

해조류 추출물로부터 항균제의 제조 및 항균효과

이학성 · 서정호* · 서근학**

울산대학교 화학공학부, *울산과학기술대학 공업화학과, **부경대학교 화학공학과

Preparation of Antibacterial Agent from Seaweed Extract and Its Antibacterial Effect

Hak-Sung LEE, Jung Ho SUH* and Kuen-Hack SUH**

Department of Chemical Engineering, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

*Department of Industrial Chemistry, Ulsan College, Ulsan 680-749, Korea

**Department of Chemical Engineering, Pukyong National University, Pusan 608-739, Korea

Silver-alginate (Ag-alginate) was prepared with Na-alginate extracted from marine brown algae. The antibacterial effect of Ag-alginate against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was carried out by measuring optical density of liquid culture at 600 nm. The cell growth of *S. aureus* and *E. coli* was very active at pH 7, and was inhibited by adding Ag-alginate with more than 0.006 wt.% of silver content. The cell growth of *S. aureus* and *E. coli* was also influenced by the characteristics of counter-ion of silver. The cell growth of *S. aureus* was less inhibitory than *E. coli* at the same concentration of Ag-alginate.

Key words: Ag-alginate, antibacterial agent, brown algae, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

서 론

생활수준의 향상에 따라 건강과 청결에 대한 관심이 높아지면서 미생물의 번식에 의한 악취와 감염을 억제하는 소재의 개발이 관심을 끌고 있다. 이러한 소재는 60년대 이전부터 개발되어 있었지만, 기술부족 및 시민의식 등으로 인하여 소비자들로부터 그다지 인기를 끌지 못하였으나 80년대부터 다양한 소재의 개발 및 기술의 발전과 더불어 건강과 쾌적성을 추구하는 시대적 흐름을 배경으로 급속한 성장을 하고 있다. 특히 에어컨이나 공기청정기, 냉장고의 필터에 항균 탈취제가 이미 장착되어 사용되고 있으며, 신발, 양말, 이불, 담요 등 침장 침구류 및 의사나 간호사의 유니폼이나 병원의 침대 매트리스, 붕대 등 의료분야에서도 항균 탈취 섬유유 사용이 필수적으로 인식되고 있다.

현재 개발되어 사용되고 있는 항균제로는 금속계 (Ricom, 1996), 방향족 할로젠 화합물계, 유기실리콘 제4급 암모늄계 (Mitsubishi Co., 1996), 페닐아미드계 (Unitika Ltd., 1996), 천연 고분자화합물계 (Dainichiseika Co. and Mitsubishi Co., 1997), 페놀계 화합물 등이 알려져 있다. 특히 금속과 금속화합물의 항균제에서 사용가능한 금속으로는 은, 구리, 아연, 알루미늄, 철, 니켈 및 크롬 등이 알려져 있으며, 이중에서 은과 구리가 가장 널리 사용되고 있다. 특히, 정수기의 활성탄에 사용되는 은이 살균효과가 우수한 것으로 알려지면서 은과 zeolite를 결합한 Ag-zeolite가 항균 탈취 섬유유의 제조 등에 가장 널리 사용되고 있다.

최근 카르복실기가 포함된 금속염 물질 (Dainichiseika Co. and Mitsubishi Co., 1997)이 항균제로서 이용가능성이 있는 것으로 알려지면서 천연 고분자화합물에 대한 연구도 부분적으로 수행되고 있다. 또한, 생물학적 흡착방법 (biosorption)을 이용하여 상수, 지하수 및 폐수 중에 함유되어 있는 중금속을 제거하는 기술이 개발되어 미국에서 일부 실용화되고 있으므로 이러한 기술을 이용하여 금속함유 항균제로서의 개발이 가능하다. 여러 가지의 중

금속을 제거하는데 이용되고 있는 생물학적 흡착제로는 균류, 박테리아 및 조류 등이 있으며 (Gadd, 1988), 이 중에서 조류에 의한 방법이 가장 경제적이고 효율적이며, 갈조류에 많이 포함되어 있는 alginate가 중금속과 결합하는 것으로 알려져 있다 (Volesky and Holan, 1995).

본 연구에서는 바다에서 비교적 풍부하고 값싸게 얻어질 수 있는 갈조류 (brown algae) 중에서 중금속 흡착능력이 우수하다고 알려진 *Sargassum fluitans*와 국내연안에서 많이 채취되는 미역과 다시마로부터 추출한 alginate를 은과 반응시켜 생성된 Ag-alginate를 사용하여 대장균 (*Escherichia coli*) 및 포도상구균 (*Staphylococcus aureus*)에 대한 항균효과를 조사하였다. 특히, Ag-alginate가 항균제 품에 사용되었을 경우, 미생물이 활동하기 좋은 습도조건에서 수용성 특성을 나타내므로 은 이온의 용출제어가 용이하여 항균효과를 극대화시킬 수 있는 장점이 있다 (Lee, 1999).

