

T0025013

최      종  
연구보고서

해 조류로부터 성장 호르몬 및 관련 케미칼의  
산업화 응용기술 개발

Development of Applied Technology for Industrialization  
of Growth Hormones and Related Chemicals  
from Seaweeds

연구기관 : 경성대학교

해 양 수 산 부

# 제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “해조류로부터 성장ホルモン 및 관련 케미칼의 산업화 응용기술 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007년 11월 일

주관연구기관명 : 경성대학교  
주관연구책임자 : 김 동 수  
연 구 원 : 이 용 우  
연 구 원 : 윤 호 동  
연 구 원 : 강 진 훈  
연 구 원 : 변 한 석  
연 구 원 : 염 동 민  
연 구 원 : 여 생 규  
연 구 원 : 김 광 래

여 백

# 요 약 문

## I. 제 목 : 해조류로부터 성장ホルモン 및 관련 케미칼의 산업화 응용기술개발

### II. 연구개발의 목적 및 중요성

우리나라 연안에 분포하고 있는 해조의 종류는 약 1천여 종이 넘는 것으로 추정되며, 그 종류도 다양하고 자원량도 풍부하다. 예로부터 우리나라는 일본과 더불어 세계적으로 우수한 해조 이용국으로서, 식용, 호료, 사료, 비료 및 해조공업 원료 등으로 해조를 이용하여 왔다. 특히 80년대 중반부터 해조류의 대량 양식 기술이 개발되어 해조류 생산량을 크게 증가하여 전체 수산물 생산량의 약 20%를 차지할 정도로 중요한 수산자원의 하나가 되었다.

최근, 분석기술의 발달에 힘입어 해조류에 함유되어 있는 다양한 유용성분들이 밝혀지고 있다. 예를 들면, 인체의 호르몬 대사기능조절에 관여하는 무기질 및 비타민의 다량 함유되어 있고, 식이섬유, 알긴산 및 푸코이단 등의 성장작용, 증금속 배출작용, 비만억제 효과 및 항암작용 등에 관한 연구 결과들이 밝혀지고 있어, 그 가치가 크게 인정되고 있다. 그런데, 아직까지 해조류 이용 가공기술은 미진하여 전체 해조류 생산량의 16%정도만이 가공되고 있고 부가가치를 크게 창출시키고 있지 못하고 있는 실정이다.

따라서 해조양식 어민들의 지속적인 생산량 증가에 대비한 수요안정화는 물론이고, 해조류 가공 산업에 종사하는 인적 수요를 마련함은 물론, 어촌의 소득증대에 크게 기여하게 하기 위하여 지속적으로 수출경쟁력이 있는 다양한 용도의 고부가가치 해조류 이용 제품의 가공 기술을 개발할 필요성이 요

구된다.

일반적으로 해조류에는 질소, 인의 함량은 작지만, 칼륨은 상당히 풍부한 것으로 알려져 있으며, 대부분 속성장 대형 해조류는 cytokinin과 같은 성장 촉진 및 관련 활성물질을 가지고 있다. 즉, 북아프리카, 영국 및 노르웨이 국가에서는 속성장 대형 해조류를 선별하여 활성물질을 추출, 농축하여 고부가 속성장 비료로 제조하고 있다. 이러한 해조 농축물은 곡류, 과일, 채소, 화훼류를 비롯한 여러 식물에 작용하여 식물의 성장을 촉진하고 열매의 수확율과 품질을 향상시키는데 매우 좋은 효과를 가지고 있다. 또한 가뭄에 견디고, 식물질병 및 유해 곤충에 대한 저항성을 높여주는 특이한 효과를 가지고 있다. 현재 이러한 해조 농축물을 생산하는 주요 기술은 해조류 줄기를 분해하여 유용 성분을 완전히 용해시켜, 그 활성을 유지하는 기술이라 할 수 있다.

해조류 중의 다양한 유용성분은 토양의 유기물을 풍부하게 하거나 무기질을 공급하고, 토양 중에 보수력을 가지도록 하여 건기에도 식물이 잘 자라도록 하는 토질 개선제나 토양 유기질 급원으로 사용할 수 있다. 그리고 척박한 환경 혹은 경사진 경작지 등에 이용하여 토양 결착제로 사용할 수 있다. 해조류에서 추출한 옥신, 사이토키닌, 및 지베렐린과 같은 성장촉진물질이 함유된 토양 결착제는 종자가 쉽게 발아되도록 하며, 클러스터 자신은 자연 생분해되어 원래의 토양으로 변하게 된다.

따라서, 본 과제에서는 해조류 가공 부산물을 이용, 새로운 식물 성장 촉진제 및 토양결착제 등을 개발할 목적으로 국내산 주요 해조류를 이용하여 활성성분의 탐색, 분석 방법의 확립은 물론, 해조 extract 농축물, 해조분말 및 해조-토양 클러스터 제조 기술 등을 개발하고자 하였다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

#### 제 1 장 원료의 성분 특성 및 활성물질의 분리·분석

1. 원료의 성분 특성
2. 식물 성장 홀몬 및 관련물질의 HPLC 분석
3. 해조류 extract로부터 활성물질의 분리 조건 확립

#### 제 2 장 활성성분의 생물학적 활성검정 및 산업적 가공적성

1. 활성물질의 생물학적 활성 검정
2. GC/MS에 의한 활성성분의 분석
3. 유용 케미칼의 산업적 가공적성
4. 시제품의 최적 생산 공정 확립

#### 제 3 장 제품의 품질안정성 및 산업화 응용시험

1. 시제품의 제조
2. 제품의 품질 안정성
3. 제품의 품질 특성
4. 산업적 응용 연구

## IV. 연구개발결과

### 1. 원료의 성분 특성 및 활성물질의 분리·분석

해조류로부터 식물 성장 촉진제 및 작물 재배용 천연 비료 등 다양한 용도의 제품을 제조하기 위한 기반 기술인, 해조류 중의 활성물질의 검색 기술의 확립, 활성물질의 분리 및 정제 기술, 해조류 extract 제조에 필요한 기본 사항 등을 검토하였다. 이용 가능한 해조류의 성분 특성, HPLC를 이용한 성장 홀몬의 분석, 생물검정법에 의한 활성물질의 검색 및 활성물질의 분리 정제를 위한 추출 조건을 검토하고, 액상 및 분말상 시제품을 제조하였다. 즉, 해조류 중의 활성물질의 특성을 고려하여 HPLC 분석을 위한 각종 분리 용매와 분석조건을 선정하였고, 성장홀몬 표준품을 이용하여 검량곡선을 작성하였으며, 해조류 원료 중의 활성물질을 HPLC로써 분석하였다. 또한 해조류 액상 농축물의 분리 및 활성물질의 존재 등을 확인하였다.

### 2. 활성성분의 생물학적 활성검정 및 산업적 가공적성

해조류 중의 활성물질을 생물검정법으로 검색하고 성장촉진 물질의 기 분석 및 시제품의 최적가공조건을 선정하였다. 즉, 해조류 생조체 및 해조 extract의 활성검정, 해조류 활성성분 확인, 산업화 가공적성 등을 조사하였다. HPLC 분석 자료를 토대로 하여 활성성분의 특성을 GC/MS에 의하여 분석, 검토하여 활성성분을 확인할 수 있었으며, 실제 해조류 원료로부터 이 방법을 적용시켜 활성물질의 존재를 분석 확인하였다. 생조체에 대한 생물학적 검정을 통하여 식물종자의 성장 효과를 예비 조사하고, 해조 농축액에 대한 생물학적 활성 검정을 통하여 pilot 규모에서 작물의 발아율을 조사하였다.

### 3. 제품의 품질안정성 및 산업화 응용시험

시제품의 유통기간 중 품질 안정성을 검토하기 위하여 상온에서 일반 세균 및 곰팡이의 증식 여부를 시험 조사하였고, 작물 재배용 비료 공정규격 조건에 맞추어 주성분, 유해성분, 기타성분 등으로 분류하여 제품의 특성을 분석하였으며, 봉해성 및 액상 농축물의 점도 등, 제품의 물리적 성질도 조사하였다. 또한 해조류 extract 농축물, 분말제품 이외에 최적 제조공정에 따라 해조류-토양 클러스터를 제조하고 작물성장 촉진 효능 시험을 통하여 유효성분의 존재를 확인하였으며 식물성장 촉진 및 영양보조제로서 이용 가능성을 밝히고 산업화 응용 타당성을 검토하였다.

## V. 연구개발결과의 활용 계획

본 과제 수행을 통하여 개발된 기술은 특허출원하고, 개발된 제품의 산업화를 위하여 참여기업을 비롯한 관심 기업과 상의하여 주문 생산 또는 중소규모 생산시설을 직접 갖추어 사업화를 실현함으로써 기존 수입 제품의 대체 상품으로서 판매하고, 수출을 통한 외화획득 및 어촌지역에 경제 활성화에 이바지할 계획이다.



# SUMMARY

## **I. Title**

Development of Applied Technology for Industrialization of Growth Hormones and Related Chemicals from Seaweeds

## **II. Objectives and Importance**

Approximately, one thousand species of seaweeds are distributed around the coasts of Korea and abundant resources are available. Since early times Korea is known for their various use of seaweeds along with Japan. Seaweeds are used as food, thickening agent, fodder, fertilizer, and as raw materials for seaweeds industry. Especially since 1980s mass farming technology for seaweeds has developed. This has made the increase in number of seaweeds productions then made seaweeds to become one of the most important resources in marine products by taking about 20% of the whole marine products.

Nowadays, many valuable element contained in seaweeds are identified with the development of analysis technology. For example, seaweeds contain lots of minerals and vitamins that take part in hormone metabolism in human bodies. They are also known from many studies for their fiber, alginic acid and fucoidan etc., which help to sweep the intestines, discharge heavy metals, inhibit obesity and function as anticancer. Although their industrial processes are yet less developed and only 16% of total production are used for manufacturing and they are not giving much of added value.

There is much need for developing new manufacturing processes which can lead to high value added products using seaweeds that can have competitiveness in exports to give increase in income to fishing villages. This will help seaweed farming fishermen to increase in seaweeds output according to stability in demands as well as giving positions in jobs related to seaweed manufacturing industries.

Generally seaweeds contain little amount of nitrogen and phosphorus but amount of potassium is rich. Most of fast growing and large sized seaweeds also contain cytokinin and similar elements related to growth hormones and bioactive components. That is, countries such as Northern Africa, England and Norway assort fast growing and large sized seaweeds and extract their bioactive components then concentrate them which leads to production in high added value fast growing fertilizers. This seaweeds extract acts with grains, fruits, vegetables, flowers and other plants and cereals that take very good effect in their growth and their quality of the fruits. Also, they have unique effect which makes these farm products to stay strong in drought and plant disease as well as increasing resistibility to noxious insects. The main technology in manufacturing seaweeds extracts are the technology to dissolve seaweeds stems then melt the useful constituents and maintain their activities.

Various kinds of useful constituents in seaweeds can be used as sources of supply in soil conditioner or organic matters in soil that can help plants to grow well during dry season by helping soil to conserve moist. They can also be used in the barren soil or slanted land as soil conditioners. Substances that helps in fast growth such as auxin, cytokinin, and gibberellin extracted from seaweeds in soil conditioners makes

germination of seed easier and the cluster itself degrades itself and changes into the natural soil.

This study was focused on the development of new kinds of plant growth accelerator and soil conditioners using residual seaweeds products. Most seaweeds used are products from Korea. The study searched for bioactive substances in seaweeds, establish analysis methods, and develop seaweed-soil cluster manufacturing process technology, seaweeds powder, and seaweeds extracts.

### **III. Contents and Results**

#### **1. Contents**

- 1) Characteristics of the components of raw materials, and analysis and separation of bioactive components
  - (1) Characteristics of seaweed components
  - (2) HPLC analysis of plant growth hormones and its related chemicals
  - (3) Establishments the condition to separate bioactive components from seaweed extract
  
- 2) Biological experiments for bioactive components and the optimal processing properties for industrialization
  - (1) Biological experiments for bioactive components
  - (2) GC/MS analysis of bioactive components
  - (3) Processing properties of available chemicals
  - (4) Establishments of the optimal processing unit of sample products

3) Quality stability of products and applied experiments for industrialization

- (1) Preparation of sample products
- (2) Quality stability of products
- (3) Quality characteristics of products
- (4) Applied experiments for industrialization

## **2. Results**

1) Characteristics of the components of raw materials, and analysis and separation of bioactive components

The basic technology for manufacturing various products such as plant growth accelerators and natural plant farming fertilizers and details necessary in production of seaweeds extract were investigated. Characteristics of components in usable seaweeds, analysis of growth hormone using HPLC, search for bioactive components by biological experiments, and examine the extract conditions for separation and purification of bioactive components were studied then liquid and power form of prototypes were produced. Characteristics of bioactive component in seaweeds were considered and analysis conditions for separation solvent for HPLC analysis were selected. The calibration curve was framed using the standard products of growth hormone and analyzed bioactive component in seaweeds raw materials with HPLC. Separation of liquid extracts of seaweeds and existence of bioactive component were verified.

2) Biological experiments for bioactive components and the optimal processing properties for industrialization

Bioactive components in seaweeds were searched with biological experiments and instrument analysis of growth accelerator and most suitable processing conditions for prototypes were selected. Raw seaweeds and activity of seaweeds extracts were examined and identified then aptitude for industrialization was investigated. Characteristics of bioactive component was analyzed and investigated by GC/MS based on HPLC analysis results. In consequence, existence of bioactive component from seaweeds raw materials was confirmed. It was investigated preliminarily the effects of seaweed extract on the growth of plant seed through biological experiments, and also done the effects of that on the germination rate of agricultural plant in a pilot scale.

3) Quality stability of products and applied experiments for industrialization

To elucidate the quality stability of prototype products in the period of distribution, it was examined whether general bacteria and molds could be multiplied or not, and the physical properties of the products were also investigated to the three groups such as major components, harmful components, and others, classified according to the conditions of standard process of fertilizers which have been used for agricultural plants.

In addition, the three types of fertilizers of seaweed extract, powder products and soil cluster were prepared according the optimal condition of processing to examine the a feasibility to apply industrialization, and it could be recognized the existence of available components, and also the

possibility could be confirmed to use them as the growth accelerator of plant and supplemental nutrients.

# CONTENTS

## Chapter 1. Characteristics of the components of raw materials, and analysis and separation of bioactive components

|  |    |
|--|----|
| 1. Theoretical approach -----  | 33 |
| 2. Experimental contents -----   | 36 |
| 1) Sample seaweeds and characteristics its components -----                                  | 36 |
| (1) Sample seaweeds -----  | 36 |
| (2) Characteristics of seaweed components -----  | 36 |
| 2) Investigation of growth hormones and related chemicals in seaweeds ---                    | 37 |
| (1) Extraction and purification of samples -----   | 37 |
| 3) Selection of analysis conditions for HPLC operation -----                                 | 41 |
| (1) Reagents and analysis instruments -----  | 41 |
| (2) Preparation of standard solution -----   | 41 |
| ① Indol acetic acid (IAA) -----  | 41 |
| ② Zeatin -----   | 41 |
| ③ Gibberellic acid (GA <sub>3</sub> ) -----  | 42 |
| ④ Absciscic acid (ABA) -----   | 42 |
| (3) Investigation of bioactive components -----  | 42 |
| (4) Separation and purification of bioactive components -----                                | 42 |
| (5) Selection of the optimal condition for obtaining seaweed<br>extract and processing ----- | 42 |
| ① Effect of NaHCO <sub>3</sub> concentration -----   | 43 |
| ② Effect of heating time -----   | 43 |
| ③ Effect of collected area and part of seaweed -----   | 43 |

|  |    |
|--|----|
| (6) Analysis by HPLC -----   | 43 |
| ① Reagents and instruments -----   | 43 |
| ② Analysis of growth hormone and related chemicals in seaweed --                             | 43 |
| (7) Investigation of bioactivity by biological experiments -----                             | 46 |
| 3. Results -----   | 46 |
| 1) Components characteristics of sample seaweed -----  | 46 |
| (1) Proximate components -----   | 46 |
| (2) Total dietary fibers and polysaccharides -----   | 46 |
| (3) Amino acid -----   | 49 |
| (4) Minerals -----   | 50 |
| 2) Analysis of growth hormones and related chemicals in seaweeds --                          | 54 |
| (1) Extraction and purification of samples -----   | 54 |
| (2) Selection of analysis conditions for HPLC operation -----                                | 54 |
| ① IAA -----  | 54 |
| ② Zeatin -----   | 57 |
| ③ GA <sub>3</sub> -----  | 58 |
| ④ ABA -----  | 60 |
| (3) Selection of the optimal condition for obtaining seaweed extract<br>and processing ----- | 62 |
| ① Effect of NaHCO <sub>3</sub> concentration -----   | 62 |
| ② Effect of heating time -----   | 64 |
| ③ Effect of collected area and part of seaweed -----   | 64 |
| ④ Products of seaweed extract -----  | 66 |
| (4) Analysis by HPLC -----   | 67 |
| (5) Investigation of activity by biological Experiments -----                                | 70 |



## Chapter 2. Biological experiments of bioactive components and optimal processing properties for industrialization

|   |     |
|---|-----|
| 1. Theoretical approach -----                                 | 75  |
| 2. Experimental contents -----                                | 79  |
| 1) Investigation of bioactivity for active components -----   | 79  |
| (1) Sample seaweed -----                                      | 79  |
| (2) Bioactivity test of active components -----               | 80  |
| 2) Identification of bioactive components by GC/MS -----      | 80  |
| (1) Preparation of sample solution -----                      | 80  |
| (2) GC/MS analysis -----                                      | 81  |
| 3) Optimal processing properties of available chemicals ----- | 82  |
| (1) Preparation of seaweed extract -----                      | 82  |
| (2) Preparation of seaweed powder -----                       | 82  |
| (3) Preparation of seaweed-soil cluster -----                 | 82  |
| 3. Results -----  | 83  |
| 1) Investigation of bioactivity for active components -----   | 83  |
| (1) Bioactivity test by concentration of zeatin -----         | 83  |
| (2) Bioactivity test of seaweed extract -----                 | 90  |
| (3) Bioactivity test of raw seaweed -----                     | 94  |
| 2) Identification of bioactive components by GC/MS -----      | 98  |
| 3) Optimal processing properties of available chemicals ----- | 104 |
| (1) Preparation of seaweed extract -----                      | 104 |
| (2) Preparation of seaweed powder -----                       | 106 |
| (3) Preparation of seaweed-soil cluster -----                 | 106 |

## Chapter 3. Quality stability of products and applied experiments for industrialization

|   |     |
|---|-----|
| 1. Theoretical approach -----                               | 111 |
| 2. Experimental contents -----                              | 114 |
| 1) Preparation of prototype product -----                   | 114 |
| 2) Storage stability of products -----                      | 115 |
| (1) Microorganism test -----                                | 115 |
| ① Observation for visible changes of appearance -----       | 115 |
| ② Bacterial test -----                                      | 115 |
| ③ Mold test -----   | 115 |
| 3) Experiment for quality characteristics of products ----- | 116 |
| (1) Analysis of components -----                            | 116 |
| ① Major components -----                                    | 116 |
| ② Organic matters -----                                     | 128 |
| ③ Harmful components -----                                  | 129 |
| ④ Other components -----                                    | 135 |
| (2) Test of physiological characteristics -----             | 138 |
| ① Desintegration test -----                                 | 138 |
| ② Viscosity test -----                                      | 139 |
| 4) Applied experiment for industrialization -----           | 140 |
| (1) Efficacy test of seaweed extract -----                  | 140 |
| ① Sample plant seeds -----                                  | 140 |
| ② Germination test -----                                    | 140 |
| ③ Growth test -----   | 141 |
| (2) Efficacy test of seaweed-soil cluster -----             | 141 |
| ① Germination test -----                                    | 141 |

|   |     |
|---|-----|
| ② Growth test -----   | 142 |
| 3. Results -----  | 143 |
| 1) Preparation of prototype product -----                           | 143 |
| (1) Seaweed extract -----   | 143 |
| (2) Seaweed-soil cluster -----                                      | 143 |
| 2) Storage stability of products -----                              | 143 |
| (1) Observation for visible changes of appearance -----             | 143 |
| (2) Bacterial test -----  | 144 |
| (3) Mold test -----   | 145 |
| 3) Experiment for quality characteristics of products -----         | 147 |
| (1) Components characteristics -----                                | 147 |
| (2) Physiological characteristics -----                             | 154 |
| ① Viscosity of seaweed extract -----                                | 154 |
| ② Wight of seaweed-soil cluster granular -----                      | 155 |
| ③ Disintergration test of seaweed-soil cluster granular -----       | 155 |
| 4) Applied experiment for industrilization -----                    | 158 |
| (1) Efficacy test of seaweed extract -----                          | 158 |
| ① Effects of preservatives and dilution ratio -----                 | 158 |
| (2) Preparation of mixed fertilizer No.4 from seaweed extract ----- | 170 |
| (3) Fertilizing characteristics of seaweed extract -----            | 170 |
| ① Germination ratio -----   | 170 |
| ② Growth test -----   | 174 |
| (4) Fertilizing characteristics of seaweed-soil cluster -----       | 180 |
| ① Germination ratio -----   | 180 |
| ② Growth test -----   | 182 |
| References -----  | 200 |

# 목 차

|       |                            |    |
|-------|----------------------------|----|
| 제 1 장 | 연구개발과제의개요 -----            | 25 |
| 제 1 절 | 연구개발의 목적, 필요성 및 범위 -----   | 25 |
| 제 2 장 | 국내외 기술개발 현황 -----          | 30 |
| 제 1 절 | 국내외 관련 기술의 현황 -----        | 30 |
| 1     | 국내 기술 현황 -----             | 30 |
| 2     | 국외 기술 현황 -----             | 30 |
| 제 2 절 | 연구결과가 현황에 차지하는 위치 -----    | 31 |
| 제 3 장 | 연구개발 수행 내용 및 결과 -----      | 33 |
| 제 1 절 | 원료의 성분 특성 및 활성물질의 분리 분석 -- | 33 |
| 1.    | 이론적 실험적 접근 방법 -----        | 33 |
| 2.    | 연구내용 -----                 | 36 |
| 가.    | 시료 해조류 및 성분 특성 -----       | 36 |
| 1)    | 시료 해조 -----                | 36 |
| 2)    | 해조류의 성분 특성 -----           | 36 |
| 가)    | 일반성분의 분석 -----             | 36 |

|  |    |
|--|----|
| 나) 총식이섬유 -----                         | 36 |
| 다) 다당류 -----                           | 36 |
| 라) 유리아미노산 -----                        | 37 |
| 마) 무기질 -----                           | 37 |
| 나. 해조류 중의 성장 홀몬 및 관련 케미칼 탐색 -----      | 37 |
| 1) 시료의 추출 및 정제 -----                   | 37 |
| 다. HPLC에 의한 분석 조건 선정 -----             | 41 |
| 1) 시약 및 분석 기기 -----                    | 41 |
| 2) 표준용액의 조제 -----                      | 41 |
| 가) IAA -----                           | 41 |
| 나) Zeatin -----                        | 41 |
| 다) GA <sub>3</sub> -----               | 42 |
| 라) ABA -----                           | 42 |
| 3) 시료 중의 활성 물질의 검색 -----               | 42 |
| 4) 활성물질의 분리 및 정제 -----                 | 42 |
| 5) 해조류의 extract의 추출 최적조건 선정 및 제조 ----- | 42 |
| 가) NaHCO <sub>3</sub> 농도에 따른 영향 -----  | 43 |
| 나) 가열시간에 따른 영향 -----                   | 43 |
| 다) 해조류 산지 및 부위에 따른 영향 -----            | 43 |
| 6) HPLC에 의한 분석 -----                   | 43 |
| 7) 생물 검정에 의한 활성 검색 -----               | 46 |
| 3. 연구 결과 -----                         | 46 |
| 가. 시료 해조의 성분 특성 -----                  | 46 |
| 1) 일반성분 -----                          | 46 |
| 2) 총 식이섬유 및 다당류 -----                  | 46 |
| 3) 아미노산 -----                          | 49 |

|  |        |
|--|--------|
| 4) 무기질 -----                             | 50     |
| 나. 해조류 중의 성장 홀몬 및 관련 케미칼의 분석 -----       | 54     |
| 1) 시료의 추출 및 정제 -----                     | 54     |
| 2) HPLC에 의한 분석 조건 선정 -----               | 54     |
| 가) IAA -----                             | 54     |
| 나) Zeatin -----                          | 57     |
| 다) GA <sub>3</sub> -----                 | 58     |
| 라) ABA -----                             | 60     |
| 3) 해조 extract의 추출 최적 조건 선정 및 제조 -----    | 62     |
| 가) NaHCO <sub>3</sub> 농도에 따른 영향 -----    | 62     |
| 나) 가열시간에 따른 영향 -----                     | 64     |
| 다) 해조류 산지 및 부위에 따른 영향 -----              | 64     |
| 라) 시제품 해조 extract -----                  | 66     |
| 4) HPLC에 의한 분석 -----                     | 67     |
| 5) 생물검정에 의한 활성 검색 -----                  | 70     |
| <br>제 2 절 활성성분의 생물학적 검정 및 산업적 가공적성 ----- | <br>75 |
| <br>1. 이론적 실험적 접근방법 -----                | <br>75 |
| <br>2. 연구내용 -----                        | <br>79 |
| 가. 활성물질의 생물학적 활성검정 시험 -----              | 79     |
| 1) 시험재료 -----                            | 79     |
| 2) 활성획분의 이화학적 및 생물검정 -----               | 80     |
| 나. GC/MS에 의한 활성물질 확인 -----               | 80     |
| 1) 시료 용액의 조제 -----                       | 80     |
| 2) GC/MS 분석 -----                        | 81     |

