

## 미생물을 이용한 해조류의 가수분해 및 이용

### Ⅲ. 부식소나무의 미생물군으로부터 해조 분해능을 갖는 균주의 분리

김해섭 · 최옥수\* · 강동수 · 김지만 · 김귀식 · †배태진

여수대학교 식품공 · 영양학부, 순천제일대학 식생활부\*

## Studies on the Hydrolysis of Seaweed using Microorganisms and Its Application

### Ⅲ. Isolation of Seaweed Hydrolytic Strain from Microfloras in Decayed Pine Tree

Hae-Sub Kim, Ok-Soo Choi\*, Dong-Soo Kang, Ji-Man Kim, Kui-Shik Kim and †Tae-Jin Bae

*Division of Food Technology and Nutrition, Yosu National University*

*Division of Food Science, Suncheon First College\**

#### Abstract

This is a part of study on the hydrolysis of seaweed using microorganisms. A microflora sample obtained from a decayed pine tree was purified by pure culture of 4 times. As the result, 16 isolated strains were obtained from the microflora sample and then each strain was incubated in a liquid medium with sea tangle powder for 3 weeks. Ratios of reduced sugar to total sugar of 08A211, 08C221 and 08B121 strains were highest. Accordingly, these three strains were incubated in 3 different liquid media of sodium alginate, sea tangle powder, and sea mustard powder for 3 or 4 weeks. The ratios of reduced sugar to total sugar and cell growth were measured once a week. Cell growth and ratios of reduced sugar to total sugar was highest for 08B121 in all the liquid media.

Key words : seaweed, hydrolysis, microflora, sea tangle, sea mustard.

#### 서 론

최근에 생활수준의 향상과 더불어 식생활 패턴이 서구화되면서 육류섭취의 증가, 과도한 에너지의 섭취 및 정제된 식품에 대한 기호 증가로 식단의 불균형이 심화되고 있는 가운데 이러한 불균형을 개선하는 데 바람직한 소재로 해조류를 추천하고 있다.

알긴산이 다량 함유된 해조류의 성분을 효과적으로 추출하기 위해서는 조체를 고온 고압처리하거나,

초고압이나 방사선으로 조체를 연화시킨 뒤 추출하는 방법<sup>1,2)</sup>, 그리고 산과 알칼리 처리에 의하여 수율을 높이려는 시도가 있다<sup>3)</sup>. 그러나 이러한 방법은 다시마 고유의 향미에 영향을 줄 우려가 있다. 미생물 효소에 의한 알긴산의 분해에 관한 연구로는 해수 및 해양토양으로부터 분리한 네 종류의 미생물이 정제된 알긴산뿐만 아니라 해조도 분해한다고 Waksman and Allen<sup>4)</sup>이 처음 보고한 이래 몇몇 연구자들의 지속적인 보고가 있었다. Joo et al.<sup>5)</sup>은 알긴산 분해균

† Corresponding author : Tae-Jin Bae, Division of Food Technology and Nutrition, Yosu National University, San 96-1 Dundeok-Dong, Yosu, Jeonnam, 550-749 Korea.

Tel : 061-659-3216, Fax : 061-653-6313, E-mail : bae5658@yosu.ac.kr

*Vibrio* sp. AL-145가 생산하는 균체내 효소의 정제 및 특성에 관하여 연구하였다. 최근 알긴산 이용의 범위를 확대하기 위해 여러 가지 연구가 행해지고 있으며, 그 한 분야로 미생물에 의한 알긴산의 분해에 대한 연구이다<sup>6-10)</sup>. 이외에도 알긴산의 부분적인 효소분해에 의한 특성 변화<sup>11)</sup>, 효소분해에 의한 알긴산 올리고당류의 제조<sup>12)</sup>, 해조 다당류의 추출에 미치는 방사선 조사의 효과 검토<sup>13)</sup> 등이 있다. 한편 cellulose 분해효소를 생산하는 미생물로는 *Cellulomonas* 속<sup>14-16)</sup>, *Pseudomonas* 속<sup>17,18)</sup>, *Clostridium* 속<sup>19-21)</sup>, *Cellovibrio* 속<sup>22,23)</sup>, *Cytophaga* 속<sup>24)</sup>, *Chaetomium globosum*<sup>25,26)</sup> 및 *Fusarium moniliforme*<sup>27)</sup> 등이 보고되어 있다.