재료 및 방법

Ag-alginate의 제조

본 연구에서 사용된 해조류는 *Sargassum fluitans*, 미역 (*Undaria pinnatifida*) 및 다시마 (*Laminaria japonica*)로서 가장 연안에서 채취하여 햇볕에서 건조한 후, 정확한 alginate 추출량을 분석하기 위하여 건조기에서 50°C, 24시간 동안 건조시켰다. 건조된 biomass 10g를 0.1N HNO₃ 1L 용액에서 12시간 동안 진탕시켜 추출이 용이하도록 알긴산으로 전환하고, 2% Na₂CO₃용액 1L에 넣고 24시간 동안 진탕한 후, 여과하여 alginate 추출용액을 제조하였으며, 에탄올로 세척 및 원심분리과정을 3회 반복하여 추출용액을 정제하고 불순물을 제거하였다 (Percival and McDowell, 1967). 추출된 Alginate 함량분석은 poly (hexamethylene biguanidinium chloride) [PHMBH⁺Cl⁻] 적정시약과 자외선 분광 분석기를 사용하여 Kennedy and Bradshaw (1987) 방법으로 수행하였다.

상기의 alginate 추출용액에 AgNO₃ 적당량을 넣고 약 6시간 동안 실온에서 교반하여 Ag-alginate를 제조하였으며, alginate/은이온의 몰 비율은 1.0으로 조절하였다. Alginate 추출용액에 AgNO₃를 용해시킬 때 alginate의 일부가 침전물로 생성되므로 일정 시간 방치 후, 상등액과 침전물을 분리하여 각각의 은 함량을 Atomic Absorption Spectrophotometer로 분석하였으며, 여액과 침전물에 대해 각각 항균실험을 수행하였다.

배지 및 배양

사용시험균주는 각종 항생제에 내성이 많이 생긴 것으로 알려진 황색 포도상구균 (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538)과 식품오염 지표로 사용되는 대장균 (*Escherichia coli* IFO 3301)을 울산대학교 미생물학 연구실에서 분양받아 사용하였으며, plate counter agar (PCA) 2.35 g (조성 : Tryptone 5 g, Yeast Extract 2.5 g, Dextrose 1 g, Agar 15 g)을 3차 증류수 100 mL에 녹인 후, autoclave에서 121°C, 15분간 고압멸균한 고체배지에서 대장균은 28°C, 포도상구균은 37°C에서 48시간 동안 배양 후, 4°C에서 냉장 보관하고 주기적으로 계대 배양하였다.

액체배지는 Tryptone 1 g, Yeast Extract 0.5 g, NaCl 1 g을 50 mL의 3차 증류수에 용해시킨 후, autoclave에서 121°C, 15분 동안 고압 · 멸균하여 seed culture로 사용하였으며, main culture는 seed culture 제조법과 동일하나 시료와 증류수의 양을 100 mL로 하여 제조하였다. Clean bench에서 상온으로 냉각시킨 액체배지에 냉장 보관된 고체배지로부터 종균을 접종시키고, water bath에서 대장균 (28°C, 12시간)과 포도상구균 (37°C, 24시간)의 seed culture를 배양시킨 후, seed culture 0.3 mL를 원하는 조성으로 제조된 main culture 100mL에 접종하여 seed culture와 같은 조건으로 배양하였다. 또한 배양 중 pH 변화를 억제하기 위하여 main culture 100 mL에 완충용액 0.5 g을 첨가하였으며, pH별 첨가된 완충용액은 Table 1에 나타내었다.

항균효과 시험 및 분석

Ag-alginate의 항균성을 조사하기 위해, Ag함량 기준으로 0~0.015 wt.%의 항균제를 그람음성균주인 대장균 및 그람양성균주인 포도상구균의 main culture 배양액에 첨가하여 균체의 성장억제를 측정하였다. 항균효과 시험은 배양과정을 조사하기 위하여 2시간 마다 배양액을 채취하고 25배 희석하여 자외선분광분석기

(HP 8452A)를 사용하여 600 nm의 파장에서 흡광도 (optical density)를 이용하여 미생물 농도의 변화과정을 조사하였다 (한국미생물학회, 1987). 또한, 성장기에 있는 액체배지의 main culture를 102, 104, 106, 108, 1010배로 희석하여, 고체배지에 삼각 유리봉을 이용하여 분산 · 도말하고, 배양기에서 대장균 (28°C, 24시간)과 포도상구균 (37°C, 48시간)을 배양한 후, 미생물의 성장과 기타 세균에 의한 오염여부를 정성적으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

