내지 않았으나, 조지방 함량이 다소 증가된 결과를 나타내었으며, 이는 육분과 같은 일반 사료용 재료를 함께 발효처리 하였을 때, 보다 향상된 증가 효과를 나타내는 것으로 알려져, 미역과 같은 해조류의 발효 시에 육분 및 미생물을 함께 첨가하면 그 기대효과가 2배가량 증진되는 것으로 판단되었다.

Table 5. Amino acid compositions of marine algae (East sea)

	파래	일반해조	청각
Asp	0	3.22	0
Glu	1.76	1.58	1.01
Ser	0.72	1.21	0
Gly	0	0.8	0
His	4.61	0.68	3.05
Arg	0	1.19	0
Thr	0	0.88	0
Ala	0	0.79	0
Pro	3.28	0.67	1.76
Tyr	0.65	0.14	0.49
Val	0.93	0.55	0.47
Met	0.44	0.32	0.37
Cys	0.11	0.26	0.13
Ile	0.26	0.34	0
Leu	1.83	0.63	0.77
Phe	1.01	0.58	0.63
Lys	0.51	0.38	0.32

Table 6. Changes of chemical compositions by fermentation in marine algae

		Moisture	Crude Protein	Crude fat	Crude Ash	Ca	P	GE (cal/g)
CM	Before	2.26	8.31	1.37	0.43	0.28	0.75	5709
	After	2.43	9.43	2.73	0.43	0.13	0.25	5683
UP	Before	7.22	16.21	6.71	48.26	0.76	0.72	3824
	After	2.75	16.63	7.29	48.19	1	0.62	3927
UP+CM	Before	1.7	9.66	1.99	6.57	0.23	0.11	5464
	After	0.44	9.59	2.83	8.08	0.39	0.21	5694
CM+MO	Before	2.41	8.66	2.17	0.44	0.07	0.13	5368
	After	1.56	9.52	4.31	0.72	0.08	0.12	5089
UP+MO	Before	6.94	16.12	1.55	43	0.97	0.48	3850
	After	4.14	16.37	1.63	42.62	1.09	0.44	3845
UP+MO+CM	Before	2.22	9.43	2.13	6.51	0.35	0.34	5492
	After	2.43	9.05	4.03	6.89	0.17	0.21	4858

* CM : Corn meal, UP : *Undaria pinnatifida*, MO : Microorganism

본 시험에서 해조류 발효에 이용된 미생물은 *Aspergillus* 및 *Lactobacillus* 계통의 미생물을 이용하였으며 이는 제품의 균일성과 효율 증진을 목적으로 스타터 미생물로 이용되

었으며, 단백질 함량의 변화로 미루어보아 발효과정이 진행된 것으로 판단되지는 않은 것으로 판단된다. 즉, 해조류의 발효에 적합하지 않은 미생물을 이용하였을 경우에는 발효과정이 쉽게 일어나지 않는다는 것을 암시해준다. 그러나 옥분과 혼합하여 발효하였을 경우에는 옥분 중의 탄수화물이 미생물의 탄수화물 공급원으로 이용되는 과정에서 미역에 함유된 수용성 성분들이 미생물에 의해 분해되거나 다른 영양소로 전환될 수 있을 것으로 사료된다.

다. 발효공정에 의한 지방산 함량의 변화

Table 7은 미역 및 옥분을 발효처리한 시료의 지방산 분석 결과를 나타낸 것으로 미역 및 옥분 등의 발효 처리에서는 발효과정이 진전됨에 따라 전체적으로 포화지방산은 점차 감소된 반면 불포화 지방산의 함량은 현저하게 증가한 것으로 나타났다. 즉 이는 해조류를 이용하여 불포화 지방산을 다량 함유한 기능성 달걀의 생산이 기대된다.

Table 7. Changes of fatty acid compositions by fermentation in *Undaria pinnatifida* and corn mixture

Fatty acid	CM		UP		CM+UP		CM+MO		UP+MO		CM+UP+MO	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
c14:1	ND	10.31	ND	94.97	9.58	13.63	0.6	0.85	79.03	12.15	12.97	9.7
c16:0	153	193	ND	289	326	173.71	153	47.51	258	191	190	190
c16:1	2.38	5.79	ND	41.62	37.99	8.29	2.03	1.31	35.11	5.17	7.89	5.92
c18:0	22.64	0.96	ND	1.95	2.48	1.62	0.76	0.29	1.85	1.07	1.5	1.93
c18:1n9	308	26	ND	19.4	23.69	22.55	21.71	3.74	17.9	23.58	25.46	46.56
c18:1n7	462	346	ND	114	134	196	303	37.07	136	298	291	366
c18:2n6	12.06	541	ND	89.5	104	478	473	42.1	127	478	439	511
c18:4n3	5.3	17.95	ND	71.88	9.05	20.93	12.43	3.46	87.52	21.18	20.86	21.04
c20:1n9	3.25	5.91	ND	7.36	7.73	5.61	4.99	5.92	6.07	5.95	5.26	6.14
c20:5n3	2.48	2.61	ND	3.84	2.09	2.06	3	2.88	1.85	2.74	2.64	2.52
c22:5n3	2.48	18.15	ND	ND	5.66	2.33	2.36	17.79	ND	ND	2.23	10.89
c24:1n9	ND	10.93	ND	17.78	ND	2.98	ND	16.99	4.01	ND	ND	2.89

* CM : Corn meal, UP : *Undaria pinnatifida*, MO : Microorganism

라. Fucoidan 추출 수율

국내 연안 완도산 툃의 건조 분말에서 추출한 crude fucoidan의 추출 수율은 5.453%였

다. 구 등(1995)은 crude fucoidan의 수율이 미역 포자엽 12.75%, 다시마 4.76%, 미역엽상체 1.73% 정도였다고 보고하였으며, 특히 미역의 경우, 부위에 따른 fucoidan의 함량 차이가 현저하다고 하였다.

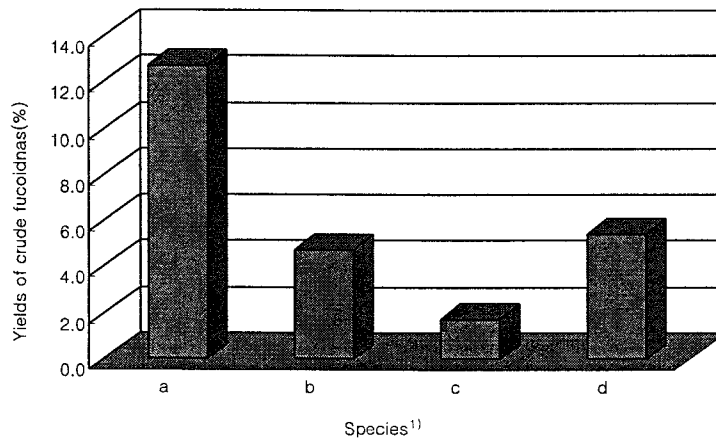


Figure 2. Yields of crude fucoidans extracted from marine algae.

a : Sporophylls of *Undaria pinnatifida*, b : *Laminaria religiosa*, c : Blade of *Undaria pinnatifida*, d : Dried *Hizikia fusiforme*

마. *in vitro* 항균능력

In vitro 상에서 fucoidan이 나타내는 항균능력을 측정하기 위해 실시한 inhibition zone test에서 억제환은 실험에 사용된 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*의 병원성 미생물 실험구와 *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*의 젓산균 실험구 모두에서 관찰되지 않아(Fig. 3) 병원성 미생물에 직접적인 저해효과는 없는 것으로 판단되었다.

그러나 Hideyuki 등(1999)은 fucoidan이 위암세포에 *Helicobacter pylori*가 흡착하는 것을 저해하는 효과가 있다고 보고하였고, Cinco 등(1984)은 *in vitro* 상에서 10~100,000ppm 농도의 L-fucose가 *Campylobacter jejuni*의 장관세포 부착 저해효과를 나타낸다고 보고하고 있는 점으로 미루어 fucoidan은 유해미생물 자체에 직접 길항효과를 발휘하지 않고 유해미생물의 흡착을 억제하는 방식으로 항균효과를 발휘하는 것으로 사료된다.

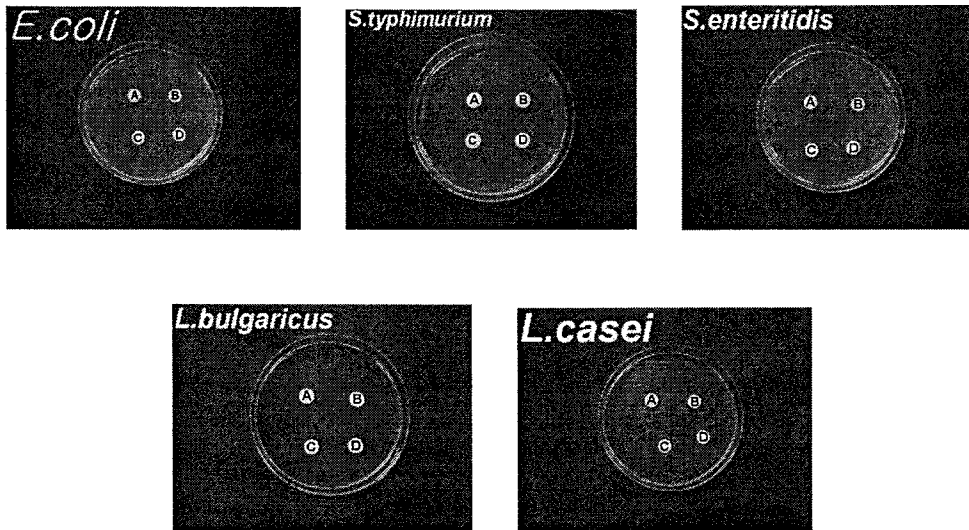


Figure 3. Photographs of inhibition zones produced by crude fucoidan

A : 1,000ppm/ml, B : 3,000ppm/ml, C : 5,000ppm/ml, D : 10,000ppm/ml

In vitro 상에서의 fucoidan의 항균능력을 측정하기 위해 실시한 본 실험에 사용된 병원성 미생물과 젖산균은 해조류 추출 fucoidan에 대해 길항효과를 보이지 않았으며 성장 경향 또한 매우 완만한 변화폭을 나타내어 *in vitro* 상에서 미역 추출 fucoidan이 병원성 미생물과 젖산균에 대해 직접적인 항균성을 나타내지 않음을 확인하였다(Fig. 4).

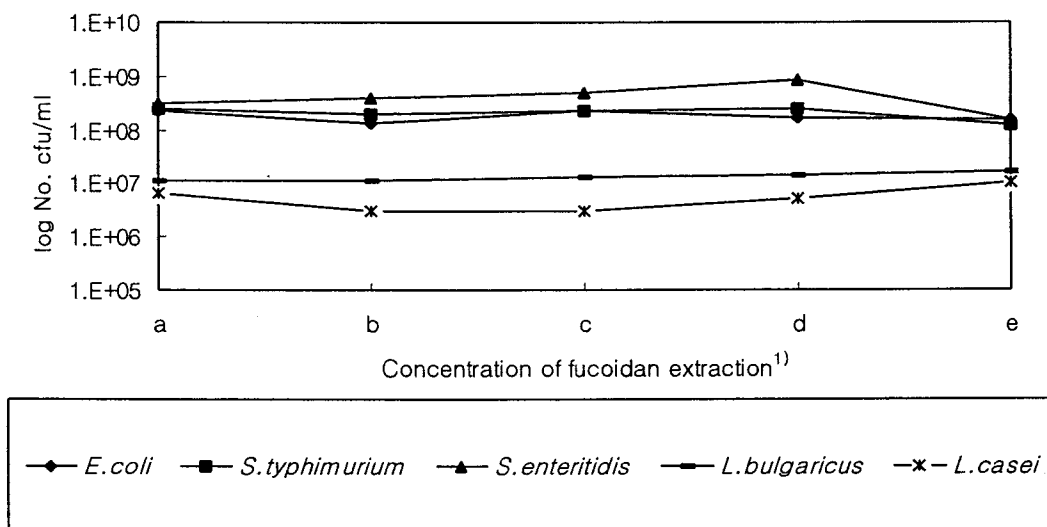


Figure 4. Growth of bacteria at various concentration of fucoidan extracted from dried brown algae(*in vitro* phase).

¹⁾ a : 0ppm/ml, b : 1,000ppm/ml, c : 3,000ppm/ml, d : 5,000ppm/ml, e : 10,000ppm/ml

바. 사양성적 및 *in vivo* 항균능력

실험 개시 및 종료 시 공시병아리의 체중변화를 측정하여 증체량을 구하였다(Table 8). 공시병아리 사료에 갈조류 추출 fucoidan, 톳과 미역부산물 건조분말 및 항생제 등을 첨가한 처리구들 사이의 증체량 차이는 거의 나타나지 않았으나 yeast cell debris를 첨가한 처리구의 증체량은 대조구에 비해 증가하였다. *Salmonella typhimurium*에 오염된 처리구와 비오염 처리구 간의 증체량은 차이를 나타내지 않았다.

Table 8. Weight gain of broiler chicks challenged with 10^6 cfu/ml *Salmonella typhimurium*

Treatments		Initial weight g/bird	Final weight g/bird	Weight gain g/bird
Diets	<i>S.typhimurium</i> challenge doses			
Control a ¹⁾		37.88	105.97	68.09
Control b ²⁾	10^5	38.04	104.89	66.85
Antibiotics	10^5	36.38	104.5	68.12
Fucoidan extraction	10^5	35.71	104.85	69.14
DHF ³⁾	10^5	38.63	107.05	68.42
DUP ⁴⁾	10^5	37.61	105.36	67.75
YCD ⁵⁾	10^5	38.04	110.43	72.39

1) Non-challenged control

2) Challenged control

3) Dried *Hizikia fusiforme* powder

4) Dried *Undaria pinnatifida* powder

5) Yeast cell debris

생후 6주간의 사육이 지난 육계에 *Salmonella typhimurium* 을 6.6085×10^6 cfu/ml 수준으로 경구투여 후, 10일 후의 변화를 검사한 결과, 맹장 내 *Salmonella* 생균수는 대조구는 변화가 거의 없었던 반면, 항생제, fucoidan, silver light, 미역 및 kelp meal 처리구에서 낮게 나타나 *Salmonella*에 대한 항균효과가 있음이 확인되었으며, 특히 fucoidan과 미역처리구에서 현저히 감소함이 확인되어 해조류 부산물 및 해조류 추출물인 fucoidan을 사료에 첨가 시, 육계 장내에서 병원성미생물인 *Salmonella*에 대한 항균효과가 크다는 것이 확인되어 해조류 추출물인 fucoidan을 육계 사료에 첨가할 경우 천연항생제로서의 기능이 기대된다.

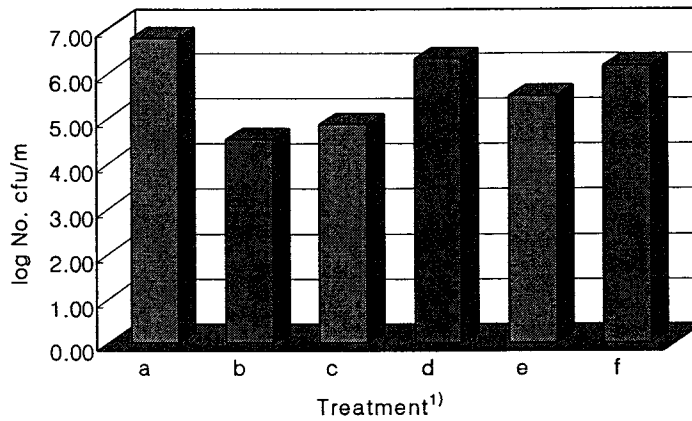


Figure 5. The number of *Salmonella typhimurium*(in vivo phase).

¹⁾ a : Control, b : Antibiotics, c : Fucoidan extraction, d : Dried *Hizikia fusiforme*, e : Dried *Undaria pinnatifida*, f : Yeast cell debris

사. 소장 내 villus의 길이 측정

공시병아리의 대장을 적출하여 측정된 장점막 용모의 길이와 형태는 Fig. 6~7과 같다. *Salmonella typhimurium*을 접종한 오염 처리구 용모의 길이가 비오염 처리구의 용모 길이보다 길었으며, 그 중 대조구의 길이가 가장 긴 것으로 관찰되었다. 이는 육계의 경우 mannan-oligosaccharide를 첨가물로 투여하였을 때 villus의 길이와 crypt의 깊이가 증가하였다고 보고한 결과(Spring, 1997)와 상반되는 결과이다. 그러나 Bradley 등(1994)은 *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*를 첨가했을 때 crypt의 깊이와 세포의 수가 줄었다고 보고하였고, Visek(1987)은 질병 예방수준의 항생제 첨가가 장점막 세포의 교체를 줄이며 장 조직의 무게를 줄일 수 있다고 보고하였다. 따라서 비오염 처리구의 용모 길이가 *Salmonella typhimurium*에 오염된 처리구의 용모 길이보다 짧은 원인은 *Salmonella typhimurium* 접종에 따른 장점막 세포와 crypt 세포의 손상 또는 첨가물에 의한 장점막 세포 교체의 변화와 관련이 있는 것으로 사료된다.

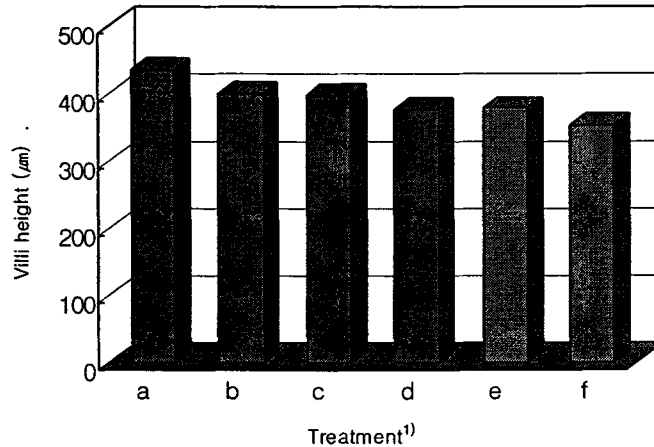


Figure 6. Effect of feed additives on height of intestinal villi of 10 day old broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium* on day 3 after hatch.

¹⁾ a : Control, b : Antibiotics, c : Fucoidan extraction, d : Dried *Hizikia fusiforme*, e : Dried *Undaria pinnatifida*, f : Yeast cell debris



Figure 7. Photographs of intestinal villi of 10 day old broiler chicks challenged with *Salmonella typhimurium* on day 3 after hatch.

A : Antibiotics, B : Fucoidan extraction, C : Silverlite

아. 용모조직의 입체구조

공시병아리의 대장을 적출하여 관찰한 장점막 용모의 입체적형태는 Fig. 8과 같다. 처리구별 용모의 형태는 크게 다르지 않았으며 대부분의 용모가 대장벽면에 매우 촘촘하게 분포되어 있었다. 또한 *Salmonella typhimurium*에 오염되지 않은 비오염 처리구의 용모는 오염 처리구의 용모에 비해 짧고 납작한 모양으로 관찰되었다.

김 등(2001)은 다시마 alginate를 rat에 투여하였을 때 소장용모의 미세구조는 주름이 많고 표면적이 넓은 잎사귀 모양이며 돌림주름 및 배상세포가 현저히 발달되었다고 하였고, Savage 등(1997)은 칠면조에 0.1% 효모제를 투여하였을 때 crypt의 깊이는 줄어들고 villi의 넓이는 증가하였으나 villi의 길이에는 변화가 없었다고 하였으며 Spring(1996)은

육계의 경우 villus의 길이와 crypt의 깊이의 변화가 장관의 유지에 더욱 효율적일지는 아직 미지수라고 보고하였다.

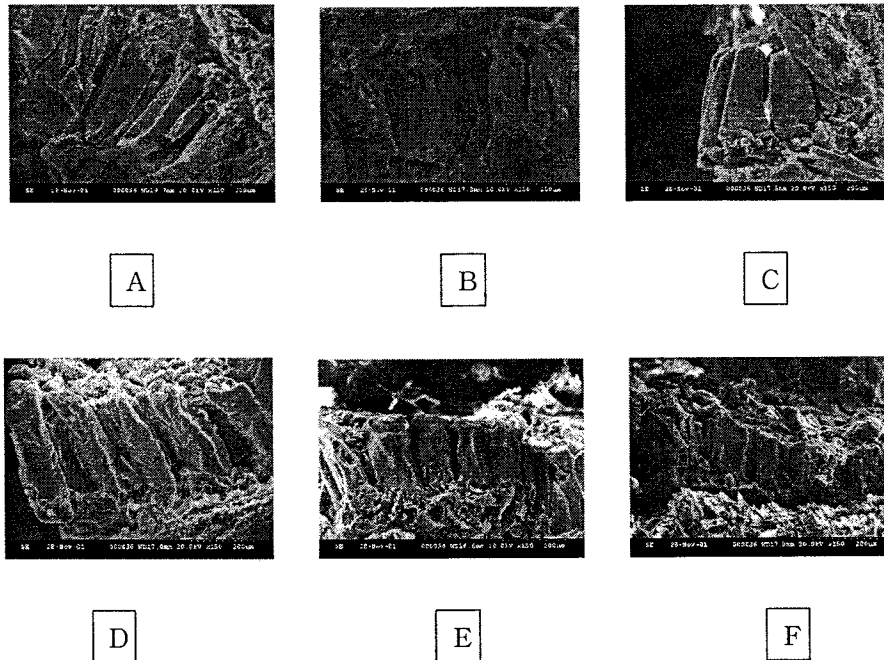


Figure 8. Scanning electron micrographs of intestinal villi of 10 day old broiler chicks

A : control, B : antibiotics, C : fucoidan, D : *Undaria pinnatifida* powder, E : Yeast cell debris, F : Non-challenged antibiotics group

자. 맹장 내 미생물의 형태학적 관찰

*Salmonella typhimurium*에 오염시킨 대조구 공시병아리의 맹장 부위를 무균적으로 적출하여 맹장 상피에 흡착되어 있는 미생물을 주사전자현미경(scanning electron microscopy)을 이용하여 관찰한 결과, 상피 조직을 저배율로 관찰하였을 때, 상피조직에 잔류해 있는 맹장 내용물을 관찰할 수 있었으며, 고배율로 관찰하였을 때 맹장상피에 흡착되어 있는 장간균, 간균, 단간균, 구균 등 다양한 종류의 미생물들이 혼재된 형태로 존재하는 모습을 관찰할 수 있었다(Fig. 9).