본 연구에서는 예비실험을 통해 해조의 조직과피, 즉 다시마, 미역, 돌가사리, 툫 및 가시파래에 접종하여 환원당, 전당, 추출물 및 분해율을 검토한 결과에서 그 가수분해가 인정되었던<sup>28,29)</sup> 부식한 소나무에서 채취한 미생물군 시료를 사용하여, 몇 단계의 순수배양과 성분분석을 통하여 해조분해능을 갖는 단일 미생물을 분리하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 해조류

실험에 사용한 재료 중 다시마(*Laminaria japonica*)는 전남 완도연안에서, 미역(*Undaria pinnatifida*)은 전남 여수 연안에서 각각 생산되어 건제품으로 판매되는 것을 구입하여 건조시켜 -40℃ 동결고에 보관하여 두고, 실험 직전에 고속분쇄기를 이용하여 100 mesh 이하로 분쇄한 것을 사용하였다.

#### 2) 미생물

본 실험에 사용한 미생물은 다시마, 미역, 돌가사리, 툫 및 가시파래에 접종하여 환원당, 전당, 추출물 및 분해율을 검토한 결과에서 그 가수분해가 인정되었던<sup>28,29)</sup> 부식한 소나무에서 채취한 미생물군으로부터 순수 분리하였다. 미생물의 순수분리는 부식한 소나무에서 채취한 미생물군 시료에 대하여 다시마분말 첨가 고체배지를 이용하여 4차에 걸쳐 순수배양을 실시하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) 알긴산 배지 제조

알긴산 분해능을 관찰하기 위한 알긴산 배지는 Kitamikado *et al.*<sup>30)</sup>이 보고한 peptone 배지 조성 중 일부를 변형하여 만든 배지로서 Table 1에 나타내었다. 우선 액체배지 A에 분리 균주를 접종하여 72시간 전 배양하였다. 이 배양액을 100 ml의 액체배지 B에 2 ml 씩 접종하고 30±1℃의 배양에서 7일간 배양한 액으로 알긴산 분해능 측정에 사용하였다.

#### 2) 다시마와 미역 배지 제조

다시마 배지는 알긴산 분해 균주의 분리와 분해능 측정에 사용한 배지를 응용하여 조제하였다. 즉 다시마 분해능이 있는 균주의 분리에 사용한 배지는 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaCl, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, KCl 및 bacto-agar를 함유하는 pH 7.6의 하층배지와 다시마분말과 bacto-agar를 함유하는 pH 7.6의 상층배지를 사용하였다<sup>31)</sup>. 한편 다시마의 분해능과 균체의 성장율을 측정하기 위한 배지는 Table 1의 알긴산배지에서 sodium alginate 대신에 다시마 또는 미역분말을 첨가하여 조제한 액체배지들을 사용하였다.

#### 3) 전당 측정

전당은 phenol-sulfuric acid법으로 시료용액 1 ml (10~100µg/ml)를 시험관에 취하여, 5% phenol 용액 1 ml를 가한 후 혼합하고, 여기에 진한 황산 5 ml를 가하여 발열시키며 잘 혼합하였다. 이 반응액을 실온에서 30분 방치한 후 470 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하고, 환원당 함량을 구하였다.

#### 4) 환원당 측정

환원당 함량 측정은 Somogyi-Nelson법으로 먼저 조제한 시료용액 1 ml와 구리시약 1 ml를 시험관에 각각 취하고, water bath에서 20분간 가열하여 산화제1구리(Cu<sub>2</sub>O)를 생성시켰다. 여기에 몰리브덴용액 1 ml를 가

Table 1. Compositions of alginic acid media

	Medium A	Medium B	
Bacto-peptone	5.0 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 g
Sodium alginate	5.0 g	NaCl	8.5 g
NaCl	8.5 g	FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.01 g
Distilled water	1,000 ml	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.5 g
pH	7.6	KCl	0.5 g
		Sodium alginate	10 g
		Distilled water	1,000 ml
		pH	7.6

하여 발색시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하고, 환원당 표준시약에 의한 검량선으로부터 환원당을 정량하였다.

#### 5) 분해율

분해율은 추출액 중의 전당에 대한 환원당의 비율로 나타내었다.