Alginate 분석 및 Ag-alginate의 제조

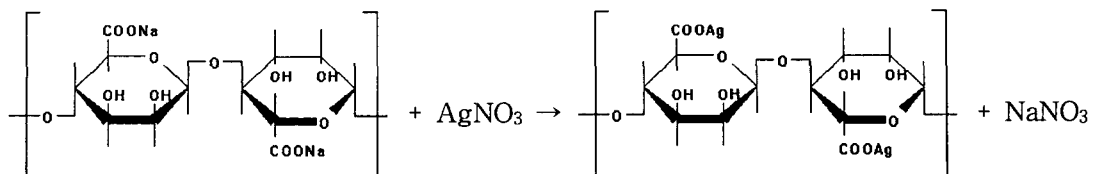
해안에서 건조된 갈조류는 Na, K, Mg 및 Ca 등의 light metals이 alginate와 결합되어 있지만, 1단계의 추출과정 (산처리)에서 거의 모든 light metals이 수소이온에 의해 치환되어 용해되기 쉬운 알긴산으로 전환되며, 2단계의 추출과정 (Na₂CO₃ 처리)에서 알긴산이 추출되면서 수소이온이 Na이온과 이온교환되어 Na-alginate가 생성된다. *S. fluitans*, 미역 및 다시마로부터 추출한 용액의 alginate를 Kennedy and Bradshaw (1987) 방법으로 분석한 결과, 갈조류 단위 질량당 각각 32%, 35% 및 37% 이었으며, GPC (gel permeation chromatography, HP 1047A)에 의한 평균 분자량을 측정한 결과, 각각 2,120, 1,897 및 1,610 이었다. 아래의 반응식과 같이 Na-alginate의 단위 분자량이 196인 것을 감안하면, 평균 중합도는 10.8, 9.7 및 8.2 이었다.

0.0139 mol/L (0.272 wt.%)의 Na-alginate 추출용액에 0.0139 mol/L의 AgNO₃ (0.15 wt.% Ag)를 첨가하면 상기의 반응과 같이 Na-alginate의 Na이온이 Ag이온과 교환되어 Ag-alginate가 생성되는데, 반응진행 정도는 Ag이온과 Na이온이 alginate와의 친화력 차이에 기인된다. 미역의 경우에는 추출용액에 소량의 요오드 성분이 남아 있어 AgI의 생성에 의해 옅은 보라색으로 변하였다. 그러나 모든 갈조류의 경우, Na-alginate 추출용액에 AgNO₃를 첨가하면 Ag-alginate의 침전물이 생성되었으며, 이러한 침전물은 *S. fluitans*, 미역, 다시마의 순서로 alginate의 평균 분자량이 클수록 많이 생성되었다. 이러한 침전물을 여과 · 분리하여 0.1N HNO₃ 용액에 용해시켜 원자흡광분석기 (Shimatsu AA 680, Japan)로 용액을 분석한 결과, Ag이온만 검출되었으며, Na이온은 전혀 검출되지 않았다. 즉, 중합도가 높은 alginate와 결합한 Ag이온은 경화 반응을 촉진하여 침전물을 형성하며, 중합도가 낮은 alginate는 용해된 상태에서 Ag 및 Na이온과 평형을 이루고 있는 것으로 판단된다.

Fig. 1에는 Ag-alginate 및 Na-alginate에 대한 적외선 스펙트럼 (FT-IR)을 나타내었는데, C-O chelate stretching peak가

Table 1. Buffer solution for pH in main culture

pH	4	5.5	7	8.5	10
완충용액	CH ₃ COONa	KH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄	Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O	Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O



1416 cm^{-1} (Na-alginate)에서 1382 cm^{-1} (Ag-alginate)으로 조금 변경된 것을 제외하고는 나머지 peak는 거의 동일하였으므로 상기 반응식의 C-O bond에 금속이온이 결합되는 것을 확인할 수 있다. Na이온이 수소이온으로 치환된 알긴산의 경우, 이러한 C-O chelate stretching band가 매우 약하게 나타났다 (Fourest and Volesky, 1996).

Cell growth에 대한 pH의 영향

Fig. 2에는 main culture전의 seed culture에 대한 성장곡선을 pH 7에서 배양시간 경과에 대해서 나타내었는데, 포도상구균의