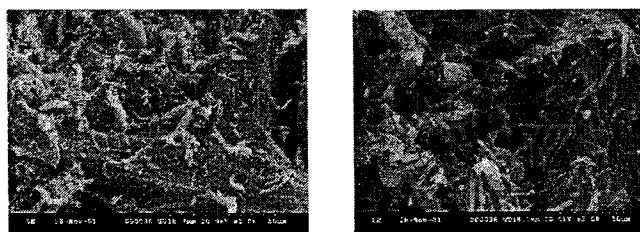


Figure 9. Scanning electron micrographs of cecal surface of 10 day old broilers challenged with *S.typhimurium* on day 3 after hatch(Control).

제 2 절 해조류 유래 fucoidan의 기능성 평가 및 농가수준 배합프로그램 확립

박 재 인 (강원대학교 축산학과)

1. 서 론

제 1 절의 연구에서 해조류, 즉 미역과 툇에서 fucoidan을 추출하여 그 수율 및 제조원가를 고려하여 보았다. 미역이나 툇으로부터 추출할 수 있는 fucoidan의 양은 둘 모두 비슷한 수율을 보였으나, 이를 추출하기 위한 유기용매의 비용이 너무 많이 소요되어 사료첨가제로서는 이용가치가 없다는 결론을 얻었다. 따라서 본 시험에서는 저비용으로 추출할 수 있는 방법을 고안하게 되었다. 즉 열수추출로서 비교적 낮은 온도에서 해조류의 분해를 유도함으로써 목적하는 물질을 추출할 수 있도록 하였다. 즉 해조류를 가능한 입자도가 작게 분쇄한 후 물과 함께 용기에 넣어 60℃가 되도록 가열하여 1시간 정도 유지시키면 분해가 완료되어 추출이 가능하게 된다. 이후 적당량을 취하여 원심분리를 하면 물속에 fucoidan을 비롯한 여러 수용성 물질이 녹아나오게 되는데 이를 건조하면 crude fucoidan이 된다. 그러나 우리는 한 단계 더 나아가서 이와 같이 물에 용해된 crude fucoidan을 건조시키는 비용을 절약하기 위하여 다공성 illite에 crude fucoidan을 흡착하여 이용하는 방안도 동시에 검토하여보기로 하였다. 한편, 이들 fucoidan은 해조류를 분해하였을 때 분해물내 함유되어 있기 때문에 해조류의 열분해물을 그대로 건조시킨 것에 대하여도 기능성을 검토하고자 하였다. 이와 같은 일련의 시도는 위에서 언급한 바와 같이 fucoidan이 아무리 효능이 우수하다고 하여도 농가에 사료첨가제로 공급하기 위하여는 가격이 저렴해야 하기 때문에 최대한 저비용으로 fucoidan을 추출할 수 있는 방안에 대하여 검토하고자 하였다. 따라서 본 절에서는 저비용으로 fucoidan을 추출할 수 있는 조건을 확립함과 동시에 이를 대량 추출할 수 있는 방안도 동시에 검토하고자 하였다. 또한 여러 방법에 의하여 추출한 fucoidan을 브로일러 사료에 첨가 급여하여 성장능력, 생리학적 장기에 대한 영향, 장내 villus의 형성 및 영양소 소화율에 미치는 영향을 검토하여 그 효능을 입증하고자 하였다.

2. 열수추출법에 의한 저비용 crude fucoidan의 추출

본 시험에서는 제 1 절의 시험결과에서 그 효능이 입증된 fucoidan을 두 가지 방법으로 추출하여 시험에 이용하였다. 유기 용매를 이용한 fucoidan의 추출 방법은 제 1 절과 동일한 방법으로 추출하였으며, 제 2 절에서는 fucoidan을 열수추출 방법에 의하여 추출하여 crude fucoidan을 얻었다. Crude fucoidan의 열수추출은 건조 미역 분말을 65°C의 H₂O에 2 시간동안 분해하여 열수추출 미역분해물을 얻었다. 제조 과정을 보면 2시간 동안 열수 추출하여 얻어진 미역 분해물을 gauze를 이용하여 1차 여과한 후, 미세분해물을 걸러내기 위하여 여과지를 이용하여 여과함으로서 액체 추출물을 분리하였다. 이 추출물은 이 후 두 가지 공정으로 나누어 검토하였다. 그 첫 번째로는 액체추출액을 10,000×g에서 10분간 원심분리 후 60°C에서 열풍 건조하여 crude fucoidan을 얻었고, 다른 하나는 액체추출물에 illite 분말을 중량비로 1/10(g/g) 첨가하여 잘 교반한 후에 60°C에서 열풍 건조하여 illite 흡착 fucoidan을 얻을 수 있었다. 추출수율은 crude fucoidan의 추출 전 건조 미역분말의 중량과 추출된 crude fucoidan의 건조중량 비율로 구하였는데, 열수추출 방법(12.34%)이나 유기용매 추출방법(13.12%) 모두가 비슷한 수율을 얻을 수 있었다.

3. 유기용매추출법에 의하여 추출한 fucoidan 및 해조부산물 첨가가 산란계의 산란성적, 난질, 난황색도 및 난황 cholesterol 함량에 미치는 영향

3-1. 연구목적

최근 양계 산업에 있어서 생산자들은 소비자들의 기호에 맞추어 계란에 특정영양성분을 강화시키거나, 잔류 및 기피성분을 감소시키는 등의 기능성을 부여함으로써 품질향상 및 부가가치 향상을 동시에 추구하는 추세에 있다. 특히, 난황색의 착색정도는 소비자들이 선호하는 색상을 공급하기 위하여 사료중의 색소 량이나 질을 고려하여야 한다.

난황의 착색은 대부분이 carotenoid 계통으로 이 물질은 수산기의 유무에 따라 β-carotene과 xanthophyll로 분류할 수 있으며, 이들은 소장에서 지질과 함께 지방구를 형성하여 점막세포를 통해 carotenoid-binding protein과 결합하여 림프관을 따라 혈관과 간장으로 이동되어 특유의 생리작용을 한다. 한편 혈관으로 이동된 carotenoid는 지방조직과 말초조직으로 이동하여 가금의 난황, 지방, 피부, 정갱이 및 부리 등 발색이나 각종 생리작용을 하게 된다(Krinsky와 Rock, 1999; Parker, 1996; Zeng 등, 1992). 산란계에서 옥수수로부터 유래된 zeaxantin의 50%는 난관에서 검출되며(Scheidt 등, 1985), Goodwin(1986)은 근육과 피부에 저장된 xanthophylls는 성숙 단계에서 난관으로 전이

된다고 하였다. 이러한 전이는 산란 주기를 통해서 일어나는데 산란이 지속되면 피부와 발의 착색도는 점차 감소할 것이다.

최근 양계사료 산업에서 사료원료에 함유된 천연 착색 성분으로만은 소비자들이 요구하는 최적의 색조를 얻기에 충분한 량이 되지 않기 때문에 여러 가지 천연물에서 착색성분을 추출하거나 이와 동일한 화학 구조식을 갖는 합성 착색제를 사용하고 있다. 한 등(1989)은 육계에 천연 및 합성 착색제의 착색효과에는 차이가 없었다고 한 반면, Bauernfeind와 Marusich(1974)은 붉은색 계통의 canthaxanthin은 천연착색제와 함께 사용하면 높은 착색효율을 얻을 수 있다고 하였다. 특히, 엄 등(1990)은 시판 착색제에 비하여 옥수수내 함유된 xanthophylls이 착색효율이 높다고 지적한 바 있다.

난황의 색도는 주로 사료중의 xanthophyll류에 의한 것으로 특히 lutein과 zeaxantin은 가금용 사료에 주요한 xanthophylls로서 사료 원료에 따라 난황의 색상에도 차이를 나타낸다. 그러나 난황 색도 뿐만 아니라 최근에는 xanthophyll이 항산화 기능을 부여(Britton, 1995; Sujak 등, 1999; Clark 등, 1999)하는 것으로 알려진 이후 이에 대한 관심이 고조되고 있다. 난황은 특성상 인지질을 다량 함유하고 있기 때문에 빠르게 산화될 조건을 충분히 지니고 있으나 실제 산화속도는 매우 느리게 진행(이, 1999)되는 반면 근육에 다가 불포화지방산이 다량 함유되어 있을 경우에는 그 산화 속도가 매우 빠르다. 이와 같이 난황과 근육이 다가불포화 지방산을 함유하고 있음에도 불구하고 산화속도에 차이를 나타내는 것은 매우 흥미로운 현상이다.

따라서 본 시험에서는 산란기의 갈색산란계를 이용하여 fucoidan 및 해조류를 첨가하여 산란율의 변화 및 난황의 착색효과에 대한 효능을 검토함으로써 해조부산물을 이용한 기능성 영양란 생산에의 가능성을 타진하고자 수행하였다.

3-2. 시험방법 및 분석항목

3-2-1. 시험사료

본 시험에 이용된 기초실험사료의 배합을 및 성분함량은 Table 9와 같다. 시험에서 이용한 사료는 사료내 항생제가 전혀 함유되지 않도록 배합하여 시험에 이용하였다. 시험사료는 일반 시판사료를 이용하였는데, 사료의 영양소 조성은 조단백질 16%, 대사에너지 3100kcal/kg diet의 사료를 이용하였다.

3-2-2. 시험동물 및 시험설계

본 실험은 60주령 갈색산란계를 6처리 3반복 반복당 30수씩 총 540수를 공시하여 12주간 시험하였다. 본 연구에서는 해조류 및 해조추출 fucoidan이 산란계 사료에 첨가하였을 경우 산란성적, 난질, 난황착색도 및 난황 콜레스테롤 함량을 평가하였다. 시험처리구는 각각 T1이 대조구, T2 fucoidan 0.05% 첨가구, T3 Kelp meal 2%첨가구, T4 톳 3%첨가구, T5 Kelp meal 3% 첨가구, T6 Kelp meal 3% + Asthaxanthin 5ppm 첨가구를 두었으며, 시험사료 및 물은 자유급여 하였다.

Table 9. Formulation of the basal diet for the experiment

	Basal diet
Yellow corn	-
Wheat-14	64.44
Wheat bran-p	-
Soybean meal(CP 45%)	16.93
Corn gluten meal	-
Corn germ meal	5.00
Lard	3.57
T.C.P	1.89
Limestone	7.33
NaCl(salt)	0.20
Methionine	0.21
Lysine-HCl	0.03
L-Tryptophan	0.01
Vitamin	0.10
Mineral	0.10
Choline-Cl	0.09
Ronozyme	0.10
Total	100
Chemical composition(%)	
DM	10.92
Crude protein	15.50
ME(kcal/kg)	2900
E.E.	5.50
Ca	0.59
P	0.33
Lys	0.74
Met+Cys	0.64
Thr	0.56

3-2-3. 조사항목 및 조사방법

1) 산란율 및 난중

산란율은 시험기간중 생산된 총산란수를 공시수수로 나누어 백분율로 표시하였다. 난중은 매일 오전 10시에 집란한 후 반복별로 칭량하여 총난중을 총산란수로 나누어 평균난중을 구하였다.

2) 사료섭취량 및 사료요구율

사료섭취량은 시험기간중 매주 간격으로 집란을 종료한 후 시험사료의 잔량을 칭량하여 급여량에서 잔량을 제하여 계산하였으며, 전기간의 사료섭취량을 공시수수로 나누어 1일 1수당 사료섭취량을 계산하였다. 사료요구율은 총사료섭취량을 총생산 난중으로 나누어 계산하였다.

3) 난질 측정

계란의 품질을 분석하기 위하여 사양시험 기간동안 매주 처리당 각 10개씩 총 400개 (10개 × 10처리 × 4회)의 계란을 임의로 수집하여 실온에서 보관 후 난질을 조사하였다. 계란의 품질 측정은 haugh unit(HU)로 표시하였으며, HU는 농후난백고와 난중을 측정하여 $100\log(H-1.7W0.37+7.6)$ 의 공식에 의하여 계산하였다. 여기서 H는 농후난백의 높이(mm)이고, W는 난중(g)을 의미한다. 난황색의 측정은 Roche사의 yolk color fan을 사용하여 No.1에서 15까지의 색깔을 비교하여 측정하였다.

4) 난황의 콜레스테롤 측정

난황 콜레스테롤 함량은 Shen 등(1982)의 방법을 응용한 오 등(1995)의 방법을 이용하였으며, 지질의 추출은 methylene chloride와 methanol을 혼합한 용액 4ml(v.v, 2:1)를 사용하여 40℃ water bath에서 30분간 추출한 후 enzymatic colorimetric method에 의한 free cholesterol 분석용 kits(WAKO, Japan)를 이용, 505nm에서 spectrophotometer(HITACHI, U-2000)을 사용하여 측정하였다.

5) 시험성적의 통계처리

본 시험에서 얻어진 자료의 통계처리는 SAS Package Program (1990)에 의하여 분산분석을 실시하였으며 처리평균간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정법을 이용하여 실시하였다.

3-3. 시험 결과

갈색 산란계에 해조류 및 fucoidan을 첨가하였을 경우 산란성적에 미치는 영향은 Table 10과 같다. 1일 1수당 사료섭취량은 해조류 및 fucoidan을 첨가한구와 대조구간에 차이는 나타나지 않았으나, 톳분말을 첨가한 구가 약간 높은 경향을 보였다. 산란율에 있어서는 시험계의 노화(60주령)로 인하여 대체적으로 낮은 경향을 보였고, 처리간에 있어서는 톳분말 처리구가 다른 처리구에 비하여 낮게 나타났다. 이와 같은 경향은 톳분말에 염분 함량(12%/g)이 높은 관계로 염분 중독의 가능성을 추측할 수 있다. 또한 사료섭취량이 높은 것은 염분 농도로 인하여 수분 섭취가 높게 나타남으로서 사료 이용율이 낮았을 가능성도 제기할 수 있다. 그러나 이와 같은 결과에 대하여 보다 많은 실험을 통하여 구명되어야 할 것으로 사료된다. 단, 본 연구의 결과로 미루어 완도에서 생산되는 톳분말의 사료화를 위하여는 분말화 전에 염분을 제거해 주는 것이 바람직 할 것으로 여겨진다. 일본의 경우에는 해조분말을 사료에 첨가할 경우 산란계에 대하여 9%까지 첨가하여도 염분 중독 현상이 없는 점이 이러한 문제를 제기하기에 충분한 이유가 될 것이다. 난중은 대조구와 처리구간에 차이가 나타나지 않았으며, 사료요구율은 사료섭취량과 산란율에 비례하여 톳분말 첨가구가 좋지 않은 결과를 나타냈다.

Table 10. Effect of fucoidan and sea weed supplementation on layer performance

조사항목	Treatment						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	
사료섭취량(g/day/bird)	76.64±6.8	69.67±3.5	68.80±5.6	79.72±8.5	68.84±8.1	69.12±7.9	
산란율(%)	61.25	63.41	62.58	56.43	65.21	62.59	
난중(g)	68.4	69.7	68.8	68.7	67.9	69.2	
사료요구율	kg/kg	1.86	1.72	1.82	2.25	1.82	1.84
	g/egg	127.2	119.8	125.2	141.8	125.2	126.4

T1, Control; T2, Fucoidan 0.05%; T3, Kelp meal 2%; T4, *Hizikia fusiforme*; T5, Kelp meal 3%; T6, Kelp meal 3% + Asthaxanthin 5ppm

Table 11에는 fucoidan 및 해조류를 첨가한 사료를 섭취한 산란계의 난질에 대한 측정 결과이다. Roche color fan으로 착색도를 측정한 결과 대조구가 7.25인 반면 fucoidan 첨가구는 8.22로 약간 높게 나타났으나, 일반적으로 시중에 유통되고 있는 영양란의 착색도에는 매우 못미치는 수준이었다. 그러나 kelp meal이나 톳분말을 첨가하였을 경우에는 대체적으로

Table 11. Effect of fucoidan and sea weed supplementation on egg quality, yolk pigmentation and yolk cholesterol content

조사항목	Treatment					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
난황색(Roche color fan)	7.25	8.22	10.42	9.41	10.65	12.62
난백고	6.28	6.32	6.08	6.62	6.59	6.49
Haugh Unit	73.73	72.72	71.25	77.02	72.45	73.16
Cholesterol(%)	2.34	2.30	2.45	2.26	2.39	2.18

T1, Control; T2, Fucoidan 0.05%; T3, Kelp meal 2%; T4, *Hizikia fusiforme*; T5, Kelp meal 3%; T6, Kelp meal 3% + Asthaxanthin 5ppm

시중에서 유통되고 있는 영양란의 착색도에 가깝게 접근하였다. 그러나 시중에서 유통되는 영양란의 착색도가 11~12 정도인 점으로 미루어 색도를 내기 위하여는 해조분말에 착색제를 약간 첨가(T6)하는 것이 본 연구의 결과에서 입증되었다. 이는 경제성을 산출하지는 않았으나, 해조류를 이용하여 기능성 가금용 사료를 만들기 위하여는 약간의 착색제를 첨가하는 것이 매우 바람직하다는 것을 말해준다. 즉 본 연구의 결과에서와 같이 해조류를 이용한 해조란을 만들기 위하여는 착색제를 최소한 사료내 5ppm 정도는 첨가해야 할 것으로 사료된다. 일본의 경우에는 해조란을 생산하기 위하여 사료내 해조분말을 9% 첨가하고 있다. 그러나 위에서 언급한 바와 같이 국내산 해조분말을 9%까지 사료에 첨가한다면 높은 염분 농도로 인하여 염분 중독이 일어날 가능성이 매우 높기 때문에 해조류의 첨가량을 줄이는 대신에 착색제(본 연구에서는 천연 착색제인 Asthaxanthin)을 사용하는 것이 바람직 할 것으로 보인다. 한편, 난황의 cholesterol 함량에는 본 연구에서 첨가한 fucoidan 및 해조류가 기여하지는 못한 것으로 나타났다. 이는 가금의 난생산 생리구조가 타 동물과 다르게 형성되어 있기 때문이며, 해조류를 이용한 저콜레스테롤 난생산에는 무리가 있는 것으로 판단되었다.

결과적으로 산란기에 대한 해조류 및 fucoidan을 이용한 기능성 계란을 생산하기 위하여는 본 연구에서 나타난 바와 같이 해조류에 착색제를 첨가하는 것이 효율적이며 우수하였다.

4. 유기용매추출법에 의하여 추출한 fucoidan 및 해조부산물 첨가 급여가 육계의 육성성적, 장내 미생물 억제, villi 발달 및 장기 발달에 미치는 영향

4-1. 연구 목적

해양 생물, 특히 해조류는 육상생물과는 달리 특이한 생활환경으로 인하여 다양하고도 흥미로운 생물학적 활성을 지닌 이차 대사산물을 함유하고 있으며, 이미 분리되어 생산되고 있는 생리활성 물질도 다수 있는 것으로 알려져 있다. 그 중에서 미역, 다시마를 포함하는 해조류의 불가식 부위는 그 동안 부가가치가 낮은 사료첨가제로 이용되어 왔으나, 최근 생물공학 및 천연물 화학의 발달에 따라 미역과 다시마를 사료첨가제로 이용하는 것 보다는 해양천연물질을 분리하여 유용한 약품 대용으로 이용 가능한 신물질 개발이 고부가가치를 창출할 수 있다는 점에서 관심이 고조되고 있다. 특히 축산업에 있어서 갈조류의 특성을 이용한 항균제나 항생제를 대체할 수 있는 천연물 이용에 대한 연구는 미진한 실정이다. 항생제는 소비수준의 증가와 소비자들의 인식이 바뀌어 세계적으로 규제 대상이 되면서 그 사용이 점차 감소하는 경향에 있기 때문에 항생제를 대체할 새로운 천연물에 관심이 고조되고 있다. 이와 같이 유해미생물에 대한 방어적인 역할 이외에 사료 효율의 개선에도 효과를 모두 만족시킬 수 있는 항생제 대용의 생리활성 천연물의 탐색은 대단히 어려운 일이라 할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 가금에 대한 불가식 해조류의 사료적 가치 평가 및 기능성 천연물로서 항생제를 대체할 수 있는 해조추출 fucoidan을 항생제 대체 자원으로 이용가능성을 구명하는데 그 목적을 두었다.

4-2. 연구방법 및 결과

5-2-1. 실험동물의 사육 및 실험설계

본 시험은 해조류 및 해조 추출 fucoidan이 가축에 대한 항균효과를 검증하고, 가축의 성장, 장기의 생리적 변화 및 영양소 소화율에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 브로일러(육용계)를 이용하여 6주간 사양시험을 수행하였다. 시험사료는 Table 12에 나타난 바와 같이 전, 후기 구분없이 조단백질 20%, 대사에너지 3100kcal/kg diet로 고정하였고, 사료 내 항생제는 전혀 함유되지 않았다. 본 시험을 수행함에 있어 시험구는 negative 대조구로 항생제를 첨가하지 않은 -Control(C), positive 대조구로서 항생제를 첨가한 +Control 구(+C), Fucoidan 0.5% 첨가한 F 구, Fucoidan 1.5% 첨가한 FF 구, illite에 은을 이온교환한 실버라이트 0.5%를 첨가한 S 구, 실립라이트를 1.5% 첨가한 SS 구와 킬프밀을 3% 첨가한 Krm 및 해조류를 3% 첨가한 M 구로 나누어 총 8처리 3반복, 반복당 15수씩 총 브로일러 360수를 이용하여 시험을 수행하였다. 본 시험을 수행함에 있어 사양관리는 실험실 관행에 준하여 실시하였으며, 체중과 사료섭취량은 매주 측정하였다.

Table 12. Formulation of the basal diet for the experiment

Ingredient	%
Corn	55.21
Wheat bran	10.0
SBM(CP 45%)	26.23
Corn gluten meal	2.0
Fish meal	1.0
Animal fat	2.66
Limestone	0.19
Tricalciumphosphate	1.69
Salt	0.2
DL-Methionine	0.37
Lysine-HCl	0.18
Vitamin premix	0.15
Mineral premix	0.12
Total	100.00
Calculated composition	
ME(Kcal/kg)	3,100
Crude protein(%)	20.0
Crude fat(%)	5.58
Crude ash(%)	4.78
Ca(%)	0.80
P(%)	0.65

5-2-2. 조사항목 및 조사방법

가) 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율

시험동물은 시험기간 동안 한 반복 당 가는 철망으로 칸막이(3m×2.5m)를 한 하우스 평사에 수용하여 물과 사료를 자유섭취토록 하였으며, 사료섭취량은 사료급여량에서 잔량을 제하여 구하였고, 체중 측정은 3주와 6주차에 측정 4 시간 동안 절식시킨 후 측정하여 증체량을 구하였다. 사료요구율은 시험 전 기간 중의 사료섭취량을 총 증체량으로 나누어 구하였다.