|  |     |
|--|-----|
| 다. 유용 케미칼의 산업화 가공 적성 -----             | 82  |
| 1) 저온 진공법에 의한 해조 extract의 제조 -----     | 82  |
| 2) 화인밀 공정에 의한 해조 분말 제조 -----           | 82  |
| 3) 해조-토양 클러스터 제조 -----                 | 82  |
| 3. 연구결과 -----                          | 83  |
| 가. 활성 물질의 생물학적 활성검정 -----              | 83  |
| 1) 표준품(Zeatin)의 농도별 생물 검정 -----        | 83  |
| 2) 해조 extract 농축액의 생물 검정 -----         | 90  |
| 3) 생조체의 생물 검정 -----                    | 94  |
| 나. GC/MS에 의한 활성성분의 분석 -----            | 98  |
| 다. 유용 케미칼의 산업화 가공 적성 -----             | 104 |
| 1) 저온 진공법에 의한 해조 extract 농축액의 제조 ----- | 104 |
| 2) 화인밀 공정에 의한 해조 분말 제조 -----           | 106 |
| 3) 해조-토양 클러스터 제조 -----                 | 106 |
| 제 3 절 제품의 품질안정성 및 산업적 응용시험 -----       | 111 |
| 1. 이론적 실험적 접근방법 -----                  | 111 |
| 2. 연구 내용 -----                         | 114 |
| 가. 시제품의 제조 -----                       | 114 |
| 나. 제품의 품질안정성 시험 -----                  | 115 |
| 1) 미생물시험 -----                         | 115 |
| 가) 가시적 상태 변화의 관찰 -----                 | 115 |
| 나) 일반세균 실험 -----                       | 115 |
| 다) 곰팡이 실험 -----                        | 115 |

|                             |         |
|-----------------------------|---------|
| 다. 제품의 품질특성 시험 -----        | 116     |
| 1) 성분분석 시험 -----            | 116     |
| 가) 주성분 -----                | 116     |
| 나) 유기물 -----                | 128     |
| 다) 유해성분 -----               | 129     |
| 라) 기타성분 -----               | 135     |
| 2) 물리적 특성 시험 -----          | 138     |
| 가) 붕해 시험 -----              | 138     |
| 나) 점도 측정 -----              | 139     |
| 라. 산업적 응용 시험 -----          | 140     |
| 1) 해조류의 extract의 활성검정 ----- | 140     |
| 가) 시험 종자 -----              | 140     |
| 나) 발아율 시험 -----             | 140     |
| 다) 생육 시험 -----              | 141     |
| 2) 해조-토양 클러스터의 효능시험 -----   | 141     |
| 가) 발아율 시험 -----             | 141     |
| 나) 생육 시험 -----              | 142     |
| <br>3. 연구 결과 -----          | <br>143 |
| 가. 시제품의 제조 -----            | 143     |
| 1) 해조 extract -----         | 143     |
| 2) 해조-토양 클러스터 -----         | 143     |
| 나. 제품의 품질 안정성 -----         | 143     |
| 1) 가시적 상태 변화 -----          | 123     |
| 2) 일반세균 -----               | 124     |
| 3) 곰팡이 -----                | 125     |
| 다. 제품의 품질특성 -----           | 147     |



|   |     |
|---|-----|
| 1) 성분 특성 -----                          | 147 |
| 2) 물리적 특성 -----                         | 154 |
| 가) 해조 extract 농축액의 점도 -----             | 154 |
| 나) 해조-토양 클러스터 입자의 중량 -----              | 155 |
| 다) 해조-토양 클러스터 입자의 봉해시험 -----            | 155 |
| 라. 산업적 응용 시험 -----                      | 158 |
| 1) 해조 extract의 효능 -----                 | 158 |
| 가) 보존료 및 희석 배율의 영향 -----                | 158 |
| 2) 제4종 복합비료 공정 규격에 의한 해조 extract의 배합 -- | 170 |
| 3) 해조 extract의 비료학적 특성 -----            | 170 |
| 가) 발아율 시험 -----                         | 170 |
| 나) 생육 시험 -----                          | 174 |
| 4) 해조-토양 클러스터의 비료학적 특성 -----            | 180 |
| 가) 발아율 시험 -----                         | 180 |
| 나) 생육 시험 -----                          | 182 |
| <br>                                    |     |
| 제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 --        | 191 |
| 가. 연구개발 목표의 달성도 -----                   | 191 |
| 나. 상기평가의 착안점에 따른 달성도에 대한 자체 평가 -----    | 192 |
| <br>                                    |     |
| 제 5 장 연구개발결과의 활용계획 -----                | 193 |
| <br>                                    |     |
| 제 6 장 참고문헌 -----                        | 194 |

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목적, 필요성 및 범위

우리나라 연안에 분포하고 있는 해조의 종류는 약 1천여 종이 넘을 것으로 추정되며, 그 종류도 다양하고 자원량도 풍부하다. 예로부터 우리나라는 일본과 더불어 세계적으로 우수한 해조 이용국으로서, 식용, 호료, 사료, 비료 및 해조공업 원료 등으로 해조를 이용하여 왔다. 특히 80년대 중반부터 해조류의 대량 양식 기술이 개발되어 해조류 생산량을 크게 증가하여 전체 수산물 생산량의 약 20%를 차지할 정도로 중요한 수산자원의 하나가 되었다. 근래에 와서는 세계적으로 해조를 식량자원으로 재평가하려는 추세에 있고, 또 최근에는 건강보조식품, 생리활성 물질의 공급원등으로서도 각광을 받고 있어, 해조의 이용도는 늘어날 것으로 전망되고 있다. 이러한 경향은 해조에 대하여 sea vegetables라는 표현을 사용할 정도로 우리의 식생활에 밀접한 관계를 가지고 있다.

한편, 분석기술의 발달에 힘입어 해조류에 함유되어 있는 다양한 유용성분들이 밝혀지고 있다. 즉, 인체의 호르몬 대사기능조절에 관여하는 무기질 및 비타민의 다량 함유되어 있고, 식이섬유, 알긴산 및 푸코이단 등의 정장작용, 중금속 배출작용, 비만억제 효과 및 항암작용 등에 관한 연구 결과들이 밝혀지고 있어, 현대인들이 지향하는 식생활 패턴에도 부합되는 건강기능성 식품으로도 그 가치가 크게 인정되고 있다. 그런데, 표에서 보는 바와 같이 그 종류가 단순가공품의 수준에 지나지 않을 정도이며, 해조류 가공기술은 미진하여 전체 해조류 생산량의 16%정도만이 가공되고 있어 부가가치를 창출시키고 있지 못하고 있는 실정이다. 이러한 결과는 해조양식 어민들의 지속적인

생산량 증가에 대비한 수요안정화는 물론이고, 해조류 가공 산업에 종사하는 인적 수요를 마련하게 되며 어촌의 소득증대에 크게 기여하게 될 것이다.

기술적인 측면에서 보면, 해조류에 대한 연구는 일부 대학 및 연구소에서 실시하고 있으나, 개발된 가공제품의 품목은 극소수에 지나지 않고, 현재 시판되고 있는 제품은 건제품, 염장품 및 자건품 등 식품용 단순 가공품이며 부가가치가 낮은 실정이어서 지속적으로 수출경쟁력이 있는 다양한 고부가가치 해조류 이용제품의 기술개발을 할 필요성이 있다. 본 과제에서는 국내산 해조류를 이용, 식물 성장 촉진제를 개발할 목적으로 아래 내용을 중심으로 연구를 수행하였다.

- ▶ 해조류 유용성분(성장촉진 및 관련 케미칼) 검색방법 확립
- ▶ 해조류의 유용물질 분리, 분석법 구명
- ▶ 유용 케미칼의 기능특성 시험
- ▶ 관련 케미칼의 품질 안정성 시험
- ▶ 유용물질의 성분특성 및 산업화 적용시험
- ▶ 대량생산을 위한 최적공정기술의 확립

경제적인 측면에서 보면, 해조류 가공제품은 국내외의 안정적 소비수요를 갖고 있을 뿐만 아니라 해안 인근 농어촌지역에서 중소규모 지역 특산품화 품목으로 적합하여, UR 대응 및 수출상품화 품목으로 매우 유망한 수산가공품이라 할 수 있다. 국내에서 대량생산되는 해조류를 이용한 산업을 활성화 시킴으로서 어민소득 증대 및 WTO 체제에 능동적으로 대처하고, 중국산 해조류 가공품에 대한 수출경쟁력이 있는 고차가공제품의 기술개발이 절실히 필요한 실정이다.

그 동안 이 분야에 관심을 가진 대학, 연구소 및 기업체가 협력하여 수행해 오던 기초적 연구를 완성시키기 위하여 본 과제를 수행하게 되었으며, 개발된 기술이 산업화에 성공한다면 수입대체품으로 이용할 수 있으며, 국내 해조류 가공산업에 새로운 장을 열게 될 것으로 확신하며, 해조양식 어민들의 지속적인 생산량 증가에 대비한 수요안정화는 물론이고, 해조류 가공 산업에 종사하는 인적 수요를 마련하게 되며 어촌의 소득증대에 크게 기여하게 될 것이다. 또한, 이미 오래 전부터 양식해조류 및 해조가공품을 일본시장에 수출하고 있는 기반을 활용하여 새로운 해조류 고차가공품을 수출함으로써 외화획득에 도움이 될 뿐만 아니라, 수산물의 소비확대를 꾀할 수 있어 침체된 수산업계에 활력소가 될 것으로 생각한다.

▶ 수출용 해조가공제품의 개발을 통한 외화 획득

▶ 벤처기업형 해조가공 산업기술 확립을 통한 어민소득 향상

한편, 사회적 측면에서 보면, 수산물의 남획 및 환경오염으로 연안 수산자원의 고갈뿐만 아니라 연안어장의 황폐화가 가속되어 점점 어민 소득이 감소되고 있으며, 이로 인하여 사회적으로 수산업에 대한 관심이 낮아지고 있고, 수산업의 발전도 아울러 저하되고 있는 실정이다. 따라서 연안어장의 생산력 증대를 통하여 대량으로 생산되는 해조류의 가공기술 확립으로 어촌경제를 활성화시키고, 지역 주민의 사회적 기반을 확고하게 하는데 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

- ▶ 우리나라 남해안 지방의 지역특산제품으로 개발
- ▶ 부가가치가 높은 해조가공산업으로 육성 발전
- ▶ 도시와 농어촌의 균형발전 도모
- ▶ 유망 수출품으로 육성 개발하여 어민의 생산력 향상

본 과제 수행자들은 그 동안 다양한 해조류 가공제품을 생산하기 위한 연구사업에 참여한 경험을 바탕으로, 양식산 해조류의 불가식부를 적극 이용하여 폐기되는 자원을 재활용할 수 있는 환경친화적 기술을 개발, 식물 성장호르몬 및 관련 케미칼을 소재로 한 새로운 해조류 이용 산업의 창출에 공헌하고자 하였다.

이러한 기술 개발의 배경은 일반적으로 해조류에는 질소, 인의 함량은 작지만, 칼륨은 상당히 풍부한 것으로 알려져 있으며, 대부분 속성장 대형 해조류는 cytokinin과 같은 성장호르몬 및 관련 활성물질을 가지고 있다는데 착안한 것이다. 즉, 북아프리카, 영국 및 노르웨이 국가에서는 속성장 대형 해조류를 선별하여 활성물질을 추출, 농축하여 고부가 속성장 비료로 제조하고 있다. 이러한 해조농축물이 곡류, 과일, 채소, 화훼를 비롯한 많은 식물들에 작용하여 성장을 촉진하고 열매 수확율과 품질을 향상시키는데 매우 좋은 효과를 가지고 있다. 또한 가뭄에 견디고, 식물질병 및 해로운 곤충에 대한 저항성을 높여주는 특이한 효과를 가지고 있다. 현재 이러한 해조 농축물을 생산하는 주요 기술은 해조류 줄기를 분해하는 것이며, 해조 줄기는 완전히 분해하는 것은 물론 효과성분도 완전히 용해시켜, 그 활성을 유지하는 기술이라 할 수 있다.

유기물을 풍부하게 하거나 무기질을 공급하고, 흙속에서 보수력을 가지게 하여 건기에도 식물이 잘 자라도록 하는 토양 개선제나 토양 유기질 급원으

로 사용할 수 있다. 그리고 척박한 환경 혹은 경사진 경작지 등에 이용하여 토양결착제로 사용할 수 있다. 토양 결착제는 씨앗과 물을 혼합하여 토양에 직접 파종하면 토양과 결착하여 5~8 mm 두께로 클러스터를 형성하게 된다. 이러한 클러스터는 수분을 침투하게 하는 성질을 가지고 있으며, 부식이 일어나기 전에 파종된 위치에서 새싹이 발아하게 된다. 해조류에서 추출한 옥신, 사이토키닌, 및 지베렐린과 같은 성장촉진물질이 함유된 토양결착제는 토양결착 클러스터 속에서 쉽게 종자가 발아되며, 클러스터는 자연히 생분해되어 원래의 토양으로 변하게 된다.

따라서, 본 과제에서는 국내산 주요 해조류를 이용하여 활성성분의 탐색, 분석 방법의 확립은 물론, 식물성장 촉진제 용도로 이용하기 위한 해조 농축물, 해조분말 및 해조-토양 클러스터 제조 기술 등을 개발하고자 하였다.

**[표 1] 해조류의 용도**

|                 |   |
|-----------------|---|
| 식 품             | 건제품 - 마른김, 마른미역, 마른청각, 마른다시마, 자건뚝, 자건미역 등   |
|                 | 염장품 - 간미역, 간다시마, 간미끈가지 등  |
|                 | 조미품 - 조미김, 조미조림 김, 조미조림 다시마, 절임미역등  |
| 해조공업제품          | 한천, 알긴산, 카라기난, 요오드, 만니트, 후셀라난, 후로란 등  |
| 사 료<br>및<br>비 료 | 사료 - <i>Macrocystis</i> spp., <i>Fucus</i> spp., 뚝부기, 다시마류, 진두발류 등을 원료로 한 사료.<br>비료 - 해조퇴비, 해조회, 해조로 제조한 액체비료 |
| 의 약 및<br>생리활성물질 | 구충성분, 혈압강하성분, 항 궤양성성분, 항균성 성분, 응집활성성분 등   |

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 국내외 관련 기술의 현황

#### 1. 국내 기술 현황

해조류를 이용한 가공기술개발 연구로는 주로 미역이나 김의 성분특성변화 시험 및 재처리에 의한 미역의 색소안정화 효과, 양식미역의 이용가공 및 품질요인, 미역김의 제조와 이화학적 특성, 미역분말 주스의 제조, 미역잼의 제조, 미역분말을 혼합한 제과 적성, 미역 추출액을 이용한 조미료 소재의 개발, 미역묵의 개발 그리고 김색소 고정 효과, 구운김의 가공 및 저장중의 품질변화 연구 등이 있으며, 김 가공제품으로는 현재 다량 시판되고 있는 소포장 구운김, 다시마 환, 다시마 농축물 및 다시마 캔디 그리고 최근에 본 연구진에 의하여 개발된 해조면 제품 등이 있다. 그러나 본 과제에 관련하여 해조류를 이용한 성장홀몬 및 관련 케미칼의 제품에 대해서는 아직 시도된 적이 없으며, 응용산업 소재로서의 이용이나 실용화 단계는 거의 실현되지 못하고 있다.

#### 2. 국외 기술 현황

한랭한 지역에서 서식하는 대형 갈조류인 켈프를 생산하고 있는 노르웨이에서는 식물 성장 촉진제 및 사료 등의 제품을 생산하고 있으며, 남아프리카에서는 대형 갈조류에서 식물성장 촉진물질이 함유된 액상비료 제품 등을 생산하고 있다. 일본의 경우에서도 미역 및 김에 대한 영양학적 성분 특성시험과 염장 또는 건조미역, 건조김의 제조방법 개선을 비롯하여 저장 및 유통중의 품질안정성에 초점을 맞추어 수행된 것이 대부분이며, 국내의 연구동향과 거의 비슷하게 이루어지고 있는 실정이다. 특히 중국에서는 다시마의 양식기술의 개발로 해조류를 대량생산하고 있어 해조류를 이용한 공업제품을 일부 생산하고 있다. 그러나 성장촉진제 및 관련 케미칼의 산업화 기술은 영

국, 노르웨이 등 유럽, 뉴질랜드 및 남아프리카 공화국을 중심으로 일부 나라에서 선도하고 있는 실정이다.

## 제 2 절 연구결과가 현황에 차지하는 위치

현재 유럽의 경우 비료 및 기타 작물 재배용 화학제품 시장은 약 30 billion (US)인 반면에, 유럽 액상 해조류 extracts 시장은 단지 20 million (US)에 불과하다. 그러나, 앞으로 화학 살균, 살충제, 비료 등에 대하여 우려가 증가되고 있어 그 잠재적 가치는 매우 크다. 영국, 노르웨이 및 아일랜드 등 유럽을 비롯한 뉴질랜드 및 남아프리카 공화국 등에서는 해조류를 원료로 한 작물 경작용 제품을 현재 3 종류 즉, 해조류 분말 제품, 액상 seaweed extracts, 해조-토양 클러스터 형태로 생산 판매하고 있다.

전통적인 토양 영양제의 사용은 한 지역에 있어 질소염 요구량을 측정할 수 있는 chlorophyll meter와 같은 새로운 기술을 이용함으로써 빠른 속도로 최적화되고 있다. 특히 “지능 트랙터 로봇” (intelligent tractor robots)은 경작지를 움직이며 영양소 요구량을 자동 측정할 수 있을 것이며, 특정 지역에 필요한 비료의 정밀한 양만큼을 즉시 살포함으로써 그 요구량을 보충할 수 있을 기술의 이용에 직면해 있다. 그러나, 유전자 개선 및 비료의 적정 사용에 의한 대량 수확률 증가는 더 이상 불가능하다는 사실은 분명하다.

앞으로 이러한 농작물의 수확증대는 액상 해조류 extracts와 같은 “성장 촉진제”를 사용하는 것에 의하여 해결할 수 있다. 약 300 million (US)에 달하는 유럽 농업화학 시장의 단지 1%만 점유하더라도 해조류 성장촉진제는 전망이 있는 사업이며, 또한 극동지역 시장은 더욱 크다고 할 수 있다. 집약 농업에 있어 “화학제품”의 사용에 대한 소비자들의 관심이 증대되고 있기 때문에 유기농업 분야는 엄청난 시장 이익을 발생시킬 수 있으며, 해조류를 원료로 한 작물 성장 촉진 및 토질개선용 제품은 이러한 점에서 매우 투자가치가 높다고 할 수 있다. 산업에 미치는 파급효과를 보면, 현재 일부 수입되고 있는 제품을 순수한 국내 개발 기술로써 대체할 수 있으며, 대량양식 생산되는 해조류의 소비를 확대시켜 양식어민의 소득을 증대하고, 연중 유통 가능한



새로운 분야의 해조가공 제품생산으로 수출증대에 이바지하여 농가 소득증대 및 부가가치의 향상을 도모할 수 있다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 원료의 성분특성 및 활성물질의 분리·분석

#### 1. 이론적 실험적 접근 방법

해조류 중에 흔히 바다의 대나무로 불리고 있는 *Ecklonia maxima*는 세계적으로 여러 해안선에서 풍부하게 존재하고 있다. 가장 성장이 빠르다고 알려져 있는 이 대형 해조류 (kelp)는 거대한 지지체를 가지고 있고 구근에서 조체 선단까지의 거리가 대략 15 m에 이른다. 흔히 바다표면에 떠 있는 이 해조류는 *Ecklonia maxima*일 경우가 많으며, 해양 생태계에서 직접 또는 간접적으로 에너지원으로서 큰 역할을 하고 있다. 그리고 이 해조류는 직간접적으로 해양생물의 먹이가 되며, 해양의 조수에 의해 끊임없이 침식된다. 이 거친 환경 속에 생존의 비밀은 바로 극도로 빠른 성장력이다.

해조류 중에는 하루에 30 cm만큼이나 자랄 수 있는 종류도 있다. 그리고 이 놀랄만한 현상은 일련의 천연 성장 호르몬들에 의해 이루어진다. 이들 중 가장 주목할 것은 사이토키닌이며, 육상 식물보다도 해초류에서 높은 농도로 발견되고 있다. 모든 식물들은 그들 자신의 성장을 촉진시키기 위해 사이토키닌을 생산하고, 또한 외부로부터 이 호르몬을 얻게 되었을 때도 이에 대한 반응을 한다. 식물의 성장 잠재력은 수세기 동안 계속된다고 알려져 있다. 고대 그리스에서는 해조류로써 땅을 비옥하게 하였고, 중국에서도 몇 세기 동안 연안의 흙을 기름지게 하였다. 그것은 해조류가 함유한 높은 알긴산 함유량과 매우 뛰어난 수분과 영양성분을 함유하고 있는 특성 때문이다. 해조류는 영양성분이 풍부한데, 이것은 육상에 있는 모든 영양분들이 해양으로 흘러 들어오기 때문이며, 또한 이러한 영양성분을 흡수하는데 경쟁자가 거의 없기 때문이라 할 수 있다. 오염물질은 거의 받아들이지 않고 모든 필수 영

양성분들은 우선적으로 축적한다. 해조류와 액체 해조추출물의 효능이 농작물과 개화기 식물에 영향을 준다는 사실을 잘 알려져 있다.

영국 Portsmouth Polytechnic College의 Dr. Blunden은 농업에 있어서 해조류의 유용성은 정확하지 않다는 주장을 입증하기 위한 연구 프로그램에 착수한 바 있다. 그러나 그는 그러한 주장이 그릇되고 근거 없는 것이라고 믿었으며, 놀랍게도 그는 해조류에 관한 이러한 주장을 뒷받침할 수 있는 증거를 많이 발견하였으며, 해조류 중에 함유되어 있는 성장 호르몬과 관련이 있다는 결론을 얻었다. 그에 따르면 해조류의 호르몬들은 강력하고, 안전하며 사람에게 무해하다고 한다. 식물의 잎은 이러한 호르몬을 신속히 흡수할 수 있고, 잎에 보유할 수 있다. 이 호르몬들이 식물에 끼치는 이로운 효과는 탄수화물과 엽록소의 생성을 도와 수명을 늘리고 생성물을 증가시키며 단백질의 함량도 높이기 때문에 이러한 호르몬들이 해조류 성장에 특별한 영향을 준다는 사실을 인식하게 되었다.

식물 호르몬들은 화학적 메신저들이고, 이들은 한 부분에서 만들어져 식물의 다른 부분으로 이동하며, 이 호르몬들은 매우 낮은 농도로 이동하며 여러 곳에 영향을 미친다. 해조류는 지베렐린, 옥신, 베타인, 싸이토키닌을 함유하고 있다. 옥신의 함량은 비교적 낮고, 베타인과 지베렐린은 예외없이 발견된다. 현대의 연구자들은 해조류를 이용하여 지베렐린과 베타인의 특별한 반응을 확인할 수 있었다. 그러나, 해조류의 성장에 영향을 미치는 데 있어 싸이토키닌이 주요한 호르몬으로 알려져 있으며, 해조류는 이 호르몬을 상당히 높은 수준으로 함유하고 있고 해조류의 가공 처리 과정을 거처도 비교적 안정한 상태로 남아있다고 한다.

일부 알려진 싸이토키닌은 식물 또는 농작물에 사용될 때 그 효과는 다양하다. 즉, 세포 분열 자극, 형태 형성(발생) 자극, 결가지의 성장 자극, 잎 성장의 자극 등, 기본적으로 싸이토키닌은 세포를 분열시키고 잎을 성장시킨다. 해조류를 감자 재배에 이용한 실험에서 놀랄만한 결과가 알려져 있는데,

즉 해조류를 감자잎에 분사하여 키우는 실험을 반복한 결과, 감자의 수확이 15~20%정도 높아졌다고 하며, 캐나다의 한 해조 양식업자에 의해서도 결과가 동일하게 나왔다. 또한 대부분의 연구는 성장률에 있어 균일함이 발견되었고, 그것은 상업적 매력을 가지고 있었다.