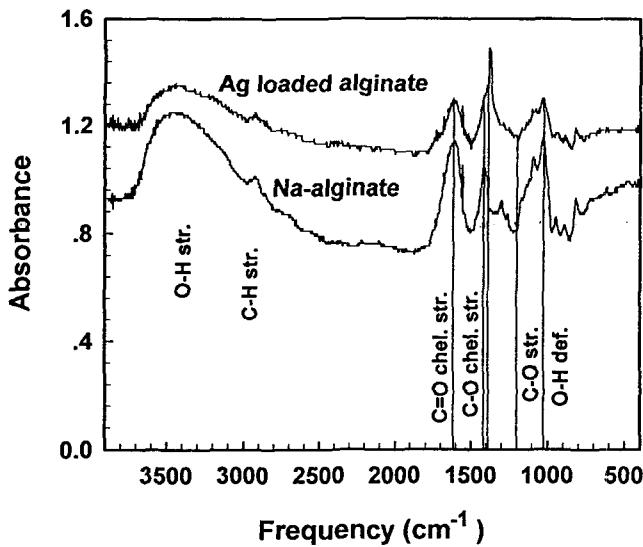


Fig. 1. Fourier transformed infrared spectra from Na-alginate or Ag loaded alginate. 50 mg KBr disks for FTIR contained 10% of finely powdered materials. str.=stretching, chel. str.=chelate stretching, def.=deformation

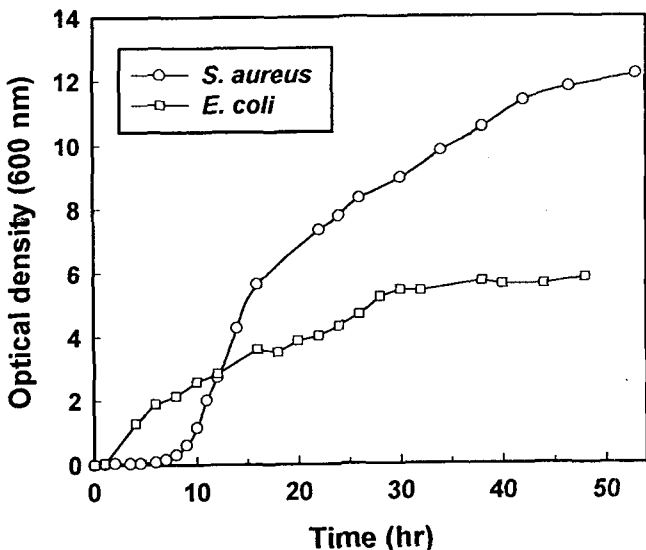


Fig. 2. Cell growth in seed culture for *S. aureus* and *E. coli* at pH 7.

경우, 8시간 정도까지 거의 성장하지 않고 있다가 약 12~16시간 사이에서 급격한 성장을 나타내고 있으며, 대장균의 경우, 30시간 정도까지 완전한 성장을 하다가 30시간 이후부터 성장이 거의 정지된 것을 알 수 있었다. 이러한 결과를 참조하여 seed culture로부터 대장균은 12시간, 포도상구균은 24시간 배양 후, main culture로 옮겨서 제조된 항균제의 조성에 대한 항균효과를 시험하였다.

Main culture에서 최적 배양조건을 확립하기 위하여 여러 pH에서 포도상구균 및 대장균의 성장곡선을 Fig. 3 및 Fig. 4에 나타내었다. 포도상구균의 경우, pH 7에서 가장 성장이 활발하였고, 48시간까지 계속적으로 성장하였으며, pH 4, pH 8.5 및 pH 10에서는 거의 성장하지 않았다. 대장균의 경우는 산성과 염기성에서도 어느 정도 성장을 나타내었으며, pH 7에서 가장 활발한 성장을 하였다. 그러므로 항균제에 대한 항균효과의 성능을 시험하기 위하여 미생물의 성장이 가장 활발한 pH 7.0에서 수행하였다.

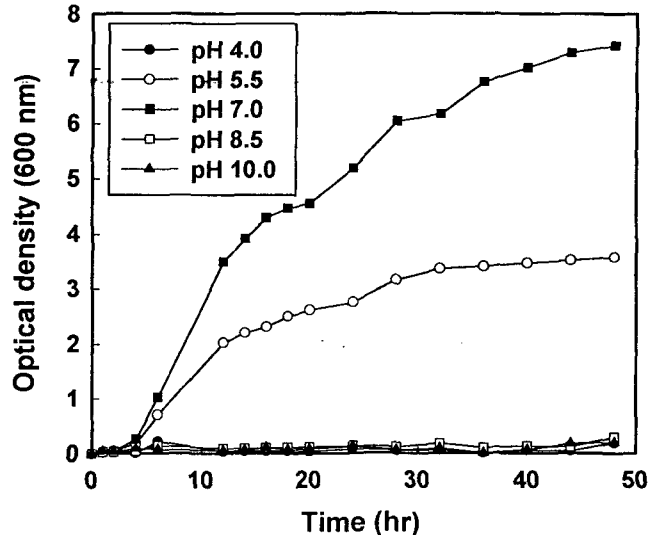


Fig. 3. Cell growth in main culture for *S. aureus*.