나) 내장무게 및 villi 길이 측정

사양시험 종료 시, 4시간 절식 시킨 후 각 시험구 중 평균체중에 가까운 개체를 5수씩 선발하여 근위, 소장 및 맹장의 중량을 측정하여 개체별로 체중(1,000g)비례 중량 및 길이를 환산하여 구하였다. 희생된 공시병아리를 개복하여 소장의 일부를 적출하였고 이를 10% 포르말린에 고정하여 광학 현미경 관찰에 사용하였다. 광학현미경 관찰용 시료는 통

상적인 방법으로 급속동결하여 embedding 한 후, microtome(Bright instrument Co LTd, Clinicut 60 cryostat, England)을 사용하여 8 μ m 내외의 절편을 얻어 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 시행하였다. Villi의 길이는 광학현미경에 micrometer를 장착하여 처리구 당 7개 부분 이상을 관찰하여 평균치를 구하였다.

다) 장내 미생물 검사

공시병아리는 3주차와 6주차에 각 처리당 5수씩 희생시켜 무균적으로 개복하였고, 맹장을 적출하였으며, 이를 8,000 rpm으로 5분간 균질화 (JANKE & KUNKEL IKA-Labortechnik, Ultra-turrax T 25, Germany)한 후, 총균수(total bacterial count, TBC), 젖산균수(lactic acid bacterial count, LAB), 대장균군수(coliform bacterial count, CBC)와 *Salmonella typhimurium*의 생균수(viable cell count)를 측정하였다. *Salmonella typhimurium*의 생균수는 희석된 시료를 selenite cysteine broth에서 38 $^{\circ}$ C에 24시간 배양하여 *Salmonella shigella* agar 평판배지에 도말, 38 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양 후 MPN 수치를 구하여 환산하였으며, 총균수(total bacterial count, TBC)는 희석된 시료를 tryptic soy agar에서 38 $^{\circ}$ C에 24시간 배양 후 colony 수를 측정하여 구하였고, 젖산균수(Lactic acid bacterial count, LAB)는 희석된 시료를 MRS agar에 도말하여 38 $^{\circ}$ C에 48시간 배양한 후 측정하였다. 대장균수(coliform bacterial count)는 희석된 시료를 Violet red bile agar에서 38 $^{\circ}$ C에 24시간 배양 후 측정하였다.

라) 용모조직의 전자현미경 관찰

희생된 각 소장의 일부(맹장 위 5cm 부위)를 적출하여 이를 2.5% glutaraldehyde 용액에 2시간 전고정한 후, 0.2M phosphate buffer(pH 7.4)로 세척한 다음 2N NaOH 용액에 침적하였다. 3~7일 후 2% osmium tetroxide로 2시간 후고정하여 에탄올 계열에서 탈수하였다. 이를 *tert*-Butyl alcohol로 치환한 후 동결건조 하였으며, Au-Pb로 코팅하여 가속전압 20kV에서 주사전자현미경(Hitachi S-3500N, JAPAN)으로 Villi의 형태를 관찰하였다.

사) 소화시험 및 영양소 이용을 측정

영양소 이용율을 측정하기 위하여 사양시험에 이용했던 실험동물을 2주간 계속 급여하여 8주간 사양한 다음 소화시험 동물로 이용하였다. 소화시험을 위하여 측정 전 충분한 예비사양 기간을 두었으며, 예비사양 5일째부터 24시간 분을 채취하여 시료로 이용하였다. 분판의 우모와 비듬은 완전 제거하였으며 분은 5% HCl을 처리하여 dry oven에서 6

0°C로 48시간 건조하여 칭량하여 건물 배설량을 구하였고 풍건상태로 환원시켜 각 영양소 함량을 구하여 이용율을 측정하였다. 물은 전 시험기간 동안 자유섭취 시켰다. 시험구는 총 6구로 처리당 3수, 반복 당 1수씩 총 18수를 공시하였다. 실험에서 얻어진 시료는 AOAC(1990)에 의하여 분석하였으며, 에너지는 bomb-calorimeter를 이용하여 측정하였다. 영양소의 소화율 계산은 다음의 식에 의하여 구하였다.

$$\text{소화율(\%)} = \frac{\text{섭취한 영양소 총량} - (\text{분중 영양소 총량} - \text{내생 영양소})}{\text{섭취한 영양소 총량}} \times 100$$

4-2-1. 결과 및 고찰

Fucoidan 및 해조류를 첨가한 사료를 급여하였을 경우, 브로일러의 사양성적은 Table 13과 같다.

Table 13 Effect of feed additives on growth performance of broiler chick

Item*	Body weight(g)			Feed intake (g)	Weight gain (g)	Feed/Gain
	Initail	3 weeks	Final			
-C	42.8	595.6	1674.5	3361.3	1631.7	2.06
+C	41.8	636.7	1722.7	3328.2	1680.9	1.98
F	44.0	630.2	1731.2	3338.0	1687.2	1.98
FF	43.2	630.0	1728.5	3243.5	1685.3	1.92
S	40.2	631.8	1720.0	3295.8	1679.8	1.96
SS	42.1	630.7	1730.9	3260.9	1688.8	1.93
M	42.0	608.4	1684.2	3325.7	1642.2	2.03
K	41.8	618.6	1681.8	3260.5	1640.0	1.99

* -C, negative control; +C, Antibiotics 0.5%, F, Fucoidan 0.5%; FF, Fucoidan 1.5%; S, Silverlight 0.5%; SS, Silverlight 1.5%; M, *Undaria pinnatifida* 3.0%; K, Kelp meal 3.0%

Table 13은 fucoidan 및 해조류의 첨가가 브로일러의 사양성적에 미치는 영향을 측정 한 결과이다. 시험개시 시의 각 처리 당 체중은 거의 일정한 수준에서 시작하였으나, 3주 후의 체중에 있어서 차이가 나타나기 시작하였다. 즉, 항생제 첨가구, fucoidan 첨가구 및 실버라이트 첨가구는 항생제 무첨가구(-C)에 비하여 높은 체중을 나타냈으며, 미역분말

및 kelp meal 첨가구는 위의 처리구에 비하여 높지는 않았으나, -C구에 비하여 비교적 높은 체중을 보였다. 시험이 종료된 6주차의 체중에 있어서도 3주차와 비슷한 결과를 보였다. 그러나 사료섭취량에 있어서는 각 처리간에 차이가 없이 거의 일정한 수준으로 섭취하였다. 따라서 사료효율(Feed/Gain)은 체중과 사료섭취량에 비례하여 대조구에 비하여 각 처리구가 우수한 것으로 나타났으나, 미역분말 첨가구의 경우에는 -C와 거의 비슷한 수준으로 나타났다. 이는 다시 말해서 미역분말의 첨가가 사양성적에 전혀 도움이 되지 않는다는 것을 말해주는데, 그 이유로는 산란계 시험에서도 언급한 바와 같이 미역분말중의 염분을 제거 처리하지 않은 관계로 분말 내 높은 염분 농도로 인하여 염분 중독을 일으켰을 가능성을 제기할 수 있으며, 또한 kelp meal의 성적과 관련지어 본다면 해조류가 소장 내에서 소화되지 못하였기 때문에 사양성적이 좋지 않은 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서 이용한 가금류의 경우에는 단위동물에 속하기 때문에 소화생리상 섬유소를 분해할 수 있는 효소를 갖고 있지 못하다는 것으로 그 이유를 설명할 수 있을 것이다.

4-2-2. 소화기관의 변화

Table 14 Effect of feed additives on intestine length of broiler chick

Item*	Intestine length (cm)		
	1 weeks	3 weeks	6 weeks
-C	81.00±7.05	118.33±4.51	177.00±15.39
+C	80.50±1.80	125.33±11.68	159.67±24.66
F	78.00±9.54	120.33±14.19	155.00±5.00
FF	84.33±2.52	114.00±10.15	145.00±15.10
S	79.67±10.02	118.33±8.50	167.00±13.53
SS	75.00±7.00	121.67±1.53	167.00±20.07
M	74.67±6.66	119.00±15.72	164.00±8.72
K	81.33±6.03	120.67±16.80	160.67±24.58

* -C, negative control; +C, Antibiotics 0.5%, F, Fucoidan 0.5%; FF, Fucoidan 1.5%; S, Silverlight 0.5%; SS, Silverlight 1.5%; M, 미역 3.0%; K, Kelp meal 3.0%

Fucoidan 및 해조류의 첨가가 브로일러의 소장 길이에 미치는 영향은 Table 14와 같다. 소장의 길이는 초기 성장기에는 본 연구에서 이용한 첨가물들의 영향이 나타나지 않았으나, 성장 기간이 길어질수록 그 차이가 현저하게 나타났다. 즉 처음 1주차에는 처리구간에 차이가 전혀 없었으나, 3주차에는 소장 길이가 대조구에 비하여 각 처리구가 짧아지는 경향을 보였고, 특히 6주차에 소장길이는 대조구가 가장 길고, fucoidan 첨가구가

가장 짧은 것으로 나타났다. 이와 같은 현상이 나타난 이유에 대하여는 항생제 첨가구가 동일하게 짧아진 점으로 미루어 fucoidan이 항생제와 동일한 효과를 갖고 있을 것으로 추측된다.

Table 15 Effect of feed additives on intestine weight of broiler chick

Item*	Intestine weight (g/kg body weight)		
	1 weeks	3 weeks	6 weeks
-C	8.60±1.18	36.15±2.59	67.76±8.20
+C	8.84±1.01	37.04±6.45	60.69±15.11
F	8.52±1.58	33.86±8.42	62.26±16.25
FF	10.87±1.69	30.05±4.17	50.97±7.33
S	8.80±1.79	23.79±4.49	57.36±2.77
SS	8.41±0.48	40.29±3.28	53.34±6.16
M	8.04±0.96	27.59±6.26	58.96±4.92
K	8.09±1.06	32.44±5.26	66.59±13.51

* -C, negative control; +C, Antibiotics 0.5%, F, Fucoidan 0.5%; FF, Fucoidan 1.5%; S, Silverlight 0.5%; SS, Silverlight 1.5%; M, 미역 3.0%; K, Kelp meal 3.0%

소장의 무게는 1주차에는 처리간 차이가 없었으나, 3주차에는 대조구에 비하여 처리구가 대체적으로 낮은 무게를 보였고, 6주차에도 3주차의 경향과 비슷한 결과를 보였다.(Table 15)

Table 16 Effect of feed additives on Cecum weight of broiler chick

Item*	Cecum weight (g/kg body weight)		
	1 weeks	3 weeks	6 weeks
-C	1.57±0.15	4.60±1.00	12.99±7.03
+C	2.05±0.66	6.68±2.04	20.98±4.98
F	1.32±0.94	4.37±1.19	12.58±2.11
FF	1.83±0.57	5.17±0.70	10.99±4.78
S	2.29±0.98	3.83±1.00	13.77±3.16
SS	1.45±0.10	6.35±2.27	14.11±4.22
M	1.81±0.63	4.83±0.91	13.17±1.80
K	1.50±0.37	4.06±0.79	14.10±5.59

* -C, negative control; +C, Antibiotics 0.5%, F, Fucoidan 0.5%; FF, Fucoidan 1.5%; S, Silverlight 0.5%; SS, Silverlight 1.5%; M, 미역 3.0%; K, Kelp meal 3.0%

Fucoidan 및 해조류의 첨가가 브로일러의 맹장 무게에 미치는 영향을 조사한 결과는

Table 16와 같다. 가끔에 있어서 영양소 이용면에서는 맹장의 역할이 거의 없다고 보아도 무관하다. 각 주차에 맹장의 중량에는 처리간 차이가 없었으나, 6주차의 +C구의 높은 맹장 무게는 앞으로 연구해 보아야 할 과제 인 것으로 여겨진다.

Table 17 Effect of feed additives on Crop weight of broiler chick

Item*	근위중량 (g/kg body weight)		
	1 weeks	3 weeks	6 weeks
-C	-	25.98±4.16	52.60±5.81
+C	-	28.87±5.46	50.97±2.97
F	-	27.59±8.97	49.63±10.07
FF	-	21.74±2.17	49.48±9.82
S	-	29.69±2.85	45.62±11.33
SS	-	25.90±2.60	43.67±3.85
M	-	24.90±1.24	48.05±3.09
K	-	24.25±2.09	58.25±5.97

* -C, negative control; +C, Antibiotics 0.5%, F, Fucoidan 0.5%; FF, Fucoidan 1.5%; S, Silverlight 0.5%; SS, Silverlight 1.5%; M, 미역 3.0%; K, Kelp meal 3.0%

Fucoidan 및 해조류를 첨가하였을 경우 근위 중량을 조사한 결과는 Table 17과 같다. 조사한 결과 3주차에 있어서는 각 처리간 차이가 없었으나, 6주차에 있어서는 kelp meal 을 제외한 모든 처리구에서 대조구보다 낮은 중량을 보였다. 특히, 실버라이트 첨가구와 fucoidan 첨가구는 그 차이가 현저하였다. 이러한 경향은 fucoidan 및 실버라이트가 위에 부담을 덜어주어 위의 운동량이 낮았기 때문으로 해석된다.

4-2-3. 소화율에 미치는 영향

영양소 소화율은 섭취한 사료의 영양소 조성분에 분으로 배출된 영양소 조성분을 제한 것이다. 소화율에 있어서는 각 처리간 차이가 나타나지 않았다(Table 18). 본 연구의 결과만으로는 해석하기 어려우나, 자료를 처리하는 과정이나 영양소 함량 분석시 오차가 생긴 것으로 판단되며, 차기년도에 이에 대한 보완 시험이 필요할 것으로 사료된다.

Table 19는 fucoidan 및 해조류를 첨가한 사료 섭취 시 육계 중추에서 생체내 아미노산 이용성을 평가한 결과이다. 본 시험의 결과만으로 비추어 보았을 때, fucoidan이나 negative control 및 positive control 모두가 같은 경향을 보이고 있다. 본 시험의 결과만으로 비추어 보았을 때, 아미노산 소화율은 영양소 소화율과 마찬가지로 어떠한 요인의

오차에 의한 것으로 여겨진다. 따라서 이에 대한 효과를 본 연구의 결과만으로 단정하기는 어려운 것이기에, 다른 시험을 통하여 이를 입증할 필요가 있다고 생각한다.

4-2-4. 장내 미생물 변화

육계 옹추 400수를 사육하면서 대조구, 항생제처리구, fucoidan 0.5% 및 1.5%처리구, Silver light 0.5% 및 1.5%처리구, 미역처리구 및 Kelp meal처리구에 대해 1, 3, 6주차에 장내 미생물 수를 8처리구 3반복 개체를 희생시켜 무균적으로 각 장기를 적출하여, 8,000rpm에서 5분간 homogenization한 후, 총균수(Total bacterial count), 젖산균수(Lactic acid bacterial count) 및 대장균수(Coliform bacterial count)를 측정하였다. 측정한 결과 총균수는 처리구별로 커다란 차이를 나타내지 않았으나, 몇몇 처리구에서 초기 균수가 적은 것은 초기 장내 균총의 정착에 대한 개체차이로 사육 3주령부터는 거의 차이를 나타내지 않은 것으로 사료되어 해조류의 첨가에 따른 총균수의 변화는 없는 것으로 판단된다. 젖산균수의 경우도 초기(1주차) 젖산균의 정착에는 차이가 나타나 특히 해조류 즉, fucoidan, 미역, Kelp meal등의 첨가 시, 초기 정착이 다소 지연되는 경향을 나타내었으나 생후 3주령이 지나면서 장내 젖산균총 역시 거의 차이가 없음이 확인되어 해조류 부산물 및 해조류 추출물인 fucoidan처리 시, 육계 장내 균총의 정착에는 커다란 문제가 없음이 확인되었다. 또한 대장균수는 공히 커다란 차이를 나타내지 않았다. 또한 사육 6주후 Salmonella 생균수도 측정하였으나, 청정환경에서 사육되어 Salmonella에 감염된 육계는 발견되지 않았다.

Table 18 Effect of feed additives on Digestivity of broiler chick

	Treatments					
	-C	+C	FF	SS	M	K
Crude protein(%)	99.59±0.08	99.60±0.04	99.63±0.05	99.47±0.15	99.54±0.12	99.55±0.11
Crude fat(%)	99.73±0.05	99.69±0.02	99.84±0.02	99.66±0.14	99.82±0.02	99.83±0.04
Crude ash(%)	99.58±0.10	99.48±0.07	99.50±0.09	99.32±0.21	99.45±0.20	99.38±0.15

Table 19 Effect of feed additives on Amino acid digestivity of broiler chick

Item	Treatments					
	-C	+C	FF	SS	M	K
Asp	98.69±0.09	98.72±0.01	98.96±0.01	98.88±0.15	98.51±0.09	98.81±0.07
Glu	99.28±0.08	99.30±0.07	99.46±0.03	99.44±0.05	99.18±0.06	99.37±0.02
Ser	98.77±0.04	98.76±0.05	99.06±0.08	99.06±0.17	99.10±0.01	99.81±0.18
Gly	98.67±0.04	98.59±0.20	98.36±0.27	98.46±0.30	99.00±0.06	98.69±0.51
His	98.60±0.10	98.46±0.49	98.64±0.21	98.79±0.14	98.86±0.07	98.31±0.27
Arg	99.03±0.05	98.85±0.09	99.21±0.08	99.13±0.06	99.22±0.05	99.20±0.04
Thr	98.50±0.44	98.79±0.47	99.17±0.09	99.14±0.05	92.41±0.20	99.08±0.08
Ala	98.98±0.14	99.14±0.13	98.88±0.02	99.08±0.08	99.29±0.04	99.02±0.03
Pro	99.24±0.45	99.31±0.45	98.97±0.05	99.02±0.08	99.26±0.02	99.01±0.04
Tyr	98.96±0.23	98.74±0.07	99.25±0.11	99.03±0.26	99.12±0.09	99.24±0.10
Val	98.82±0.13	98.90±0.08	98.98±0.11	99.00±0.04	99.19±0.12	99.06±0.05
Met	99.51±0.11	99.01±0.13	99.63±0.03	99.61±0.06	99.73±0.03	99.62±0.02
Cys	98.68±0.65	98.82±0.39	97.96±0.03	96.82±0.26	98.44±0.05	99.54±0.01
Ile	98.93±0.07	98.94±0.10	98.29±0.23	98.34±0.14	98.18±0.03	96.94±0.32
Leu	99.11±0.07	99.07±0.11	98.42±0.06	98.60±0.12	98.32±0.03	97.48±0.21
Phe	99.17±0.07	99.11±0.05	99.12±0.16	99.24±0.08	99.34±0.05	99.30±0.09
Lys	99.04±0.02	98.5±0.01	98.93±0.22	98.84±0.29	99.07±0.19	99.00±0.18

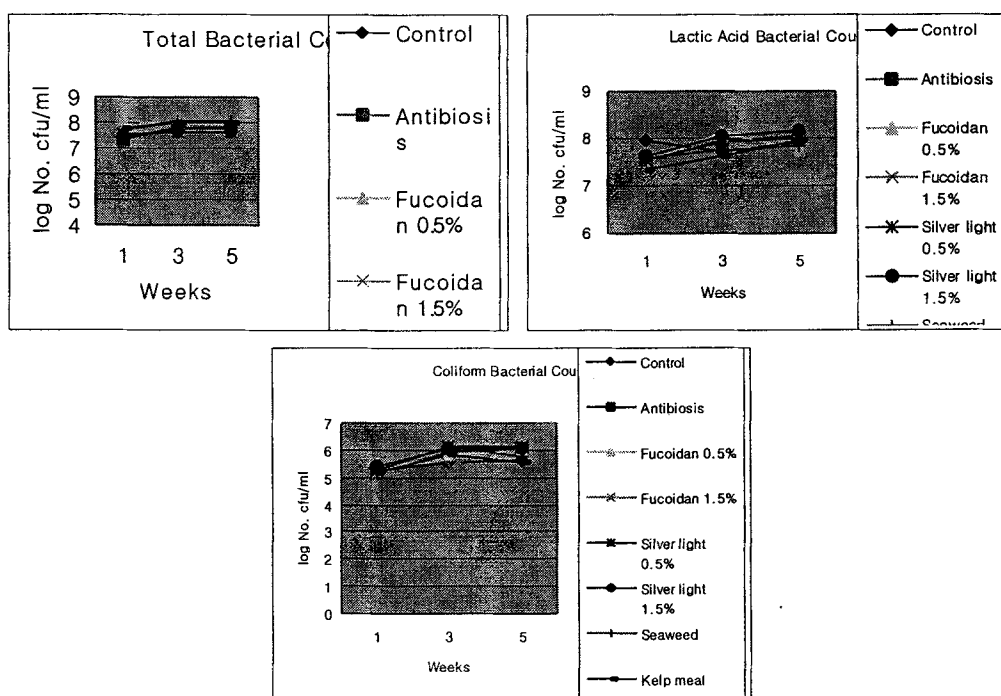


Figure 10. Changes of viable cell count of Intestinal bacteria of broiler chick

4-2-5. 육계 소장 내 villi 측정

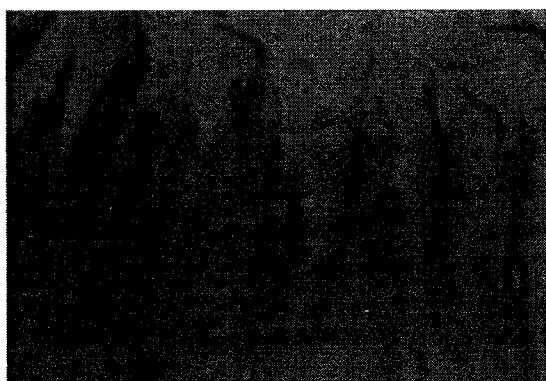
소화율과 관련이 있을 것으로 사료되는 소장 내 villi의 길이는 사육 1, 3, 6주차에 각 조직을 적출하여 일반형태 관찰을 위해서는 10 μ m두께로 절편을 내어 HE염색을 하여 Micrometer로 길이를 측정하였고, 입체적 형태 변화를 관찰하기 위하여서는 3mm \times 3mm \times 3mm각으로 절편하여 동결할당 후, 건조 및 탈수 처리 후, 각 조직을 주사전자현미경(Hitachi S-3500N)으로 가속전압 20KV에서 측정하였다. 측정된 결과는 Table 20과 같다. 측정된 결과를 보면 fucoidan 처리구 및 미역 처리구에서만 그 길이가 유의적으로 짧게 나타났으며, Silver light와 Kelp meal 처리구에서는 대조구 및 항생제 처리구에 비해 다소 길어지는 경향이 있는 것으로 확인되었으나, 소화율과 관련한 정확한 데이터의 제출을 위해서는 보다 많은 수량의 시료와 관찰이 필요하여 3년차 연구에서 추가 실험을 할 필요가 있는 것으로 판단된다.