#### 6) 균체 성장 측정

각각의 배양조건에서 배양한 액을 충분히 교반한 다음, 620 nm에서 흡광도를 측정하고, 균을 접종하지 않은 액체배지의 흡광도 값으로 보정한 것을 균체 성장의 지표로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 단일 균주 분리와 분해능

부식한 소나무에서 채취한 미생물균 시료에 대하여 4차에 걸쳐 순수배양을 실시한 결과 16균주를 분리하였으며, 이들 균주를 다시마분말 첨가 액체배지에서 3주간 배양하며, 1주 간격으로 전당과 환원당의 함량을 측정하고, 그 결과로 이들 균주의 다시마 분해율을 계산하여 Table 2에 나타내었다. 순수 분리한 16균주는 모두 대조구에 비해 배양 전 기간에 높은 분해율을 나타내었다. 배양 1주에 대조구의 0.82%에 비해 소나무에서 채취한 미생물균에서 순수 분리한 균주들을 접종한 실험구에서는 2.75~19.45%로, 배양 2주에서는 대조구 1.03에 비해 5.00~27.31%로, 배양 3주에서는 대

조구 1.26에 비해 5.76~33.05%로 각각 배양기간이 길어짐에 따라 대조구와 실험구와의 차이는 더욱 크게 나타났다. 실험구들 중에서는 배양 전 기간에 대체로 08A211균주가 높은 분해율을 나타내었는데, 배양 1주에 18.41에서 배양 2주까지 급속히 증가하여 27.31%를 보였으며, 배양 3주까지 계속 증가하여 33.05%로 모든 균주 중에 가장 높은 분해율을 보였다. 다음으로 배양 3주를 기준으로 08C221균주가 24.88%, 08B121균주가 23.18%로 나타났다. Table 2에서 보듯이 이들 3균주는 배양 1주부터 20%에 가까운 아주 높은 분해율을 보이는 반면 나머지 균주에서는 배양 3주에도 10%를 넘기지 못하는 낮은 분해율을 보였다. 따라서 이들 3균주에 대한 좀 더 많은 검토를 통하여 해조를 효과적으로 가수분해 시키는 균주를 선택하고자 다음 실험을 진행하였다.

### 2. 분리 균주의 분해능

#### 1) 알긴산 분해능

##### (1) 균의 성장

부식한 소나무에서 채취한 미생물균 시료에서 순수 분리 배양과 분해율의 측정에 의해 선택된 3균주, 즉 08A211, 08B121 및 08C221균주에 대하여 sodium alginate가 첨가된 액체배지에서 3주간 배양하며 균의 성장을 620 nm에서 흡광도를 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 모든 균주에서 대조구에 비하여 높은 성장을 보였으며, 배양1주에서는 08A211균주가 가장 높은 성

Table 2. Ratio(%) of reducing sugar to total sugar in medium added by sea tangle powder

No. <sup>1)</sup>	1 week	2 weeks	3 weeks	No.	1 week	2 weeks	3 weeks
Control	0.81	1.02	1.26	08C121	7.45	7.55	7.59
08A211	18.40	27.30	33.05	08C211	5.91	7.90	8.22
08A311	8.01	8.79	9.08	08C221	16.52	22.33	24.88
08A321	4.98	5.89	6.31	08C311	4.71	6.39	7.11
08A411	3.09	5.87	7.07	08C411	4.81	6.44	7.17
08B111	6.48	7.24	7.48	08C421	2.74	5.67	6.66
08B121	19.44	22.54	23.17	08C422	6.00	7.03	8.06
08B211	5.33	7.04	8.27	08C511	3.31	5.00	6.37
08B111	3.88	5.00	5.75				

<sup>1)</sup> : 08 is sample number obtained from a decayed pine tree, third alphabet got codes from first pure culture, fourth numbers got codes from second pure culture, fifth numbers got codes from third pure culture, sixth numbers got codes from fourth pure culture.

장(0.13)을 보였으나 그 후 완만한 증가를 보여 배양 3주에는 흡광도 값이 0.17로 나타났다. 하지만 08B121 균주의 경우 배양 1주에는 0.11이었으나, 2주까지 급격히 증식하여 0.25를 나타내고, 배양 3주에는 0.27로 이들 3균주 중 가장 높은 성장을 나타내었다. 그리고 08B121균주는 배양 2주까지 급격히 증식하고 그 후에는 성장이 거의 유지되었으나, 08A211과 08C221균주의 경우는 배양 1주까지의 증식이 3주까지 거의 유지 또는 약간의 증가를 보이는 정도였다.