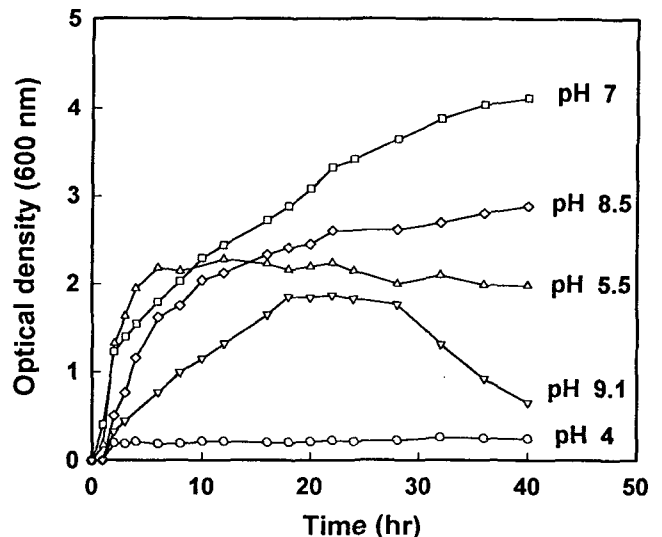


Fig. 4. Cell growth in main culture for *E. coli*.

Ag 함량에 대한 항균효과

*S. fluitans*로부터 추출하여 정제한 Na-alginate 0.0139몰 (2.72 g) 을 3차 증류수 1 L에 용해시킨 용액에 0.0139 mol/L의 AgNO₃를 첨가하여 24시간 동안 반응하여 Ag-alginate를 제조하였다. 반응 후의 용액에는 침전물이 생성되지만, 여과하여 분리된 액상을 배양액에 첨가하여 항균효과를 시험하였다. 항균효과를 정량적으로 시험하기 위해서는 항균제 주입량을 원하는 양으로 조절하기 용이한 액상항균제를 선택하였는데, 침전물로 생성된 고체항균제는 주입량을 일정하게 조절하기 힘들었으며, 분석을 위하여 2시간마다 시료채취시 침전물이 떨어져 나오는 경우가 있기 때문이었다.

Fig. 5 및 Fig. 6에는 main culture 100 mL에 제조된 Ag-alginate 0~10 mL를 첨가하여 배양기에서 대장균 (28℃)과 포도상구균

(37℃)을 배양하면서 배양시간에 따른 미생물의 농도를 측정하였다. 포도상구균의 경우, 배양액에 0.003 wt%의 은이 함유될 때 약간의 항균효과를 나타내었으며, 0.006~0.015 wt%의 은이 첨가될 때는 미생물이 거의 성장되지 않음을 알 수 있다. 대장균의 경우, 배양액에 0.003 wt%의 은이 첨가되더라도 미생물이 전혀 성장하지 않았으며, 포도상구균보다 항균제에 대한 저항력이 약한 것을 알 수 있다.

Fig. 7 및 Fig. 8에는 2% Na₂CO₃용액을 사용하여 미역으로부터 추출한 정제하지 않은 alginate 용액에 동일한 몰수의 AgNO₃를 첨가한 후 24시간 동안 반응하여 Ag-*U. pinnatifida*를 제조하였으며, 은 함량에 따른 항균효과를 시험하여 나타내었는데, 은 함량의 증가에 따른 배양액 중의 포도상구균과 대장균에 대한 항균력은

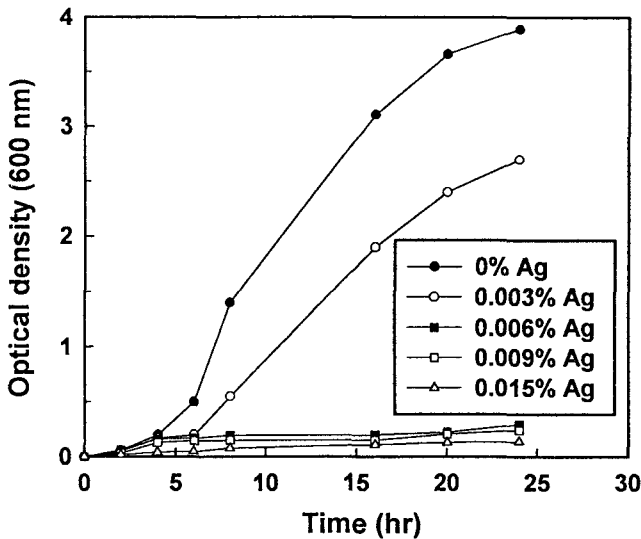


Fig. 5. Antibacterial effect of Ag-alginate for *S. aureus* at pH 7.