또한 Dr. Blunden은 새싹을 대형 해조류로서 조종할 수 있다는 것을 발견했다. 감자들을 묶은 kelp 용액(1리터당 1 g)에 담구면, 그곳에는 싹의 수와 새싹의 비율이 늘어났다. 그는 또 다른 긍정적인 영향을 발견하였는데, 그것은 감자를 고농도의 해조류 추출물 용액에 담구었을 때 싹의 성장이 멈춘 것이었다. 이것은 수확 후 저장기간을 늘리는 기술에 영향을 줄 수 있다. 식물의 Brix는 식물이 이용하는 미네랄과 당을 포함한 수용성 고형물을 말하며, Brix 레벨은 또한 미네랄 레벨을 반영한다. Brix가 높은 식물은 생산성이 좀더 높아지고, 병충해에 저항력을 가지며, 모든 종류의 스트레스에 좀더 효과적으로 강인한 경향을 보인다.

최근 해조류는 그 소비량이 매우 증가하는 추세이며 그 소비형태도 매우 다양화되고 있다. 그런데 전처리 과정 중 가식부와 비 가식부로 나뉘고 가식 부만이 유통되고 있는 실정이다. 이때 발생하는 비 가식부위는 폐기물로 구분되어 처리에 어려움이 있을 뿐만 아니라 오염의 한 원인이 되고 있다. 이를 이용할 수 있는 기술 개발은 수산 폐자원의 재활용이라는 측면에서 매우 가치 있는 일이다. 상기에서 살펴 본 바와 같이 해조류에는 식물 성장 호르몬이 함유되어 있어 이를 이용할 필요성이 크지만 이와 같은 연구가 아직 국내에서는 거의 이루어지지 않고 있어, 유기농 비료와 기능성 가축사료 등 다양한 용도의 제품 개발이 기대되고 있다.

## 2. 연구내용

### 가. 시료 해조류 및 성분 특성

#### 1) 시료 해조

시료는 부산시 기장산의 미역, 다시마, 툇 및 파래, 전라남도 완도산의 미역, 다시마, 툇을 구입하여 -20℃ 이하의 냉장고에 보관하면서 실험에 이용하였다 (Fig. 1).

#### 2) 해조류의 성분 특성

시료 해조류의 종류별, 산지별, 부위별에 따른 일반성분, 구성당, 다당류, 아미노산 및 무기질 함량을 조사하였다.

#### 가) 일반성분의 분석

수분함량, 단백질, 지방 및 회분 함량은 AOAC 법에 따라 실험하였다.

#### 나) 총 식이섬유

총 식이섬유 함량은 AOAC 방법 (Lee 등, 1992)에 따라 측정하였다.

#### 다) 다당류

알긴산, 푸코이단 및 라미나란 함량은 효소적 방법 (Zvyagintseva 등, 1999)으로 분석하였다. 즉 알긴산은 alginate lyase, 푸코이단은 fucoidan hydrolase, 라미나란은 (1-3)-beta-D-glucanase를 사용하였으며, 각각 이들 효소 0.1 ml ( $1\sim 2 \times 10^{-2}$  U/ml)를 시료 용액 (1~5 mg/ml of 0.1 M acetate buffer, pH 5.5, 0.5~2 hr at 25℃)에 2회 첨가하여 가수분해가 충분히 진행되도록 하였으며, 효소반응 결과 생성된 환원당은 Nelson 법으로 235 nm에서

흡광도를 측정하여 각각의 함량을 산출하였다.

### 라) 유리아미노산

유리아미노산은 시료 15 g에 탈이온수 100 ml를 가하고 마쇄한 후 여과하고, 그 여액에 20% trichloroacetic acid (TCA)를 15 ml 가한 다음 하룻밤 냉장고에서 방치시켜 단백질을 침전 제거하였다. 이 상층액에 diethylether를 가하여 TCA, 지용성물질 등을 제거한 후 수용액층을 40°C 이하에서 감압농축시키고 0.2 N-citric acid buffer (pH 2.2)용액으로 10 ml로 정용한 다음 0.2  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 후 40  $\mu\text{l}$ 를 취하여 분석용 시료로 사용하여 분석하였다. 분석조건은 LKB 4150, alpha autoanalyzer, Ultrapac 11 cation exchange resin, 0.2M Na-citrate 완충액(pH 3.20, 4.25, 10.0) 유속 40 ml/hr, ninhydrin 유속 25 ml/hr, column temperature. 50~80°C로 하였다.

### 마) 무기질

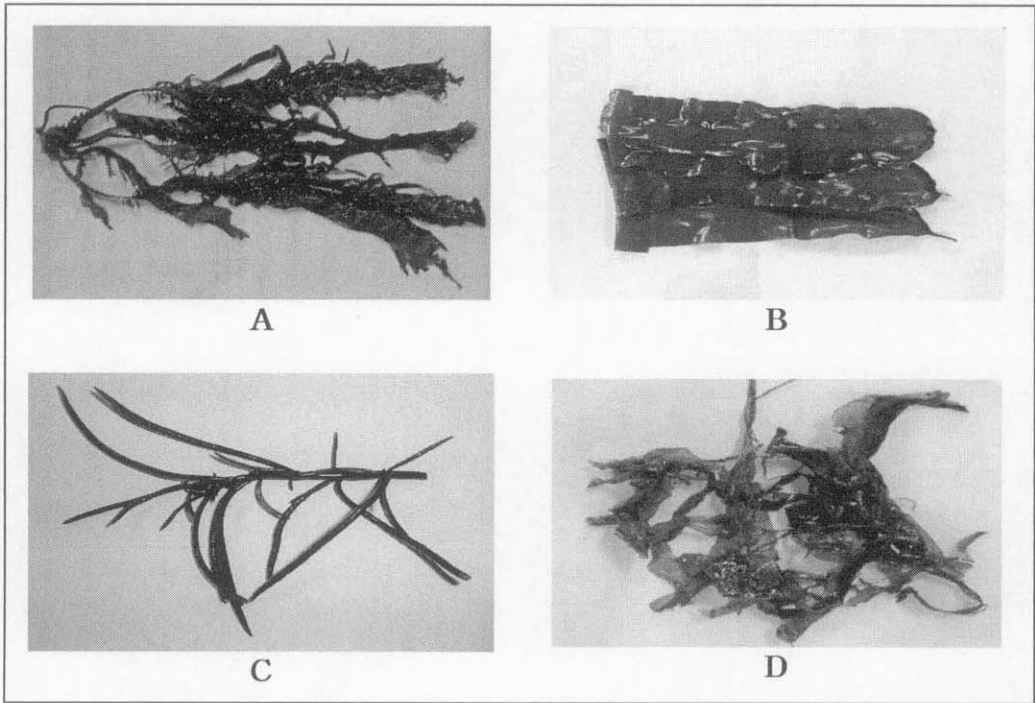
시료 2 g에  $\text{H}_2\text{SO}_4$  4 ml, 분해제 ( $\text{HClO}_4$ ) 7 ml,  $\text{H}_2\text{O}_2$  3 ml를 가하여 분해장치 내에서 낮은 온도로 서서히 가열하여 완전히 무색으로 변할 때까지 분해한 후, 20 ml로 정용하여, atomic absorption spectrophotometer (Shimadzu, AAS-6501, Japan)를 사용하여 분석하였다. 분석조건은 plasma flow : 15 L/min, auxiliary : 0.5 L/min, nebulizer : 0.8 L/min, RF power 1300 watts, speed 18.75 rpm이었다.

## 나. 해조류 중의 성장호르몬 및 관련 케미칼 탐색

### 1) 시료의 추출 및 정제

모든 시료의 식물 호르몬은 Fig. 2와 같은 방법으로 추출하였다. 즉, 검

체에다 10배량의 2%  $\text{NaHCO}_3$ 를 가하고, hot plate상에서 30분 동안  $100^\circ\text{C}$ 로 교반 가열하였다. 잔사를 여과하고 그 여액을 1 N HCl을 사용하여 pH 2.0으로 조정 한 후, 2,800 rpm에서 15분간 원심 분리하여 잔사를 제거하고, separating funnel에 여액과 ethyl acetate 100 ml를 넣고 충분히 혼든 다음 상층을 취하였다. 다시 동일한 방법으로 2회 더 취하였다. 여액은 별도로 보관하고, 이렇게 하여 3회 모은 상층을 진공 농축시켜 methanol로 3 ml로 정용하여 IAA, ABA 및  $\text{GA}_3$  분석에 사용하였다. 그리고 별도로 보관한 여액을 1 N NaOH를 사용해 pH 7로 조정 한 후, separating funnel에 여액과 ethyl acetate 100 ml를 넣고 충분히 혼든 다음 상층을 취하였다. 동일한 방법으로 2회 더 취하여 모은 상층을 진공 농축시켜 methanol로 3 ml로 정용하여 zeatin 분석에 사용하였다.



**Fig. 1. Seaweeds used as sample.**

A : Seaweed mustard; B : Sea tangle;  
C : Seaweed fusiforme; D : Sea lettuce.



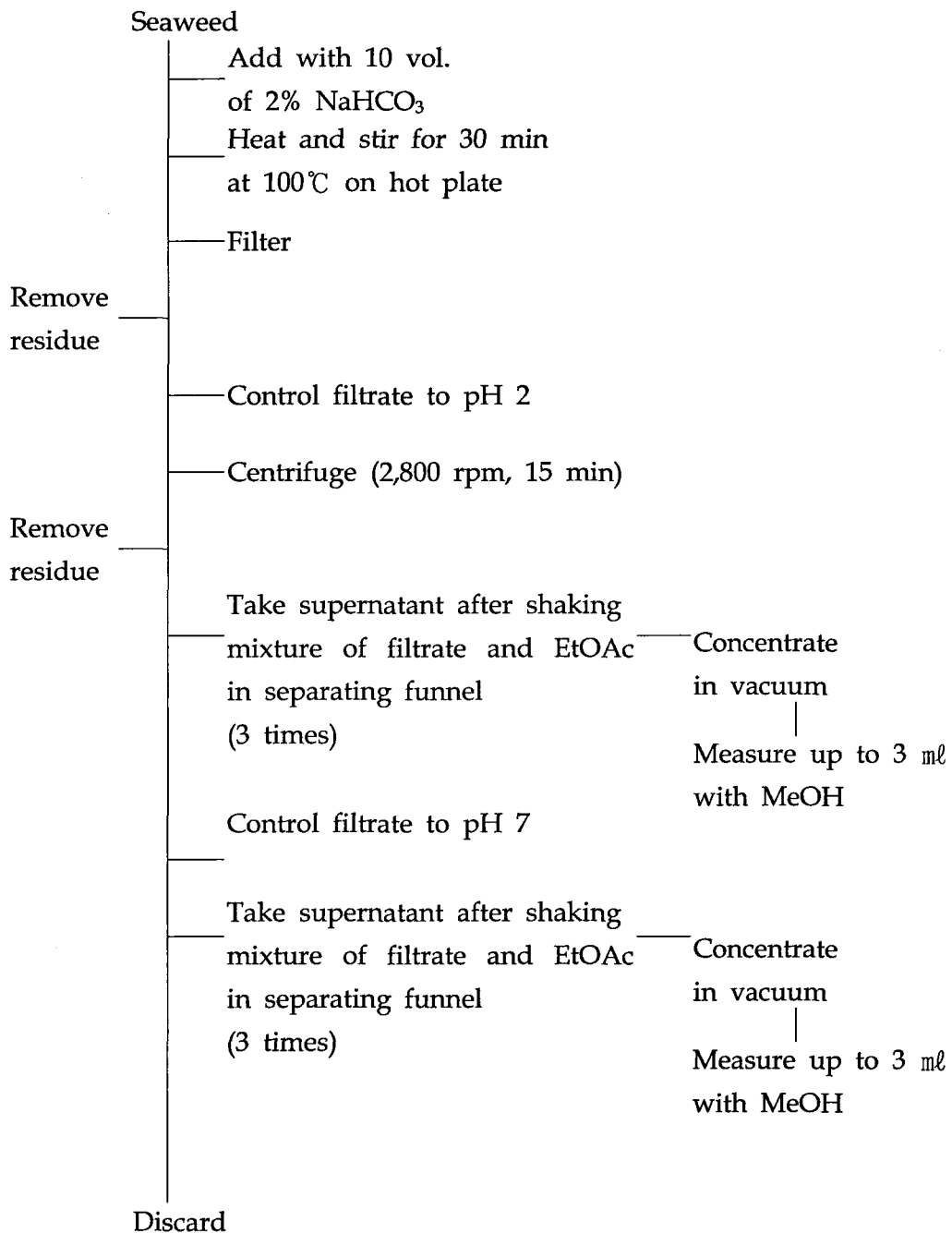


Fig. 2. Procedures for extraction of plant hormones from seaweed.

## 다. HPLC에 의한 분석 조건 선정

### 1) 시약 및 분석기기

Indole-3-acetic acid (IAA), abscisic acid (ABA), gibberellic acid (GA<sub>3</sub>), trans-zeatin (zeatin) 표준품은 Sigma사제, potassium phosphate NaHCO<sub>3</sub>는 Kanto 사제, acetic acid, methanol은 Merck 사제, HPLC용 용매는 Merck사제를 사용하였다. HPLC system은 Jasco 사제의 Jasco FP-1580 intelligent HPLC Pump, Jasco DG-1580-544-Line Degasser, Jasco LG-1580-04 Quaternary Gradient Unit, 원심분리기는 MF-600 (한일과학), UV spectrophotometer는 U.V-340 (TURNER), pH meter는 IQ-240 (IQ사)의 제품을 사용하였다.

### 2) 표준용액의 조제

#### 가) IAA

표준품 IAA 20 mg을 정밀히 달아 methanol에 녹여 메스플라스크에 넣고 methanol로 100 ml 되게 하여 표준원액 (200 ppm)으로 하였다. 정량시험을 위한 검량선 작성은 이 표준원액을 2, 5, 10 및 20 ppm의 농도가 되게 희석하여 사용하였다.

#### 나) Zeatin

표준품 zeatin 10 mg을 정밀히 달아 methanol에 녹여 메스플라스크에 넣고 methanol로 100 ml 되게 하여 표준원액 (100 ppm)으로 하였다. 정량시험을 위한 검량선 작성은 이 표준원액을 10, 20, 50 및 100 ppm의 농도가 되게 희석하여 사용하였다.

#### 다) GA<sub>3</sub>

표준품 GA<sub>3</sub> 50 mg을 정밀히 달아 methanol에 녹여 메스플라스크에 넣고 methanol 100 ml 되게 하여 표준원액 (500 ppm)으로 하였다. 정량시험을 위한 검량선 작성은 이 표준원액을 100, 250 및 500 ppm의 농도가 되게 희석하여 사용하였다.

#### 라) ABA

표준품 ABA 20 mg을 정밀히 달아 methanol에 녹여 메스플라스크에 넣고 methanol로 100 ml 되게 하여 표준원액 (200 ppm)으로 하였다. 정량시험을 위한 검량선 작성은 이 표준원액을 2, 5, 10 및 20 ppm의 농도가 되게 희석하여 사용하였다.

### 3) 시료 중의 활성물질의 검색

시료 해조류를 Fig. 2와 같은 방법으로 전처리하여 HPLC 분석 시료로 이용하였다.

### 4) 활성물질의 분리 및 정제

활성물질인 성장 호르몬 및 관련 케미칼의 분리, 정제는 Fig. 2와 같은 방법으로 시행하였다. 즉, 활성물질은 미량 존재하고 있어 시판 합성품과 비교하여 가격 면에서 볼 때 이들을 순수하게 분리한다는 것은 의미가 크지 않다고 생각되었다. 따라서 연구의 효율성이라는 측면에서 활성물질의 분리 정제는 HPLC 분석 시료 수준까지 정제하였다.

### 5) 해조류 extract의 추출 최적 조건 선정 및 시제품의 제조

아래와 같은 주요 영향 요인들에 대하여 3회 반복 실험 조사하여 해조 extract 추출 최적 조건을 선정하고, 시제품 해조 extract를 제조하였다.

즉, 해조 시료 3 kg에 2% NaHCO<sub>3</sub> 용액 30 l 을 넣은 후 100℃에서 30분간 가열 및 교반하여, 이것을 여포로 여과하고, 여액은 따로 모아 1/10로 감압 농축한 후, pH 3.0조정하여 산화방지제를 각각 첨가하여 보관하였다 (액상시료). 이때 발생하는 잔사는 동결 건조하여 분말로 보관하였다 (분말상 시료).

#### 가) NaHCO<sub>3</sub> 농도에 따른 영향

농도에 따른 추출 최적 조건을 확립하기 위하여 검체 10 g에 0.5, 1, 2, 5% NaHCO<sub>3</sub> 용액 100 ml을 농도별로 넣은 후 농도에 따른 추출효율을 살펴보았다.

#### 나) 가열시간에 따른 영향

가열 시간에 따른 최적조건을 확립하기 위하여 검체 10 g에 2% NaHCO<sub>3</sub> 용액 100 ml을 넣은 후 100℃에서 가열 및 교반을 하여 시간에 따른 추출효율을 살펴보았다.

#### 다) 해조류 산지 및 부위에 따른 영향

검체 10 g에 2% NaHCO<sub>3</sub> 용액 100 ml을 넣은 후 100℃에서 가열 및 교반을 하여 산지·부위별에 따른 추출효율을 살펴보았다.

#### 6) HPLC에 의한 분석

본 연구 과정 중 예비실험을 통하여 선정된 HPLC의 최적 분석조건에 의하여 분석하였다. 즉, IAA, Zeatin, GA<sub>3</sub> 및 ABA의 분석은 각각 Table 1~4와 같은 조건으로 행하였다. 한편 표준용액 및 검체 용액은 주사기 필터 (재질: PTFE)로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다.

Table 1. HPLC operation conditions for IAA analysis

|                  |   |      |      |
|------------------|---|------|------|
| Detector         | UV detector<br>285 nm                       |      |      |
| Mobile phase     | A : 0.5% Acetic acid<br>B : Methanol        |      |      |
| Flow rate        | 1 ml/min                                    |      |      |
| Column           | Altech, SPHERISORB ODS-2 (4.6×250 mm, 5 μm) |      |      |
| Inj. vol.        | 5 μl  |      |      |
| Gradient program | Time(min)                                   | A(%) | B(%) |
|                  | 0   | 95   | 5    |
|                  | 10  | 70   | 30   |
|                  | 20  | 50   | 50   |
|                  | 30  | 30   | 70   |

Table 2. HPLC operating conditions for zeatin analysis

|                  |   |      |      |
|------------------|---|------|------|
| Detector         | UV detector<br>269 nm   |      |      |
| Mobile phase     | A : 20 mmol Potassium phosphate buffer (pH 7.0)<br>B : Methanol |      |      |
| Flow rate        | 1 ml/min  |      |      |
| Column           | Altech, SPHERISORB ODS-2 (4.6×250 mm, 5 μm)                     |      |      |
| Inj. vol.        | 15 μl   |      |      |
| Gradient program | Time(min)   | A(%) | B(%) |
|                  | 0   | 95   | 5    |
|                  | 10  | 70   | 30   |
|                  | 20  | 50   | 50   |
|                  | 30  | 30   | 70   |

Table 3. HPLC operating conditions for GA<sub>3</sub> analysis

|                  |   |      |      |
|------------------|---|------|------|
| Detector         | UV detector                                 |      |      |
|                  | 250 nm                                      |      |      |
| Mobile phase     | A : 0.5% Acetic acid                        |      |      |
|                  | B : Methanol                                |      |      |
| Flow rate        | 1 ml/min                                    |      |      |
| Column           | Altech, SPHERISORB ODS-2 (4.6×250 mm, 5 μm) |      |      |
| Inj. vol.        | 5 μl  |      |      |
| Gradient program | Time(min)                                   | A(%) | B(%) |
|                  | 0   | 95   | 5    |
|                  | 10  | 70   | 30   |
|                  | 20  | 50   | 50   |
|                  | 30  | 30   | 70   |

Table 4. HPLC operating conditions for ABA analysis

|                  |   |      |      |
|------------------|---|------|------|
| Detector         | UV detector                                 |      |      |
|                  | 285 nm                                      |      |      |
| Mobile phase     | A : 0.5% Acetic acid                        |      |      |
|                  | B : Methanol                                |      |      |
| Flow rate        | 1 ml/min                                    |      |      |
| Column           | Altech, SPHERISORB ODS-2 (4.6×250 mm, 5 μm) |      |      |
| Inj. vol.        | 5 μl  |      |      |
| Gradient program | Time(min)                                   | A(%) | B(%) |
|                  | 0   | 95   | 5    |
|                  | 10  | 70   | 30   |
|                  | 20  | 50   | 50   |
|                  | 30  | 30   | 70   |

## 7) 생물검정에 의한 활성 검색

생물학적 검정은 무순, 메밀, 유채 및 들깨 종자 [(주)아람원예종묘]를 시중에서 구입하여 수경재배 및 Petri-dish 상에서의 배양기간 중 대조구와 해조류 생조체 첨가구의 종자 성장 정도를 비교하였다. 또한 해조 extract 농축액의 농도를 달리하여 수경재배 중 이들 종자의 성장 정도를 동일한 방법으로 비교 조사하여 활성을 검색하였다.

## 3. 연구결과

### 가. 시료 해조의 성분 특성

#### 1) 일반성분

해조류의 일반성분 함량은 Table 5에 나타내었다. 해조류 4종의 일반성분 중 단백질의 함량에 있어서는 파래, 미역에서 상대적으로 높은 함량을 나타내었으며, 탄수화물에 있어서는 파래, 다시마 순으로 함량이 높게 나타났다. 또한 회분의 함량은 다시마, 툇에서 높게 나타났다. 식품성분표(농촌생활연구소)와 비교하여 보았을 때, 비슷한 경향을 보였다.

#### 2) 총 식이섬유 및 다당류

해조류에 포함되어 있는 총 식이섬유의 함량은 Table 6과 같다. 식이섬유의 함량은 기장 다시마 (45.95%)가 가장 높았으며, 기장 미역 포자 (37.63%)의 경우가 가장 낮게 나왔다. 기장 다시마의 식이섬유질의 함량이 높은 것은 서식의 환경과 시료의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

미역은 총 식이섬유 함량 측정 시 분해과정에서 amyloglucosidase의 최적 pH 조정이 적당하지 않을 경우 효소작용에 의한 당질의 제거가 완전치

못하여 측정값이 다소 높게 나타날 수 있는 것으로 알려져 있다.

해조류에 포함되어 있는 alginic acid, fucoidan, laminaran의 함량은 Table 7에 나타내었다. Alginic acid 함량이 가장 높게 나타났으며 fucoidan의 함량이 가장 적었다. Alginic acid 함량을 측정한 결과 미역은 19.6~23.6%로 높은 경향을 보였으나, 다시마의 경우는 13.8~14.6%로 낮게 나타났다. 산지별 fucoidan의 함량차이는 크지 않았으나, 시료별 함량차이는 크게 나타났다. 톳의 경우 2.3~2.5%로 나타났으나 다시마의 경우는 0.1%로 낮은 함량을 보였다. Laminaran의 함량을 측정한 결과, 시료별 큰 차이는 보이지 않았으나 특히, 다시마는 4.2~4.3%의 높은 함량을 보였다. 대체적으로 특정 다당류에 대한 함량이 시료 종류에 따른 차이는 보였으나, 산지별 차이는 크지 않았다.



**Table 5. Proximate composition of seaweeds**

| Common name<br>Collected place |       | Moisture | Crude<br>protein | Crude<br>lipid | Ash  | Carbohydrate |
|--------------------------------|-------|----------|------------------|----------------|------|--------------|
| Sea mustard                    | Raw   | 88.2     | 2.4              | 0.2            | 3.9  | 5.3          |
| Kijang                         | Dried | 16.2     | 19.8             | 3.0            | 25.1 | 35.9         |
| Seaweed fusiforme              | Raw   | 88.3     | 1.8              | 0.4            | 4.7  | 4.8          |
| Kijang                         | Dried | 32.9     | 6.4              | 0.8            | 28.1 | 31.8         |
| Sea tangle                     | Raw   | 91.1     | 1.2              | 0.2            | 3.3  | 4.2          |
| Kijang                         | Dried | 12.2     | 7.5              | 1.1            | 35.0 | 44.2         |
| Sea lettuce                    | Raw   | 87.3     | 3.4              | 0.8            | 5.0  | 3.5          |
| Kijang                         | Dried | 15.2     | 24.0             | 0.7            | 13.8 | 46.3         |
| Sea mustard                    | Raw   | 89.3     | 2.1              | 0.2            | 3.3  | 5.1          |
| Wando                          | Dried | 17.3     | 19.5             | 3.0            | 24.5 | 35.7         |
| Seaweed fusiforme              | Raw   | 88.9     | 1.2              | 0.6            | 3.6  | 5.7          |
| Wando                          | Dried | 33.4     | 6.0              | 0.8            | 28.7 | 31.1         |
| Sea tangle                     | Raw   | 92.2     | 0.8              | 0.2            | 3.2  | 3.6          |
| Wando                          | Dried | 13.5     | 7.1              | 0.9            | 34.8 | 43.7         |

**Table 6. The contents of total dietary fiber in seaweeds**

| Sample seaweed / Collected place | Total dietary fiber (% on dry basis) |
|----------------------------------|--------------------------------------|
| Seaweed mustard blade/Kijang     | 38.96                                |
| Seaweed mustard stem/Kijang      | 42.17                                |
| Seaweed mustard spore/Kijang     | 37.63                                |
| Seaweed fusiforme/Kijang         | 41.10                                |
| Sea tangle/Kijang                | 45.95                                |
| Seaweed mustard blade/Wando      | 38.65                                |
| Seaweed mustard stem/Wando       | 41.67                                |
| Sea tangle/Wando                 | 43.75                                |
| Seaweed fusiforme/Wando          | 40.47                                |

**Table 7. The contents of polysaccharides in seaweeds**

| Seaweed                      | Polysaccharide (% on dry basis) |          |           |
|------------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
|                              | Alginic acid                    | Fucoidan | Laminaran |
| Seaweed mustard blade/Kijang | 22.3                            | 1.4      | 3.6       |
| Seaweed mustard stem/Kijang  | 19.6                            | 1.0      | 2.9       |
| Seaweed mustard spore/Kijang | 21.2                            | 1.2      | 3.3       |
| Seaweed fusiforme/Kijang     | 17.1                            | 2.5      | 3.8       |
| Sea tangle/Kijang            | 14.6                            | 0.1      | 4.3       |
| Seaweed mustard blade/Wando  | 23.6                            | 1.5      | 3.2       |
| Seaweed mustard stem/Wando   | 19.7                            | 1.0      | 2.9       |
| Sea tangle/Wando             | 13.8                            | 0.1      | 4.2       |
| Seaweed fusiforme/Wando      | 16.9                            | 2.3      | 3.7       |

### 3) 아미노산

해조류 속에 함유되어 있는 아미노산의 함량은 Table 8에 나타내었다.