(2) 알긴산 분해율

Fig. 2에는 부식한 소나무에서 채취한 미생물군 시료에서 순수분리 배양과 분해율의 측정에 의해 선택된 3균주, 즉 08A211, 08B121 및 08C221균주에 대하여 sodium alginate가 첨가된 액체배지에서 3주간 배양하며 전당과 환원당을 측정하고, 분해율로 계산하여 나타내었다. 배양기간이 경과함에 따라 분해율도 증가하였는데, 특히 08B121균주가 배양 1주에 2.30%, 배양 2주에 7.36%로 급격히 증가하고, 3주에 8.30%로 가

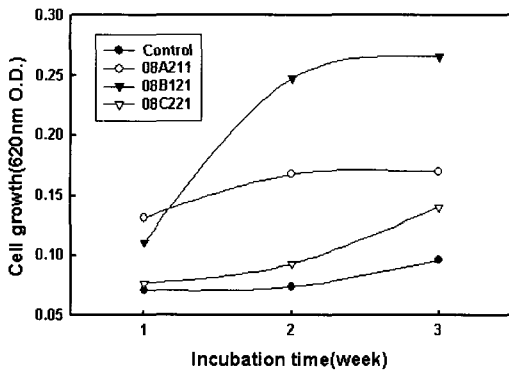


Fig. 1. Cell growth of 3 strains in liquid medium added by sodium alginate.

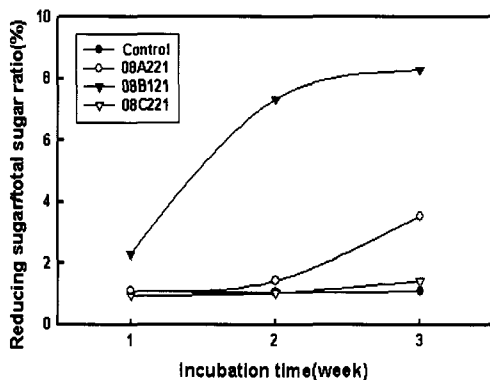


Fig. 2. Ratios of reducing sugar to total sugar of 3 strains in liquid medium added by sodium alginate.

장 높은 분해율을 나타내어 Fig. 1에서 보았던 균체의 성장률과 유사한 경향을 나타내었다. 나머지 2균주는 배양 2주까지는 대조구와 큰 차이를 보이지 않았으며, 08A221균주는 배양 3주에 3.54%로 08B121균주 다음으로 높은 분해율을 보였다. Yonemoto et al.<sup>32)</sup>은 토양에서 알긴산 분해 활성이 강한 균주를 분리하였고, 알긴산 함량이 높은 배지일수록 효소의 생산과 효소 활성은 높았다고 하였다. 일반적으로 알긴산을 분해하는 효소는 알긴산을 분해하여 점도를 저하시키는 경우와 환원당을 생성하는 경우로 크게 두 가지로 대별되는데, 이러한 차이는 효소가 알긴산 구조 중 어느 부위에 작용했느냐에 따라 달라진다. 일반적으로 mannuronic acid 결합에 작용할 경우 환원당 생성을 증가시키고, glucuronic acid 결합에 작용할 경우는 점도를 저하시킨다<sup>30,33~36)</sup>.

2) 다시마 분해능

(1) 균의 성장

다시마는 종류와 용도가 다양하지만 김과 미역과 비교할 때 조직이 매우 강하여 현재는 삶고, 찌고, 자르는 과정을 거친 후 식용으로 이용하는 경우가 많은데, 이는 다시마는 다른 식용해조에 비해서 세포벽을 이루는 다당류가 복잡성을 가지고 있기 때문이다. 부식한 소나무에서 채취한 미생물군 시료에서 순수분리 배양과 분해율의 측정에 의해 선택된 3균주, 즉 08A211, 08B121 및 08C221균주를 다시마 분말이 첨가된 액체배지에 4주간 배양하면서, 1주 간격으로 균체성장을 측정하고 Fig. 3에 나타내었다. 알긴산 배지에서 성장이 높았던 08B121균주가 다시마 배지에서도 가장 높은 성장을 보였는데, 1주 배양에 0.78, 4주 배양 후 1.11로 나타났으며, 나머지 2균주는 배양 4주