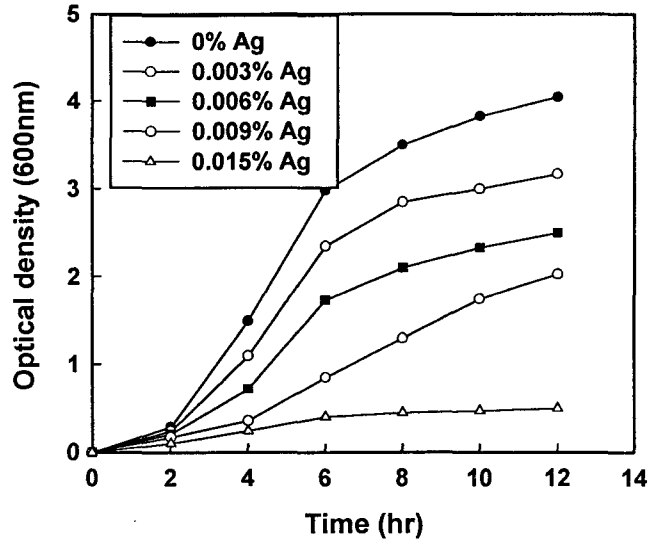


Fig. 7. Antibacterial effect of Ag-*U. pinnatifida* for *S. aureus* at pH 7.

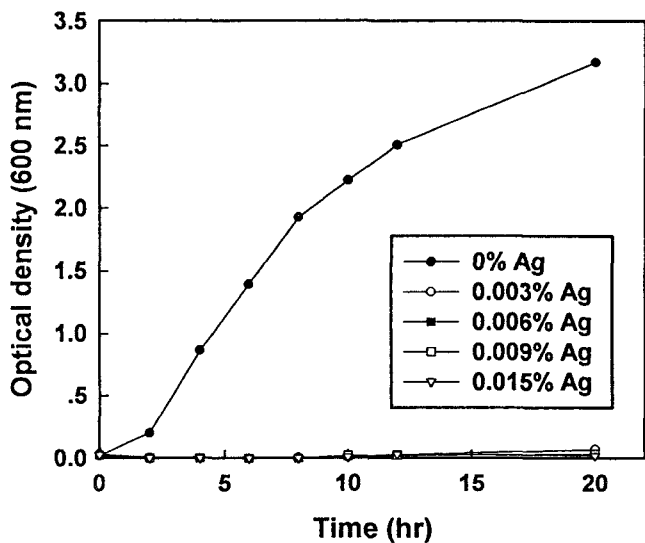


Fig. 6. Antibacterial effect of Ag-alginate for *E. coli* at pH 7.

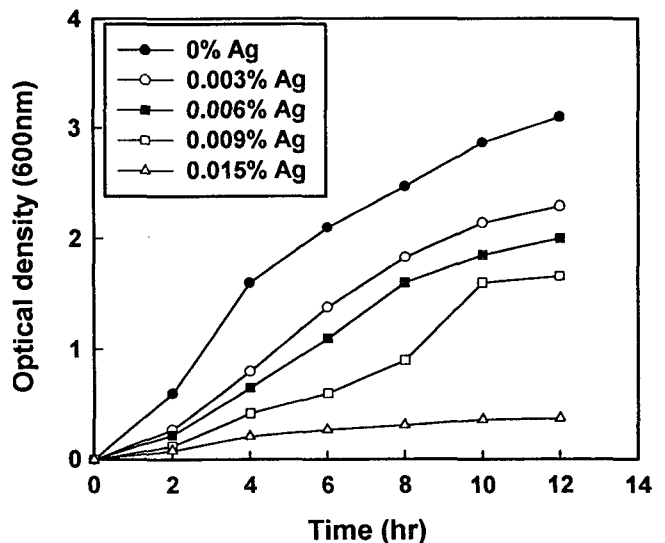


Fig. 8. Antibacterial effect of Ag-*U. pinnatifida* for *E. coli* at pH 7.

비슷한 경향을 보여 주고 있다. 다시마에 대해서도 동일한 추출과정을 거쳐서 제조한 Ag-L. japonica에 대해서도 Ag-U. pinnatifida의 경우와 같이, 포도상구균과 대장균에 대해서 동일한 실험을 수행하였지만, 비슷한 항균효과 및 경향을 나타내었다 (Unpublished data). 이때 Ag-L. japonica 및 Ag-U. pinnatifida 용액은 소량의 보라색의 침전물과 엷은 보라색을 나타내었으며, Ag-U. pinnatifida 용액이 Ag-L. japonica 용액보다도 더 짙은 보라색을 띄고 있었다. 그러나 Fig. 5 및 Fig. 6에 나타낸 결과보다도 항균효과가 다소 낮았는데, 이것은 은 함량은 동일하지만, 미역 및 다시마로부터 정제하지 않은 alginate의 경우, alginate의 분자량 분포도가 넓어서 저분자량의 용해성 alginate가 첨가된 은 이온과 결합하지 않고, 미역 및 다시마의 추출용액 중에 포함되어 있는 요오드가 은이온과 결합하여 부분적으로 AgI의 침전이 생성된 것으로 사료된다. 이러한 결과로부터 항균제 중에 포함된 은 함량이 미생물의 성장에 큰 영향을 미치고 있다는 것을 알 수 있다.