기장산 미역 잎, 줄기 및 포자의 경우, glutamic acid 가 각각 2,431, 2,306 및 2,359 mg/kg, alanin이 각각 2,813, 2,701 및 2,795 mg/kg으로 높은 함량을 보였으며, aspartic acid는 각각 1,095, 995 및 1,009 mg/kg, leucine은 각각 1,147,998 및 1,006 mg/kg으로 높았다. 기장산 및 완도산 다시마의 경우는 glutamic acid가 각각 2,501 및 2,449 mg/kg, alanine이 각각 1,734 및 1,724 mg/kg으로 높은 함량을 보였으며, aspartic acid는 각각 1,287 및 1,264 mg/kg으로 높았고, leucine은 각각 1,007 및 1,014 mg/kg으로 높았다.

이러한 결과로 보아 미역 및 다시마는 유리아미노산 가운데 glutamic acid와 alanine의 함량이 가장 높고, 그 다음으로 aspartic acid 와 leucine 함량이 높은 경향이였다. 한편, histidine의 함량은 미역과 다시마의 경우

196~242 mg/kg 수준이었고, 툇의 경우는 미역과 다시마의 유리아미노산의 조성과는 차이가 있었다. 즉, 기장산 툇의 경우는 glutamic acid (1,699 mg/kg), aspartic acid (907 mg/kg), alanine (895 mg/kg) 순으로 높았으며 완도산의 툇의 경우도 glutamic acid (1,536 mg/kg), aspartic acid (961 mg/kg), alanine (895 mg/kg) 순으로 높았다. 식물은 아미노산을 식물체 내에서 자체적으로 합성하거나 외부로부터 흡수하여 단백질 형태로 저장, 또는 대사에너지로 전환, 생리활성 등 다양한 용도로 사용을 하고 있다. 이러한 식물에 대한 직접적인 아미노산의 작용 외에도 토양미생물의 영양원으로 작용하여 미생물의 증식을 활발하게 하여 식물의 뿌리활력과 보수력을 향상시키고, 각종 영양원을 고정화하여 토양의 생산력을 증대시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

#### 4) 무기질

해조류를 산지별 및 부위별 주요 무기질의 함량은 Table 9에 나타내었다. 해조류의 다량 원소이며, 3대 비료 성분 중의 하나인 칼륨의 함량은 완도산 다시마 (13.94 mg/kg)와 기장산 툇 (9.87 mg/kg)에서 다량 검출되었으며, 미역에서는 산지 및 부위와 상관없이 5.91~7.36 mg/kg 범위이었다. 또한 칼슘 및 마그네슘의 함량은 기장 다시마에서 각각 2.52 mg/kg와 1.49 mg/kg으로 높은 함량을 나타내었으며, 기장과 완도의 미역 줄기에서는 칼슘이 각각 1.38 mg/kg 과 1.81 mg/kg 이었다. 철은 기장 미역에서 부위에 따라 차이가 있었으나 88.44~101.07 mg/kg 범위이었다고, 망간은 4.27~7.95 mg/kg 범위, 아연은 19.55~29.25 mg/kg 범위이었다. 완도산 미역의 경우는 부위에 따라 철이 97.72~123.56 mg/kg 범위이었다고, 망간이 4.84~7.10 mg/kg 범위, 아연이 18.75~22.87 mg/kg 범위이었다. 다시마의 경우는 철이 기장산 및 완도산의 경우, 각각 90.28 mg/kg 및 94.90 mg/kg 이었고, 망간이 각각 6.75 mg/kg 및 8.54 mg/kg 이었으며, 아연이 각각 22.18 mg/kg 및 12.79

mg/kg 이었다. 기장산 톱의 경우는 철이 129.75 mg/kg, 망간은 7.94 mg/kg, 아연은 11.10 mg/kg으로 철과 망간의 함량은 완도산보다 높으나, 아연의 함량은 완도산에 비하여 훨씬 낮았다. 한편, 기타 무기질 성분인 Cd, Cr, Co, Cu, Mo, Ni 및 Pb 분석결과는 Table 10에 나타내었다. 실험에 사용된 해조류에서는 코발트, 카드뮴, 몰리브덴 및 납이 검출되지 않았다.

**Table 8. The contents of amino acids in seaweeds**

(Unit : mg/kg)

| Amino acid | A-1   | A-2   | A-3   | B    | C     | D     | E-1   | E-2   | F    | G     |
|------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| Ile        | 620   | 552   | 602   | 302  | 506   | 1325  | 630   | 551   | 368  | 512   |
| Leu        | 1147  | 998   | 1006  | 662  | 1007  | 1730  | 1028  | 1001  | 602  | 1014  |
| Lys        | 878   | 809   | 854   | 402  | 716   | 1658  | 814   | 809   | 403  | 716   |
| Met        | 421   | 412   | 415   | 230  | 354   | 865   | 386   | 375   | 254  | 361   |
| Cys        | 165   | 153   | 161   | 145  | 517   | 384   | 175   | 154   | 134  | 516   |
| Phe        | 765   | 653   | 711   | 421  | 709   | 1851  | 724   | 621   | 421  | 716   |
| Tyr        | 492   | 401   | 461   | 274  | 423   | 957   | 431   | 397   | 236  | 435   |
| Thr        | 765   | 702   | 723   | 436  | 743   | 2156  | 699   | 652   | 411  | 736   |
| Thp        | 230   | 201   | 213   | 104  | 234   | 654   | 216   | 196   | 103  | 238   |
| Val        | 830   | 814   | 819   | 417  | 607   | 2234  | 799   | 784   | 426  | 615   |
| His        | 242   | 196   | 216   | 103  | 148   | 479   | 234   | 186   | 116  | 148   |
| Arg        | 799   | 698   | 756   | 367  | 503   | 2087  | 794   | 704   | 348  | 500   |
| Ala        | 2813  | 2701  | 2795  | 895  | 1734  | 2182  | 2722  | 2702  | 895  | 1724  |
| Asp        | 1095  | 996   | 1009  | 907  | 1287  | 3597  | 1068  | 1004  | 961  | 1264  |
| Glu        | 2431  | 2306  | 2359  | 1699 | 2501  | 4763  | 2348  | 2297  | 1536 | 2449  |
| Gly        | 898   | 794   | 883   | 436  | 812   | 1801  | 804   | 767   | 425  | 806   |
| Pro        | 714   | 607   | 704   | 296  | 709   | 1549  | 699   | 643   | 307  | 701   |
| Ser        | 602   | 534   | 584   | 367  | 648   | 2494  | 604   | 569   | 354  | 650   |
| Total      | 15907 | 14537 | 15271 | 8463 | 14158 | 32766 | 15175 | 14412 | 8300 | 14101 |

A-1 : Sea mustard blade/Kijang; A-2 : Sea mustard stem/Kijang;

A-3 : Sea mustard spore/Kijang; B: Seaweed fusiforme/Kijang;

C : Sea tangle/Kijang; D: lettuce/Kijang; E-1 : Sea mustard blade/Wando;

E-2 : Sea mustard stem/Wando; F: Seaweed fusiforme/Wando;

G : Sea tangle/Wando.

**Table 9. The contents of major minerals in seaweeds (dry basis)**  
(Unit : mg/kg)

| Seaweed /Collected           | Ca*         | K*           | Mg*         | Al     | Fe     | Mn   | Zn    |
|------------------------------|-------------|--------------|-------------|--------|--------|------|-------|
| Sea mustard blade<br>/Kijang | 1.17        | 5.91         | 0.87        | 26.66  | 101.07 | 7.95 | 29.23 |
| Sea mustard stem<br>/Kijang  | <b>1.38</b> | 6.05         | 0.97        | 19.20  | 88.44  | 7.90 | 25.96 |
| Sea mustard spore<br>/Kijang | 0.65        | 6.18         | 0.68        | 67.14  | 90.39  | 4.27 | 19.55 |
| Seaweed fusiforme<br>/Kijang | 1.26        | 9.87         | 0.67        | 126.86 | 129.75 | 7.94 | 11.10 |
| Sea tangle<br>/Kijang        | <b>2.52</b> | 0.13         | <b>1.49</b> | 40.50  | 90.28  | 6.75 | 22.18 |
| Sea lettuce<br>/Kijang       | 0.23        | 6.47         | 0.68        | 27.54  | 89.86  | 5.42 | 17.39 |
| Sea mustard blade<br>/Wando  | 1.40        | 7.36         | 0.87        | 46.06  | 123.56 | 7.10 | 18.75 |
| Sea mustard stem<br>Wando    | <b>1.81</b> | 6.20         | 1.05        | 24.27  | 97.72  | 4.84 | 22.87 |
| Seaweed fusiforme<br>/Wando  | 1.21        | 8.45         | 0.77        | 19.78  | 90.71  | 6.51 | 25.63 |
| Sea tangle<br>/Wando         | 1.12        | <b>13.94</b> | 0.72        | 110.70 | 94.90  | 8.54 | 12.79 |

\* : g/100 g (unit).

**Table 10. The contents of other minerals in seaweed(dry basis)**  
(Unit : mg/kg)

| Seaweed /Collected           | Cd  | Co | Cr    | Cu   | Mo | Ni   | Pb |
|------------------------------|-----|----|-------|------|----|------|----|
| Sea mustard blade<br>/Kijang | ND* | ND | 19.66 | 5.00 | ND | 4.24 | ND |
| Sea mustard stem<br>/Kijang  | ND  | ND | 19.90 | 4.52 | ND | 3.79 | ND |
| Sea mustard spore<br>/Kijang | ND  | ND | 18.13 | 6.80 | ND | 2.74 | ND |
| Seaweed fusiforme<br>/Kijang | ND  | ND | 15.23 | 5.69 | ND | 3.53 | ND |
| Sea tangle<br>/Kijang        | ND  | ND | 15.40 | 4.33 | ND | 4.28 | ND |
| Sea lettuce<br>/Kijang       | ND  | ND | 20.80 | 6.07 | ND | 2.64 | ND |
| Sea mustard blade<br>/Wando  | ND  | ND | 17.80 | 4.52 | ND | 3.23 | ND |
| Sea mustard stem<br>Wando    | ND  | ND | 9.60  | 5.64 | ND | 3.55 | ND |
| Seaweed fusiforme<br>/Wando  | ND  | ND | 10.91 | 7.55 | ND | 4.06 | ND |
| Sea tangle<br>/Wando         | ND  | ND | 17.80 | 3.70 | ND | 3.39 | ND |

\* ND : Not detected (Cd : 1.0 mg/kg; Co : 1.0 mg/kg; Pb : 0.5 mg/kg)

## 나. 해조류 중의 성장 호르몬 및 관련 케미칼 탐색

### 1) 시료의 추출 및 정제

해조류 중의 성장 호르몬은 Fig. 2와 같은 방법으로 HPLC 분석용 시료 수준까지 추출, 정제하였다. 또한 HPLC를 사용하여 IAA, ABA 및 GA<sub>3</sub>에 해당하는 각각의 peak를 15회 분취하여 모은 획분을 분석한 결과 동일한 물질임이 확인되었다.

### 2) HPLC에 의한 분석 조건 선정

해조류에서 식물 성장 호르몬을 분리 및 정량하기 위해서 표준물질인 IAA, zeatin, GA<sub>3</sub>, ABA의 분석 조건을 검색하였다. 먼저 각각의 표준물질을 MeOH에 녹여 UV spectrophotometer를 이용하여 각 표준물질의 최대 흡수 파장을 검색하였으며, 그 결과 IAA : 285 nm, Zeatin : 269 nm, GA<sub>3</sub> : 250 nm, ABA : 285 nm에서 최대 흡수율을 갖는 것을 확인하였다. 또한 각각의 분리 조건을 확인하기 위하여 TLC (thin layer chromatography, Silca F254) 이용하여 실험한 결과, 전개 용매 조건이 클로로포름 : 에틸 아세테이트 : 포름산 = 50 : 40 : 1 일 때 zeatin을 제외한 IAA, GA<sub>3</sub>, ABA를 분리할 수 있었으며, 전개 용매 조건이 이소프로판올 : 암모니아수 : 증류수 = 10 : 1 : 1 일 때, zeatin을 분리할 수 있었다. 즉, IAA, GA<sub>3</sub>, ABA는 산성의 성질을 갖는 물질로서 HPLC를 이용한 동시 분석할 수 있는 정보를 얻을 수 있었다 (Table 1~4).

### 가) IAA

IAA 표준원액(100 ppm)을 2, 5, 10, 20 ppm의 농도로 희석하여, HPLC를 사용하여 구한 검량곡선은 Fig. 3에 나타내었다. 즉, 2~20 µg/ml 농도 범위까지 측정하여 구한 검량곡선의 기울기는 702.92, R<sup>2</sup>는 0.9972로 나타

나 매우 양호한 결과를 얻었다.

IAA는 methanol에 녹여 사용하였으며, 평균회수율은  $81.1 \pm 1.3 \sim 87.4 \pm 1.1\%$ 이었다 (Table 11). 또한 IAA의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 retention time 16분대에 나타났다.

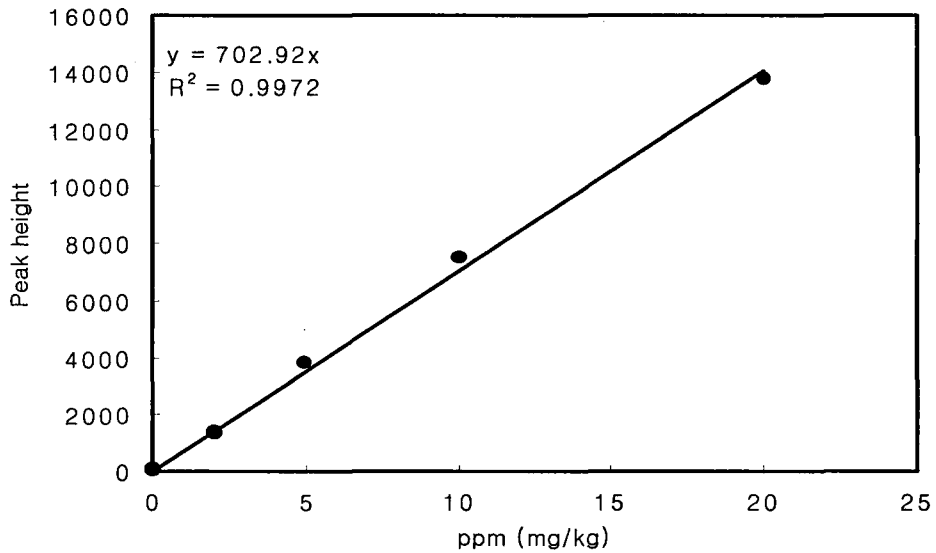


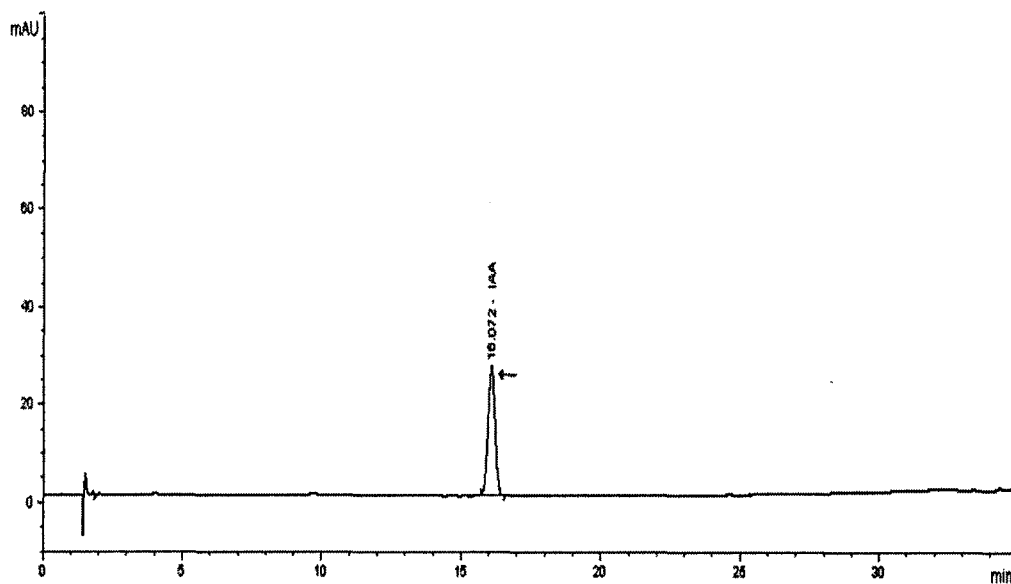
Fig. 3. Calibration curve for IAA analysis.



**Table 11. Recovery of IAA in seaweed**

| No. | Added amount ( $\mu\text{g}$ ) | Found          | Recovery (% $\pm$ SD) |
|-----|--------------------------------|----------------|-----------------------|
| 1   | 10                             | 8.2 $\pm$ 0.8  | 81.1 $\pm$ 1.3        |
| 2   | 20                             | 16.9 $\pm$ 0.9 | 82.3 $\pm$ 0.8        |
| 3   | 50                             | 44.3 $\pm$ 1.4 | 87.4 $\pm$ 1.1        |

\* Standard Deviation (n=5)



**Fig. 4. Chromatogram for IAA analysis.**

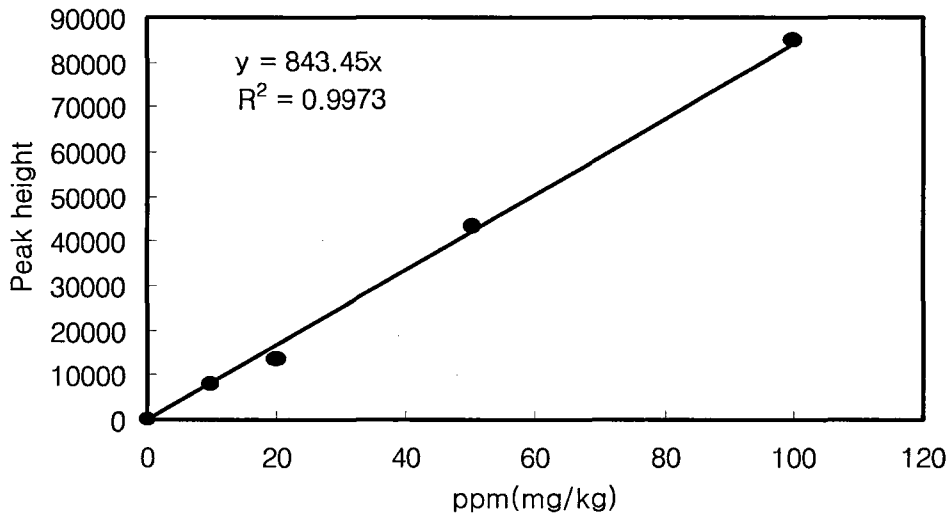


Fig. 5. Calibration curve for zeatin analysis.

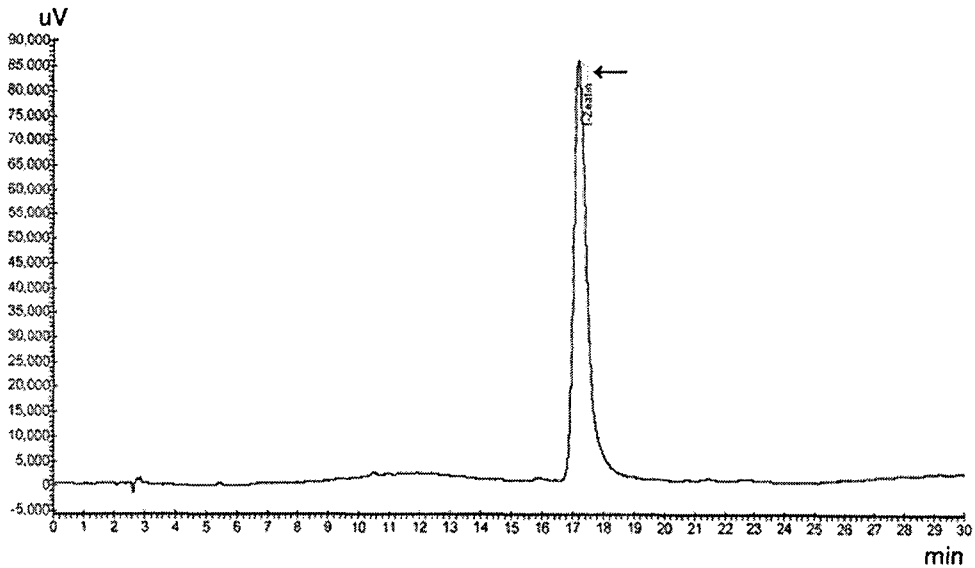
#### 나) Zeatin

Zeatin 표준원액은 t-zeatin (100 ppm)을 10, 20, 50, 100 ppm의 농도로 희석하여, HPLC를 사용하여 구한 검량곡선은 Fig. 5에 나타내었다. 즉 10~100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도 범위까지 측정하여 구한 검량곡선의 기울기는 843.45,  $R^2$ 는 0.9973로 나타나 매우 양호한 결과를 얻었다. Zeatin은 methanol에 녹여 사용하였으며 평균회수율은  $82.1 \pm 0.5 \sim 85.4 \pm 1.1\%$ 이었다 (Table 12). Zeatin의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 6에서 보는 바와 같이 retention time 17.4분대에 나타났다.

**Table 12. Recovery of zeatin in seaweed**

| No. | Added amount( $\mu\text{g}$ ) | Found          | Recovery (% $\pm$ SD) |
|-----|-------------------------------|----------------|-----------------------|
| 1   | 10                            | 8.3 $\pm$ 0.2  | 82.1 $\pm$ 0.5        |
| 2   | 20                            | 16.6 $\pm$ 0.7 | 83.1 $\pm$ 0.8        |
| 3   | 50                            | 43.2 $\pm$ 1.3 | 85.4 $\pm$ 1.1        |

\* Standard Deviation (n=5)



**Fig. 6. Chromatogram of zeatin analysis.**

**다) GA<sub>3</sub>**

GA<sub>3</sub> 표준원액 (1,000 ppm)을 100, 250, 500 ppm의 농도로 희석하여, HPLC를 사용하여 구한 검량곡선은 Fig. 7에 나타내었다. 즉 100~500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도 범위까지 측정하여 구한 검량곡선의 기울기는 9.8737, R<sup>2</sup>는 0.9963로 나타나 매우 양호한 결과를 얻었다.

GA<sub>3</sub>는 methanol에 녹여 실험에 사용하였으며, 평균회수율은 77.8±0.3~81.6±1.8%이었다 (Table 13). GA<sub>3</sub>의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 8에서 보는 바와 같이 retention time 7분대에 나타났다.