Table 20. Changes of Intestinal villi height of broiler chick

Weeks	Treatment							
	Control	Antibiosis	Fucoidan0.5%	Fucoidan1.5%	Silver light0.5%	Silver light1.5%	Seaweed	Kelp meal
1	200 ^e	190 ^f	230 ^e	260 ^a	220 ^d	220 ^d	250 ^b	230 ^e
3	450 \pm 26.46 ^a	426.67 \pm 20.82 ^{ab}	400 \pm 10.00 ^b	406.67 \pm 32.15 ^b	400 \pm 10.00 ^b	456.67 \pm 30.55 ^a	383.34 \pm 11.55 ^b	426.67 \pm 25.17 ^{ab}
6	520 \pm 10.00 ^{bcd}	526.67 \pm 25.17 ^{bc}	506.67 \pm 5.77 ^{cd}	500 \pm 26.46 ^{cd}	540 \pm 26.46 ^{abc}	566.67 \pm 20.82 ^a	483.34 \pm 20.82 ^d	556.67 \pm 23.09 ^{ab}



Control



Fucoidan

Figure 11. Photographs of Intestinal villi of broiler chick

○ 육계에 *Salmonella* 투여 실험(항균효과확인)

생후 6주간의 사육이 지난 육계에 *Salmonella typhimurium* 을 6.6085×10^6 cfu/ml 수준으로 경구투여 후, 10일 후의 변화를 검사한 결과, Table 20과 Figure 12에서 보는 바와 같이 맹장 내 *Salmonella* 생균수는 대조구는 변화가 거의 없었던 반면, 항생제, fucoidan, silver light, 미역 및 kelp meal 처리구에서 낮게 나타나 *Salmonella*에 대한 항균효과가 있음이 확인되었으며, 특히 fucoidan과 미역처리구에서 현저히 감소함이 확인되어 해조류 부산물 및 해조류 추출물인 fucoidan을 사료에 첨가 시, 육계 장내에서 병원성미생물인 *Salmonella*에 대한 항균효과가 크다는 것이 확인되어 해조류 추출물인 fucoidan을 육계 사료에 첨가할 경우 천연항생제로서의 기능이 기대된다.

Table 21. Changes of viable cell count of *S. typhimurium* in broiler chick

(log No. cfu/ml)

Day	Treatment					
	Control	Antibiosis	Fucoidan 15%	Silver light 15%	Seaweed	Kelp meal
0	6.6085	6.6085	6.6085	6.6085	6.6085	6.6085
10	6.16±0 ^a	5.36±1.14 ^a	4.92±1.10 ^a	5.63±0.93	4.61±0	4.92±1.10

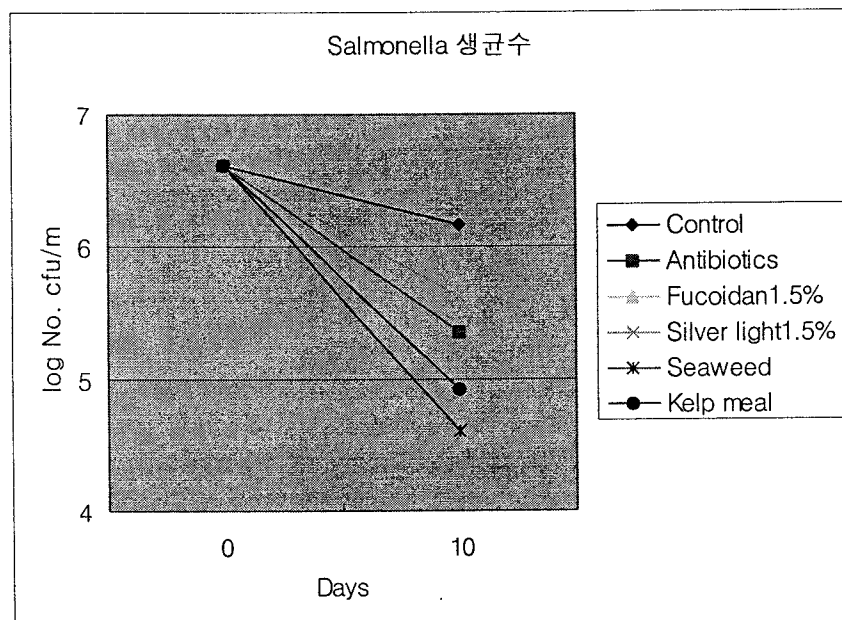


Figure 12. Viable cell count of *S. typhimurium* in broiler chick

5. 해조류 유래 열수추출 fucoidan의 효능평가

5-1. 서론

우리는 2차년도 연구에서 해조류, 즉 미역과 툇에서 fucoidan을 추출하여 그 수율 및 제조원가를 고려하여 보았다. 미역이나 툇으로부터 추출할 수 있는 fucoidan의 양은 둘 모두 비슷한 수율을 보였으나, 이를 추출하기 위한 유기용매의 비용이 너무 많이 소요되어 사료첨가제로서는 이용가치가 없다는 결론을 얻었다. 따라서 3차년도에서는 저비용으로 추출할 수 있는 방법을 고안하게 되었다. 즉 열수추출로서 비교적 낮은 온도에서 해조류의 분해를 유도함으로써 목적하는 물질을 추출할 수 있도록 하였다. 즉 해조류를 가능한 입자도가 작게 분쇄한 후 물과 함께 용기에 넣어 60℃가 되도록 가열하여 1시간 정도 유지시키면 분해가 완료되어 추출이 가능하게 된다. 이 후 적당량을 취하여 원심분리를 하면 물속에 fucoidan을 비롯한 여러 수용성 물질이 녹아나오게 되는데 이를 건조하면 crude fucoidan이 된다. 그러나 우리는 한 단계 더 나아가서 이와 같이 물에 용해된 crude fucoidan을 건조시키는 비용을 절약하기 위하여 다공성 illite에 crude fucoidan을 흡착하여 이용하는 방안도 동시에 수행하였다. 한편, 이들 fucoidan은 해조류를 분해하였을 때 분해물내 함유되어 있기 때문에 해조류의 열분해물을 그대로 건조시킨 것에 대하여도 가능성을 검토하고자 하였다. 이와 같은 일련의 시도는 위에서 언급한 바와 같이 fucoidan이 아무리 효능이 우수하다고 하여도 농가에 사료첨가제로 공급하기 위하여는 가격이 저렴해야 하기 때문에 최대한 저비용으로 fucoidan을 추출할 수 있는 방안에 대하여 검토하고자 하였다. 따라서 본 연구에서는 fucoidan의 추출 조건의 확립 및 추출한 fucoidan을 브로일러에 첨가 급여하여 성장능력, 생리학적 장기에 대한 영향, 장내 villus의 형성 및 영양소 소화율에 미치는 영향을 검토하여 그 효능을 검증하고자 하였다.

5-2. 재료 및 방법

5-2-1. 실험동물의 사육 및 실험설계

본 시험은 fucoidan의 기능성 첨가제 효과를 관찰하기 위하여 급여한 사료의 영양성분은 Table 22에 제시한 바와 같이 전, 후기 구분 없이 사료 단백질 수준 20%, 대사에너지 수준

Table 22. Formula and chemical composition of the basal diet

Ingredients	Amount
	%
Corn	55.21
Wheat bran	10.0
Soybean oil meal(CP 45%)	26.23
Corn gluten meal	2.0
Fish meal	1.0
Animal fat	2.66
Limestone	0.19
Tricalciumphosphate	1.69
Salt	0.2
Methionine	0.37
Lysine-HCl	0.18
Vitamin premix	0.15
Mineral premix	0.12
Total	100.00
Calculated composition	
Moisture(%)	11.24
Crude protein(%)	20.0
Crude fat(%)	5.58
Crude ash(%)	4.78
Ca(%)	0.80
P(%)	0.65
ME(Cal/kg)	3,100

3,100kcal/kg로 하였다. 본 연구를 수행함에 있어 시험구는 negative 대조구로 항생제를 첨가하지 않은 -Control(C), positive 대조구로서 항생제를 첨가한 +Control구(+C), Fucoidan 0.5% 첨가구(F), Fucoidan 추출액에 illite를 흡착, 건조하여 2% 첨가한 구(FI), 열분해 미역을 그대로 건조하여 3% 첨가한 구(FE) 및 건조 분쇄미역 3% 첨가구(M)로 나누어 총 6처리 3반복, 반복당 15수씩 총 브로일러 270수를 이용하여 시험을 수행하였다. 본 시험을 수행함에 있어 사양관리는 실험실 관행에 준하여 실시하였으며, 체중과 사료섭취량은 매주 측정하였다.

5-2-2. 조사항목 및 조사방법

가) 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율

시험동물은 시험기간 동안 한 반복 당 가는 철망으로 칸막이(3m×2.5m)를 한 하우스 평사에 수용하여 물과 사료를 자유섭취토록 하였으며, 사료섭취량은 사료급여량에서 잔량을 제하여 구하였고, 체중 측정은 3주와 6주차에 측정 4 시간 동안 절식시킨 후 측정하여 증체량을 구하였다. 사료요구율은 시험 전 기간 중의 사료섭취량을 총 증체량으로 나누어 구하였다.

나) 내장무게 및 villi 길이 측정

사양시험 3주와 6주차 종료 시, 4시간 절식 시킨 후 각 시험구 중 평균체중에 가까운 개체를 5수씩 선발하여 근위, 소장 및 맹장의 중량을 측정하여 개체별로 체중(1,000g)비례 중량 및 길이를 환산하여 구하였다. 희생된 공시병아리를 개복하여 소장의 일부를 적출하였고 이를 10% 포르말린에 고정하여 광학 현미경 관찰에 사용하였다. 광학현미경 관찰용 시료는 통상적인 방법으로 급속동결하여 embedding 한 후, microtome(Bright instrument Co LTd, Clinicut 60 cryostat, England)을 사용하여 8 μ m 내외의 절편을 얻어 hematoxylin-eosin(H-E)염색을 시행하였다. Villi의 길이는 광학현미경에 micrometer를 장착하여 처리구 당 7개 부분 이상을 관찰하여 평균치를 구하였다.

다) 장내 미생물 검사

공시병아리는 3주차와 6주차에 각 처리당 5수씩 희생시켜 무균적으로 개복하였고, 맹장을 적출하였으며, 이를 8,000 rpm으로 5분간 균질화 (JANKE & KUNKEL IKA-Labortechnik, Ultra-turrax T 25, Germany)한 후, 총균수(total bacterial count, TBC), 젖산균수(lactic acid bacterial count, LAB), 대장균군수(coliform bacterial count, CBC)와 *Salmonella typhimurium*의 생균수(viable cell count)를 측정하였다. *Salmonella typhimurium*의 생균수는 희석된 시료를 selenite cysteine broth에서 38℃에 24시간 배양하여 *Salmonella shigella* agar 평판배지에 도말, 38℃에서 24시간 배양 후 MPN 수치를 구하여 환산하였으며, 총균수(total bacterial count, TBC)는 희석된 시료를 tryptic soy agar에서 38℃에 24시간 배양 후 colony 수를 측정하여 구하였고, 젖산균수(Lactic acid bacterial count, LAB)는 희석된 시료를 MRS agar에 도말하여 38℃에 48시간 배양한 후 측정하였다. 대장균수(coliform bacterial count)는 희석된 시료를 Violet red bile agar에서 38℃에 24시간 배양 후 측정하였다.

라) 음모조직의 전자현미경 관찰

희생된 각 소장(맹장 위 5cm 부위)을 적출하여 이를 2.5% glutaraldehyde 용액에 2시간 전고정한 후, 0.2M phosphate buffer(pH 7.4)로 세척한 다음 2N NaOH 용액에 침적하였다. 3~7일 후 2% osmium tetroxide로 2시간 후고정하여 에탄올 계열에서 탈수하였다. 이를 *tert*-Butyl alcohol로 치환한 후 동결건조 하였으며, Au-Pb로 코팅하여 가속전압 20kV에서 주사전자현미경(Hitachi S-3500N, JAPAN)으로 Villi의 형태를 관찰하였다.

사) 소화시험 및 영양소 이용률 측정

영양소 이용률을 측정하기 위하여 사양시험에 이용했던 실험동물을 2주간 계속 급여하여 8주간 사양한 다음 소화시험 동물로 이용하였다. 소화시험을 위하여 측정 전 충분한 예비사양 기간을 두었으며, 예비사양 5일째부터 24시간 분을 채취하여 시료로 이용하였다. 분판의 우모와 비듬은 완전 제거하였으며 분은 5% HCl을 처리하여 dry oven에서 60°C로 48시간 건조하여 칭량하여 건물 배설량을 구하였고 풍건상태로 환원시켜 각 영양소 함량을 구하여 이용률을 측정하였다. 물은 전 시험기간 동안 자유섭취 시켰다. 시험구는 총 6구로 처리당 3수, 반복 당 1수씩 총 18수를 공시하였다. 실험에서 얻어진 시료는 AOAC(1990)에 의하여 분석하였으며, 에너지는 bomb-calorimeter를 이용하여 측정하였다. 영양소의 소화율 계산은 다음의 식에 의하여 구하였다.

$$\text{소화율(\%)} = \frac{\text{섭취한 영양소 총량} - (\text{분중 영양소 총량} - \text{내생 영양소})}{\text{섭취한 영양소 총량}} \times 100$$

5-2-3. 결과 및 고찰

가) 사양성적

본 시험은 저비용으로 추출한 fucoidan의 기능성, 즉 소화 능력에 커다란 영향을 갖고 있는 villi의 형태학적 관찰 및 장내 미생물에 대한 항균효과와 영양소의 소화이용성에 관하여 검토하고자 하였다. 브로일러 사료에 여러 가지 형태의 fucoidan을 첨가하여 급여한 사양성적은 Table 23와 같다.

Table 23. Effects of various fucoidan sources on growth performance of broiler chicks

Treatment	Initial body weight (g)	3 wks body weight (g)	6 wks body weight (g)	Gain (g)	Feed intake (g)	Feed/Gain
- C	39.8±0.2	700.0±33.7	1719.3±93.4	1679.5	5206.4	3.10
+ C	39.6±0.7	721.0±21.6	1746.3±68.9	1706.7	4983.5	2.92
F	39.0±1.5	725.1±44.5	1819.9±49.8	1780.9	5164.6	2.90
FI	39.8±0.8	720.4±43.9	1785.4±53.6	1745.6	5114.6	2.93
FE	40.1±0.3	685.3±22.0	1707.7±64.2	1667.6	5136.2	3.08
M	39.0±0.9	682.9±56.9	1703.0±52.6	1664.0	5091.8	3.06

초기 3주간의 증체량을 보면 항생제를 첨가하지 않은 -C 구(이하 대조구)에 비하여 항생제를 첨가한 +C 구 및 fucoidan을 첨가한 F 구와 illite에 fucoidan을 흡착시킨 FI 구의 증체량이 유의적으로 높게 나타난 반면 미역분말을 가수분해한 FE 구와 미역분말을 첨가한 M 구는 대조구에 비하여 낮은 경향을 보였다. 6주간의 증체량에 있어서도 F 구와 FI 구가 가장 높아 3주간의 증체량과 동일한 결과를 보여주었다. 결과적으로 총 증체량은 대조구에 비하여 C 구, F 구 및 FI 구가 높았으며, FE 및 M 구는 비교적 낮은 경향을 나타냈다. 사료섭취량은 대조구에 비하여 C 구만이 낮은 경향을 보여 주었으며, 그 이외의 시험구에서는 대조구의 섭취량과 비슷한 경향을 보여 주었다. 결과적으로 사료효율은 대조구의 3.10에 비하여 C 구의 2.92, F 구의 2.90 및 FI 구의 2.93만이 우수한 효율을 보였으며, FE 구의 3.08과 M 구의 3.06은 비교적 떨어지는 것으로 나타났다.

나) 내장 무게 및 villi 길이

여러 형태의 fucoidan을 3주간 섭취한 브로일러의 소장무게, 소장 villi 길이 및 맹장무게와 근위무게를 측정된 결과는 Table 24와 같다. 가능한 체중에 영향이 적은 장기의 중량을 측정하기 위하여 가능한 동일한 체중의 개체를 선발하여 이용하였으며, 각 중량도 1000g 체중을 기준으로 환산하여 제시하였다. 소장무게는 대조구가 76.9g으로 가장 낮았으며, FE 구가 91.9g로 가장 높게 나타났다. 그 외의 다른 처리구는 81g에서 87g로 거의 비슷한 수준이었다. Villi 길이는 대조구의 395 μ m에 비하여 +C 구의 450.0 μ m, F 구의 469.5 μ m 및 FI 구의 509 μ m이 유의적(P<0.05)으로 길었으나, FE 구와 M 구는 각각 404.2 μ m 및 369.1 μ m으로 차이(P>0.05)가 나타나지 않았다. 맹장 무게는 대조구에 비하여 +C 및 F 구는 비슷한 반면 FI 구, FE 구 및 M 구는 비교적 높은 경향을 보였으나 유의적인 차

이는 나타나지 않았다. 한편, 근위의 무게는 대조구인 대조구에 비하여 FE 구가 유의적 ($P<0.05$)으로 높았으며, 그 이외의 처리구에서는 유의적인 차이($P>0.05$)가 없이 높은 경향을 보였다.

Table 24. Effects of various fucoidan sources on organic weight of 3 wks old broiler chicks

Treatment	Body weight (g)	Intestine weight (g/kg BW)	Villus length (μ m)	Cecum weight (g/kg BW)	Crop weight (g/kg BW)
-C	683.5 \pm 12.0 ^{ns}	76.9 \pm 4.0 ^{ns}	395.7 \pm 21.9 ^b	7.65 \pm 1.29 ^{ns}	41.7 \pm 1.3 ^b
+C	687.6 \pm 13.2	83.1 \pm 3.0	450.0 \pm 26.5 ^{ab}	7.77 \pm 1.01	44.5 \pm 1.5 ^b
F	694.2 \pm 10.7	81.5 \pm 6.7	469.5 \pm 29.8 ^{ab}	7.68 \pm 0.47	49.7 \pm 2.2 ^{ab}
FI	691.9 \pm 8.7	87.3 \pm 6.4	509.4 \pm 30.2 ^a	8.96 \pm 0.27	46.6 \pm 5.1 ^{ab}
FE	687.1 \pm 6.7	91.9 \pm 3.2	404.2 \pm 29.9 ^b	10.61 \pm 2.49	55.1 \pm 6.7 ^a
M	689.6 \pm 9.8	84.1 \pm 12.4	369.1 \pm 19.7 ^b	9.64 \pm 1.45	51.0 \pm 4.2 ^{ab}

Table 25. Effects of various fucoidan sources on organic weight of 6 wks old broiler chicks

Treatment	Body weight (g)	Intestine weight (g/kg BW)	Villus length (μ m)	Cecum weight (g/kg BW)	Crop weight (g/kg BW)
- C	1763.3 \pm 20.6 ^{ns}	72.2 \pm 2.0 ^{ab}	530.8 \pm 52.9 ^b	6.68 \pm 0.83 ^{ns}	36.9 \pm 3.5 ^{ns}
+ C	1750.0 \pm 37.4	75.4 \pm 3.5 ^{ab}	552.5 \pm 23.2 ^{ab}	8.05 \pm 2.83	36.6 \pm 2.9
F	1720.0 \pm 32.7	75.9 \pm 0.8 ^{ab}	558.3 \pm 30.6 ^{ab}	7.42 \pm 2.07	39.1 \pm 2.8
FI	1753.3 \pm 24.9	77.9 \pm 1.1 ^a	578.5 \pm 31.2 ^a	7.53 \pm 1.92	35.0 \pm 1.0
FE	1731.5 \pm 16.3	75.3 \pm 4.0 ^{ab}	536.7 \pm 23.1 ^b	9.50 \pm 2.07	38.3 \pm 7.9
M	1733.9 \pm 37.7	64.7 \pm 4.5 ^b	506.7 \pm 25.2 ^c	8.41 \pm 1.14	39.9 \pm 0.5

여러 형태의 fucoidan을 6주간 급여한 브로일러의 장기중량 및 villi 길이를 측정된 결과는 Table 25와 같다. 소장중량은 M 구가 64.7g으로 가장 가벼운 반면 FI 구가 77.9g으로 가장 무거웠으며, 그 이외의 처리구는 72g~75g으로 처리간 차이가 없이 비슷한 경향을 나타냈다. Villi 길이는 대조구에 비하여 FI 구만이 유의적으로 높게 나타났으며, +C 구와 F 구는 유의적인 차이는 없었으나 높은 경향을 보여 주었다. 한편 FE 구의 villi 길이는 대조구와 비교하여 비슷하였으나, M 구는 오히려 유의적($P<0.05$)으로 낮게 나타났

다. 맹장중량은 FE 구와 M 구가 다른 구와 비교하였을 때 비교적 높았으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 근위중량도 맹장중량과 비슷한 경향을 보여주었다.

다) 장내미생물

본 시험에서는 시험 6주간 3주령 및 6주령의 육계로부터 처리구별 3반복 개체를 희생시켜 무균적으로 맹장을 적출하여 8,000rpm에서 5분간 homogenization시킨 후, 총균수(total bacterial count, TBC), 젖산균수(lactic acid bacterial count, LAB) 및 대장균수(coliform bacterial count, CBC)를 측정하였다. 측정결과 총균수의 경우, 대조구(-C)에 비해 전 처리구에서 높은 수치를 나타내었다. 젖산균수 및 대장균수는 대조구에 비해 전 처리구에서 다소 낮은 경향을 나타내었으나, 그 차이가 특이적인 균총의 변화를 의미할 정도의 유의적($p < 0.05$)차이는 관찰되지 않았다.

또한 Salmonella의 생균수도 측정하였으나, 전 처리구에서 발견되지 않았다.

Table 26. Effects of various fucoidan sources on microbial count in broiler's cecum(log No. cfu/mL)

Treatment	3 wks			6 wks		
	TBC	LAB	CBC	TBC	LAB	CBC
- C	7.00±0.65	7.40±0.12	6.97±0.10	7.04±0.22	7.34±0.58	6.75±1.45
+ C	8.28±0.37	6.68±0.36	5.14±0.14	8.30±0.60	6.61±0.20	6.51±0.80
F	8.60±0.30	6.91±0.03	5.64±1.00	8.18±0.44	6.90±0.53	6.21±0.37
FI	8.82±0.30	6.74±0.13	5.95±0.35	7.91±0.85	6.24±1.56	6.32±1.24
FE	7.64±0.28	8.28±0.72	7.03±0.14	7.33±0.73	7.89±1.37	6.86±0.58
M	7.67±1.16	8.60±0.47	6.49±0.25	7.52±0.34	7.68±0.42	6.78±0.44

TBC : total bacterial count

LAB : lactic acid bacterial count

CBC : coliform bacterial count

본 시험의 조건하에서 3주 및 6주간 사료를 섭취한 후 소장의 회장부분의 villi 부분에 대한 전자현미경적 관찰(Figure 13)과 염색법에 의한 광학현미경적 관찰(Figure 14) 결과이다. 그림에서 보는 바와 같이 fucoidan을 첨가 급여한 시험구와 illie에 fucoidan을 흡착시킨 Fi 구의 장내 villi가 다른 처리구에 비하여 현저하게 발달된 것을 볼 수 있다. 이와 같은 결과는 다음에 오는 사료의 영양소 소화율과 매우 관계가 깊을 것으로 예측된다.