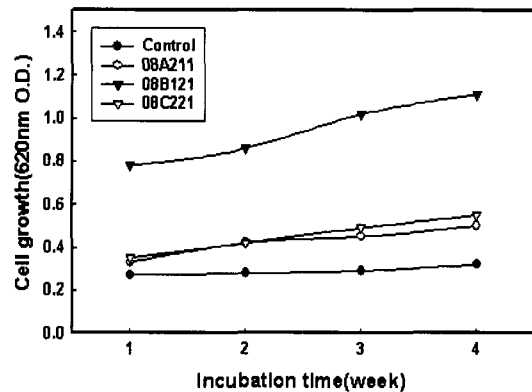


Fig. 3. Cell growth of 3 strains in liquid medium added by sea tangle powder.

후 대조구의 0.32보다 높은 0.50과 0.55의 값을 나타내어 08B121균주와는 큰 차이를 보였다. 한편 3균주 모두 배양 1주까지는 증식한 균체가 그 후 4주까지 완만히 증식하는 것으로 나타났다.

(2) 다시마 분해율

Fig. 4에는 부식한 소나무에서 채취한 미생물균 시료에서 순수분리 배양과 분해율의 측정에 의해 선택된 3균주, 즉 08A211, 08B121 및 08C221균주에 대하여 다시마 분말이 첨가된 액체배지에서 3주간 배양하며 전당과 환원당을 측정하고, 분해율로 계산하여 나타내었다. 배양 1주에 08B121균주가 15.44%로 가장 높은 분해율을 보였으며, 다음으로 08C221이 7.89%, 08A211이 3.55%로 모두 대조구의 2.22%에 비해 높은 값을 보였다. 한편 배양 기간이 경과함에 따라 분해율도 증가하였는데, 배양 4주후에도 08B121균주가 23.86%로 가장 높은 분해율을 나타내어, Fig. 1~3에서의 결과와 일치하였다. 08C221균주의 분해율은 08B121균주의 약 절반 정도인 11.22%로 나타났다. Fig. 3의 성장과 유사하게 분해율에 있어서도 배양 1주까지 급격히 분해가 진행되었으며, 배양 4주까지도 계속하여 증가하는 경향을 보였다.

3) 미역 분해능

(1) 균의 성장

다시마 분말 첨가 액체배지와 같은 방법으로 미역 분말을 첨가한 액체배지에 선택된 3균주를 각각 접종하고, 4주간 배양하면서 620 nm에서 흡광도를 측정함으로써 균체성장을 관찰하여 Fig. 5에 나타내었다. 배양 기간동안 대조구 0.22~0.28에 비해 08B121균주는

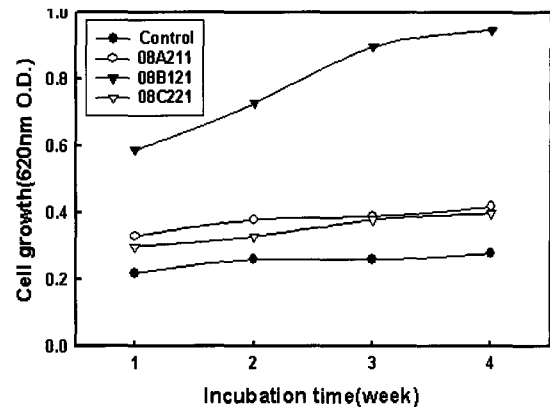


Fig. 5. Cell growth of 3 strains in liquid medium added by sea mustard powder.

0.57~0.95로 가장 높은 성장을 보였으며, 08A211과 08C221도 0.30~0.42의 값을 나타내었으나 08B121균주와는 큰 차이를 보였다. 08B121균주의 경우 배양 1주까지 급격히 증식하고, 그 후 배양 3주까지는 0.90으로 완만히 증가하였으며, 그 이후에는 큰 차이를 보이지 않았다. 한편 모든 값은 알긴산 배지에 비해서는 높았으나, 다시마 배지에 비해서는 낮은 값을 보였다.