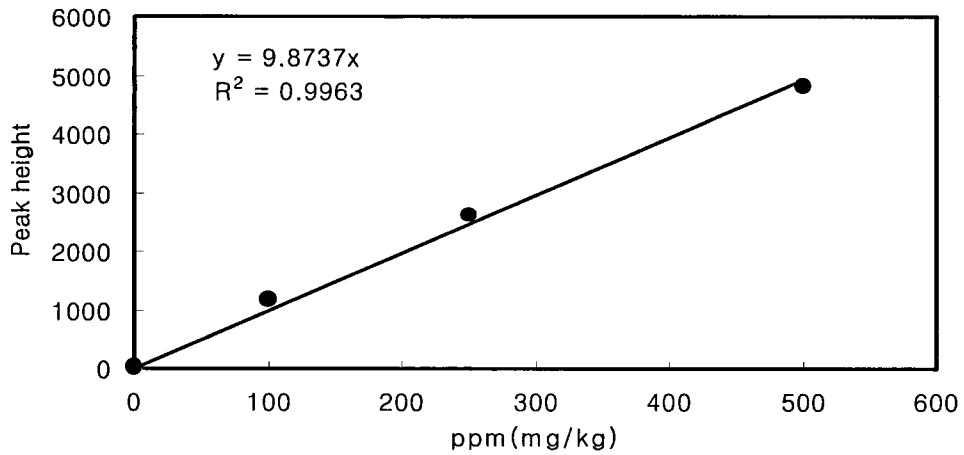


Fig. 7. Calibration curve for GA<sub>3</sub> analysis.

Table 13. Recovery of GA<sub>3</sub> in seaweed

| No. | Added amount(mg) | Found    | Recovery (%±SD*) |
|-----|------------------|----------|------------------|
| 1   | 10               | 7.8±0.3  | 77.8±0.3         |
| 2   | 20               | 16.4±0.2 | 80.6±0.3         |
| 3   | 50               | 41.9±1.5 | 81.6±1.8         |

\* Standard Deviation (n=5)

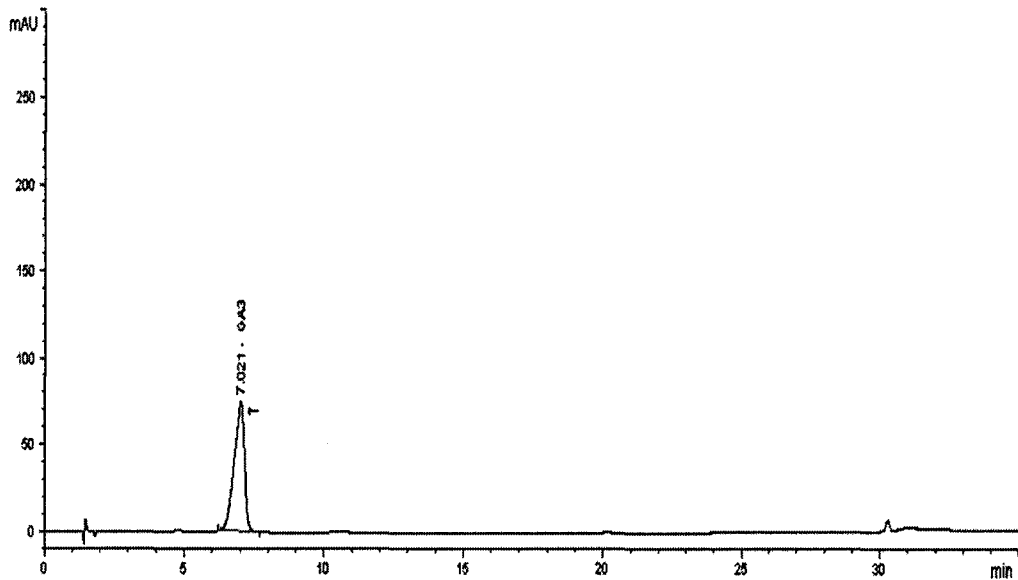


Fig. 8. Chromatogram of GA<sub>3</sub> analysis.

#### 라) ABA

ABA 표준원액 (100 ppm)을 2, 5, 10, 20 ppm의 농도로 희석하여, HPLC를 사용하여 구한 검량곡선은 Fig. 9에 나타내었다. 즉 2~20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도 범위까지 측정하여 구한 검량곡선의 기울기는 1163.7,  $R^2$ 는 0.9997로 나타나 매우 양호한 결과를 얻었다. ABA는 methanol에 녹여 실험에 사용하였으며 HPLC 분석법에 의한 평균회수율은  $79.1 \pm 1.7 \sim 85.2 \pm 1.9\%$ 이었다 (Table 14). ABA의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 10에서 보는 바와 같이 retention time 22분대에 나타났다.

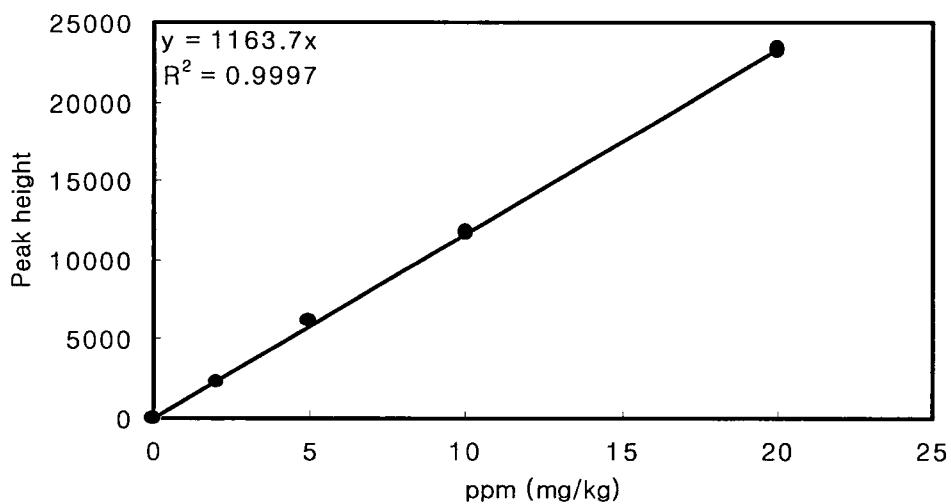


Fig. 9. Calibration curve for ABA analysis.

**Table 14. Recovery of ABA in seaweed**

| No. | Added amount ( $\mu\text{g}$ ) | Found          | Recovery (% $\pm$ SD*) |
|-----|--------------------------------|----------------|------------------------|
| 1   | 10                             | 8.2 $\pm$ 1.3  | 79.1 $\pm$ 1.7         |
| 2   | 20                             | 16.3 $\pm$ 0.7 | 80.9 $\pm$ 0.9         |
| 3   | 50                             | 43.7 $\pm$ 1.4 | 85.2 $\pm$ 1.9         |

\* Standard Deviation (n=5)

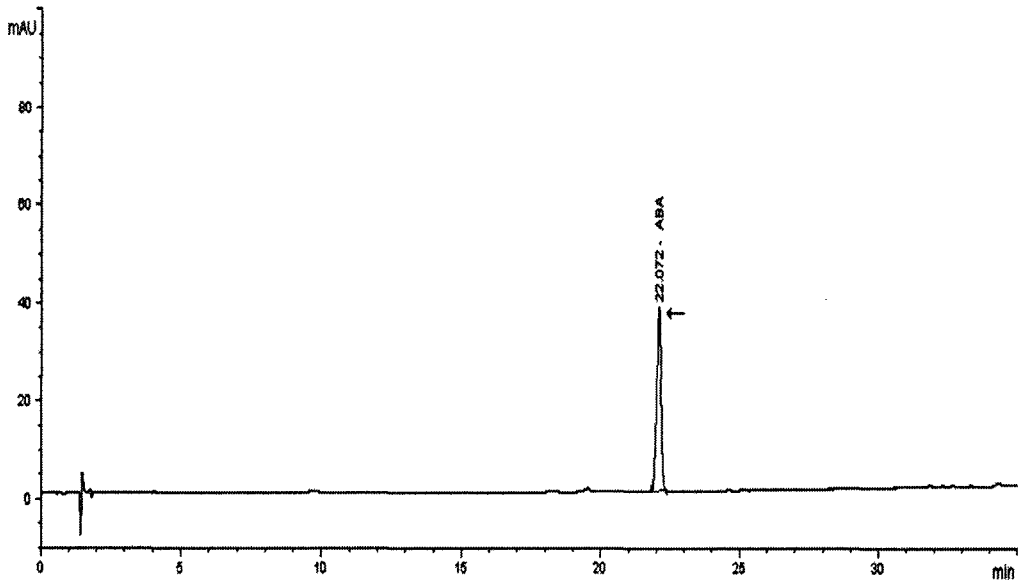
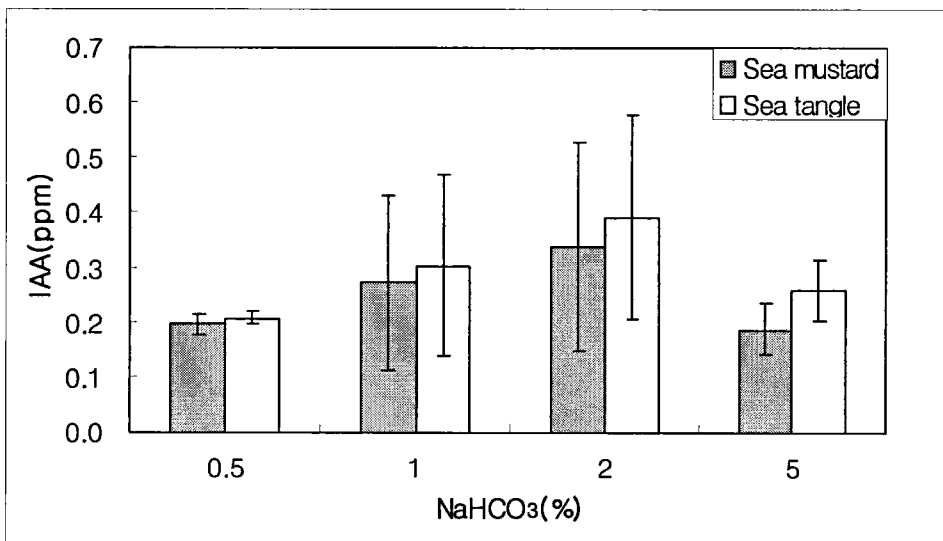


Fig. 10. Chromatogram for ABA analysis.

### 3) 해조 extract의 추출 최적 조건 선정 및 시제품의 제조

#### 가) NaHCO<sub>3</sub> 농도에 따른 영향

Fig. 11은 3회의 반복실험을 통하여 얻은 평균값을 나타낸 것으로 지표물질로 임의 선정한 IAA 함량으로 볼 때, 미역과 다시마의 경우 모두 중탄산나트륨의 농도가 2%일 때, 추출 효율이 가장 높게 나타났다. 또한 Table 15에서 보는 바와 같이 이때 미역 및 다시마 extract 중의 IAA 함량은 각각  $0.338 \pm 0.189$  ppm 및  $0.391 \pm 0.184$  ppm이었다.



**Fig. 11. The contents of IAA in seaweeds hydrolyzed with different concentrations of NaHCO<sub>3</sub>.**



**Table 15. The contents of IAA in seaweeds hydrolyzed with different concentrations of NaHCO<sub>3</sub>**

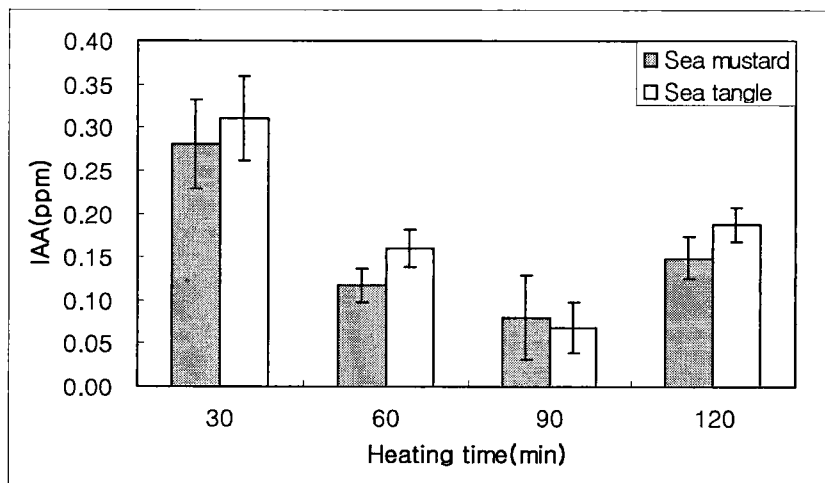
| NaHCO <sub>3</sub> | IAA contents(ppm) |             |
|--------------------|-------------------|-------------|
|                    | Sea mustard       | Sea tangle  |
| 0.5                | 0.195±0.019       | 0.208±0.013 |
| 1                  | 0.271±0.026       | 0.303±0.165 |
| 2                  | 0.338±0.189       | 0.391±0.184 |
| 5                  | 0.187±0.047       | 0.258±0.056 |

**나) 가열시간에 따른 영향**

Fig. 12는 2% 중탄산나트륨으로 각각 30분, 60분, 90분 및 120분간 가열하여 시료 해조 extract 중의 IAA 함량을 조사한 결과, 가열 시간 30분에서 가장 좋은 효율을 보였다. Table 16은 각 실험에서 검출된 IAA 함량을 나타낸 것으로 가열 30분대에 미역과 다시마 extract 중의 IAA 함량은 각각 0.280±0.052 ppm 및 0.310±0.050 ppm이었다.

**다) 해조류 산지 및 부위에 따른 영향**

Table 17에 나타낸 바와 같이 기장산 미역 앞에서 가장 많은 IAA가 검출되었고 그 다음은 완도 미역 앞 순으로 나타났다. 줄기 부위는 잎 부위에 비하여 그 함량이 적었으며, 툃에서도 약간 검출되었다.



**Fig. 12. The contents of IAA in seaweeds hydrolyzed by different heating time.**

**Table 16. The contents of IAA in seaweeds hydrolyzed by different heating time**

| Heating time<br>(min) | IAA contents(ppm) |             |
|-----------------------|-------------------|-------------|
|                       | Sea mustard       | Sea tangle  |
| 30                    | 0.280±0.052       | 0.310±0.050 |
| 60                    | 0.117±0.019       | 0.159±0.022 |
| 90                    | 0.080±0.049       | 0.068±0.030 |
| 120                   | 0.149±0.025       | 0.187±0.020 |

**Table 17. The contents of IAA according to different part of seaweeds and collection place**

| Sample                       | IAA(ppm)    | Sample                      | IAA(ppm)    |
|------------------------------|-------------|-----------------------------|-------------|
| Sea mustard, blade<br>Kijang | 1.336±0.893 | Sea lettuce<br>Kijang       | 0.084±0.027 |
| Sea mustard, stem<br>Kijang  | 0.273±0.075 | Sea mustard, blade<br>Wando | 0.948±0.341 |
| Sea mustard, spore<br>Kijang | 0.258±0.251 | Sea mustard, stem<br>Wando  | 0.279±0.056 |
| Seaweed fusiforme<br>Kijang  | 0.114±0.038 | Seaweed fusiforme<br>Wando  | 0.134±0.034 |
| Sea tangle<br>Kijang         | 1.522±1.015 | Sea tangle<br>Wando         | 1.319±0.474 |

**라) 시제품 해조 extract**

해조 extract의 최적 추출 조건인 2% NaHCO<sub>3</sub> 용액으로 30분간 가열하여 시제품 해조 extract를 제조하였다. 또한 상온에서 저장성을 부여하기 위하여 Fig. 13와 같이 각각 다른 보존료를 첨가하여 pH 3으로 조정하여 보관해 두고 품질안정성 및 효능 비교 등 필요한 실험에 사용하였으며, 잔사는 따로 모아 동결건조 시킨 후 마쇄하여 분말로 보관하였다.

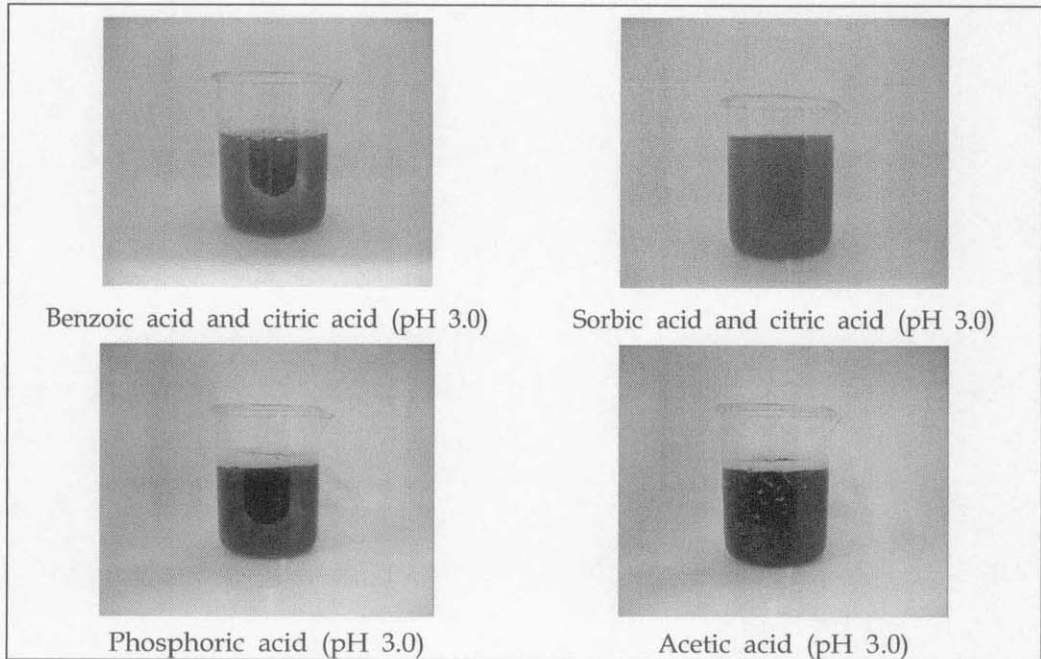


Fig. 13. Preservation of seaweed extracts by adding with various acids.

#### 4) HPLC에 의한 분석

시료로 사용한 미역, 다시마, 툇 및 파래 생조체 중의 성장 호르몬의 HPLC 분석결과는 Fig. 14~17와 같다. Zeatin은 동시분석이 가능하지 않았으나 미량 수준으로 존재하는 IAA, ABA 및 GA<sub>3</sub>의 검출이 가능하였다.

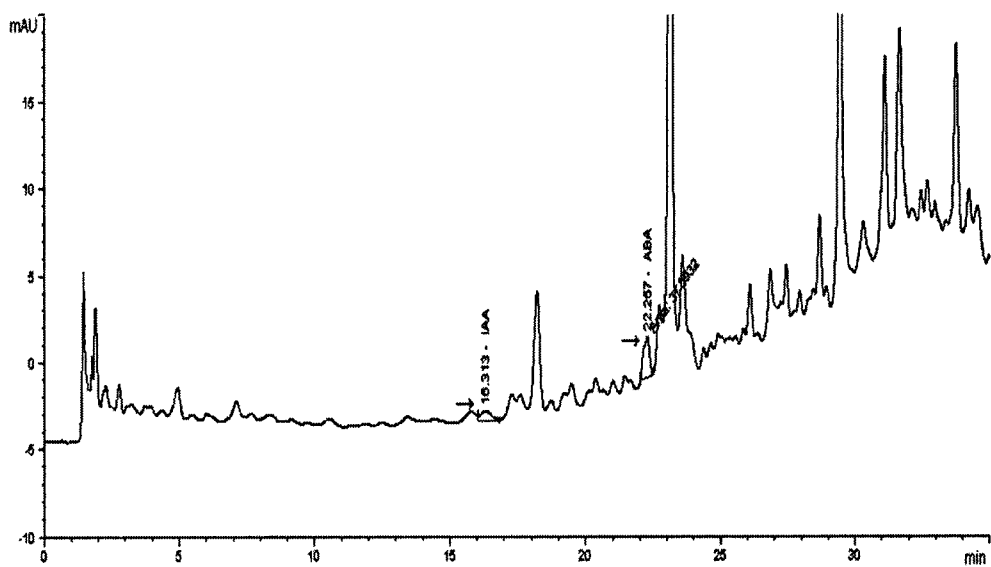


Fig. 14. HPLC chromatogram for plant growth hormones extracted from sea mustard.

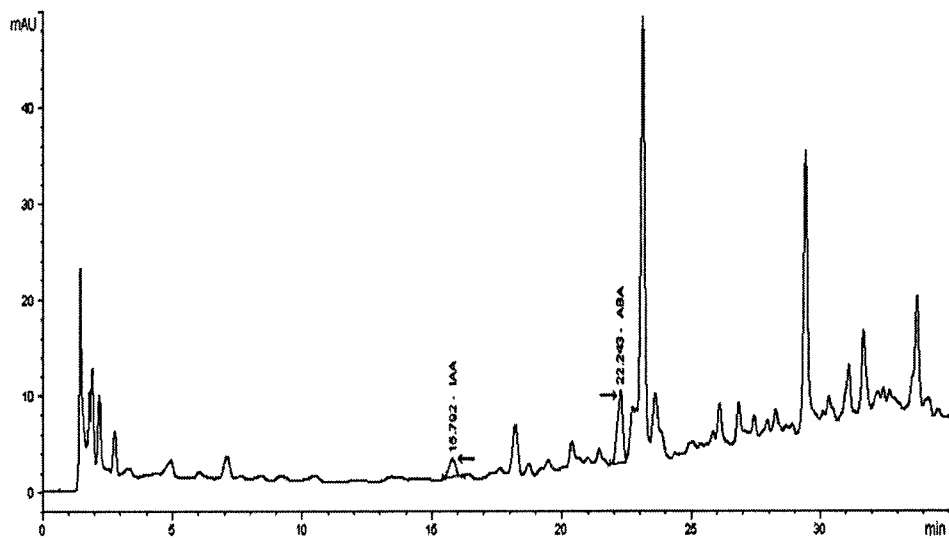


Fig. 15. HPLC chromatogram for plant growth hormones extracted from sea tangle.

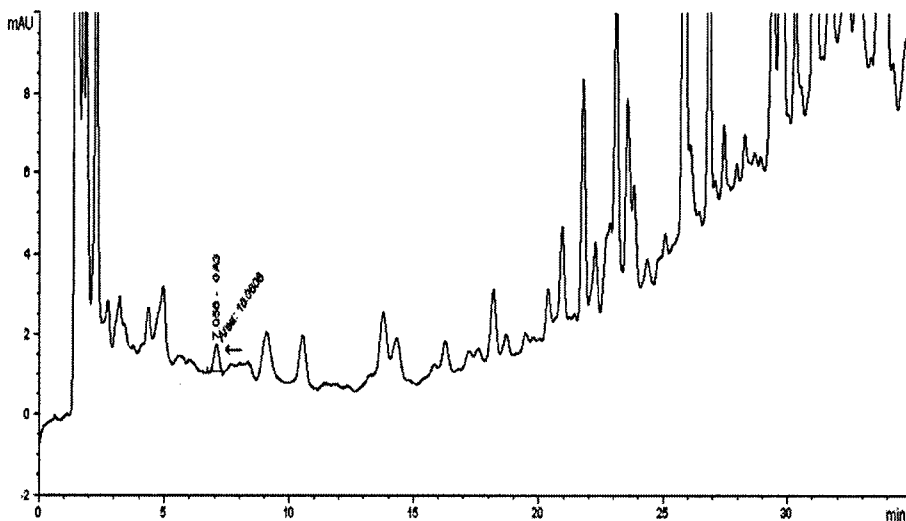


Fig. 16. HPLC chromatogram for plant growth hormones extracted from seaweed fusiforme.

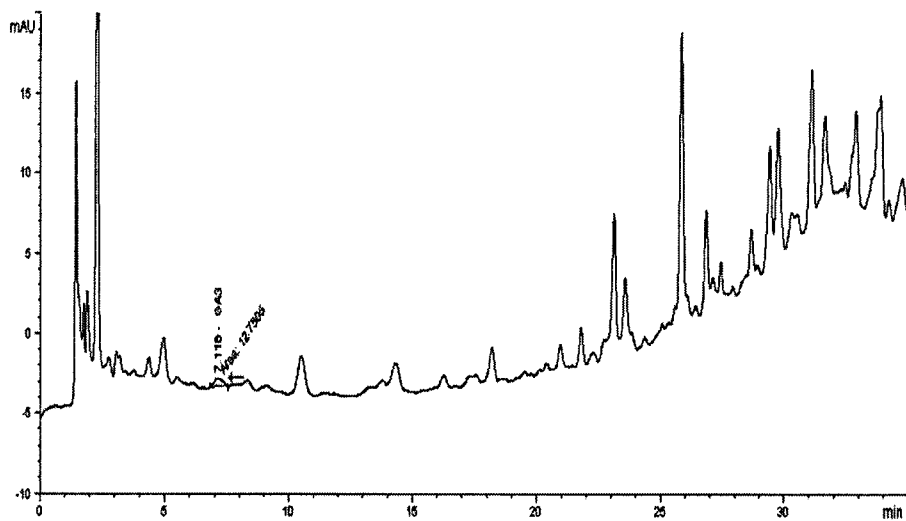


Fig. 17. HPLC chromatogram for plant growth hormones extracted from sea lettuce.