라) 소장의 삼차원적 구조

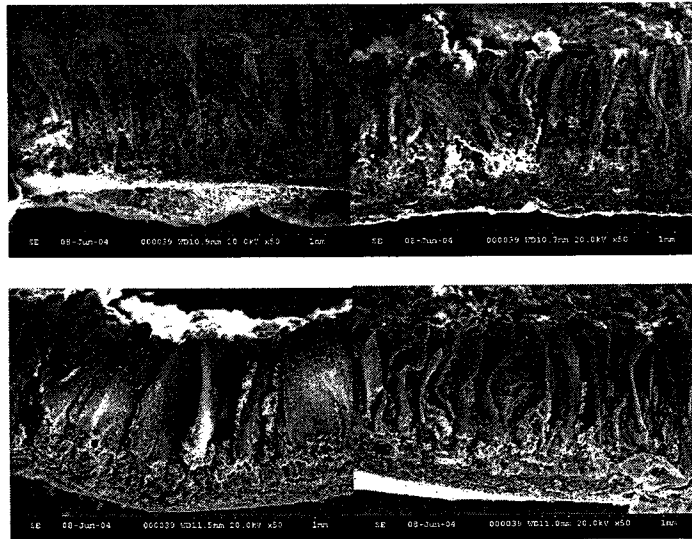


Figure 13. Scanning electron micrographs of intestinal villi prepared from broilers

-C : Non-charenged control, +C : Antibiotics
 F : Fucoidan, U : *Undaria pinnatifida*

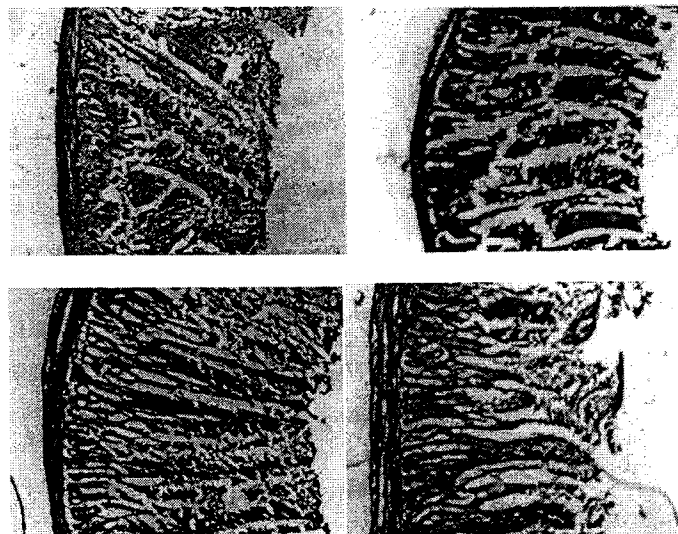


Figure 14. Micrographs of intestinal villi prepared from broilers (HE stain)

-C : Non-charenged control, +C : Antibiotics
 F : Fucoidan, U : *Undaria pinnatifida*

마) 영양소 이용율

사료의 영양소 소화율은 6주 사양시험이 끝난 후 동일한 사료를 2주간 연장급여한 후 3주차에 소화시험을 수행하였다. 소화시험을 수행하여 얻은 일반성분에 대한 영양소 소화율 결과는 Table 26과 같다. 건물소화율은 대조구에 비하여 +C 구, F 구 및 FI 구가 높은 경향을 보였으며, M 구는 오히려 낮은 경향을 보였다. 에너지 이용율은 대조구의 73.41%에 비하여 +C 구, F 구 및 FI 구가 각각 75.17%, 75.63%, 및 75.38%로 유의적으로 높았으나, FE 구와 M 구는 비슷한 경향이였다. 단백질 소화율은 대조구에 비하여 +C 구, F 구 및 FI 구가 유의적으로 높았으며, FE 구와 M 구는 비슷한 경향이였다. 반면, 지방소화율은 대조구와 +C 구에 비하여 다른 시험구 모두가 유의적으로 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 위에서도 언급한 바 있듯이 fucoidan을 첨가한 사료를 섭취함으로써 장내 villi가 발달되었고, 이는 결과적으로 본 소화시험의 결과와 같이 영양소의 이용율을 높여주는 효과를 얻을 수 있었다.

Table 27. Effects of various fucoidan sources on nutrient digestibility of experimental diets in broiler chicks

Treatment	DM(%)	Energy(%)	CP(%)	EE(%)
- C	73.01±0.38 ^{ab}	73.41±0.55 ^{ab}	89.99±1.84 ^b	59.73±3.93 ^b
+ C	75.27±0.25 ^a	75.17±0.05 ^a	93.29±0.37 ^a	66.55±0.40 ^b
F	75.10±0.07 ^a	75.63±0.89 ^a	93.05±0.32 ^a	78.80±3.34 ^a
FI	75.31±0.23 ^a	75.38±0.03 ^a	92.52±0.96 ^a	78.12±1.91 ^a
FE	72.15±0.05 ^{ab}	72.99±0.15 ^{ab}	91.22±0.52 ^{ab}	76.15±1.84 ^a
M	69.10±0.17 ^b	71.07±0.33 ^b	89.62±0.03 ^b	78.27±4.49 ^a

따라서 본 연구의 결과를 종합하여 볼 때, fucoidan이 villi의 성장을 촉진시키는 기능을 갖고 있다는 것이 입증되었으며, 또한 성장된 villi는 각 영양소의 흡수를 촉진하는 기능을 갖고 있다는 것이 밝혀졌다. 한편 fucoidan의 추출비용을 절약하기 위한 열수수출법이 본 시험을 통하여 입증되었을 뿐만 아니라, 건조비용을 절약하기 위한 illite를 흡착, 건조시키는 방법도 유효하다는 것이 입증되었다.

제 3 절 해조류 가공 폐자원의 비료화

박 재 인 (강원대학교 축산학과)

1. 서론

해조류의 생산은 1970년 이전 자연산에 의존하여 그 생산량이 매우 적었으나 1970년대 이후 양식업의 발달로 인해 해조류의 생산량이 급격히 증가하였다. 해조류에는 heparin과 같은 항 혈액응고 작용과 항 암 작용을 하는 생리적 특성이 비슷한 생리활성 물질인 fucoidan을 다량 함유하고 있다고 보고 되면서 해조류를 이용한 식품과 의약품 시장이 거대화 되었다. 하지만, 생리활성 물질인 fucoidan 추출 후에 그 처리가 원활히 일어나지 않아 환경적 문제로 대두되고 있다.

해조류에서 생리활성 물질 추출 후의 그 부산물들에는 대부분 유기물과 질소 그리고 소량의 fucoidan이 잔존해 있다. Fucoidan은 식물의 성장과 발육을 촉진시키는 작용을 하여 비료원으로써 그 가치가 굉장히 높고 유기물을 다량 함유하고 있어 비료의 탄소원 역할을 할 수 있을 것이라 기대된다. 또한, 톳 부산물은 기존의 부형재(톱밥) 보다 질소의 함량이 높아 퇴비로 사용 시 식물의 광합성과 같은 기초 대사 작용은 물론 단백질 공급 원으로서의 역할을 할 수 있을 것이다. 또한, 토양 내 질소는 기초 대사작용에 사용되면서 소진되어 새로운 비료의 공급이 이루어지지 않을 경우 토양 자체가 황폐화 될 수 있어 지속적인 공급이 꼭 필요한 실정으로 발생이 증가하는 톳 부산물을 비료원으로 친환경적 순환이 일어날 수 있을 것이라 판단된다.

따라서, 해조류 부산물로부터 fucoidan과 같은 기능성 성분을 추출하고 남은 폐자원의 100% 활용을 위한 연구로서 이들 폐자원의 비료화 가능성에 대해 연구하였다.

시험은 이들 폐자원 가지고 있는 성상을 확인하고, 함유하고 있는 유기물들의 성분을 분석함은 물론, 이들이 비료화 되기 위한 최소한의 조건인 부숙도에 대해 연구하고, 그 결과를 토대로 적정 배합 수준을 결정하여 유용한 폐자원의 효과적인 이용 기술을 확립하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 시험 방법

시험은 실험실 규모로 진행되었으며 약 20일 정도 부숙하였다. 또한, 부숙 과정 시 1일 1-2회의 간헐적인 교반을 통해 공기를 주입하면서 퇴비화를 진행하였다. 기타 자세한 시험 방법은 결과에 나타냈다.

나. 시험 재료

Table 1. Characteristic of material

	Moisture(%)	TC(%)	TKN(%)	NaCl(%)	pH	EC(mS/cm)
Byproduct	59.60	26.46	0.45	10.54	3.24	19.50
Saw dust	26.58	40.07	0.32	-	7.66	0.20
Swine slurry	93.88	3.94	0.32	-	7.62	8.80

Table 1은 실험재료의 이화학적 성상으로 톳 부산물의 경우 톳밥에 비해 TC 함량이 낮은 반면 TKN 함량은 0.45%로 높게 나타났으며, pH가 3.24로 매우 낮았고 전도도는 19.50 mS/cm로 매우 높은 것으로 확인 되었다.

다. 분석방법

수분, NaCl 및 유기물 함량은 비료분석법에 준하여 분석하였으며, TKN은 kjeltec auto sampler system 1035 analyzer, PO43-는 자동수질분석기, 온도는 TLOG자동온도기록계(카보랩), pH는 pH meter MP 220(Mettler Toledo), E.C는 Multi-1230(Orion)으로 측정하였다.

3. 결과

실험1. 해조류(톳) 가공 부산물의 유기 비료화 가능성에 관한 연구

1) 톳 부산물의 물성 조사

Table 2. Characteristics of materials

	Moisture (%)	pH	NH ₄ -N(%)	TC (%)	PO ₄ ³⁻ (mg/g)
Byproduct	56	2.87	-	-	-
Dried byproduct	-	3.08	0.213	50.2 %	1.4
Slurry (swine manure)	97	8.56	0.247	3.74 %	349
Saw dust	6	-	-	-	-

Table 2는 톳 부산물만의 부숙화가 가능한지를 파악하기 위하여 물성을 분석한 결과로 톳 부산물의 pH는 평균 2.87로 강산성을 나타내었으며 수분은 56%을 나타냈다. 이같이 톳 부산물이 강산성을 띠고 있음에 따라 톳 부산물만을 이용한 유기비료화가 불가능함을 알 수 있었으며, 효율적인 부숙화를 위해서는 pH 조절제 등을 사용하여 산도를 중성 부근으로 올려야 함을 알 수 있었다. 그러나 NaOH등을 이용하여 pH를 6.45까지 상승시키려면 톳 부산물 1kg 당 NaOH가 9.6g이 소요되고 또한 pH 6.7의 수돗물을 이용하여 세척함에 의해 acidity를 감소시켜 pH를 5.5로 상승시키는데도 무려 약 90배의 희석이 필요한 것으로 나타남에 따라 톳 부산물의 pH를 조절하여 부숙시키는 방법은 막대한 경비와 노력이 소요됨을 알 수 있었다.

또한 비록 톳만을 이용한 부숙화가 가능하다 할지라도 톳의 물성상 질소, 인등의 비료원이 적기 때문에 고품질의 유기비료로 재활용되기에는 문제가 있을 것으로 판단되었다. 따라서 톳 부산물을 부형재로 사용하면서 아무런 pH 조절제를 이용하지 않고 부숙시키는 방법이 효율적일 것으로 판단된다. 또한 톳의 경우에는 유기물은 풍부하나 비료원인 질소와 인 성분이 부족하기 때문에 혼합 대상물이 질소와 인을 다량함유하고 있는 것이 좋을 것으로 판단되어 기준을 1) 높은 alkalinity를 가지고 있을 것, 2) 톳 부산물에는 적은 질소원을 많이 가지고 있고 3) 상대적으로 톳 부산물에는 높은 유기물을 적게 함유하고 있을 것으로 정하여 대상물질을 탐색한 결과 돈 분뇨가 적합한 것으로 판단되었다. 돈 분뇨의 일반적인 물성은 Table 2에 나타나있다.

2) 비료가능성 평가

가. 시험방법

Table 3. Mixture composition and characteristics

Mixture	Slurry (mL)	D W (mL)	Byproduct (g)	Saw dust(g)	Moisture (%)	% / total	pH (value)
I	700	0	817.6	0	45	54	4.9
II	700	0	672.0	0	47	49	5.7
III	700	0	477.4	0	60	41	6.9
IV	700	0	477.4	178	53	35	6.5
V	0	700	672.0	0	55	49	3.0

Table 3은 건조한 톳 부산물과 돈 분뇨를 혼합하여 유기비료화하기 위한 운전인자를 파악한 시험에 관한 것이다. Table 2에 나타난 것과 같이 I, II, III은 돈분뇨와 톳 부산물 만을 사용하여 시험하였으며, IV는 돈분뇨, 톳 부산물, 톱밥을 혼합하였고, V는 돈분뇨를 제외하고 증류수로 수분을 조절하여 총 5개의 배합구로 나누어 초기 물성을 파악한 결과 부숙화에 적합한 수분함량으로 40~70% 범위와 초기 최소 pH 범위 5.5를 충족시키기 위해서는 총 혼합물량 중 톳 부산물 함량이 50% 미만이어야 함을 알 수 있었다 (Mixture II, III, IV, V).

나. 결과

최소 조건을 갖춘 혼합물 II, III, IV, V를 부숙화하는 동안의 물성 변화와 최종 산물의 비료적 가치를 판단하기 위하여 21일 동안 간헐 호기적 방법으로 부숙시키면서 다양한 parameter들의 변화를 monitor하고 최종 산물의 비료가치를 평가하였다. 최소한의 조건도 갖추지 못한 혼합물 V구도 함께 부숙 시킨 것은 대조구로 이용하면서 톳 부산물만을 부숙시킬 시의 변화를 파악하기 위한 것이었다. 부숙 과정 중의 변화는 아래 Fig. 1, 2, 3, 4, 5에 나타나있다. Fig. 1은 각 처리구별 암모니아성 질소의 변화로 초기 암모니아성 질소의 농도에서 크게 변화지 않았다. 암모니아성 질소의 변화가 많이 일어나지 않은 가장 큰 이유는 암모니아성 질소의 질산화율과 수분의 감소 폭이 일정했기 때문이라고 판단된다. 하지만, 건조 상태에서의 암모니아성 질소의 변화는 II, III, IV 모두 부숙 기간이 진행됨에 따라 점차 감소하는 것으로 나타났다. Fig. 2는 처리 구별 인산염의 변화로 각 처리구 II, III, IV, V 모두 약간의 상승이 일어났으며 fig. 1과 마찬가지로 초기 인산염의 농도에서 크게 벗어나지 않았다. 건조 상태에서의 인산염의 농도 역시 거의 변화가 없이 일정한 것을 확인 할 수 있는데 이는 인산염은 퇴비더미에서 제거되는 것이 아니라 초기 인산염이 지속적으로 잔존했기 때문으로 판단된다. Fig. 3은 처리구별 수분함량으로 II,

III, IV, V 처리구 모두 수분이 감소하는 것을 목격할 수 있었고 특히 초기 수분함량이 달랐던 III, IV, V에서 21일간 부숙 후 거의 동일한 수분 함량을 보이는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서, 수분함량이 다르더라도 60% 수준의 수분일 경우 20일 전후하여 퇴비화 단계가 마무리되는 것을 확인 할 수 있었다. Fig. 4는 처리구별 TC함량 변화로 5일 이전에는 TC 함량이 감소한 반면 5일 이후부터 지속적으로 상승하는 것을 볼 수 있었다. 건조 상태에서의 TC 함량을 나타낸 B 역시 부숙기간이 동안 약간 증가하는 것으로 미루어 보아 부숙 기간동안 활발한 미생물 분해 작용은 일어나지 않았다. Fig. 5는 처리구별 TKN 변화로 부숙 과정 중 분뇨를 주입한 II, III, IV의 TKN 함량 점차 상승하는 것으로 나타났다. 하지만, 건조 상태에서의 TKN 변화는 크지 않은 것으로 나타나 활발한 부숙이 일어나지 않은 것으로 판단된다.

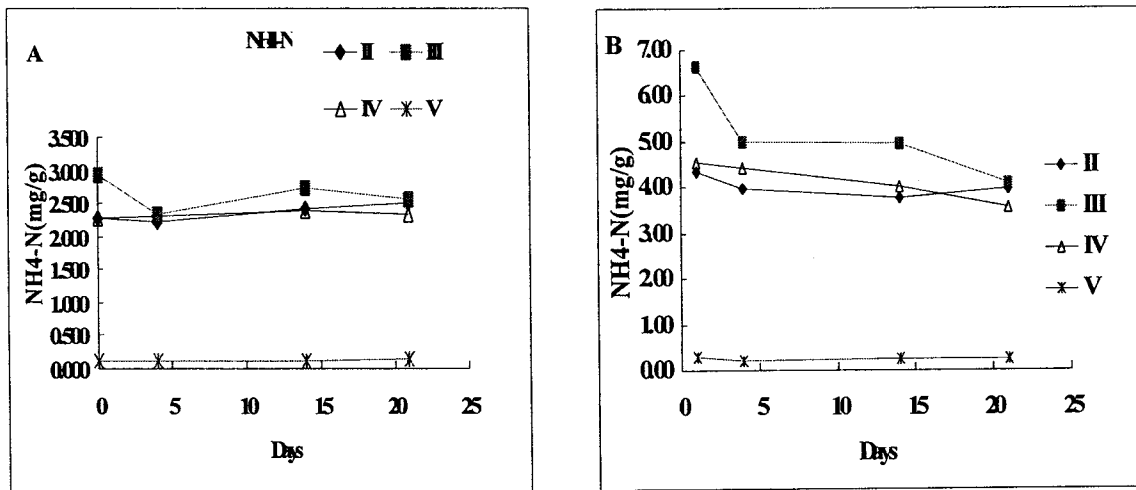


Figure 1. Change of NH4-N (A: As-fed, B: DM basis)

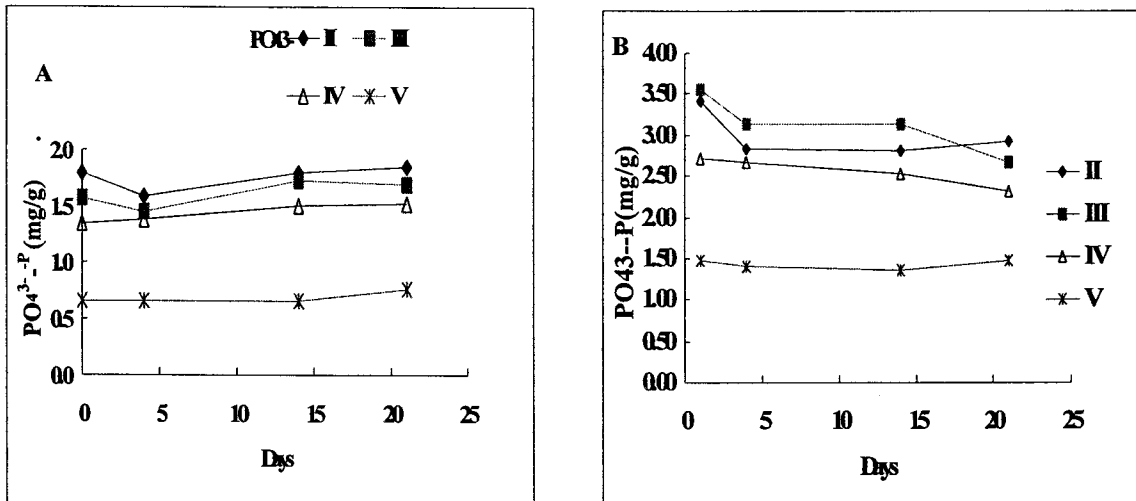


Figure 2. Change of PO43- (A: As-fed, B: DM basis)

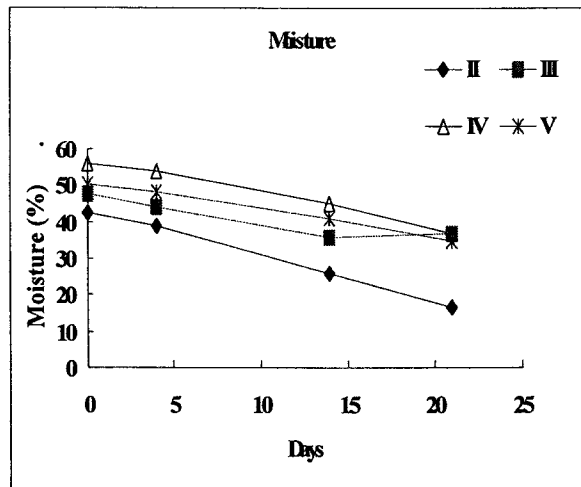


Figure 3. Change of moisture contents

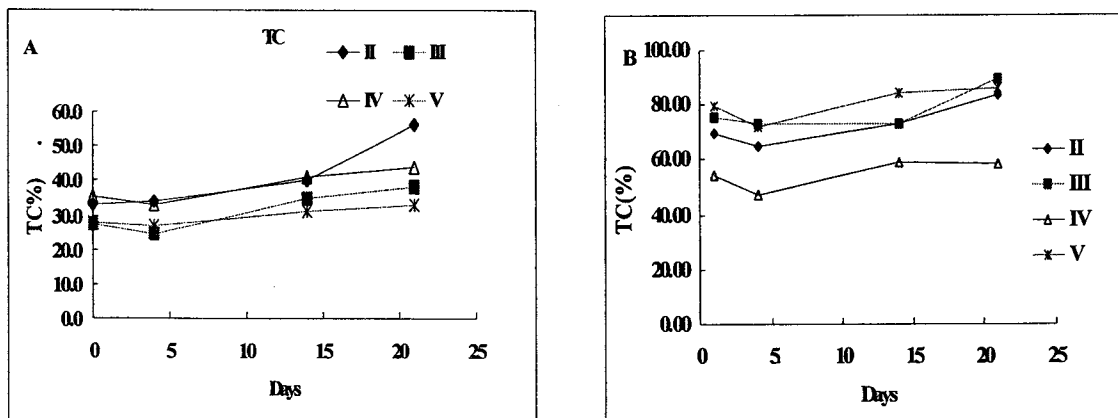


Figure 4. Change of TC (A: As-fed, B: DM basis)