(2) 미역 분해율

부식한 소나무에서 채취한 미생물균 시료에서 순수 분리 배양과 분해율의 측정에 의해 선택된 3균주, 즉 08A211, 08B121 및 08C221균주에 대하여 미역 분말이 첨가된 액체배지에서 3주간 배양하며 전당과 환원당을 측정하고, 분해율로 계산하여 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 4의 다시마분말 배지에서의 결과 및 미역배지에서의 성장 결과(Fig. 5)와 유사한 경향을 나타내었다. 즉, 08B121균주를 접종한 경우가 배양 1주부터 4주까지 전 기간에 걸쳐 가장 높은 분해율을 보여

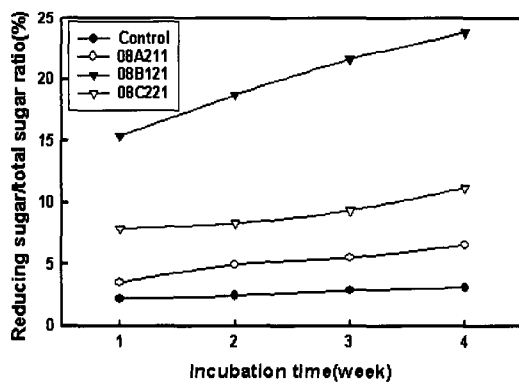


Fig. 4. Ratios of reducing sugar to total sugar of 3 strains in liquid medium added by sea tangle powder.

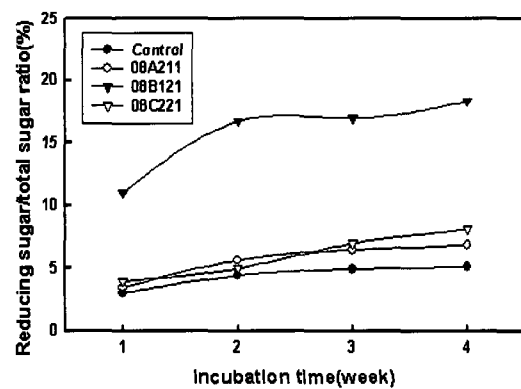


Fig. 6. Ratios of reducing sugar to total sugar of 3 strains in liquid medium added by sea mustard powder.

11.04~18.37%를 나타내었다. 한편 나머지 2균주는 큰 차이를 보이지 않았으나, 대조구에 비해서는 약간 높은 값을 나타내었다. 08B121균주의 미역 분해 경향은 배양 2주까지 급격히 분해를 일으켜 분해율 16.77%를 보였으며, 그 이후에는 완만히 증가하는 경향을 나타내었다. 다시마 분말의 경우와 차이가 나는 것은 해조의 부위별, 크기 및 생육 장소에 따라 알긴산의 구성 형태가 다르기<sup>37,38)</sup> 때문인 것으로 생각된다.

이상에서 살펴본 부식한 소나무에서 채취한 미생물군 시료에서 순수분리 배양과 분해율의 측정에 의해 선택된 3균주, 즉 08A211, 08B121 및 08C221균주의 분해능을 검토한 결과, 공통적으로 08B121균주가 알긴산, 다시마 및 미역 분말을 첨가한 액체배지에서 균체성장과 분해율이 높은 것을 확인할 수 있었다. 따라서 본 균주에 해조의 다당 또는 다른 성분을 가수분해시키는 효소가 존재할 것으로 추측된다.

## 요 약

해조 가수분해능이 우수할 것으로 추정되는 부식한 소나무에서 채취한 미생물군 시료에 대하여 다시마분말 첨가 고체배지를 이용하여 4차에 걸쳐 순수배양을 실시하였다. 그 결과 16균주를 분리하였으며, 이들 균주를 다시마분말 첨가 액체배지에서 3주간 배양하며, 1주 간격으로 전당과 환원당의 함량을 측정한 결과 배양 전 기간에 08A211, 08C221 및 08B121균주가 모든 균주 중에 대체로 높은 분해율을 보였다. 이렇게 하여 선택된 3균주, 즉 08A211, 08B121 및 08C221균주에 대하여 sodium alginate, 다시마 및 미역분말이 첨가된 액체배지에서 균체성장과 분해율은 측정한 결과 08B121균주가 가장 높은 균체 성장과 다시마 및 미역 분해율을 나타내었다. 따라서 본 균주에 해조의 다당 또는 다른 성분을 가수분해시키는 효소가 존재할 것으로 추측된다.