### 5) 생물검정에 의한 활성 검색

고등식물의 조직으로부터 식물성장 홀몬을 추출, 정량하는 방법은 여러 가지로 알려져 있으나 해조류에 관하여는 이에 대한 연구가 잘 알려져 있지 않고 Hussain & Bonney 가 갈조류 다시마 속의 일종인 *Laminaria digitata*로부터 싸이토키닌을 추출하는 방법이 알려져 있으나 매우 복잡하다. 본 실험에서는 수경재배에 의한 생물활성을 검색하였으며 Fig. 18~23에서 보는 바와 같이 해조류로 인한 무순, 메밀, 유채 및 들깨 종자의 성장 촉진 효과를 확인할 수 있었다.

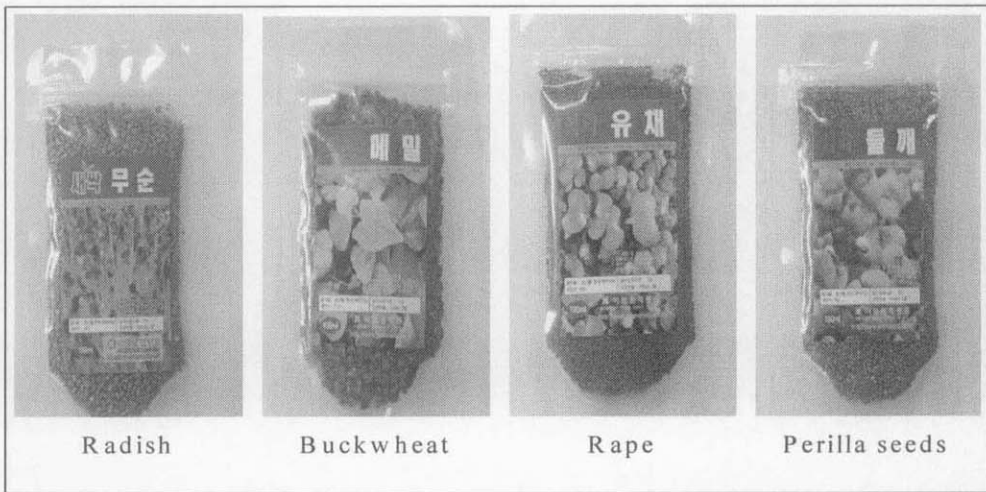
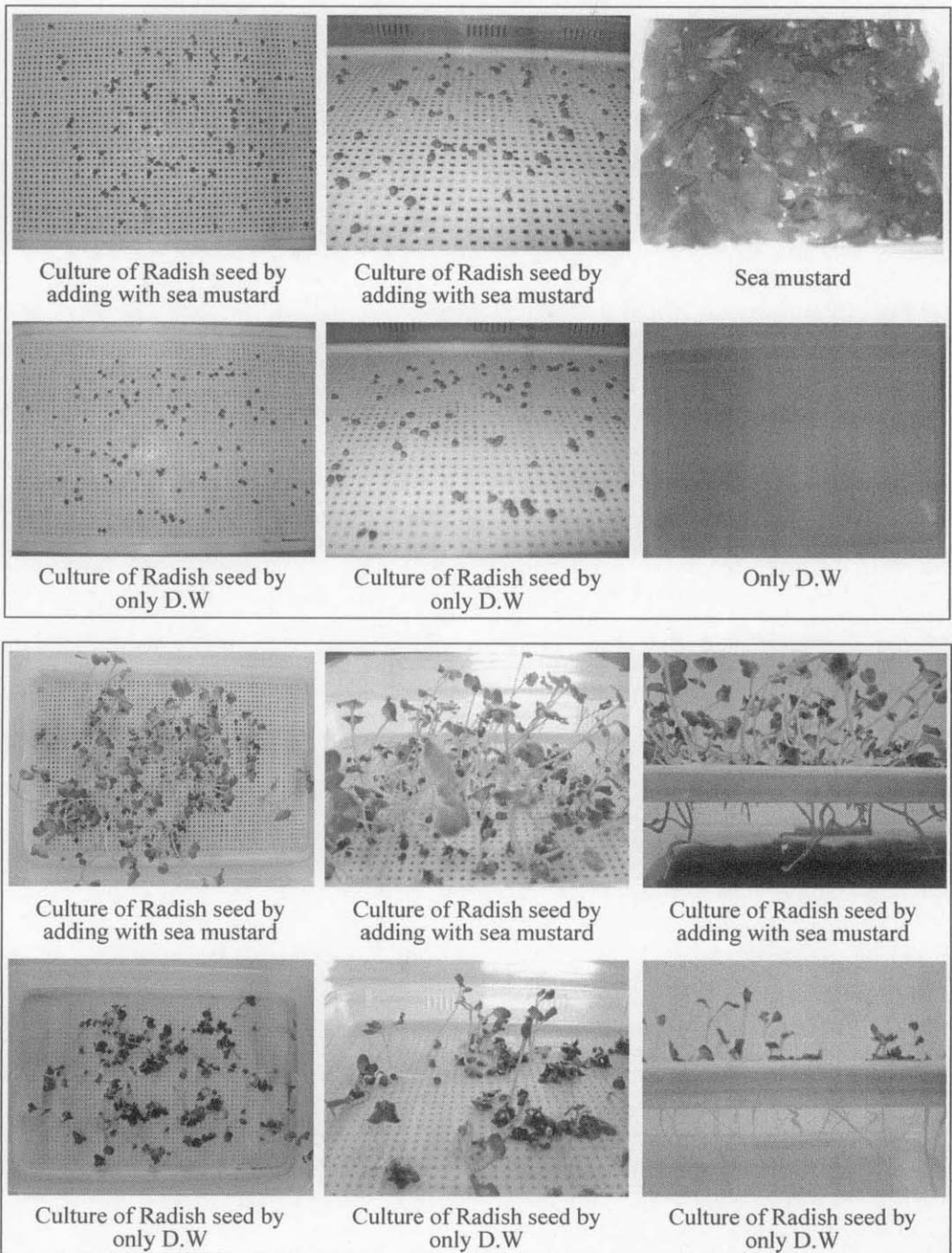


Fig. 18. The 4 kinds of seeds used.



**Fig. 19. Radish seeds cultivated on the 1st (upper) and 7th day (lower).  
(Sea mustard : 100 g, D.W. : 1,500 ml)**



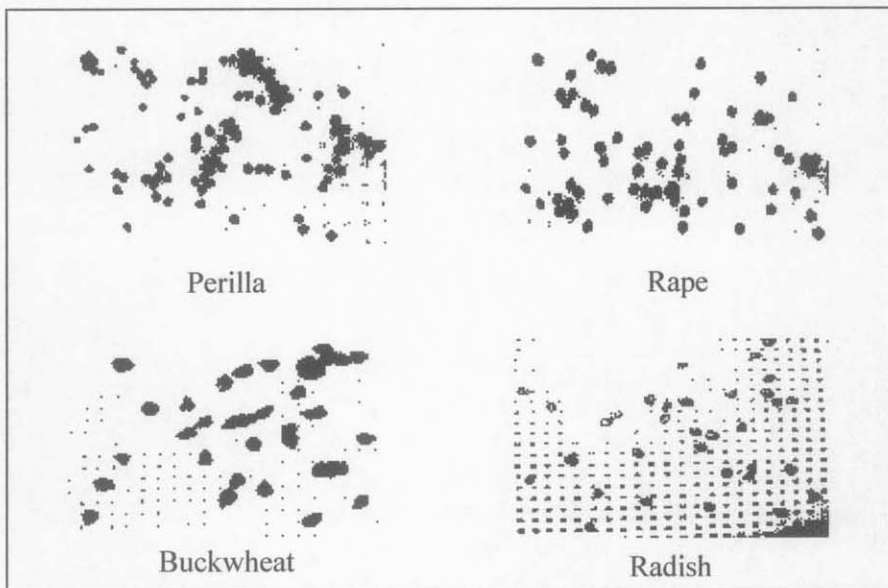
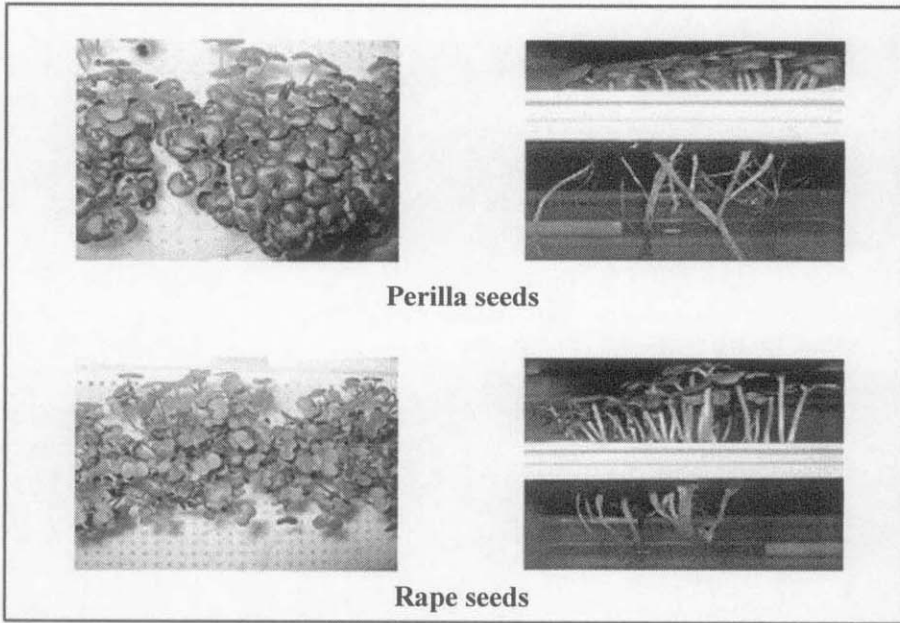
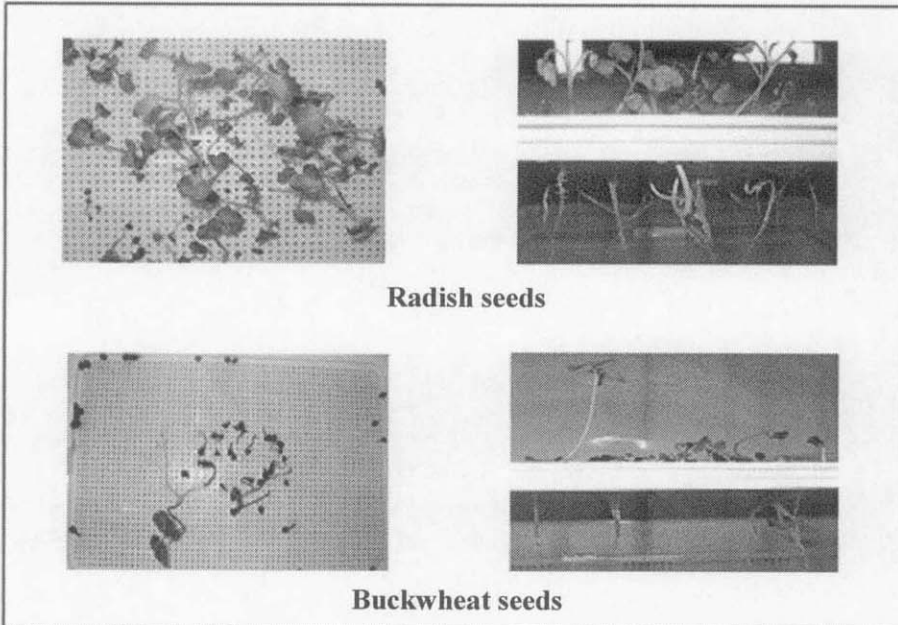


Fig. 20. Observation of 4 kinds of seeds cultivated on the 1st day.



**Fig. 21. Plant seeds cultivated for 11 days.**



**Fig. 22. Plant seeds cultivated for 11 days.**

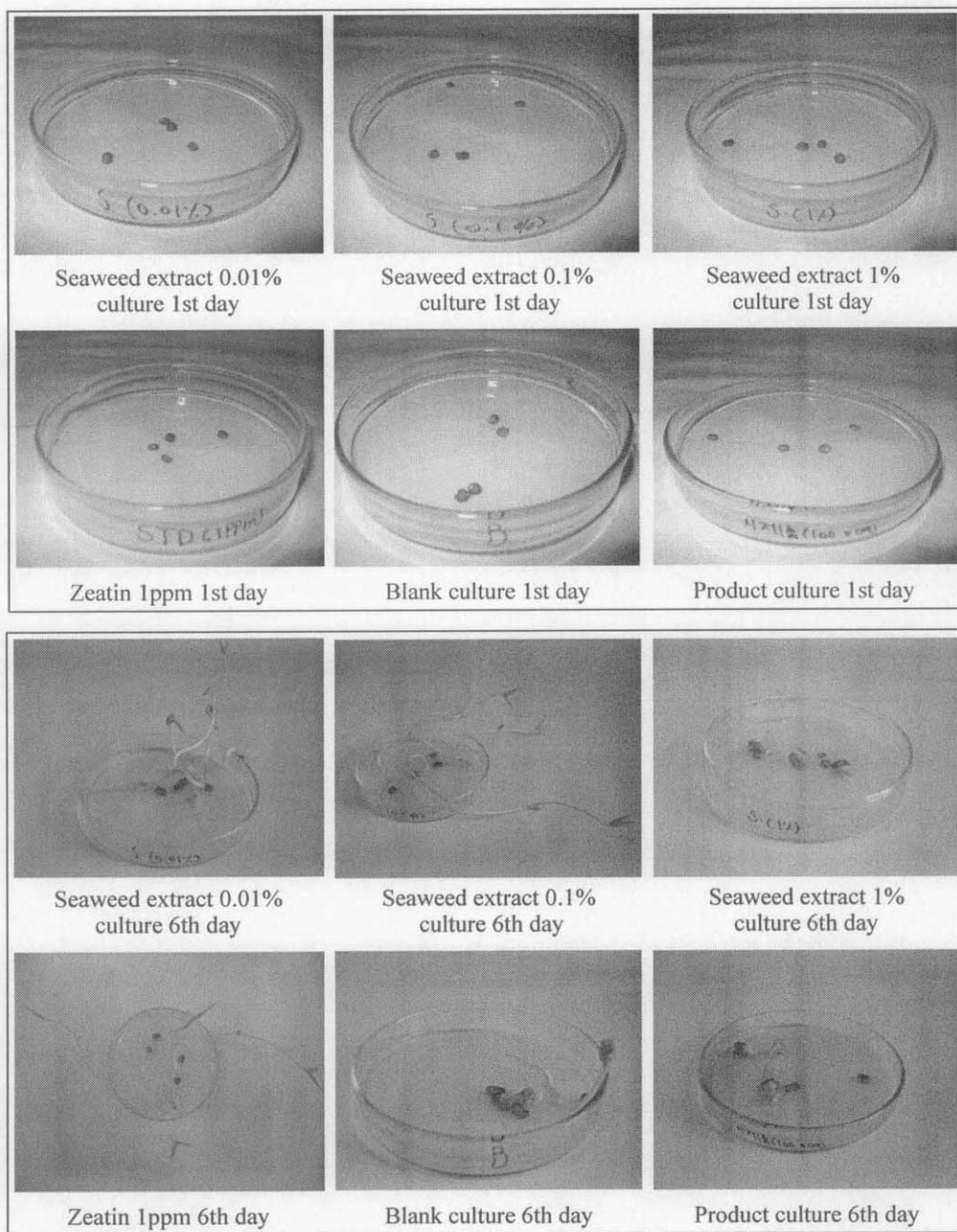


Fig. 23. Effect of seaweed extracts on generation of mung beans seed.

## 제 2 절 활성성분의 생물학적 검정 및 산업적 가공적성

### 1. 이론적 실험적 접근 방법

천환경 식물성장조절제와 홀몬은 식물내에서 이들이 이끌어내는 효과 때문에 농업에 있어서 매우 중요하다. 식물성장조절제와 홀몬은 식물내에서 세포조직과 반드시 결합하여야 한다. 이것이 작은 양의 식물성장조절제와 홀몬이 많은 효과를 나타내는 이유이다. 오늘날 식물성장조절제 형태의 식물 홀몬은 식물의 성장조절 또는 요구되는 기능조절 등에 광범위하게 사용되고 있다. 천연식물성장조절제는 실제적으로 많은 부분에서 적은 비용으로 식물과 환경에 부작용이 없어 선호되고 있다. 식물성장조절제를 사용할 때는 작물의 성장상태, 식물성장조절제의 형태와 농도, 다른 호르몬의 존재 등을 고려해야 한다.

대표적인 식물성장조절 홀몬으로는 cytokinin, auxin, abscisic acid, gibberellin 등이 있다. Cytokinin은 purine염기인 adenine의 유도체이고 t-RNA 분자를 구성하는 유일한 식물 성장 홀몬이다. 주로 식물의 세포 분열과 비대를 촉진하는 성장조절물질로서 노화지연, 조직의 분화촉진, 휴면아의 생장유도, 착과촉진 등의 작용에 관여한다. Auxin은 처음으로 확인된 식물 성장 호르몬이다. 일반적으로 자엽초와 줄기 절편의 길이생장을 촉진하고, 줄기와 뿌리의 발달, 개화와 착과, 그리고 굴성운동 등을 유도하는 천연 및 합성물질 모두를 지칭한다. 이에 대한 연구는 1870년부터 시작되었고, 식물의 떡잎이 빛의 방향으로 굽는 굴광성을 조사하였다. 그 결과 떡잎의 끝에 성장을 자극하는 물질이 존재한다는 가설이 제창되었다. 그 후, 1928년 Went는 잘 자라고 있는 메귀리(*Avena sativa*) 떡잎집의 끝을 자르면 떡잎집의 성장은 거의 정지되는데 자른 끝조각을 붙여주면 다시 성장하는 것을 발견하였다.

그 후, 이 생리작용을 가진 물질이 자연계에 널리 존재한다는 것이 알려졌고, 1933년 Kogl과 Haagen-Smit는 노에서 이 작용물질을 분리하여 그것이 indole-3-acetic acid임을 밝혔다. 지금은 이 물질이 식물체 내에 실제로 존재한다는 것이 화학적으로 증명되었다.

Gibberellin은 식물의 신장 촉진, 종자발아 촉진, 개화촉진, 착과의 증가, 열매의 성장촉진 작용이 있다. 일본에서 농부들이 키다리병 이라고 불렀던 것이 기록돼있고, 질병에 걸린 작물들은 신장이 길어지는데 씨앗을 만들지 못하였다. 이는 진균류인 *Gibberella fujikuroi*가 분비하는 화학물질 때문이라고 밝혀졌고, 그 중 gibberellic acid (GA<sub>3</sub>)가 가장 강한 작용을 나타냈다. 그리고 GA<sub>3</sub>는 휴면을 타파하는데 가장 효과적인 물질로 알려져 있다. Gibberellin은 UV 흡수가 거의 없고 형광성도 띄지 않고 있어 확인이 힘들다. 그러나 HPLC와 MS의 발달로 정량과 정성분석이 가능해졌다.

Abscicic acid는 1964년 Wareing 등에 의하여 dormin이라는 이름으로 자작나무에서 분리되었으며, 그 후 많은 식물에 존재하고 있음이 밝혀졌다. 식물의 생육을 억제하고 휴면을 유도하며, 스트레스 호르몬으로 불릴 정도로 불량환경, 스트레스 조건에서 많이 생성된다. Abscicic acid는 gibberellin에 의하여 휴면기를 벗어난 후 성장을 시작한 어린 눈의 성장을 억제하는 효과를 보이며 종자의 발아를 억제한다. 그리고 뿌리와 줄기생성 억제, 노화와 낙엽을 촉진하고 수분이 부족할 때 기공 개폐를 조절한다. 해조류는 이러한 성장호르몬 이외에 각종 영양성분과 미네랄이 풍부하고, 천연 킬레이트제가 풍부하여 식물 미네랄의 이용율을 높힐 수 있기 때문에, 해조류를 농작물의 천연 비료로 이용할 경우 농작물의 수확을 증대시킬 수 있으며, 토질을 개선시킬 수 있고, 토양의 수분 보유율을 높이며, 유익한 토양 박테리아의 성장을 도우며, 농작물을 건강하게 하고, 추위에 대한 저항력을 향상시키는 등 많은 잇점을 지니고 있다.

전통적인 비료의 사용은 한 지역에 있어 질소염 요구량을 측정하는

chlorophyll meter와 같은 새로운 기술을 이용함으로써, 빠르게 최적화되고 있다. 특히 “지능 트랙터 로봇”은 경작지를 움직이며 영양소 요구량을 측정할 수 있을 것이며, 특정 지역에 필요한 비료의 정밀한 양만큼을 즉시 살포함으로써 그 요구량을 보상할 수 있을 기술이동에 직면해 있다.

그러나, 유전자 개선 및 비료의 적정 사용에 의한 대량 수확률 증가는 더 이상 불가능하다는 사실은 분명하다. 앞으로 이러한 농작물의 수확증대는 액상 해조류 extracts와 같은 “성장 촉진제”를 사용하는 것에 의하여 해결할 수 있다. 약 300 million (US)에 달하는 유럽 농업화학 시장의 단지 1%만 점유하다가도 해조류 성장촉진제는 전망이 있는 사업이며, 또한 극동지역 시장은 더욱 크다고 할 수 있다. 집약 농업에 있어 “화학제품”의 사용에 대한 소비자들의 관심이 증대되고 있는 것은 유기농업을 위한 엄청난 시장 이익이 발생될 수 있으며, 해조류를 원료로 농업화학제품은 이러한 점에서 대체 투자가 될 것이다.

해조류를 이용한 원예 관련 자료에는, 생물자극에 영향을 주는 성분조성이 다른 다양한 해조류 종류가 있다고 소개되어 있다. 해조류는 뿌리가 없는 식물이며, 자유롭게 떠다니거나 holdfast로써 바위에 부착되어 있는데 뿌리와 같거나 disk 모양을 하고 있으며 해조류가 바위에 부착하도록 하며 영양분은 섭취하지 못한다. 해조류는 바닷속으로 도달하는 태양광선을 이용하여 광합성을 하며, 잎을 통하여 해수로부터 영양분을 흡수한다. 해양은 지상으로부터 흘러들어오는 것을 추적하기 때문에, 해양은 알려져 있는 모든 미네랄, 미량원소 및 비타민을 함유하고 있다.

해양은 기름진 토양이나 비료가 육상식물에 제공하는 것보다 훨씬 더 해양식물에 충분한 영양소를 공급하고 있는 훌륭한 슈퍼마켓이라 할 수 있다. 해조류는 60종 이상의 미네랄과 몇 종류의 식물 호르몬을 가지고 있다. 그러나 해조류는 완전한 비료는 아니다. 해조류는 질소와 인을 상당량 함유하고 있으나 중요한 식물 영양소인 칼륨이 매우 적다. 단지 몇 종류의 해조류가 상업적으로 수확되고 있다. 갈조류인 노르웨이 kelp (*Ascophyllum nodosum*)은 정원용으로 가장 많이 사용되는 해조류이다. Norwegian kelp는

영국, 아일랜드, 노르웨이 연안에서 채취하며, 북미지방의 대서양과 태평양 지역에서 "rockweed"라 불리고 있는 해조류이다.

해조류는 바다 조류에 의해서 조체가 훼손되며, 어류에 의하여 뜯어 먹히기 때문에, 해조류는 살아남기 위해서 빠르게 성장하지 않으면 안 된다. 해조류의 급속 성장을 촉진하는 이러한 성장 호르몬은 엽면시비로써 사용하면, 세포분열과 식물의 성장률을 증가시킬 수 있다. 해조류 호르몬은 분말상태로 토양에 시비하거나, 해조 extract를 식물뿌리를 침지하는데 사용할 때 역시 식물 뿌리의 성장을 증가시킬 수 있다. 최근 Blacksburg에 있는 버지니아 폴리텍 연구소에서 실시한 잔디에 대한 실험에서 해조 extracts를 살포한 지점은 살포하지 않은 지점보다 67 ~ 175%의 뿌리 성장 효과가 있었다고 한다.

또한 가을철에 해조 extracts를 살포한 지역은 살포하지 않은 지역에 비하여 봄철 식물 성장율을 38% 까지 증가시켰으며, 뿌리 성장은 52% 증가 되었다고 한다. 사우스 캐롤리나에 있는 Clemson University에서 실시한 실험에서는 액상 seaweed extracts에 침지 처리한 식물 종자는 빠른 발아 현상을 나타내었으며 이러한 결과는 뿌리의 무게를 증가시켰으며, 처리하지 않은 종자 묘종보다 더 건강한 식물 성장을 나타내었다.

또한, 종자묘목의 생존율을 더 향상시켰으며 해조류 extracts에 식물 뿌리를 처리한 것은 묘목 이식에 따른 쇼크를 감소시켰으며 뿌리의 성장을 빠르게 하였다. 엽상부와 꽃눈에 처리한 해조류 엽상 시비는 줄기와 엽상부의 성장을 빠르고 강하게 하였으며 개화시기와 과실 맺음을 빠르게 하였다.

호르몬이란 동식물의 생리작용에 영향을 미칠 수 있는 유기화합물이다. 식물은 호르몬을 자연적으로 스스로 만들지만 특정 호르몬이 저농도로 첨가되면, 식물은 식물의 생리작용에 좋은 영향을 미칠 수 있다. 호르몬이 작용할 수 있도록 하는데 이송처리 방법이 반드시 필요한 것은 아니며, 호르몬의 효과는 식물의 농도, 수량과 감수성에 의존한다.