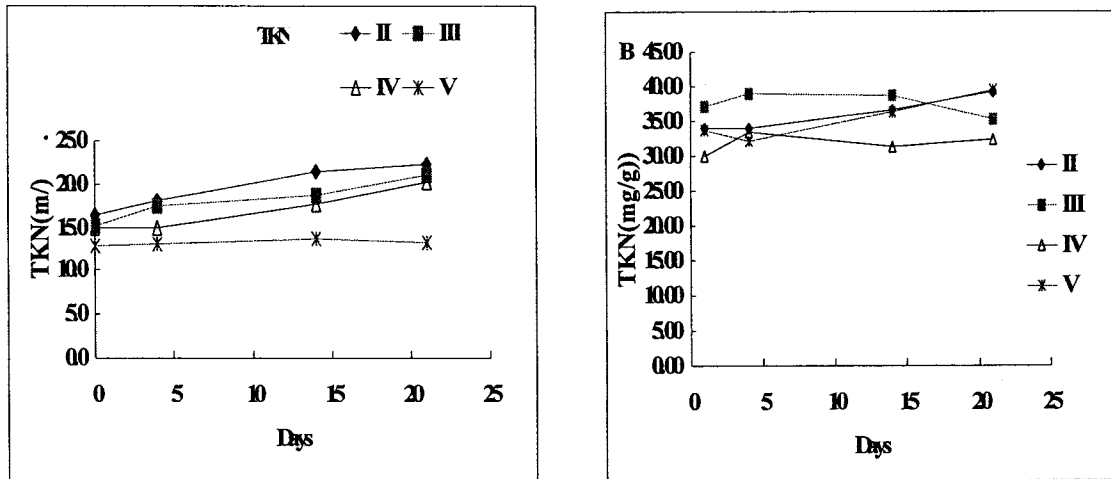


Figure 5. Change of TKN (A: As-fed, B: DM basis)

Table 4. Characteristics of final products

	II	III	IV	V
pH	5.23	5.76	5.68	2.99
Moisture(%)	36.94	36.86	34.79	48.74
TC(%)	56.38	38.25	44.16	32.88
TKN (mg/g)	22.23	21.11	20.22	13.23
NH ₄ ⁺ (mg/g)	2.50	2.57	2.33	0.14
NO _x ⁻ (mg/g)	0.12	0.11	0.08	0.09
PO ₄ ³⁻ (mg/g)	1.85	1.69	1.51	0.75
C/N	25.36	18.12	21.84	24.85

Table 4는 부숙과정을 마친 최종 산물의 비료적 가치를 나타낸 것으로 III 처리구에서 생산된 비료들은 부산물 비료의 2급 퇴비 규격인 유기물 최소량 25%와 C/N 비 50 이하를 충족시키지 못해 저질의 비료인 것으로 판단되었다. 그린(1급)퇴비 규격인 유기물 최소량 40%와 C/N비 40이하를 충족시키는 고 품질의 유기비료를 만들기 위해서는 II, IV에서와 같이 톳 부산물을 약 50% 정도 사용하거나 혹은 부형재로서 톳밥 등의 다른 물질도 사용하는 것이 적합할 것으로 사료된다. 그러나 50%를 사용하는 것은 무리가 있으며 비록 시험된 조건에서 생산된 유기비료 중 II, IV가 유기물 함량과 C/N 측면에서 1급 비료조건을 충족시킨 것으로 나타났으나 pH가 각각 5.23과 5.68로 약 알칼리성을 띠지 아니하고 약산성으로 나타나 이에 대한 고려가 필요한 것으로 나타났다. 따라서 톳 부산물의 pH가 강산성이기 때문에 톳 부산물을 이용하여 1급의 그린 유기비료를 만들기 위해서는 전체 대비 톳 부산물의 사용량을 시험된 조건 보다 훨씬 더 적게 유지하면서 효

올적인 부숙을 위해 IV에서와 같이 다른 부형제도 함께 사용하는 것이 적합할 것으로 판단된다. 또한 비록 fucoidan 추출과정에서 대부분의 염분이 소실된다 하더라도 톳 부산물은 염분을 함유하고 있기 때문에 1급비료 규격인 1% 미만의 염분 함량과 유기물량, C/N 비등을 충족시키기 위해서는 부형제 개념이 아니라 첨가제 개념으로 접근하여 양질의 1급 비료는 물론 기능성 비료를 생산하는 것이 바람직하다 할 수 있다. 본 연구결과는 fucoidan을 추출한 후 발생하는 부산물의 유기비료 자원화가 가능한가와 부숙화에 관한 최소한의 인자만을 파악한 것으로서 본 시험을 통해 그 가능성이 검증된 만큼 향후 고가인 양질의 비료자원이나 기능성 비료자원으로 재활용하기 위해서는 다양한 인자를 파악하여 정확한 자료를 산출하고 공정 개발에 응용하여야 할 것으로 사료되며 톳 부산물 첨가량과 부숙화 조건 등에 대한 정확한 자료도 지속적으로 연구되어야 할 것이다.

실험2. 해조 폐자원의 유기 비료화 modeling

1) 실험방법 및 재료

Table 5. Mixture composition

Run	I	II	III
Slurry(L)	17	17	17
Saw dust(kg)	23	23	23
Byproduct(kg)	0	4	8
Total (byproduct ratio)	40(0%)	44(10%)	48(20%)

Table 6. Characteristic of material

	Saw dust	Swine slurry	Byproduct
Moisture(%)	44.85	92.86	63.13
TC(%)	52.07	5.52	25.31
TKN(%)	0.19	-	-
pH	8.72	7.39	-
EC	0.38	-	-
NaCl(%)	0	-	10.54

Table 5는 앞장의 결과를 토대로 돈 슬러리 17kg과 톳밥 23kg을 혼합 한 후 톳 부산물을 0, 4(10%) 및 8(20%)kg을 첨가하여 20일간 1일 2회 교반하면서 퇴비화하였다.

Table 6은 시험재료의 이화학적 특성으로 톳밥, 돈 분뇨, 톳 부산물의 수분함량은 각각 44.85, 92.26, 63.13% 로 건조되지 않은 톳을 사용하였으며, TC함량은 각각 52.07, 5.52,

25.31%로 톳 부산물의 TC 함량은 톳밥의 1/2 수준이었다. 또한, 톳 부산물의 NaCl 함량이 10.54%로 매우 높았다.

2) 결과

Table 7. Characteristics of final products

Parameter (%)	I	II	III
Moisture	64.20	65.00	63.00
TC	33.80	32.00	32.60
TKN	0.36	0.42	0.55
C/N ratio	94.70	75.80	59.80
T-P	0.18	0.17	0.15
NaCl	0.06	0.94	1.56
pH (value)	7.98	7.85	7.94
E.C (mS/cm)	0.84	2.56	4.37

Table 7은 20일간 부숙 후의 최종산물의 성상으로 I, II, III의 수분함량은 각각 64.20, 65.00, 63.00%으로 나타나 다소 높게 유지됨을 볼 수 있었다. Fig. 6, 7에서 보는 것과 같이 온도발생은 부숙 과정 동안 40℃ 이상까지 모두 상승하였고 수분함량은 꾸준히 감소하였다. 하지만 최종산물의 수분함량이 높게 유지된 것은 초기 수분함량이 68% 이상의 조건에서 composting 한 결과로 수분이 높을 경우 부숙기간을 길어야 함을 알 수 있었다. 김등의 연구에서는 수분함량이 퇴비화 기간을 결정하는 중요한 인자라고 하였으며, 초기 수분 66.7%에서 부숙 15일 동안 63.2%로 약 3.5% 감소시킨 반면 25일 후에는 47.5%로 급격히 감소한다고 보고하였다. TC함량 역시 33.80, 32.00, 32.60%으로 나타나 처리구 I, II, III 모두 수분과 TC의 함량은 큰 차이를 보이지 않았다. 하지만, TKN의 함량은 톳 부산물을 많이 첨가함에 따라 비례적으로 상승하여 각각 0.36, 0.42, 0.55%로 나타나 시험 III에서의 C/N ratio가 59.80으로 가장 낮았다. Fig. 6은 시험기간 동안의 온도 변화로 시험시작 후 5일 이후에 온도가 서서히 상승하여 40℃를 모두 넘은 것으로 나타났다. 이렇듯 온도가 상승하는 것은 미생물로부터 기원된 산화효소 작용에 의해 발열 반응이 진행된 결과로 판단되며 온도발생이 시험 I, II, III 모두 일어난 것으로 미루어 보아 미생물 활성은 활발했던 것으로 나타났고 톳 첨가비가 20%인 처리구 III에서도 온도발생이 일어나 톳 부산물에 의한 미생물 활성장애는 없었던 것으로 판단된다. Fig. 7은 처리구별 수분변화로 부숙 기간 동안 수분감소는 꾸준히 일어났으나 그 변화 폭은 5% 안팎으로 크지 않았다. Fig. 8은 TC의 변화로 부숙 초기 TC 함량은 각각 30, 28, 27% 수준인 반면 최종산물의 TC 함량은 33.8, 32.0, 32.6%로 상승한 것으로 나타났다. Fig. 9는 처리구별

TKN 변화로 초기 TKN 함량에서 크게 달라지지 않았다. 이러한 것으로 미루어 보아 부속 후의 TKN 함량은 부속전의 TKN 함량에 의존한다고 판단됨에 따라 최종산물의 TKN 함량을 높이기 위해서는 초기 TKN 함량이 높아야 할 것이다. Fig. 10은 NaCl 함량변화로 시험 I에서는 0.2% 미만에서 시작하여 종료되었으며, II에서는 0.7% 수준에서 0.8% 수준으로 상승하는 것을 보였고, III에서는 서서히 증가하여 1.5% 수준임을 알 수 있었다. 이렇듯 NaCl 함량이 변화하는 것은 온도 발생에 의한 수분감소와 미생물 성장에 필요성분인 Cl 이온의 변화에서 오는 것으로 추측된다. 하지만, 이러한 NaCl 함량은 초기 농도에서 크게 벗어나지 않음에 따라 초기 NaCl 농도가 중요한 인자임을 확인 할 수 있었다. Fig. 11은 생산퇴비와 그린 1급 퇴비의 정상비교로 TC, C/N, 수분의 경우 I, II, III 처리구 모두 그린퇴비조건을 만족 시키지 못하였으며, NaCl 함량에서는 I, II에서 그린 퇴비 규격을 만족 할 수 있었다. 하지만, 톳 첨가량이 많아지면서 C/N ratio가 감소하는 것을 목격할 수 있어 톳 첨가에 따라 퇴비 질이 상승하는 것을 알 수 있었다. 그러나 시험 III과 같이 첨가량이 많아 질 경우 NaCl 함량이 매우 높아지는 것을 알 수 있어 적정 사용량은 시험 II와 같은 수준에서 사용해야 하는 것으로 판단된다. Fig. 12는 시험 II의 생산품으로써 A는 퇴비 입자로 먼지와 같은 가루 찌꺼기가 발생할 수 있으나 B는 펠렛을 한 것으로 먼지 발생이 적고 토양 내에서 천천히 분해 될 수 있기 때문에 토양 시비 시 지속적인 비료 역할을 할 수 있을 것이라 판단된다.

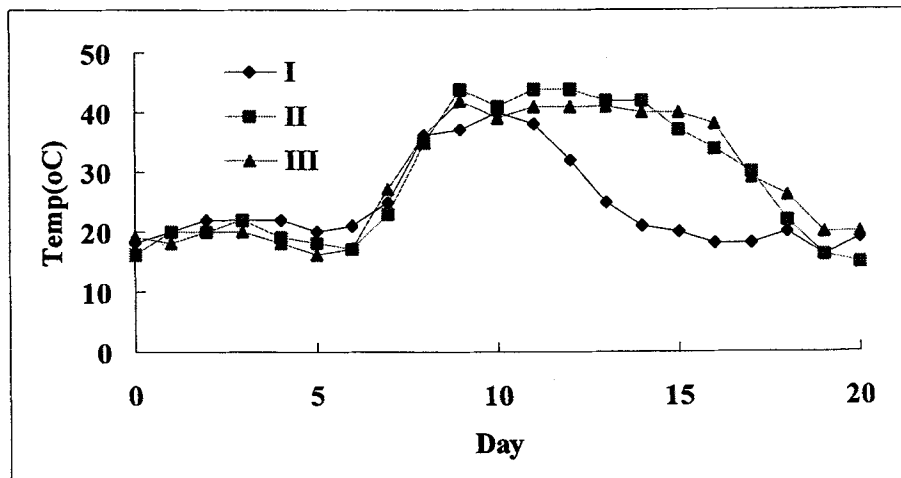


Figure 6. Change of temperature.

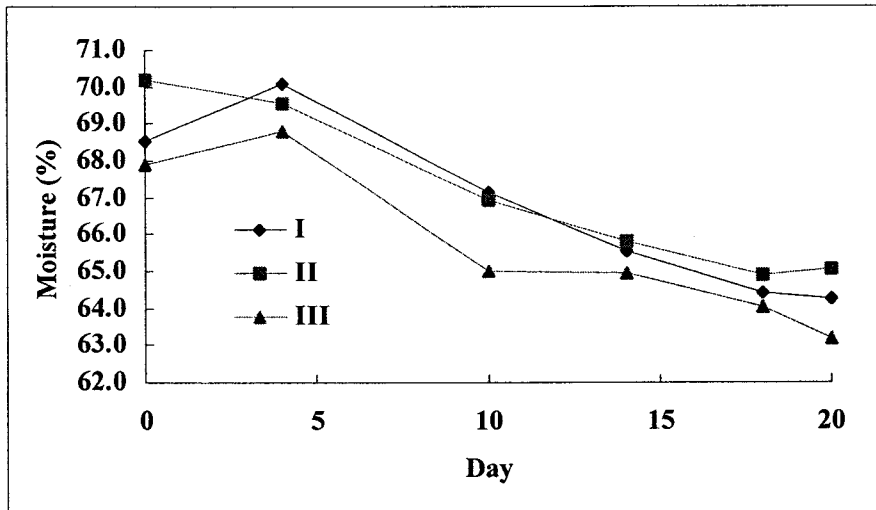


Figure 7. Change of moisture contents

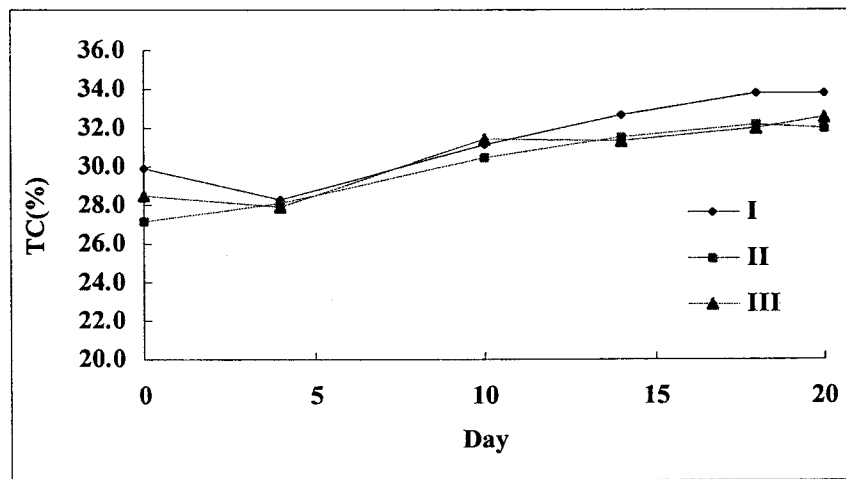


Figure 8. Change of TC

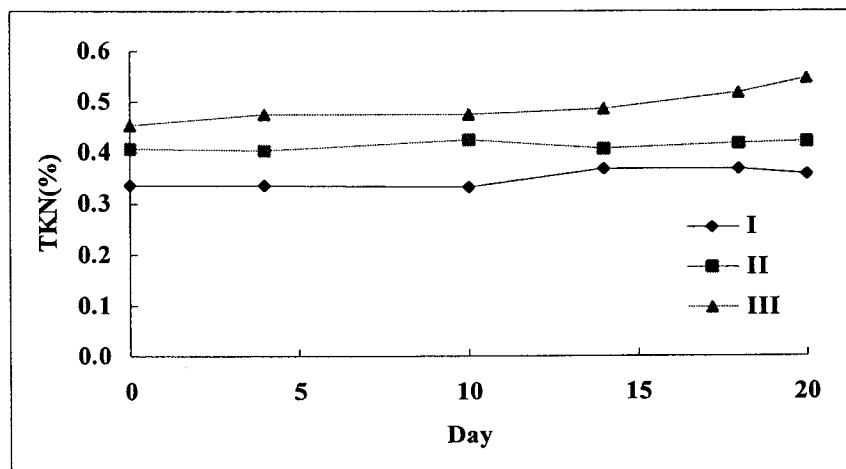


Figure 9. Change of TKN

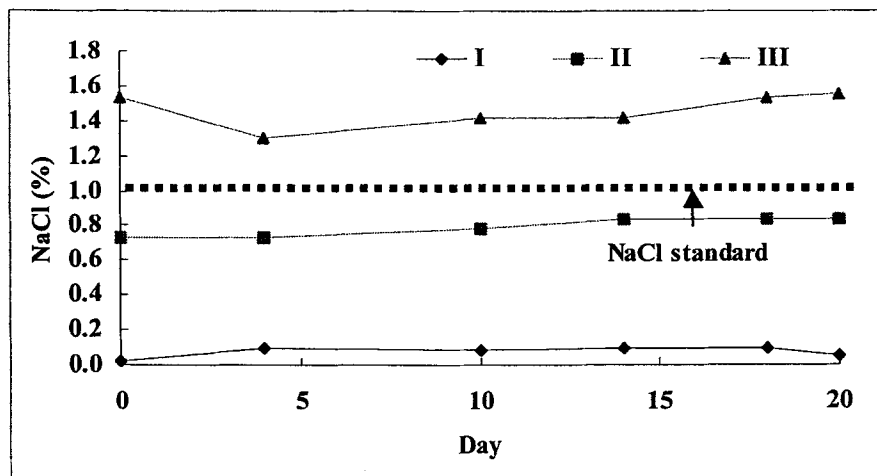


Figure 10. Change of NaCl

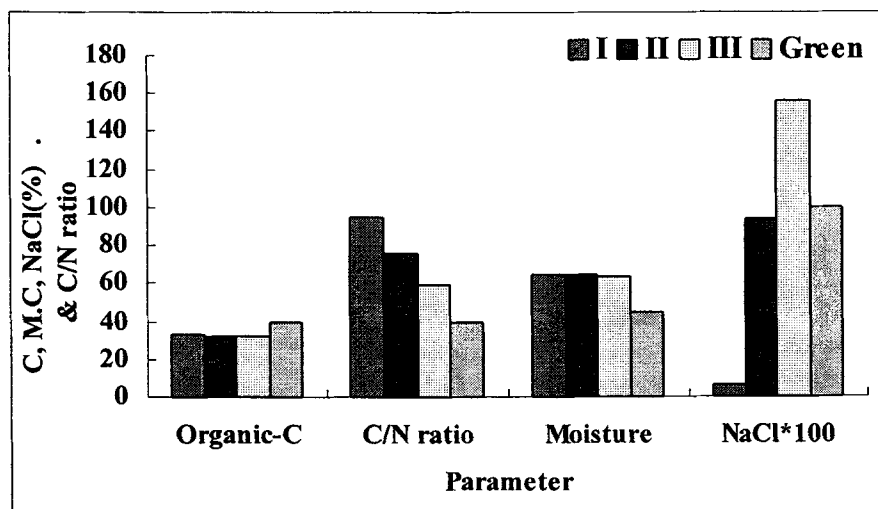
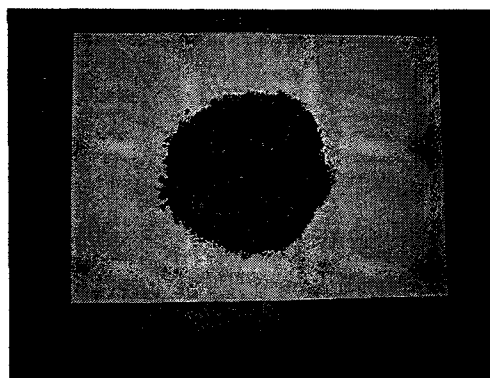
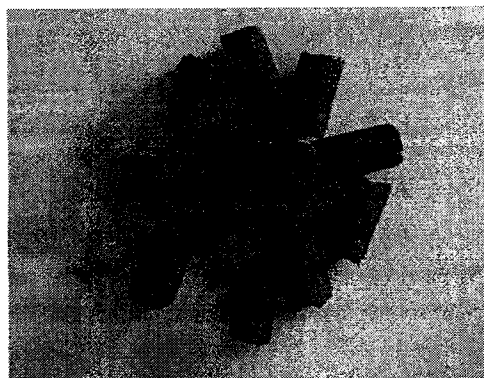


Figure 11. Characteristics of product (* C: TC, M.C: Moisture contents)



A



B

Figure 12. Processing of final product

실험3. 톳 가공처리에 따른 퇴비 성장 비교

가. 실험재료 및 방법

Table 8. Mixture composition

Run	I	II
Saw dust (kg)	12.2	12.2
Byproduct (I)	2.33	-
Byproduct (II)	-	2.33
Swine slurry (L)	17	17
Total (byproduct ratio)	29.2 (8%)	29.2 (8%)

Table 8은 composting 하기 위한 배합비로서 총 중량은 29.2kg 이었으며, 이중 8%인 2.33 kg의 톳 부산물이 사용되었다. Run I에 사용된 톳 부산물은 HCl로 처리한 것을 사용하였으며, Run II는 열수처리후의 부산물을 사용하였다.