## 참고문헌

1. 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**, 194~198(1977)
2. Cho, H.O. and Lee, S.R. : Effectiveness of gamma-irradiation of the extraction of algal polysaccharides, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **6**, 36~41(1974)
3. Lee, S.R., Cho, H.O. and Park, S.K. : Extraction yield and quality attributes of agar from domestic seaweeds according to various pretreatment, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **7**, 109~114(1975)
4. Waksman, S.A. and Allen, M.C. : Decomposition of polyuronides by fungi and bacteria, *J. Bacteriol.*, **28**, 213~220(1934)
5. Joo, D.S., Lee, J.S., Cho, S.Y., Shin, S.J. and Lee, E.H. : Changes in functional properties of alginic acid by enzymatic degradation, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 86~91(1995)
6. Kaneko, Y., Yonemoto, Y., Okayama, K., Kimura, A. and Murata, K. : Symbiotic formation of alginate lyase in mixed culture of bacteria isolated from soil, *J. Fer. and Bioen.*, **69**, 192~194(1990)
7. Kaneko, Y., Yonemoto, Y., Okayama, K., Kimura, A. and Murata, K. : Bacterial alginate lyase properties of the enzyme formed in a mixed culture bacteria isolated from soil, *J. of Fermentation & Bioengineering*, **70**, 147~149(1990)
8. Sawabe, T., Ezura, Y. and Kimura, T. : Characterization of an alginolytic marine bacterium from decaying Rishirkombu *Laminaria japonica* var. *ochotensis*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 141~145(1992)
9. Sawabe, T., Ezura, Y. and Kimura, T. : Purification and characterization of an alginate lyase from marine *Alteromonas* sp., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 521~527(1992)
10. Kashiwabara, Y., Hiroshi, S. and Nisizawa, K. : Alginate lyases of *Pseudomonas* sp., *J. Biochem.*, **66**, 503~512(1969)
11. Joo, D.S., Lee, J.S., Park, J.J., Cho, S.Y., Ahn, C.B. and Lee, E.H. : Purification and characterization of the intracellular alginase from *Vibrio* sp. AL-145, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 432~438(1995)
12. Joo, D.S., Lee, J.S., Park, J.J., Cho, S.Y., Kim, H.K. and Lee, E.H. : Preparation of oligosaccharides from alginic acid by enzymic hydrolysis, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 146~151(1996)
13. Cho, H.O. and Lee, S.R. : Effectiveness of gamma-irradiation on the extraction of algal polysaccharides. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **6**(1), 36~41(1974)
14. Beguin, P. and Eisen, H. : Purification and partial characterization of three extracellular cellulases from *Cellulomonas* sp., *Eur. J. Biochem.*, **87**, 525(1978)
15. Stewart, B.J. and Leatherwood, J.M. : Derepressed synthesis of cellulase by *Cellulomonas*, *J. Bacteriol.*, **128**, 609(1976)
16. Gilkes, N.R., Langsford, M.L., Kilburn, D.G., Jr. Miller, R.C. and Warren, R.A. : Mode of action and substrate specificities of cellulases from cloned bacterial genes, *J. Biol. Chem.*, **259**, 10455(1976)
17. Yamane, K., Yoshikawa, T., Suzuki, H. and Nisizawa, K. : Localization of cellulase components in *Pseudomonas fluorescens* var. *cellulosa*, *J. Biochem.* (Tokyo), **69**, 771