이상에서 살펴 본 바와 같이 해조류에는 식물 성장 호르몬이 함유되어 있어 이를 분리하여 이용할 필요성이 크다고 생각되지만 이와 같은 연구

가 아직 국내에서는 거의 이루어지지 않고 있어, 유기농 비료, 기능성 가축사료 등 다양한 용도의 제품 개발이 기대되고 있다.

한편, 최근 국내외에서 안전한 먹거리 생산을 위한 많은 연구가 행해지고 있으며, 이에 수반되어 친환경 농법에 활용될 천연소재의 적용성 연구가 세계적인 화제가 되고 있다. 그러나 현재까지 천연소재에서 단리되어 그 성능이 입증된 제품들은 수중에 불과하며, 현재 농자재 시장에 유통되고 있는 농업용 비료나 영양제의 대부분은 그 성능이 확인되지 않은 제품이 많고, 오히려 경우에 따라서 작물의 성장을 저해하는 경우도 많이 발생하고 있다. 따라서 작물의 직접생장 및 간접생장 촉진 증진에 사용할 필요가 있으며, 해조류에서 단리된 유효성분을 비료적인 측면에서 그 효능을 조사하고 이러한 자료들로부터 해조류 extract 제조시험, 화인밀 공정에 의한 미세분말 제조시험, 생분해성 토양-클러스터 제조 및 산업화 기술을 개발할 필요가 있을 것으로 생각된다.

## 2. 연구내용

### 가. 활성물질의 생물학적 활성 검증 시험

#### 1) 시험 재료

시료는 부산시 기장산의 생미역 및 생다시마를 구입하여 -20℃ 이하의 냉장고에 보관하면서 실험에 이용하였다. 한편 시험 종자로는 시판되고 있는 메밀(buckwheat), 무순(radish) 및 녹두(mung bean) 종자를 구입하여 수경재배 시험에 사용하였다.



## 2) 활성획분의 이화학적 및 생물검정 분석

시료 해조류의 활성물질을 이용하여 식물생장에 미치는 요인들을 생물학적 검정을 이용해 식물생장에 직접적으로 어떤 요인들이 미치는지를 알아보기 위하여 메밀, 무순 및 녹두 등의 식물 종자를 1% sodium hypochlorite 용액에 20분간 침지 소독시킨 다음, 흐르는 물에 3시간 세척하여 이것을 생물학적 검정에 사용하였다. 또한 각 시험군 별로 zeatin의 농도 차이를 두어 그 영향을 조사하였다. 시험 종자의 배양은 멸균한 Petri-dish 내에 filter paper를 깔고 종자를 넣은 후 제조한 배양액을 넣어  $25\pm 1^\circ\text{C}$  암실에서 배양하였다. 또한 각종 종자의 수경재배 (water gardening) 중 배양수에 해조류를 일정량 첨가하였을 경우 각 종자의 성장에 미치는 영향을 조사하였는데, 배양판에 무순종자를 일정한 양을 올린 후 수경재배 용기 내의 증류수에 해조류를 일정량 첨가한 경우를 비교하였다. 해조류는 약 1 cm x 1 cm 크기로 절단한 것을 사용하였으며 실온 및 실내 조도 하에서 배양하였다.

시험에 사용된 종자의 수경재배시 해조류 extract 농축액에 첨가한 보존료의 종류와 농도에 따른 영향은 4 종류의 보존료를 넣은 미역 농축액, 즉 ① phosphoric acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것과 ② acetic acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것과 ③ benzoic acid를 (1 g/ℓ)넣고, citric acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것과 ④ sorbic acid를 (1 g/ℓ)넣고, citric acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것을 각각 0.01, 0.1, 1.0%의 농도로 희석하여 총 12종류의 배양액을 제조하여 시험에 사용하였다.

### 나. GC/MS에 의한 활성물질 확인

#### 1) 시료의 조제

시료를 Fig. 2와 같은 방법으로 전처리하여 GC/MS 분석용 시료로 이용하였다.

## 2) GC/MS 분석

GC/MS system 은 Agilent 사의 MSD 5973(EI mode/Scan mode analysis)이며, Agilent Technologies, Walbronn, Germany사의 DB 5-MS capillary column (30m ×0.25mm I.D. ×0.25 $\mu$ m)으로 split mode로 분석하였다. 온도조건은 Inlet.의 경우 230 $^{\circ}$ C, Detector 330 $^{\circ}$ C이며, oven 의 경우 초기 70 $^{\circ}$ C에서 1분간 정치 후, 분당 6 $^{\circ}$ C으로 300 $^{\circ}$ C까지 승온시켜 1분간 정치하는 조건으로 활성성분의 구조 특성분석 시험에 사용하였다 (Table 18).

**Table 18. GC/MS operation conditions for analysis of plant hormones**

|                  |  |  |
|------------------|--|--|
| Detector         | FID detector   |  |
|                  | Total ion monitoring (Scan mode) : m/z 30-600            |  |
| Inlet : Split    | 30 : 1   |  |
| Column           | 30m DB 5-MS fused-silica column (0.25 mm × 0.25 $\mu$ m) |  |
| Inj. vol.        | 1 $\mu$ l  |  |
| Gradient program | Oven Temperature   |  |
|                  | Initial  | 70 $^{\circ}$ C - 1 min(hold)                        |
|                  | Final  | 320 $^{\circ}$ C - 1 min(hold), (6 $^{\circ}$ C/min) |
|                  | Post   | 330 $^{\circ}$ C - 2 min(hold)                       |

## 다. 유용 케미칼의 산업화 가공적성

### 1) 저온진공법에 의한 해조 extract의 제조

앞서 수행된 추출 최적 조건으로 선정된 방법에 근거하여 해조 시료 3 kg에 2%  $\text{NaHCO}_3$  용액 30  $\ell$ 을 넣은 후 30분간 가열 및 교반하여, 이것을 여포로 여과하고 여액은 따로 모아 감압농축한 후, 각종 보존료를 각각 첨가하여 pH 3.0 부근으로 조정하여 해조 extract 시료로 저장하여 두고 필요한 실험에 사용하였다.

### 2) 화인밀 공정에 의한 분말 제조

미역과 다시마의 염분을 제거하기 위하여 먼저 시료를 흐르는 수돗물에 30분간 침지 수세하였다. 그 후 자연건조 및 동결건조를 하고 분쇄하여 미세분말을 만들어 해조 분말 시료로 사용하였다.

### 3) 해조-토양 클러스터 제조

미역, 다시마를 흐르는 수돗물에 30분간 침지, 수세하여 염분을 제거한 뒤, 동결건조 과정 후 이를 파쇄하여 분말형태로 만들었으며, 고형제를 사용하여 압출방식에 의하여 제조하였다.

### 3. 연구결과

#### 가. 활성물질의 생물학적 활성 검정

##### 1) 표준품 (zeatin)의 농도별 생물검정

시료 해조류의 식물생장에 미치는 요인들을 알아보기 위하여 식물 종자를 1% sodium hypochlorite 용액에 20분간 침지 소독시킨 다음, 흐르는 물에 3시간 세척하여 이것을 생물학적 검정에 사용하였다. 각 실험군은 zeatin의 농도 및 해조류 생조체를 이용한 생물학 검정법을 시도하였다. 실험조건은 Petri-dish에 filter paper를 깔고 농도를 달리한 zeatin을 30 ml 씩 첨가하여 25℃ 암실에서 실시하였다.

식물 성장 호르몬이 식물 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 녹두종자를 zeatin 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 ppm의 배양액 중에서 7일간 배양하며 3회 반복 실험하였으며, 그 결과는 Fig. 24~29와 같다.

녹두 종자를 다양한 zeatin 농도로 조정하여 만든 배양액 중에서 성장의 정도를 비교 조사하였다. 배양기간이 경과함에 따라 녹두종자의 성장으로 인한 개체의 중량 증가는 0.05 ppm에서 가장 우수하였으며, 그 다음은 0.1 ppm과 0 ppm, 0.01 ppm의 순서로 비슷하였고 0.5 ppm 이상의 농도에서는 종자가 거의 발아되지 않았으며 중량의 변화도 크지 않았다. 0.05 ppm과 0.01 ppm에서는 6일째까지 중량이 증가하였다.

배양기간의 경과에 따라 녹두종자의 성장으로 인한 개체의 줄기 길이를 측정된 결과 0.05 ppm에서 가장 길게 자랐으며, 그 다음으로 0.01 ppm, 0 ppm 및 0.1 ppm의 순이었다. 발아되지 않은 0.5 ppm 이상의 농도에서는 변화가 거의 없었다.

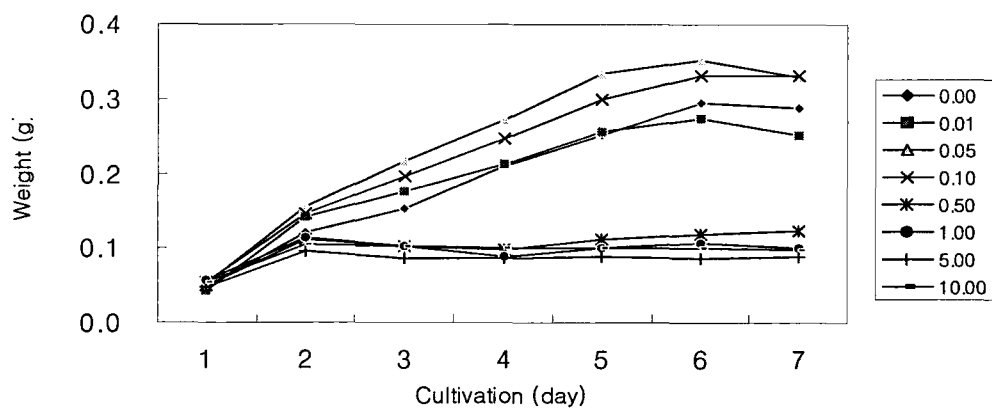
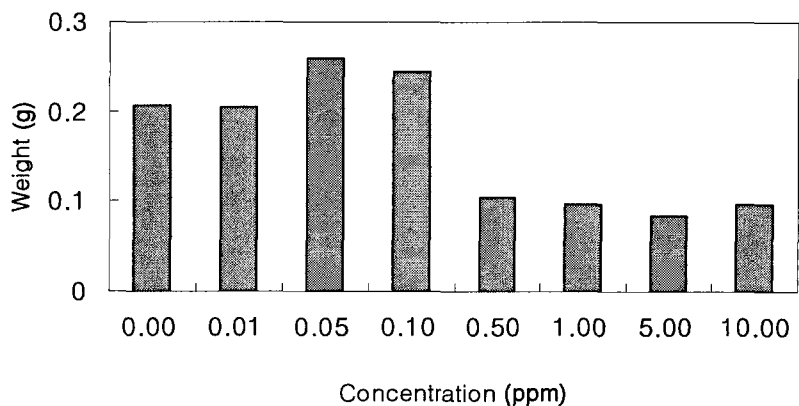


Fig. 24. Weight of mung bean seed on the 5th day (above) and the weight change during cultivation period at different concentrations of zeatin solution (below).

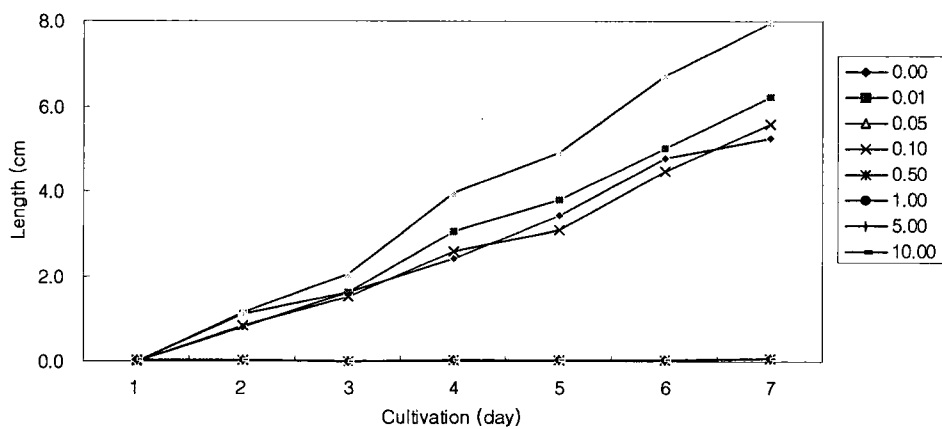
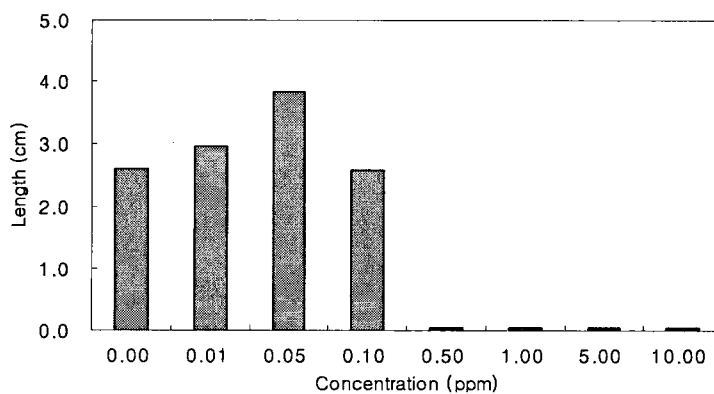


Fig. 25. Length of mung bean stem on the 5th day (above) and the length change during cultivation period at different concentrations of zeatin solution (below).

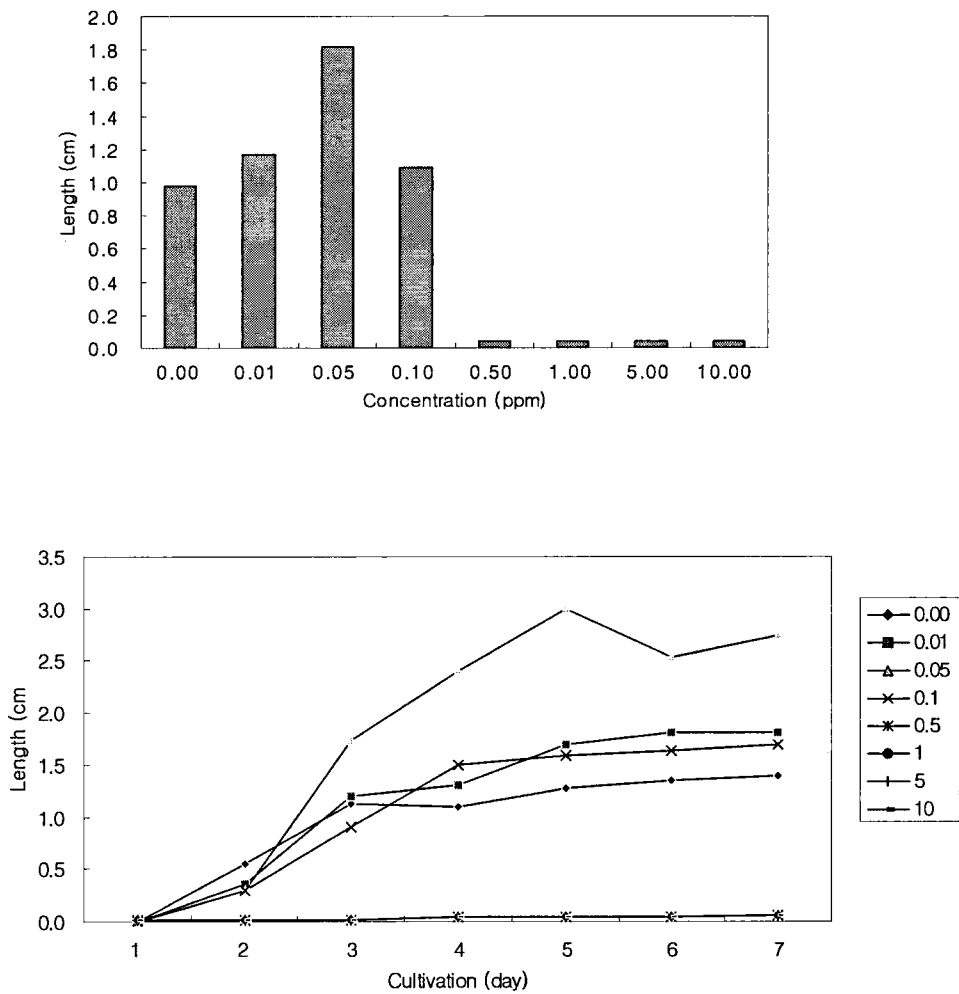


Fig. 26. Length of mung bean root on the 5th day (above) and the length change during cultivation period at different concentrations of zeatin solution (below).

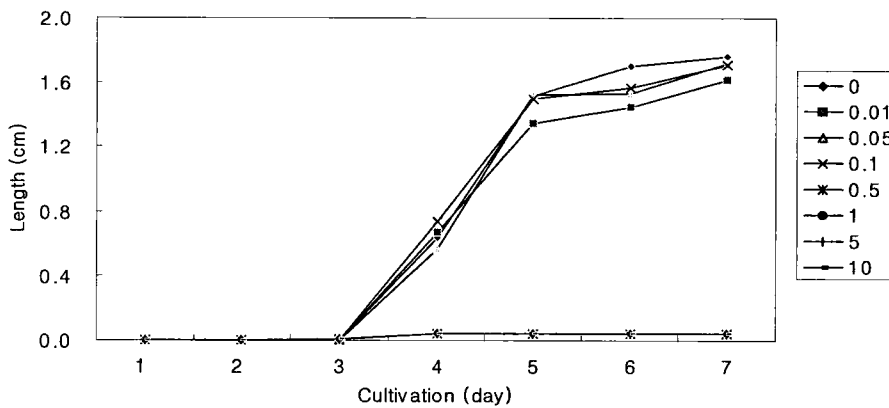
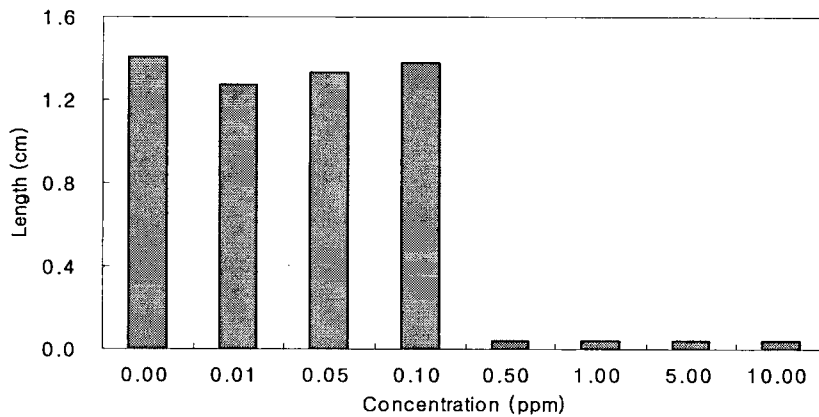


Fig. 27. Length of mung bean leaf on the 5th day (above) and the length change during cultivation period at different concentrations of zeatin solution (below).



배양기간이 경과함에 따라 녹두종자의 뿌리 길이를 측정한 결과 0.05 ppm에서 가장 성장이 좋았으며, 그 다음은 0.01 ppm, 0.1 ppm 및 0 ppm의 순이었다. 배양기간의 경과에 따라 전반적으로 성장이 지속되었으나 0.05 ppm을 제외하고 3일째 이후에는 완만한 증가세를 나타내었다.

배양기간이 경과함에 따라 녹두종자 잎의 길이를 측정한 결과 0 ppm, 0.1 ppm, 0.05 ppm, 0.01 ppm의 농도에서 서로 비슷하였으며 배양 4일째부터 잎의 길이가 측정되기 시작하여서 5일째 이후에는 성장이 완만하였다.

이상의 결과를 보면 평균적인 전체적인 녹두종자의 중량은 0.05 > 0.01 > 0 > 0.1 ppm의 순으로 높게 나타났으며 0.5 ppm 이상의 농도에서는 배양시간이 경과하더라도 중량의 변화가 없었다. 전체적인 줄기, 뿌리의 길이는 0.05 ppm이 가장 길게 나왔으며 잎은 0~0.1 ppm 까지 비슷하게 나왔다. 이는 생리활성 물질이 일정농도 이상으로 존재하면 생장에 오히려 방해가 된다는 점을 시사하였다.

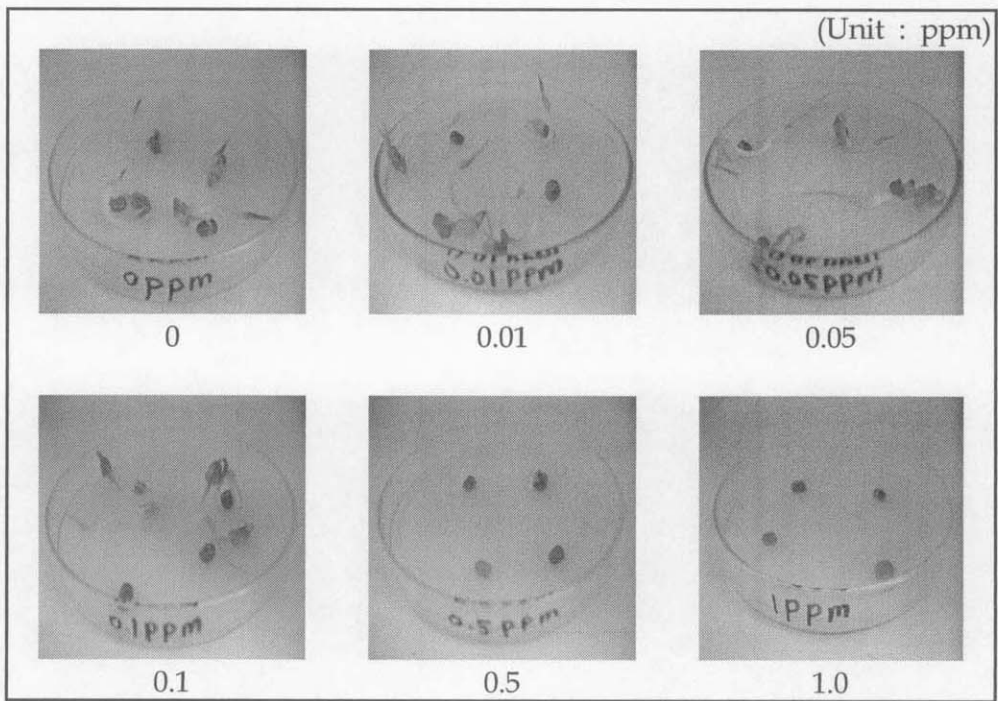


Fig. 28. Photograph of mung bean seed on the 4th day of cultivation period at different concentrations of zeatin solution.

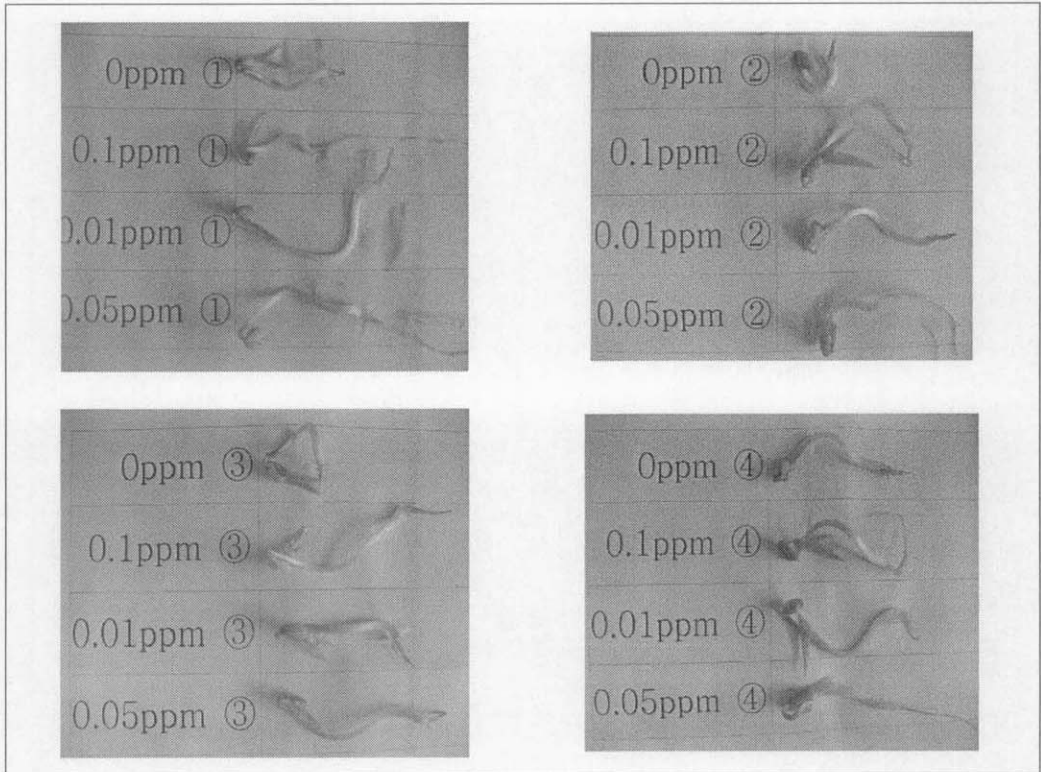


Fig. 29. Photograph of mung bean root on the 5th day of cultivation period in different concentrations of zeatin solution.