항균제 종류에 대한 항균효과

Fig. 9 및 Fig. 10에는 main culture 100 mL에 은 함량이 0.01 wt.%가 되도록 여러 종류의 항균제를 첨가하여 미생물의 성장을 측정하였다. 미역과 다시마의 경우, 이미 앞에서 언급한 바와 같이, alginate 추출용액을 정제하지 않았으며, S. fluitans의 경우, 추출한 alginate 용액을 분리·정제하여 사용하였고, Fisher의 경우, Fisher Scientific사의 시약용급 Na-alginate (BP185-1)를 사용하여 Ag-alginate를 제조하였다. Zeoclean은 국내의 (주)다우바이오에서 제조하여 항균제로서 판매되고 있는 항균 액체세라미인 Ag-zeolite 수용액 (SB 10)이며, Zeomic은 일본 (주)시나넨에서 판매하고 있는 수용액상의 Ag-zeolite 계통의 항균제이다. 모든 항균제들의 항균성능이 포도상구균과 대장균에 대해서 유사한 효과를 나타내고 있으며, 정제된 alginate 추출용액 및 시약용급 Na-alginate로부터 제조한 Ag-alginate와 수용액 중에서 균일한 분산성을

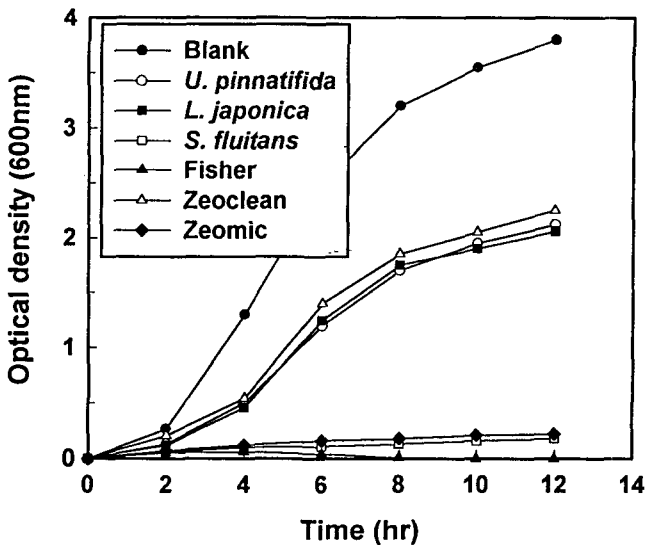


Fig. 9. Cell growth of different antibacterial agent for *S. aureus* at pH 7.

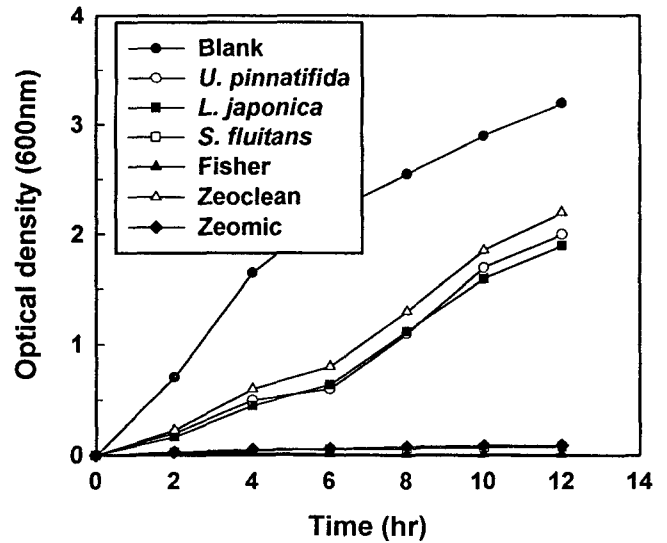


Fig. 10. Cell growth of different antibacterial agent for *E. coli* at pH 7.

나타내고 있는 Zeomic이 우수한 항균효과를 보여주고 있다. Zeoclean의 경우, 수용액 중에서 Ag-zeolite의 분산이 양호하지 못하여 교반 후 방치하여 두면 침전형태로 가라앉아 고액 분리가 생기는 현상이 나타났으며, 미역 및 다시마로부터 추출하여 정제하지 않고 사용한 Ag-alginate와 비슷한 항균효과를 나타내었다.