Table 9. Characteristics of materials

	Moisture (%)	TC (%)	TKN (%)	pH	EC (mS/cm)
Saw dust	28.90	67.64	0.45	6.6	0.4
Byproduct (I)	59.66	27.60	1.32	3.6	19.5
Byproduct (II)	79.30	17.53	1.29	5.4	3.1
Swine slurry	91.79	6.27	0.32	6.9	8.8

* Byproduct I: HCl 처리, ** Byproduct II; 열수 처리

Table 9는 재료의 이화학적 특성으로 톳 부산물 I은 수분, TC, TKN 함량이 각각 59.66, 27.60, 1.32%로 나타났으며 톳 부산물 II는 수분 79.30, 17.53, 1.29%로 질소함량은 비슷하였으나 수분과 유기물 함량은 톳 부산물 I에 비해 약 10% 차이를 나타냈다. 하지만 톳 부산물 II의 수분함량이 79.30%로 수분함량을 감안 하였을 경우 TC함량과 TKN함량은 더욱 늘어 날 수 있을 것이다. 또한, 톳 부산물 I의 pH와 E.C는 HCl 처리로 인해 각각 3.6과 19.5 mS/cm로 낮은 pH와 높은 전도도를 갖는 것을 알 수 있었으며 톳 부산물 II의 pH와 E.C는 열처리로 인해 각각 5.4와 3.1mS/cm로 비교적 안정하였다.

나. 결과

Table 10. Characteristics of final products

Parameter (%)	Run I	Run II
Moisture	54.81	59.69
TC	40.37	37.04
TKN	0.65	0.51
C/N ratio	62.59	73.20
NaCl	1.12	0.32
pH value	7.08	7.72
E.C(mS/cm)	2.71	0.77

Table 10은 20일 composting 후의 성상으로 Run I의 퇴비는 수분, TC, TKN 함량이 각각 54.81, 40.37, 0.65%로 나타났으며, Run II는 수분, TC, TKN 함량이 각각 59.69, 37.04, 0.51%로 Run I에서 수분, 유기물, 질소에 의한 퇴비품질이 우수한 것으로 나타났다. 하지만, 톳 부산물 첨가 비 8%는 시험 2에서 유도된 결과로 톳 첨가비가 증가할 수록 NaCl 함량이 증가하여 적정 첨가비를 8%로 결정한 것이었으나 Run II의 경우에는 8% 첨가 시에 NaCl 함량이 0.32%로 매우 낮게 유지됨에 따라 8% 이상을 첨가 할 수 있을 것이라 판단된다. 톳 부산물 첨가량이 증가할 경우 초기 TKN 함량을 높일 수 있어 최종 산물의 TKN 함량이 증가할 수 있을 것이라 판단된다. 이에 따라 C/N ratio 역시 더욱 떨어질 수 있을 것이다. 따라서 Run II와 같이 열수처리후의 톳 부산물을 첨가하는 것이 퇴비품질을 향상 시킬 수 있을 것이라 판단되며 또한, 톳 부산물을 건조하여 수분함량을 줄일 경우 최종 퇴비의 수분함량을 낮추어 퇴비 품질은 더욱 우수해 질 수 있을 것이라 판단된다.

또한, 퇴비 I과 II의 pH는 각각 7.08, 7.72로 나타났으며, E.C는 각각 2.71과 0.77mS/cm로 나타났다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 생산된 퇴비의 토양 내 시비 시 전도도가 낮은 퇴비 II가 이온성 물질에 따른 토양 피해를 줄일 수 있을 것이라 판단되며, pH가 높아 산성우로 인한 토양의 산성화에 있어 buffer 역할도 우수할 것으로 사료됨에 따라 본 연구에서는 처리구 II와 같은 방법으로 첨가량을 늘려 사용하는 것이 톳 부산물의 유기질 비료 생산에 가장 좋은 방법이라고 생각한다.

Fig. 13은 TC 변화로 처리구 I, II 초기 TC 함량은 30% 수준으로 비슷하게 유지 됨에 따라 유기물 함량에 있어 톳 부산물 처리공정이 달라 지더라도 초기 TC의 영향은 크지 않은 것으로 나타났으며 TC의 변화가 점차 상승하여 최종 산물의 TC는 처리구 I과 II에서 각각 40.37, 37.04%로 나타났다. 또한, 처리구 II에서 다소 낮게 나타난 것은 처리구 I은 염산처리로 인해 톳 부산물의 미생물 분해력이 감소한 반면 처리구 II에서는 활발한

미생물 분해가 일어난 것으로 사료된다. Fig. 14는 TKN 함량 변화로 수분함량이 감소함에 따라 처리구 I의 TKN은 상승한 반면 처리구 II의 TKN은 부숙 기간동안 변화하지 않는 것으로 나타났다. 이러한 것은 Fig. 11에서 말한 것과 같이 미생물에 의한 분해에 있어 처리구 II의 열처리 가공시의 부산물이 분해가 활발히 일어난 것에 기인한다고 판단된다. Fig. 15는 NaCl 변화로 처리구에 상관없이 상승하는 것을 목격할 수 있었으며 이는 수분함량의 감소에 의한 것으로 판단된다. 또한 위 그래프와 마찬가지로 처리구 I의 NaCl 상승폭은 큰 반면 처리구 II의 상승은 매우 미약함을 볼 수 있었다. Fig. 16은 전도도변화로 초기 전도도가 매우 크게 차이나는 것은 부산물 가공 방법의 차이에서 오는 것이라 판단되며 처리구에 상관없이 전도도가 상승하는 것을 목격할 수 있는데 이는 부숙 기간동안 유기태 질소가 암모니아성 질소로의 전환됨에 따라 전기전도도가 상승하는 것으로 나타났다.

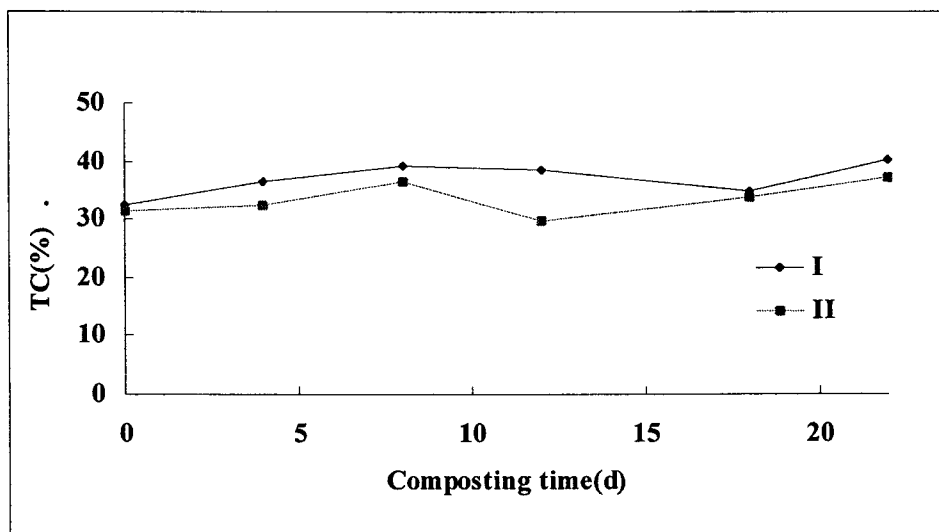


Figure 13. Change of TC

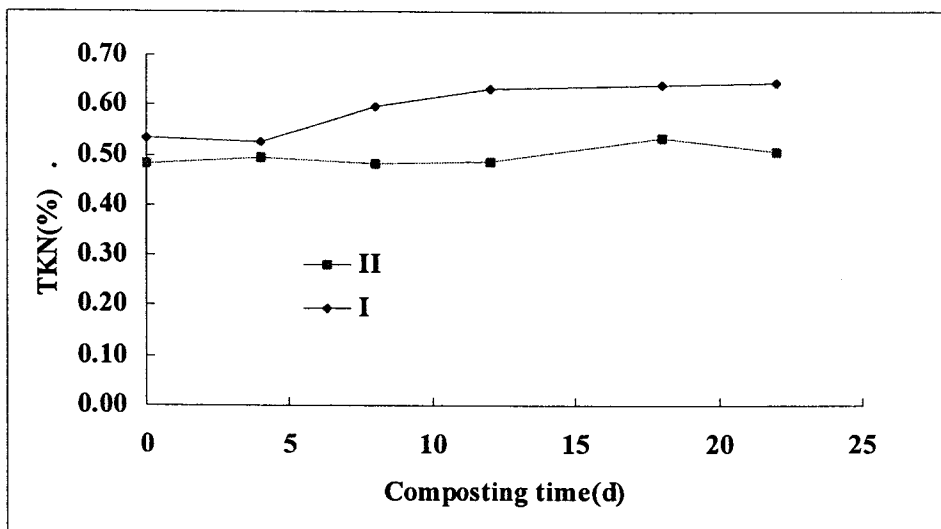


Figure 14. Change of TKN

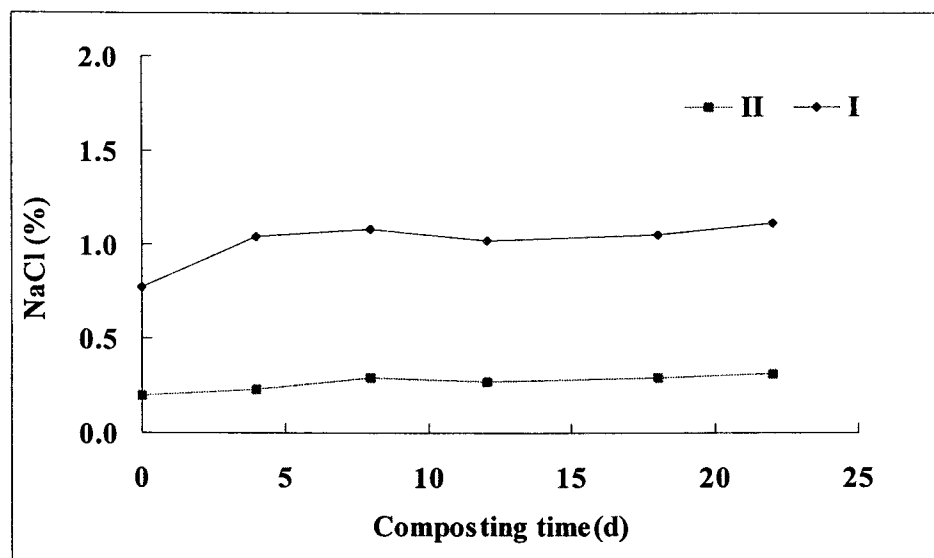


Figure 15. Change of NaCl

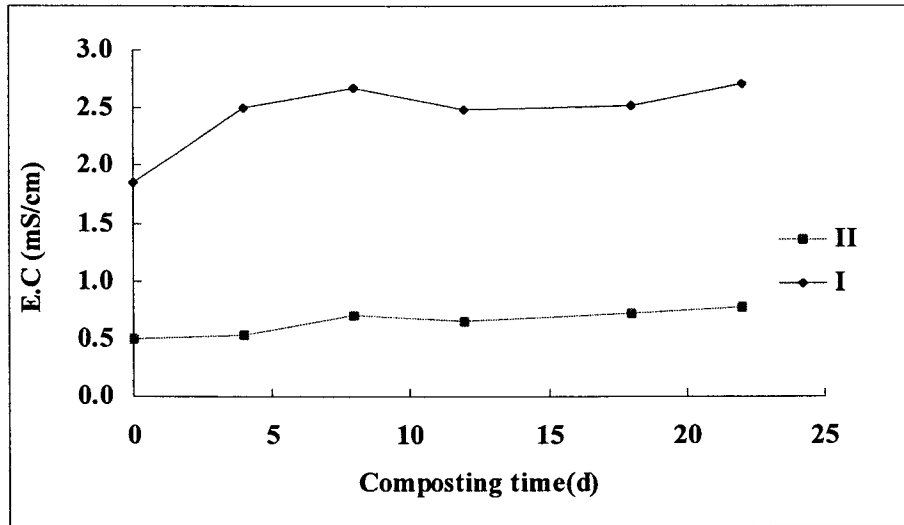


Figure 16. Change of E.C

4. 결론

해조류 가공 부산물의 유기 비료화 가능성을 타진하고자 해조류로부터 fucoidan을 추출하고 남은 부산물의 물성을 조사한 결과 강한 산성을 띠며, 질소 및 인 함량이 부족하고 반대로 유기물 함량이 높아 톳 부산물 자체만으로는 유기 비료화는 어려울 것으로 판단된다. 따라서 강한 산성을 중화할 pH조절제가 필요하며, 질소 및 인의 함량을 높여줄 부형재가 필요하고 유기물 함량이 낮아야 할 것이다. 이러한 조건을 맞춰줄 부형재로서는 높은 alkalinity를 갖으며, 질소원이 풍부하고 유기물 함량이 낮은 돈 분뇨가 적합한 것으로 판단된다.

돈 분뇨와 톳 부산물을 섞어 수분함량을 달리하여 실험한 결과 톳 부산물과 돈 분뇨 자체만으로는 퇴비질이 매우 떨어지는 것으로 나타났으며 톱밥과 함께 사용한 경우에는 퇴비질이 상승하는 것으로 나타남에 따라 유기질 비료를 생산하기 위해서는 톳 부산물이 부형재 개념이 아닌 첨가제 개념으로 사용되어야 할 것이다.

톳 부산물의 적절한 퇴비화 방법을 모색하기 위해 톳 함량을 0, 10, 20%로 달리하여 실험한 결과 TC 함량은 각각 33.8, 32.0 및 32.6%로 거의 변화가 없었으나, TKN의 함량은 0.36, 0.42 및 0.55%로 첨가량의 증가에 따라 증가함을 관찰할 수 있었다. 반면 C/N ratio는 94.7%에서 75.8과 59.8%로 감소하였다. 또한, 톳 부산물 20% 첨가 시에도 온도상승이 40℃까지 상승하는 것으로 미루어 미생물 활성에 영향을 끼치지 않는 것으로 판단된다. 하지만, NaCl함량이 0.06, 0.84 및 1.56%로 증가하여, 톳 부산물 20% 첨가 시는 질소 함량은 높여주지만, 퇴비 내의 염분 함량도 높이는 악영향이 있음을 확인하였다. 따라서 본 연구에서 밝혀진 톳 부산물의 적정 첨가량은 10% 수준으로 판단된다. 또한, 기존

의 가공방법이 아닌 열수처리를 통한 추출후의 부산물에 대한 평가를 위해 염산 처리된 톳 부산물과 열수처리한 톳 부산물을 퇴비에 8% 첨가하여 실험한 결과 열수처리를 통해 fucoidan을 추출하는 것이 TKN 함량 및 유기물함량이 낮은 것으로 나타났으나 NaCl 함량이 0.32%로 매우 낮아 톳 부산물의 첨가량을 증가시킬 수 있을 것으로 판단되어 낮은 TKN 함량을 높일 수 있어 C/N ratio가 감소 할 수 있을 것이다. 또한, 낮은 NaCl 함량으로 인해 염분에 의한 작물 피해를 최소화 할 수 있으며, 높은 pH는 토양내 pH buffer 역할을 할 수 있을 것이라 사료된다. 이렇게 생산된 퇴비의 펠렛으로의 가공·사용은 친환경적 완효성 비료로써 가치가 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition. K. Helrich, ed. Association of Official Analytical Chemists, Virginia, U.S.A.
2. Bernardi. G. and G.F. Springer. 1962. Properties of highly purified Fucan. J. Biol. Chem., 273. 75-81.
3. Bradley, G. L., T. S. Savage and K. I. Timm. 1994. The effect of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* on male poult performance and ileal morphology. Poult. Sci. 73:1766-1770.
4. Bryan LE. Current problems of resistant bacteria. In, Bacterial resistance and susceptibility to chemotherapeutic agents. Cambridge, U.L., Cambridge University Press. 1982 : 161-191.
- 5 Choi, K.H., Namkung, H. and Paik, I.K. 1994. Effects of dietary Fructooligosaccharides on the suppression of intestinal colonization of *Salmonella typhimurium* in Broiler Chickens. Korean J. Anim. Sci., 36(3) 271-284.
6. Cinco, M., E. Banfi, E. Ruaro, D. Crevatin and D. Crotti. 1984. Evidence for L-fucose-(6-deoxy-L-galactopyranose) mediated adherence of *Campylobacter* spp. to epithelial cells. FEMS Microbiol. Lett., 21, 347-351.
7. Collicec, S., Fishcher, A.M., Tapon-Brethaudiere, J., Boisson, C., Durand, P. and Jozefonvicz, J. 1991. Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. Thromb. Res., 64,

143-154.

- 8 Corrier, D. E., Hinton, A. Jr., Ziprin, R. L., Beier, R. C. and DeLoach, J. R. 1990a. Effect of dietary lactose on cecal pH, bacteriostatic volatile fatty acids, and *Salmonella typhimurium* colonization of broiler chicks. *Avian Dis.* 34:617.
9. Corrier, D. E., Hinton, A. Jr., Ziprin, R. L. and DeLoach, J. R. 1990b. Effect of dietary lactose on *Salmonella* colonization of market-age broilers. *Avian Dis.* 34:617.
10. Evangelisti, D.G., A.R. English, A.E. Girard, J.E. Lynch and I.A. Solomons. 1975. Influence of subtherapeutic levels of oxytetracycline on *salmonella typhimurium* in swine, calves, and chickens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 8:664-672.
11. Fairchild, A.S., J.L. Grimes, M.J. Wineland and F.T. Jones. 1998. Disk diffusion antimicrobial susceptibility tests against avian *Escherichia coli* isolates. *Poultry Sci.* 77(Suppl. 1):94
12. Ferrell, C. L. and T. G. Jenkins. 1985. Cow type and the nutritional environment. Nutritional aspects. *J. Anim. Sci.* 61:825-830.
13. Floch, H., Ed. 1976. Diet bacteria and the colon. *Amer. J. Clin. Nutr.* 29:1409.
14. Gordon, H.A. E. Brucker-Karboss and B.S. Wostmann. 1966. Aging in germfree mice; Life tables and lesions observed at natural death. *J. Gerontol.* 21:380.
15. Gordon, H.A. and L. Pesti. 1971. The gnotobiotic animal as a tool in the study of host microbial relationships. *Bacteriol. Rev.* 35:390.
16. Gibbons, R. J. and Van Houte, J. 1975. Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annu. Rev, Microbiol.* 29:19
17. Gustafson, R.H. and R.E. Bowen. 1997. A review: antibiotic use in animal agriculture. *J. of Appl. Bacteriol.* 83:531-541.
18. Hideyuki S., Itsuko K.T., Masato N., Shusuke H., Haruji S., Sadao U. and Teruo Y. 1999. Inhibitory effect of *Cladosiphon fucoidan* on the adhesion of *Helicobacter pylori* to human Gastric cell. *J. Nutr. Sci.. Vitaminol.*, 45, 325-336.
19. Kamaras, J., Murrell, W. G., 2001. Intestinal epithelial damage in AIDS babies and its similarity to that caused by bacterial toxins in the rabbit. *Patho. May* ; 33(2) : 197-203
20. Kim, D.S. and Park. Y.H. 1985. Uronic acid composition, block structure and some related properties of alginic acid. *J. Korean Fish. Soc.*, 18. 29-36.

21. Kim, Y.Y. and Cho, Y.J. 2001. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition ; 5. Effects of depolymerized alginate on body weight, organ, pancreatic and small intestinal composition, and small intestinal microvilli structure in rats. *J. Korean Fish. Soc.* 34(1), 21~26
22. Koo, J.G., Jo, K.S., Do, J.R. and Woo, S.J., 1995. Isolation and purification of fucoidans from *Laminaria religiosa* and *Undaria pinnatifida* in Korea. *J. Korean Fish. Soc.* 28(2), 227-236.
23. Langhout, D. J., Schutte, J. B., Van Leeuwen, P., Wiebenga, J., Tamminga, S., 1999. Effect of dietary high- and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. *Br. Poultry Sci.*, Jul. ; 40(3) : 340-7
24. Le Minor, L., Popoff, M. Y., Laurent, B. and Hermant, D. 1990. Supplement (n. 33) to the Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.* 14(9):173.
25. Moore, P. R., Evenson, A., Lucher, T. D., McCoy, E., Elvehjem, C. A. and Hart, E. B. 1946. Use of sulfasuxidine, streptothricine and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J. Biol. Chem.* 165:437.
26. Nabuurs, M. J. A., A. Hoogendoorn, E. J. Van der Molen and A. L. M. Van Osta. 1993. Villus height and crypt depth in weaned pigs reared under various circumstances in the Netherlands. *Res. Vet. Sci.* 55:78-84.
27. Norden, C. W., Green, G. M. and Kass, E. H. 1968. Antibacterial mechanism of the urinary bladder. *J. Clin. Invest.* 47:2689.
28. Oyofe, B. A., DeLoach, J. R., Corrier, D. E., Norman, J. O., Ziprin, R. L. and Mollenhauer, H. H. 1989. Effects of carbohydrates on *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chickens. *Avian Dis.* 33:531.
29. Popiel, I. and Turnbull, P. C. B. 1985. Passage of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella thompson* through chick ileocecal mucosa. *Infect. Immun.* 47:786
30. Savage, T. F., E. I. Zakrewska and J. R. Andreasen. 1997. The effects of feeding mannanoligosaccharide supplemented diets to poult on performance and the morphology of the small intestine. Presented at the Annual Meeting of the Southern Poultry Science Association. Atlanta, January 20.

31. Scioli, C., S. Esposito, G. Anzilotti, A. Pavone and C. Pennucci, 1983. Transferable drug resistance in *Escherichia coli* isolated from antibiotic-fed chickens. *Poultry Sci.* 62:382-384.
32. Schleifer, J. H., Juven, B. J., Beard, C. W. and Cox, N. A. 1984. The susceptibility of chicks to *Salmonella montevideo* in artificially contaminated poultry feed. *Avian Dis.* 28:497.
33. Soerjadi, A. S., Stehman, S. M., Snoeyenbos, G. H., Weinack, O. M. and Smyser, C. F. 1981. Some measurements of protection against paratyphoid *Salmonella* and *Escherichia coli* by competitive exclusion in chickens. *Avian disease.* 25:706.
35. Shibata H, Nagaoka M, Takeuchi Y, Takagi I, Hashimoto S, Ueyama S, Yokokura T. 1998. Anti-ulcer effect of fucoidan from brown seaweed, *Ciadosiphon okamuranus* Tokida, *Jpn. Pharmacol. Ther.* 26:1211-1215.
36. Soerjadi, A. S., Stehman, S. M., Snoeyenbos, G. H., Weinack, O. M. 1982. Adherence of *Salmonella* and native gut microflora to the gastrointestinal mucosa of chicks. *Avian Dis.* 26:576.
37. Spring, P. 1996. Effects of mannanoligosaccharide on different cecal parameters and on cecal concentrations of enteric pathogens in poultry. Diss. ETH no. 11897. ETH Zurich, Switzerland.
38. Spring, P. 1997. Understanding the development of the avian gastrointestinal microflora : An essential key for developing competitive exclusion products. Institute of Animal Sciences, Nutrition Biology, ETH Zurich, Switzerland.
39. Tellez, G., Dean, C. E., Corrier, D. E., DeLoach, J. R., Jaeger, L. and Hargis, B. M. 1993. Effect of dietary lactose on cecal morphology, pH, organic acids and *Salmonella enteritidis* organ invasion in Leghorn chicks. *Poultry Sci.* 72:636.
40. Turnbull, P. C. B. and Snoeyenbos, G. H. 1974. Experimental salmonellosis in the chicken. I. Fate and host response in alimentary canal, liver, and spleen. *Avian Dis.* 18:153.
41. Visek, W. J. 1987. The mode of growth promotion by antibiotics. *J. Anim. Sci.* 65:1447-1469.
42. Weinstein L. Gram negative bacterial infections : a look at the past, a view of the present, and a glance at the future. *Rev. Infect. Dis* 1985; 7(suppl. 4) : 538S-544S.