- (1971)
18. Yoshikawa, T., Suzuki H. and Nisizawa, K. : Biogenesis of multiple cellulase components of *Pseudomonas fluorescens* var. *cellulosa*. I. Effects of culture conditions on the multiplicity of cellulase, *J. Biochem.(Tokyo)*, **75**, 531(1974)
  19. Ng, T.K. and Zeikus, J.G. : Urification and characterization of an endoglucanase(1,4-beta-D-glucan glucanohydrolase) from *Clostridium thermocellum*, *Biochem. J.*, **199**, 341 (1981)
  20. Matano, Y., Park, J.S., Goldstein, M.A. and Doi, R.H. : Cellulose promotes extracellular assembly of *Clostridium cellulovorans* cellulosomes, *J. Bacteriol.*, **176**, 6952(1994)
  21. Allcock, E.R. and Woods, D.R. : Carboxymethyl cellulase and cellobiase production by *Clostridium acetobutylicum* in an industrial fermentation medium, *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 539(1981)
  22. Oberkotter, L.V. and Rosenbergh, F.A. : Extracellular endo-beta-1,4-glucanase in *Cellvibrio vulgaris*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 205(1978)
  23. Berg, B., Hofsten, B.V. and Pettersson, G. : Growth and cellulase formation by *Cellvibrio fulvus*, *J. Appl. Bacteriol.*, **35**, 201(1972)
  24. Chang, W.T. and Thayer, D.W. : The cellulase system of a *Cytophaga* species, *Can. J. Microbiol.*, **23**, 1285(1977)
  25. Chung, D.H. : Studies on cellulolytic enzymes produced by *Chaetomium globosum*. Part 1. Properties of crude cellulolytic enzymes, *J. Korean Agricultural Chemical Society*, **10**, 23~31(1968)
  26. Chung, D.H. : Studies on cellulolytic enzymes produced by *Chaetomium globosum*. Part 2. Purification of cellulase, *J. Korean Agricultural Chemical Society*, **12**, 33~41(1969)
  27. Chung, S.H. and Park, K.H. : Purification and characterization of plant cell wall lytic enzyme from *Fusarium moniliforme*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.*, **18**, 154~158(1990)
  28. Kim, H.S. and Bae, T.J. : Studies on the hydrolysis of seaweed using microorganisms and its application, I. Screening of microfloras involved in hydrolysis of sea tangle(*Laminaria japonica*) and sea mustard(*Undaria pinna-tifida*), *J. Korean Fish. Soc.*, **35**, 438~444(2002)
  29. Kim, H.S. and Bae, T.J. : Studies on the hydrolysis of seaweed using microorganisms and its application, II. Screening of microfloras involved in hydrolysis of seaweed tenella, seaweed fusiforme and green laver, *Korean J. Food & Nutr.*, **15**, 257~266(2002)
  30. Kitamikado, M., Tseng, C.H., Aoki, T., Yamaguchi, K. and Araki, T. : Isolation of bacteria capable of producing alginate-degrading enzyme from natural environment, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 709~713(1989)
  31. Groleau D, and Yaphé, W. : Enzymatic hydrolysis of agar; purification and characterization of  $\beta$ -neogargarotetraose hydrolase from *Pseudomonas atlantica*, *Can. J. Microbiol.*, **23**, 672~679(1977)
  32. Yonemoto, Y., Murata, K., Kimura, A., Yamaguchi, H. and Okayama, K. : Bacterial alginate lyase; characterization of alginate lyase-producing bacteria and purification of the enzyme, *J. of Ferm. & Bioengineering*, **72**, 152~157(1991)
  33. Davidson, I.W., Sutherland, I.W. and Lawson, C.J. : Purification and properties of an alginate lyase from a marine bacterium, *Biochem. J.*, **159**, 707~713(1976)
  34. Boyd, J. and Turvey, J.R. : Isolation of a poly- $\alpha$ -L-guluronate lyase from *Klebsiella aerogenes*, *Carbohydrate Research*, **57**, 163~171(1977)
  35. Boyd, J. and Turvey, J.R. : Structural studies of alginic acid, using a bacterial poly- $\alpha$ -L-guluronate lyase, *Carbohydrate Research*, **66**, 187~194(1978)
  36. Ando, Y. and Inoue, K. : Decomposition of alginic acid by microorganisms-V. On the modes of action of two alginases, *Bull. of Jap. Soc. Sci. Fish.*, **31**, 552~557(1965)
  37. Haug, A., Larsen, B. and Smidsrod, O. : Uronic acid sequence in alginate from different sources, *Carbohydrate Research*, **32**, 217~225(1974)
  38. Kim, D.S. and Park, Y.H. : Uronic acid composition, Block structure and some related properties of alginic acid (1) Uronic acid composition of alginic acid from ecklonia cava, *J. Korean Fish. Soc.*, **17**, 391~397(1984)

---

(2003년 9월 24일 접수)