일반적으로 은을 포함한 금속이온의 항균메카니즘은 금속이온이 미량의 수분에 용해되어 미생물의 세포로 이동하여 항균성을 발현하게 되는데, 미생물의 세포가 zeolite나 alginate보다 금속이온에 대한 친화력 (affinity)이 클 경우, 금속이온의 이동이 더욱 활발하게 진행된다. 탈리된 금속이온이 배양액 중에 용해되어 미생물의 세포로 이동하면, 세포막에 존재하는 효소의 대사기능이 저해되며, 특히 호흡기능이 파괴되고 세포질이 누출된다. 또한, 미생물의 세포막을 통과한 금속이온이 세포내 효소의 -SH기와 결합하여 효소의 활동저하로 인한 미생물의 생육을 억제/사멸시키고, 악취를 제거하는 작용도 하게 된다 (Franklin and Snow, 1989). 그러나 Fig. 9 및 Fig. 10에 나타낸 결과로부터 항균제 중에 포함되어 있는 은 함량이 항균 효과에 영향을 주고 있으며, 항균성능을 극대화 할 수 있는 최적의 은 함량을 어느 정도 결정할 수 있지만, 은 이온과 결합한 상대 이온의 성장에도 미생물에 대한 항균성능이 큰 영향을 받고 있으므로 이에 대한 항균메카니즘의 규명이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 갈색 해조류로부터 추출한 alginate를 사용하여 제조한 Ag-alginate에 대한 최적의 은 첨가량을 구하여 항균성능을 측정하고, 기존의 상품으로 판매되고 있는 항균제의 성능과 비교하였다.

포도상구균과 대장균의 성장은 pH 7에서 가장 활발하였으며, 포도상구균은 pH에 매우 민감하였으나, 대장균은 pH 변화에 대

한 저항력을 어느 정도 나타내었다. 포도상구균은 배양 초기에 일정기간의 사상시간 (dead time)이 경과한 후 급격하게 성장하였고, 대장균은 약 20분 이내의 사상시간이 경과한 후 완만하게 성장하였다. 해조류로부터 추출한 alginate를 정제하여 제조한 Ag-alginate의 경우, 포도상구균 및 대장균에 대해서 0.006 wt.% 은을 첨가한 배양액에서 우수한 항균성능을 나타내었으며, 포도상구균보다 대장균에 대하여 더 강한 항균력을 나타내었다. 그러나 미역 및 다시마로부터 추출한 alginate를 정제하지 않고 제조된 Ag-alginate의 경우, 포도상구균 및 대장균에 대한 항균성능은 현저하게 감소되었다.

국내에서 수입되어 항균섬유용으로 많이 사용되고 있는 Ag-zeolite계 제품의 항균력과 비교하여도 유사한 항균성능을 나타내고 있으므로 Ag-alginate는 수술용 붕합사, band, gauze, 붕대 등과 같은 의료용 섬유에 사용이 가능하다고 판단된다.

감사의 글

본 논문은 1998년 한국학술진흥재단의 과학기술기초과제 (수산과학) 연구비에 의하여 지원되었으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Dainichiseika Color & Chem. and Mitsubishi Rayon Co., 1997. Chitosan added fibre for clothes avoiding coloring for antibacterial property, JP09041270.
 Fourest, E. and B. Volesky, 1996. Contribution of sulfonate groups and alginate to heavy metal biosorption by the dry biomass of

Sargassum fluitans, Environ. Sci. & Technol., 30, 277~282.
 Franklin, T.J. and G.A. Snow. 1989. Biochemistry of antimicrobial action. 4th ed. Chapman and Hall. London, pp55~72.
 Gadd, G.M. 1988. Accumulation of metals by microorganisms and algae, In *Special Microbial Processes*, Vol.6b, H.J. Rehm, ed. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany, pp401~433.
 Holt, J.G., 1986, Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2, Gram-positive bacteria of medical or industrial importance, Williams and Wilkins, Baltimore, pp181~204.
 Kennedy, J.F. and I.J. Bradshaw. 1987. The rapid quantitative determination of alginates by poly (hexamethylene biguanidinium chloride) complexation in industrial liquors extracted from brown seaweed, Carbohydrate Polymers, 7, 35~50.
 Lee, H.S. 1999. Antibacterial agent based on Ag-alginate to be used for fiber, Korea Pat. Application No.99-20375.
 Mitsubishi Mat'ls Corp. 1996. Antibacterial, antifungal agent comprising a salt formed between a hydrolysable silane compound having guanidyl group and an organic acid, JP08283109.
 Percival, E. and R.H. McDowell. 1967. Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides, Academic Press, London, U.K., pp 137~143.
 Ricom, K.K., 1996. Antibacterial agent containing silver-carried optical semiconductor titania and resin, JP09273074.
 Unitika Ltd., 1996. Antibacterial agent containing N and aminophosphazene compound, JP08337968.
 Volesky, B. and Z.R. Holan. 1995. Biosorption of heavy metals, Biotechnology Progress, 11, 235~250.
 한국미생물학회, 1987. 미생물학실험, 아카데미서적, 서울 pp121~124.

1999년 8월 31일 접수
 1999년 12월 17일 수리