43. Young LS. Antimicrobial resistance : implications for antibiotic use. Am. J. Med. 1986; 80(suppl. 5C) : 35S-39S.
44. Ziprin, R. L., Corrier, D. E. and Elissalde, M. H. 1989. Maturation of resistance to salmonellosis in newly hatched chicks: Inhibition by cyclosporine. Poultry Sci. 68:1637.
45. 정선식. 항생제의 내성기전. 1995. 가정의학회지 제16권 제3호.
46. 박종명. 1993. 동물 약품의 올바른 사용과 축산식품의 안전성. 제 5회 사료 가공 단기 과정 교재. pp.317
47. 이상철, 한인규. 1983. 항생제의 성장촉진효과. 한국영양사료 학회지. Vol. 7, No. 2, 28-38.

제 6 장 연구관련 실적

연구비 집행 및 연구실적 총괄표

	정 부	지 자 체	기 업	계
1차년도	146,667천원	22,341천원	54,400천원	223,408천원
2차년도	86,000천원	30,000천원	45,000천원	161,000천원
3차년도	75,000천원	40,000천원	40,000천원	155,000천원
계	307,667천원	92,341천원	139,400천원	539,408천원

년도	세부과제	연구원	연구비(비율)	실 적
1차 년도	제1세부	김정목	127,748천원(57.2%)	학술발표 5건
		정순택		
		김선재		
제2세부	제2세부	임종환	54,060천원(24.2%)	학술발표 4건 논문 1건
		김동한		
		박재인		
제3세부	제3세부	김창혁	41,600천원(18.6%)	학술발표 3건
		김정목		
		정순택		
2차 년도	제1세부	박양균	70,371천원(43.71%)	학술발표 4건 논문 1건 특허출원 3건
		강성국		
		김정목		
제2세부	제2세부	임종환	53,311천원(33.11%)	학술발표 4건 논문 4건 특허출원 1건
		김동한		
		박재인		
제3세부	제3세부	김창혁	37,318천원(23.18%)	학술발표 3건 논문 1건
		김정목		
		정순택		
3차 년도	제1세부	박양균	63,980천원(41.3%)	학술발표 2건 논문 5건 특허 6건
		강성국		
		김정목		
제2세부	제2세부	임종환	40,179천원(25.9%)	학술발표 3건 논문 3건
		김동한		
		박재인		
제3세부	제3세부	김창혁	50,841천원(32.8%)	학술발표 1건
		김정목		
		정순택		

제1세부: 262,099천원(48.6%), 제2세부: 147,550천원(27.3%), 제3세부: 129,750천원(20.1%)

연구실적 총괄표

특허(건)				학술대회		학술지		실용화 추진실적			
				논문발표(건)		논문게재(건)		(해당란에 ○표)			
국 내		국 외		국내	국외	국내	국외	실용화 완료	실용화 추진	후속연구 추진	기타
출원	등록	출원	등록								
10				28	1	14	1	2	4	2	

연구실적

(제 1 세부과제) 해조류가공과 기능성물질 개발연구

1. 학회발표

- 1) 해조류에서 알긴산 추출 및 특성. 한국식품영양과학회 제 51차 학술발표회, 논문번호 P2-06. 진주 경상대학교, 2002. 6.1)
- 2) 톳으로부터 알긴산의 추출과 점도측정. 한국식품영양과학회 제 51차 학술발표회, 논문번호 P5-02. 진주 경상대학교, 2002. 6.1)
- 3) 미역귀를 이용한 스프의 제조. 한국식품영양과학회 제 51차 학술발표회, 진주대학교 (2002. 6.1)
- 4) 미역줄기, 미역귀를 이용한 잼의 제조. 한국식품영양과학회 제 51차 학술발표회, 진주대학교 (2002. 6.1)
- 5) 전처리에 따른 미역추출물 생산조건 확립. 한국식품영양과학회 제 51차 학술발표회, 진주대학교 (2002. 6.1)
- 6) 해조류 추출물을 첨가한 jelly의 물성특성 (한국식품영양과학회, 이화여자대학교, 2003. 5. 24)
- 7) 해수에서 알긴산 분해미생물의 탐색과 분리 (한국식품과학회, 제70차 학술대회, 논문번호 P6-63. 경주교육문화회관, 2003년 6. 26-28)
- 8) 미역과 다시마 추출물을 첨가한 쌀 압출팽화물의 특성 (한국식품과학회, 제70차 학술대회, 경주교육문화회관, 2003. 6. 26-28)
- 9) 해조분말(다시마, 미역)을 첨가한 된장의 품질 특성. (한국식품과학회, 제70차 학술대회, 경주교육문화회관, 2003. 6 26-28)
- 10) 알긴산에 흡착시킨 Ag의 식중독균에 대한 항균작용 . 한국식품영양과학회 제54차 학술발표회, 논문번호 P6-34, 충북대학교, 2003. 11. 29)
- 11) Effect of sea mustard extract addition for Kimchi fermentation. Institute of Food

Technologists (IFT) 2004 annual meeting, 7/12-7/16/2004, Las Vegas, Nevada.

12) 다시마를 첨가한 쌀 압출성형물의 특성 (한국식품저장유통학회 학술대회 발표예정, 2004. 10. 29)

2. 논문발표

1) Seung-Cheol Lee, Jeong-Hoon Oh, Yong-Il Hwang, and Jeong-Mok Kim. Use of Exo-polygalacturonase 새 improve extraction yields of alginic acid from sea mustard (*Undaria pinotifida*). *Nutraceuticals & Food*. 7: 317-319 (2002)

2) 윤미옥, 이승철, 임종환, 김정목. 추출조건에 따른 해조류의 알긴산 수율과 점도. *한국식품영양과학회지*, 33(4): 747-752 (2004)

3) 강경금, 박난희, 김정목. 2004. 황 흡착 알긴산이 *Lactobacillus acidophilus* 성장에 미치는 영향 및 항 돌연변이 작용. *한국식품영양과학회지*, 33 (4): 757-761.

4) 김선재, 문지숙, 박정욱, 박인배, 김정목, 임종환, 정순택, 강성국. 2004. 다시마, 미역 및 멸치분말이 첨가된 된장의 품질특성, 33(5): 875-879.

5) 김선재, 문지숙, 김정목, 강성국, 정순택. 2004. 미역귀를 이용한 잼의 제조. *한국식품영양과학회지*. 33(3), 598-602.

6) 김선재, 김현주, 문지숙, 김정목, 강성국, 정순택. 2004. 미역에 함유된 Fucoxanthin 색소의 추출 및 특성. *한국식품영양과학회지*. 33(5), 847-851.

7) Partial purification and characterization of Alginate lyase from *Vibrio alginolyticus* (SCI급 논문에 투고 준비)

8) 미역과 다시마 추출물을 첨가한 쌀 압출 팽화물의 특성 (한국식품영양과학회지- 2004년 투고예정)

9) 다시마 분말과 추출물을 이용한 해조간장의 제조 (한국식품과학회-2004년 투고예정)

3. 특허출원

1) 해조류로부터 푸코크산틴색소의 추출 및 색소제재 제조방법 (출원번호 10-2002-0075723, 2002. 11. 30)

2) 미역귀 스프의 제조 및 해조취 개선방법 (출원번호 10-2002-0075726, 2002. 11. 30)

3) 미역줄기 및 미역귀를 이용한 해조잼의 제조 및 해조취 개선방법 (출원번호 10-2002-0075725, 2002. 11. 30)

4) 다시마 추출물을 첨가한 다시마 젤리 제조방법 (10-2003-0055153, 2003. 8.)

5) 김 추출물을 첨가한 김 젤리의 제조방법 (출원번호 10-2003-0055152, 2003. 8.)

6) 다시마, 미역 및 멸치분말과 추출물이 함유된 된장의 제조방법과 그 제품 (10-2004-0062985, 2004. 8.2)

7) 해조분말과 추출물이 함유된 간장의 제조방법과 그 제품 (10-2004-0062986, 2004. 8.2)

8) 해조류를 이용한 기능성 압출스낵 제조 (10-2004-0054172, 2004. 7.7)

9) 다시마를 첨가한 쌀 압출스낵 (10-2004-0064905, 2004. 8.12)

10) Ag 흡착에 따른 알긴산 유도체의 제조방법 (2004년 예정)

4. 기술이전

- 1) 참여업체인 신광식품과 기술이전 추진 중
- 2) 해조 압출 스낵 (왕산식품, 무안군 삼향면)

(제 2 세부과제) 해조류로부터 산업화 소재 개발 및 응용연구

1. 학회발표

- 1) 풀가사리류를 이용한 생분해성 필름의 제조; 박선영, 김미선, 조익준, 김의형, 박동포, 이지혜, 정영화, 임중환(한국식품과학회추계학술발표회, 2001년10월18-20일, 제주대학교)
- 2) CaCl₂의 처리방법에 따른 Na-alginate 필름의 물성변화; 김지혜, 임중환(한국식품과학회 춘계학술발표회, 2002, 6. 25, 서울산업대학교)
- 3) 방사선 조사에 의한 alginate의 저분자화; 산업식품공학회 춘계학술발표회, 2002.4.26)
- 4) 해조소금 제조에 관한 연구; 김동한, 임중환, 이상복(한국식품영양과학회 춘계학술대회, 2002. 6. 1. 경상대학교)
- 5) 소금의 종류를 달리한 고추장의 발효특성; 양성은, 김동한(한국식품영양과학회 추계학술발표회, 2002.11.9. 원광대학교)
- 6) 김동한. 소금의 종류를 달리한 고추장의 발효 특성. 한국식품영양과학회 추계학술 발표회 2002. 11. 원광대학교
- 7) 김지혜, 김예슬, 임중환. 해조류를 이용한 생분해성 필름의 제조 (한국식품과학회 학술대회, 2003. 6. 26-28, 경주교육문화회관)
- 8) Preparation of water resistant Na-alginate films with CaCl₂ treatment; 임중환, 김지혜(한국식품과학회학술대회, 2003. 6. 26-28. 경주교육문화회관)
- 9) Crosslinking affects mechanical and moisture barrier properties of alginate and soy protein based films; 임중환, 김지혜, 이준호, 김수일(한국식품과학회학술대회, 2004.6.23-25, 강원도 용평리조트)
- 10) Enhancement of the water-resistance and physical properties of a sodium alginate film; 이은정, 김병용, 임중환(한국식품과학회학술대회, 2004.6.23-25, 강원도 용평리조트)
- 11) Microencapsulation of fish oil by sodium alginate; 조민, 임중환, 김병용(한국식품과학회학술대회, 2004.6.23-25, 강원도 용평리조트)

2. 논문발표

- 1) Jong-Whan Rhim, Sun-Young Park, and Mi-Sun Kim. Preparation of biodegradable films using glue plants. Food Sci. Biotechnol. 11(3): 280-284 (2002)
- 2) 조민, 김병룡, 임중환. 감마선과 유기산을 이용한 알긴산 (alginate) 용액의 저분자화에

- 대한 연구. 한국식품과학회지 35(1): 67-71 (2003)
- 3) 김동한, 임중환, 이상복. 해조소금의 성분 특성에 관한 연구. 한국식품과학회지. 35(1): 62-66 (2003)
- 4) 임중환, 김지혜, 김동한. CaCl₂ 처리에 의한 알긴산 필름의 물성 개선. 한국식품과학회지. 35(2): 217-221 (2003)
- 5) 김동한, 김승은, 임중환. 소금의 종류를 달리한 고추장의 발효특성. 한국식품과학회지. 35(4): 671-679 (2003)
- 6) 조민, 김병룡, 임중환. 감마선을 이용한 알긴산 용액과 분말의 저분자화에 대한 연구. 산업식품공학회 7(3): 141-145 (2003)
- 7) Jong-Whan Rhim. Preparation of water resistant Na-alginate films with CaCl₂ treatment. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 37: 323-330 (2004)
- 8) 임중환, 김지혜. 해조분말을 이용한 생분해성 필름의 제조. 한국식품과학회지, 36(1): 69-74 (2004)

3. 특허출원

- 1) 김동한, 임중환. 해조소금의 제조방법. (접수번호: 1-1-2003-5033063-63, 2003. 5.)

4. 기술이전

해조소금 제조기술을 참여업체인 (주)바이오테크에 기술이전

5. 회사 유치 및 창업 지원

회사명 : (주) 오엔씨

주소 : (사무실) 전라남도 무안군 청계면 도림리 61, 목포대학교 창업보육센터 11호실
(공장) 해남군 황산면 황산서초분교를 매입하여 공장 건설 중

대표이사 : 신규식

설립일 : 2004년 7월 1일

생산품목 : 기능성 김제품, 포피란 등

기타: 목포대학교 식품공학과 졸업예정자 (김혜정, 2005년 2월 졸업예정)이 김식품개발 업무를 위해 취업

(제 3 세부과제) 해조류의 생물학적 생체 이용성 조사 및 사료화 연구

1. 학회발표

- 1) 톳추출 fucoidan의 항생제 대체효과, 한국동물자원과학회 학술발표회, 2002. 6. 29
- 2) 해조류의 첨가에 따른 육계 장내 조직 변화, 한국동물자원과학회 학술발표회, 2002. 6.

- 3) 미역추출 fucoidan의 항생제 대체효과, 한국동물자원과학회 학술발표회, 2002. 6. 29
- 4) 해조추출 fucoidan 및 해조부산물의 첨가가 육계의 육성성적, 장기중량, villi 형태 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향, 한국동물자원과학회 학술발표회, 2003. 6
- 5) Silver-lite 의 첨가가 육계의 육성성적, 장기 중량, villi 형태 및 장내 미생물 성장에 미치는 영향, 한국동물자원과학회 학술발표회, 2003. 6
- 6) Fucoidan추출후 부산물의 유기비료화 가능성에 대한 시험, 한국동물자원과학회 학술발표회, 2003. 6
- 7) 열수분해 미역부산물의 첨가가 육계의 육성성적에 미치는 영향, 한국동물자원과학회 학술발표회, 2004. 6

2. 논문발표

- 1) 톳추출 Fucoidan이 병아리 장내 Villi 및 Salmonella 균주에 미치는 영향. 한국가금학회지 30(1): 41-47 (2003)

3. 기술이전

- 사계절축산, 기술이전 협약, 2004. 7
- 강원도 삼척시의 대단위 산란계 농장에 기능성 해조란 생산 기술 자문

제 7 장 결 론

본 과제 “해조류 가공과 기능성 물질 개발연구”를 수행하면서 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1.

○ 제 1세부과제에서 추진한 해조류가공과 기능성물질 개발연구에서는 해조성분에서의 유용색소(Fucoxanthin)의 추출과 부위별 함량 및 분광학적인 특성을 살펴보았으며 해조류로부터 Alginate의 함량 조사와 최적추출조건 확립에 대한 연구를 수행하여 AASA(Acid alkali soluble alginate) 추출방법에서 3% Na₂CO₃ 농도와, H₂SO₄의 농도 0.4 N에서 가장 높은 수율을 나타냈다.

○ 톳으로부터 산·알칼리(AASA) 방법으로 추출한 알긴산에 인위적으로 sulfate를 흡착 *Lactobacillus acidophilus*를 접종한 후 배양하면서 유산균의 성장에 대한 영향을 살펴 본 결과 모든 농도에서 이들 배지에 S-alginate를 첨가한 것이 유산균의 성장을 증가시켰으며, Ames test를 통해서 S-alginate는 돌연변이성을 전혀 나타내지 않았고, 항 돌연변이성은 직접변이원에 대하여 TA98균주는 14-19%, TA100균주에 대해서는 12-17%까지의 억제율을 보였으며 2%의 S-Alginate가 가장 높은 억제율을 나타내었다.

○ 해양유래 미생물로부터 생산되는 알긴산 분해효소 및 특성을 연구하기 위해 해양생물 소재에서 균주 탐색한 결과 알긴산 분해력이 높은 3가지 균주(*Vibrio alginolyticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella planticola*)를 분리 동정하였으며 이중 가장 큰 활성을 나타낸 *Vibrio alginolyticus* AL-K18를 대상으로 생산하는 효소의 특성을 연구하였다.

○ 미역의 부위 중 알긴산 함량이 높게 함유된 것으로 알려진 미역귀를 이용하여 미역 잼을 제조하였고, 김, 미역, 다시마의 물 추출물을 이용하여 물성이 우수하고 관능성적도 양호한 젤리를 제조하였다. 해조류 젤리를 상품화하는데 있어, 해조류가 갖는 해조취와 젤리색소의 안정화가 상품화의 요소로 대두되어 이를 차폐할 방안도 개발하였다.

○ 미역, 다시마, 멸치의 여러 성분과 된장과 간장의 영양 및 기능성이 향상된 제품을 개발하고자 미역, 다시마, 멸치 분말을 된장과 간장 제조 시 첨가한 후 발효 숙성하여 제품의 이화학적 특성, 품질특성 및 관능특성을 분석하여 우수한 품질의 제품을 개발하였고 2건의 특허 출원을 하였다.

○ 쌀 고유의 고소하고 부드러운 맛과 영양에 다시마와 미역의 독특한 풍미와 기능성을 부여한 스낵을 제조함으로써 해조류의 이용성 증진을 위해서 미역과 다시마의 농축액과 분말을 쌀가루와 혼합하여 압출성형방식에 의한 스낵제품의 개발하였다.

2.

○ 제 2세부과제에서 추진한 “해조류로부터 산업화 소재의 개발과 응용”은 알긴산 필름의 물성을 증진시키기 위하여 CaCl_2 를 필름용액에 직접 첨가하는 방법과 일단 필름을 제조한 후 필름을 CaCl_2 용액에 침지하여 처리하는 두 가지 방법을 사용하여 알긴산 필름을 제조한 결과 수분에 저항성이 강한 필름을 제조할 수 있었다.

○ 해조분말을 이용하여 산·알칼리 병용법으로 알긴산을 추출하고 필름의 물성 증진을 위하여 두 가지의 CaCl_2 처리방법을 적용하여 생분해성 필름을 제조해 본 결과 사용된 해조분말 (미역 잎, 미역줄기, 미역귀, 다시마, 톳) 중 톳을 제외하고는 모두 필름이 제조되었으며 이들 해조필름의 인장강도, 투습도, 수분용해도와 같은 필름의 물성이 순수한 알긴산으로 제조한 필름의 물성에 비해 떨어지나 본 연구의 결과는 미이용 해조분말이나 해조가공 부산물로 얻어지는 해조분말을 이용하여 새로운 생분해성 포장소재로 사용할 수 있는 가능성이 있음을 나타냈다.

○ 알긴산은 상온에서 용해 시간이 길고, 농도의 증가에는 고점도 특성을 보임에 따라 그 사용에 제한이 되고 있으므로 이러한 단점들을 해결하기 위해 저분자 알긴산의 필요하며 이의 제조를 위해 유기산과 방사선을 이용하여 저분자화 하였다.

○ 저 분자화된 Alginate를 이용하여 내부물질을 포집하며 점도가 높은 고지방식품(정제 어유)을 캡슐화하는 미세캡슐화 방법이 가능하였다.

○ 해조류와 소금물을 이용하여 해조소금을 제조하고 이화학적 특성과 무기성분을 비교한 결과 해조류의 회분함량은 미역이 많았고 김이 적었으나 무기성분으로 미역은 Na 함량이 많은 반면 다시마와 톳은 K와 Ca 함량이 많았다. 해조소금을 SEM에 의해 표면 관찰 한 바 소금의 외형이 작고 특징적인 결정구조를 보였다.

○ 천일염, 제재염, 해조소금, 죽염을 사용하여 고추장을 제조하고 숙성중의 품질특성을 조사하여 사용한 소금의 종류에 따른 영향을 조사한 결과 점조성은 해조소금 첨가구에서 높았으며 전체적인 기호도에서도 죽염과 해조소금 고추장이 양호하였다.

○ 다시마와 함초 마쇄물을 두유에 혼합하여 제조한 두부의 품질특성과 저장성을 연구한 결과 해조류를 첨가하여 두부를 제조하여 다당류나 무기질 등 영양적인 기능을 향상시킬 수 있었다.

3.

○ 제 3 세부과제에서 추진한 “해조류 생물학적 소재의 개발”에서는 해조류의 일반성분 및 아미노산 함량을 분석한 결과 사료첨가제로서 충분한 가치가 있었으나, 다량의 염분 함량으로 인하여 그 가치가 평가 절하되었다. 따라서 해조류의 사료적 가치를 증진시키기 위하여 발효처리를 하였으며, 그 결과 기능성 영양소(불포화지방산)가 증가되는 효과가 있었다.

○ 해조류가 함유한 천연물질의 기능성을 평가하기 위해 다당류인 fucoidan을 추출한 결과, 병원성 미생물인 Salmonella균에 대한 길항효과가 인정되었으나, 높은 추출비용으로 사료첨가제로서의 경쟁력이 없기 때문에 저비용 fucoidan의 추출방법으로 열수추출 방법을 이용하였으며 열수추출물의 건조비용을 절감하기 위하여 illite에 fucoidan 용액을 흡착한 후, 건조시키는 방법에 대하여도 검토하였다. 그 결과 열수추출 fucoidan과 illite에 흡착시킨 fucoidan을 브로일러에 급여 시험한 결과 증체량, 사료효율이 우수한 것으로 나타났다. 뿐만 아니라, villi의 성장, 장내 미생물에 대한 항균능력 및 영양소 이용성이 향상되었다.

○ 한편 해조류 및 해조 가공 폐자원의 비료화 가능성을 타진한 결과, 유기용매로 추출한 가공부산물은 강한 산성 및 질소와 인 함량이 부족하여 비료화하기에는 어려울 것으로 판단되지만, 열수추출 가공부산물의 경우에는 TKN 함량을 높일 수 있고, C/N ratio를 감소시킬 수 있으며, 토양의 buffer로서 가치가 있는 것으로 검토되어, 열수추출 해조부산물을 펠렛 가공을 통한 친환경 완효성 비료로서 만들 경우 유용할 것으로 판단되었다.