## 2) 해조 extract 농축액의 생물 검정

시료인 다시마와 미역을 이용하여 저온 진공법에 의한 해조 extract 농축액을 제조하였으며, 각 보존료인 benzoic acid, sorbic acid, acetic acid, phosphoric acid를 첨가한 해조 extract 농축액과 대조군인 수돗물 그리고 시판되고 있는 시제품을 이용하여 녹두종자를 1% sodium hypochlorite 용액에 20분간 침지 소독시킨 다음, 흐르는 물에 3 시간 세척하여 이것을 생물학적 활성 검정에 사용하였다.

즉 녹두종자의 수경재배시 미역 농축액에 첨가한 보존료의 종류와 농도에 따른 영향을 조사하였다. 즉 4 종류의 보존료를 넣은 미역 농축액, ①

phosphoric acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것과 ② acetic acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것과 ③ benzoic acid를 (1 g/ℓ)넣고, citric acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것과 ④ sorbic acid를 (1 g/ℓ)넣고, citric acid를 넣어 pH 3~3.5까지 맞춘 것을 각각 0.01, 0.1, 1.0%의 농도로 희석하여 총 12종류의 배양액을 제조하였으며, 이러한 배양액 중에서 녹두 종자의 성장을 관찰한 결과는 다음과 같았다 (Fig. 30).

즉, 0.01% phosphoric acid의 경우는 3일째에 발아하기 시작하였으나 5일째 이후에는 더 이상의 성장이 없었다. 0.1% phosphoric acid의 경우에는 2일째 4개의 종자 중 2개의 종자만이 성장의 조짐을 보였으며, 그 중에 하나의 종자에서는 뿌리가 나왔다. 4일째에는 하나의 종자에선 잔뿌리와 잎이 나타났으나, 8일째에는 발아는 4개의 종자 중 2개에서만 일어났으나, 줄기나 뿌리 등으로의 성장은 하나에서만 잘 일어났다. 그리고 성장이 좋았던 것은 8일 차 정도에 시들어 가기 시작하였으며, 나머지 2개의 종자는 발아조차 하지 않았다. 1.0% phosphoric acid의 경우는 2일째에 발아되기 시작하여 3일째에는 4개중 3개의 종자에서 발아되었고 4일째에는 잔뿌리가 형성되기 시작하였고 6일째에는 잎이 나오고 줄기가 잘 성장하였으며 배양액 중에 곰팡이가 나타나기 시작하였다.

0.01% acetic acid의 경우는 2일째에 4개중 1개의 종자에서 발아가 시작하였고 3일째에는 나머지 3개 종자도 발아되기 시작하였으며, 4일째에는 성장이 좋았던 하나의 종자의 뿌리에서 잔뿌리 형성이 보였으며, 6일째에는 성장이 좋았던 하나의 종자의 잎은 형성되지 못하고 줄기 성장만 계속되었다. 9일째에는 어느 정도의 줄기의 성장은 하였으나 시들어 버렸으며 나머지 3개의 종자는 발아하지도 않았다.

0.01% benzoic acid의 경우는 2일째 발아되기 시작하여 3일째에는 뿌리, 줄기가 나오기 시작하였고 4일째에는 4개의 종자 중에 2개는 잔뿌리 형성이 나타나기 시작하였으며, 그 중 하나는 잎도 형성이 되었다. 9일째에는

성장이 좋았던 2개의 종자에서는 뿌리와 줄기의 성장이 좋았으나 시간이 갈수록 점차 시들어 갔으며, 나머지는 성장이 좋지 못하였다. 0.1% benzoic acid의 경우는 2일째 발아되기 시작하였으며 3일째에 4개 종자 중에 3개에서 줄기와 뿌리가 나오기 시작하였다. 4일째에는 잔뿌리 형성이 보였으며 5일째에는 잎이 나오기 시작하며, 줄기 성장이 좋았으며 9일째에는 줄기도 길게 자라고, 잔뿌리의 형성도 좋았다. 1.0% benzoic acid의 경우는 2일째 발아되기 시작하였으며 3일째에는 배양액 중에 곰팡이가 나타나기 시작하였다.

0.01% sorbic acid의 경우는 2일째 발아되기 시작하여 3일째에 4개의 종자 중에 3개에서 뿌리와 줄기가 나왔으며, 나머지 하나의 종자에서는 발아의 조짐이 보였다. 4일째에는 잔뿌리가 형성되었고 5일째에는 줄기가 많아지고 잎이 나오기 시작하였으며, 9일째에는 줄기 및 뿌리의 성장이 좋았다. 0.1% sorbic acid의 경우는 2일째에 발아되기 시작하여 3일째에 뿌리와 줄기가 나오기 시작하였고, 4일째에는 잔뿌리가 형성되기 시작하였으며 줄기의 길이 생장이 좋았다. 5일째에는 잎이 형성되었으며 9일째에는 줄기의 길이 성장이 좋게 나타나서 길게 잘 자랐으며, 뿌리의 성장 역시 좋아서 뿌리가 풍성하게 잘 자랐다. 1.0% sorbic acid의 경우는 2일째에 발아되기 시작하여 3일째에 뿌리가 나오기 시작하였고 4일째에는 뿌리와 줄기가 약간 성장하였으나 배양액 중에 곰팡이가 나타나기 시작하여 6일째 이후에는 곰팡이가 많이 나타났다.

이상의 12종의 배양액 중에 3개의 배양액에서 성장이 좋게 나타났는데, 0.1% benzoic acid와 0.01% 및 0.1% sorbic acid에서의 녹두 종자의 성장이 좋았다. 나머지의 경우엔 발아를 전혀 하지 않은 것도 있었으며, 배양 중에 곰팡이의 오염으로 인하여 성장에 영향을 미친 것도 있었다. 해조 extract 농축물의 보존을 위한 첨가제의 사용에 있어 이러한 부수적인 영향을 고려해야 된다는 점을 알 수 있었으며, 해조류를 이용한 액비제조에 보존료의 선택 및 그 영향에 관한 유용한 정보가 될 것으로 예상된다.

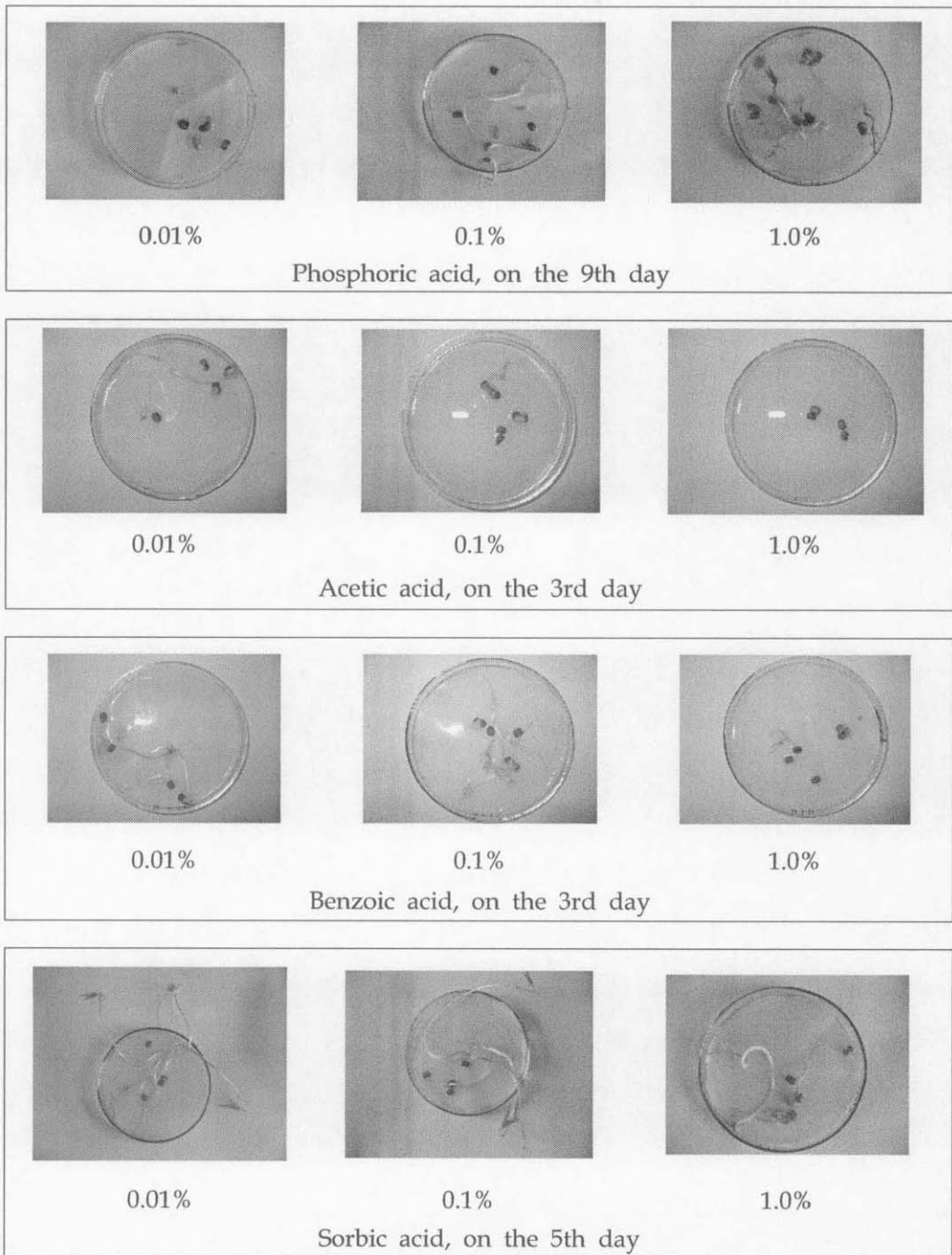


Fig. 30. Photograph of the growth of radish seed during cultivative period of water gardening by different concentration of sea mustard extract and addition of preservatives.

### 3) 생조체의 생물 검정

해조 extract의 효능을 수경재배를 통하여 생물검정을 한 결과를 토대로 현장에서 실제 액비로 사용시 적절한 희석배율을 예측해 보기 위하여 우선 생조체를 수경 배양수에 첨가하여 그 효능을 비교 조사하였다. 즉 무순종자의 수경재배 (water gardening) 중 배양수에 미역을 일정량 첨가하였을 경우 무순의 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 즉 배양판에 무순종자를 사진과 같이 일정한 양을 올린 후, 수경재배 용기 내에 증류수만을 약 1.5ℓ 넣은 경우와 증류수에 미역을 약 40 g 첨가한 경우를 비교한 경우 배양 7일째 Fig. 31에서 보는 바와 같이 현저한 차이가 관찰되었다. 미역은 시중에서 구입한 생미역을 -40℃에서 냉동 보관한 것으로 유수 중에서 해동시킨 후 약 1 cm x 1 cm 크기로 절단한 것을 사용하였으며 실온 및 실내 조도 하에서 배양하였다.

배양 3일째 무순에서는 싹이 트기 시작하였으며 4일째 이후에는 줄기와 뿌리가 발생하였으며 무순의 성장을 확실히 관찰할 수 있었다. 또한 미역을 넣은 것과 그렇지 못한 것은 4일째 이후부터 줄기, 뿌리 등 기타 싹이 트고 성장하는 정도가 육안으로 큰 차이를 알 수 있었으며 미역을 첨가한 것이 훨씬 무순이 풍성하게 잘 자랐음을 알 수가 있다. 증류수에서만 배양한 경우에는 7일째에도 싹이 트지 못한 씨앗도 있었지만 미역을 넣은 것에서는 무순의 성장을 촉진시키는 것으로 보아 미역 중의 미네랄을 비롯한 성장촉진 또는 영양성분의 영향으로 인한 것으로 판단되었다.

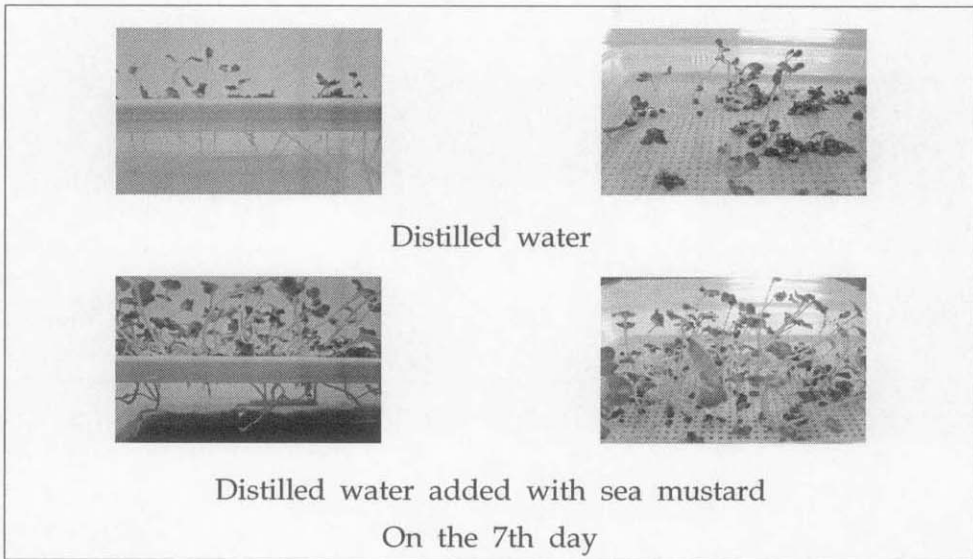


Fig. 31. Effect of sea mustard on the growth of radish seed in water gardening.

메밀종자의 수경재배에 있어 미역의 첨가로 인한 성장 촉진의 영향을 조사하였다(Fig. 32). 즉 배양판에 메밀종자를 올려놓은 뒤 재배용기에 증류수(A), 수돗물(B), 수돗물에 미역을 첨가한 것(C), 3 그룹으로 나누어 비교 조사하였다. 미역은 무순의 실험과 동일한 조건으로 처리하여 첨가하였으며 배양 조건도 동일하게 하였다. 배양 3일째, 수돗물(B)과 수돗물에 미역을 첨가한 경우(C)에는 싹이 트기 시작하였다. 4일째에는 증류수(A)에서 배양한 메밀종자에서도 싹이 트기 시작했다. 5일째가 되었을 때엔 줄기도 확연히 올라오고, 뿌리도 어느 정도 나오기 시작했다. 7일차가 되었을 때 메밀의 성장정도가 확연히 차이가 나타났으며 줄기의 성장정도나 풍성함이 확연히 다를 수 있었다. 이러한 결과로 보아 농작물의 재배에 미역과 같은 해조류를 이용한다면 농작물의 성장 촉진 비료로서의 기능이 충분히 있을 것으로 예상된다.



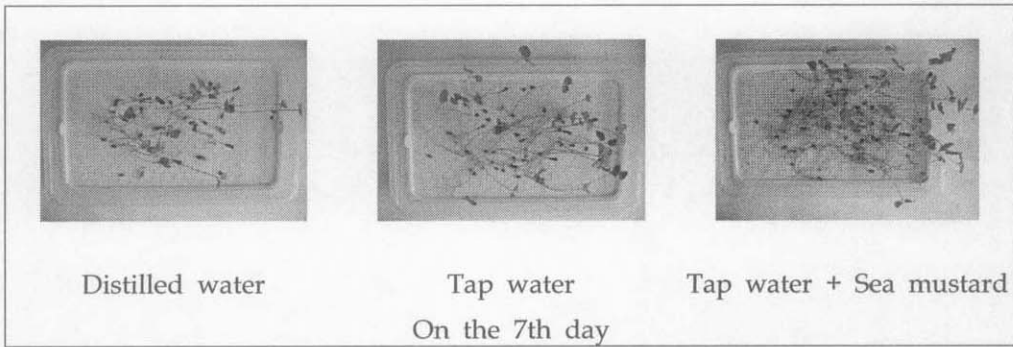


Fig. 32. Effect of sea mustard on the growth of buckwheat seed in water gardening.

무순종자의 수경재배 중 다시마 조체 중의 염분의 영향을 조사하였다. 시료로는 열풍건조시킨 다시마를 염분을 제거하지 않고 그대로 사용하였다. 즉 증류수(A), 수돗물(B), 수돗물 에 건 다시마 10 g 을 첨가한 것(C), 3 그룹으로 나누어 위의 실험조건과 동일한 배양조건에서 비교 조사하였다.

배양 2일째 씨앗이 터지면서 발아되기 시작하였으며 3일째가 되었을 때 줄기와 뿌리 등이 발생하기 시작하였다. 배양 7일째 수돗물 + 건 다시마 < 증류수 < 수돗물의 순으로 성장이 좋았으며 (Fig. 33), 염분을 제거한 미역의 경우와는 다른 결과가 나타났다. 즉 건 다시마를 넣었을 때가 성장이 더 좋게 나타날 것이라는 예상과는 다르게 오히려 성장이 더 좋지 못하였는데 건 다시마에 존재하는 염분이 종자의 성장을 저해시킨 것으로 생각된다. 이러한 결과는 해조류를 이용할 경우 염분을 제거하는 전처리 과정이 매우 중요하다는 점을 시사하였다.

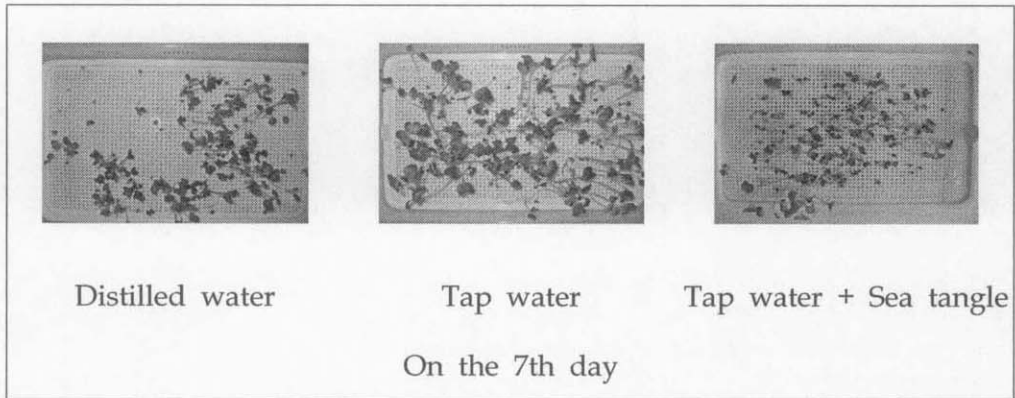


Fig. 33. Effect of sea tangle on the growth of radish seed in water gardening.

무순종자의 수경재배에 있어 다시마의 첨가량에 따른 영향을 조사하였다(Fig. 34). 즉 약 1.5 l의 배양액에 다시마 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 g을 첨가하였으며, 사용한 다시마는 건 다시마 중량에 3배의 증류수를 가하여 30분 동안 교반하면서 3회 세척하여 염분을 충분히 제거한 것을 사용하였다. 다시마를 20 g 이상 첨가한 배양용기의 무순종자는 2일째부터 발아의 조짐이 보이기 시작하였으며, 그 정도는 다시마의 중량이 많으면 많을수록 성장은 좋게 나타났다. 3일째 이후로는 잎 등이 나오기 시작하였으며, 60 g 이상에서는 뿌리 등이 나오기 시작하였다. 7일간 배양한 결과 배양용기에 다시마의 함량이 많을수록 잎, 뿌리 및 줄기의 성장 등이 좋았다. 염분을 제거하지 않은 경우와는 다르게 다시마의 첨가량이 많을수록 성장이 좋게 나타나는 것을 알 수 있었다.

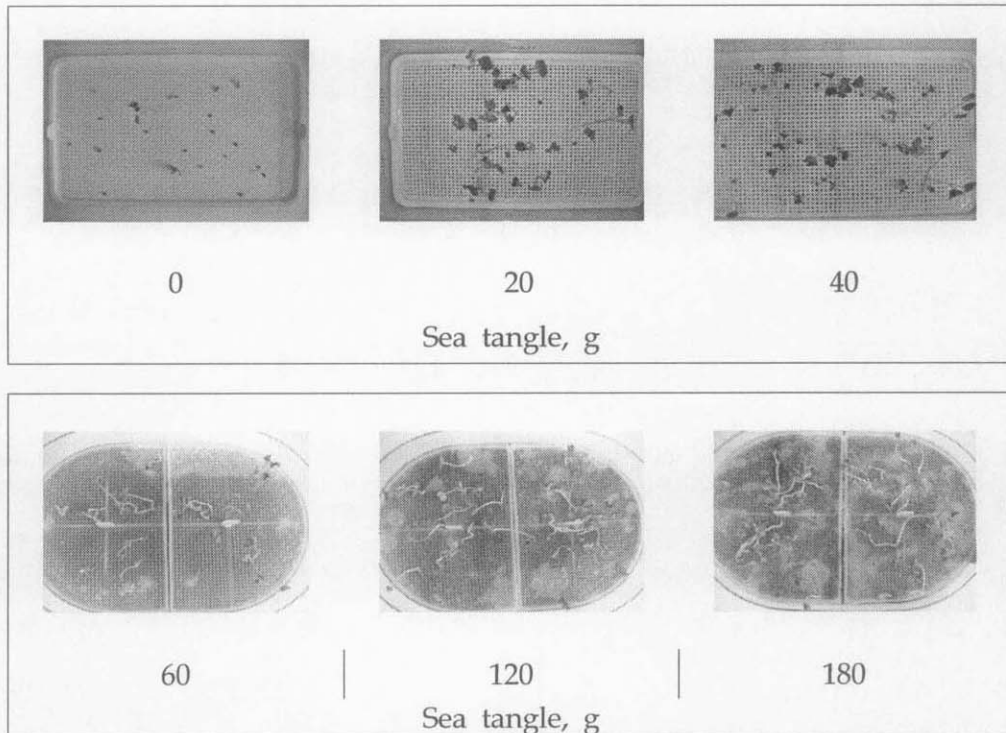


Fig. 34. Photograph of the growth of radish seed on the 7th day of water gardening by addition of sea tangle.

#### 나. GC/MS에 의한 활성 성분의 분석

해조류에서 식물성장호르몬을 분리 및 정량하기 위해서 표준물질인 IAA, ABA, GA<sub>3</sub> 및 zeatin의 분석 조건을 검색하였다. 즉 각각의 표준원액 (100 ppm) 100  $\mu$ l 와 N-Methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoro acetamide 시약 100  $\mu$ l를 혼합하여 60 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켜 TMS 유도체화하였으며, 최적의 ionize fragmentor voltage를 검색하여 70eV의 voltage 값을 얻었으며, 분석시 IAA : 319m/z, ABA : 408m/z, GA<sub>3</sub> : 445m/z, trans-zeatin : 291, 363m/z fragment ion을 기준으로 확인하였다. GC/MS 분석 결과는 Fig. 34~38과 같으며, 미역 생조체에 대한 분석 결과는 Fig. 39와 같았다.

Fig. 35에서 보는 바와 같이 IAA의 경우 GC/MS 크로마토그램은 retention time 25분대에서 단일한 peak를 나타내었으며, 분자이온 peak는  $m/z$  319, 주요한 fragment ion peak는  $m/z$  202에서 나타나는 특징을 확인할 수 있었다. ABA의 경우 GC/MS 크로마토그램은 retention time 28.4분대에서 단일한 peak를 나타내었으며, 분자이온 peak는  $m/z$  408, 주요한 fragment ion peak는  $m/z$  183, 285 및 73에서 나타났다 (Fig. 36).

GA<sub>3</sub>의 경우 GC/MS 크로마토그램은 retention time 36분대에서 단일한 peak를 나타내었으며, 분자이온 peak는  $m/z$  445, 주요한 fragment ion peak는  $m/z$  208, 297, 193 및 73에서 나타났다 (Fig. 37).

또한 zeatin의 경우 GC/MS 크로마토그램은 retention time 33.5분대에서 단일한 peak를 나타내었으며, 분자이온 peak는  $m/z$  363, 주요한 fragment ion peak는  $m/z$  260, 273, 73, 232, 166, 201 및 156 에서 나타났다 (Fig. 38).

한편 Fig. 39은 미역 조제 중의 성장 홀몬에 대한 GC/MS 크로마토그램을 나타낸 것으로 retention time 24분대와 34분대에 2개의 peak가 나타났으며, mass chromatogram 상에서는  $m/z$  319,  $m/z$  73,  $m/z$  205,  $m/z$  217,  $m/z$  147 등에서 여러 개의 fragment ion peak들을 볼 수 있는데, IAA ( $m/z$  319), ABA ( $m/z$  73) 또는 zeatin ( $m/z$  73), GA<sub>3</sub> ( $m/z$  205)로 추정되는 peak들을 확인할 수 있었다.

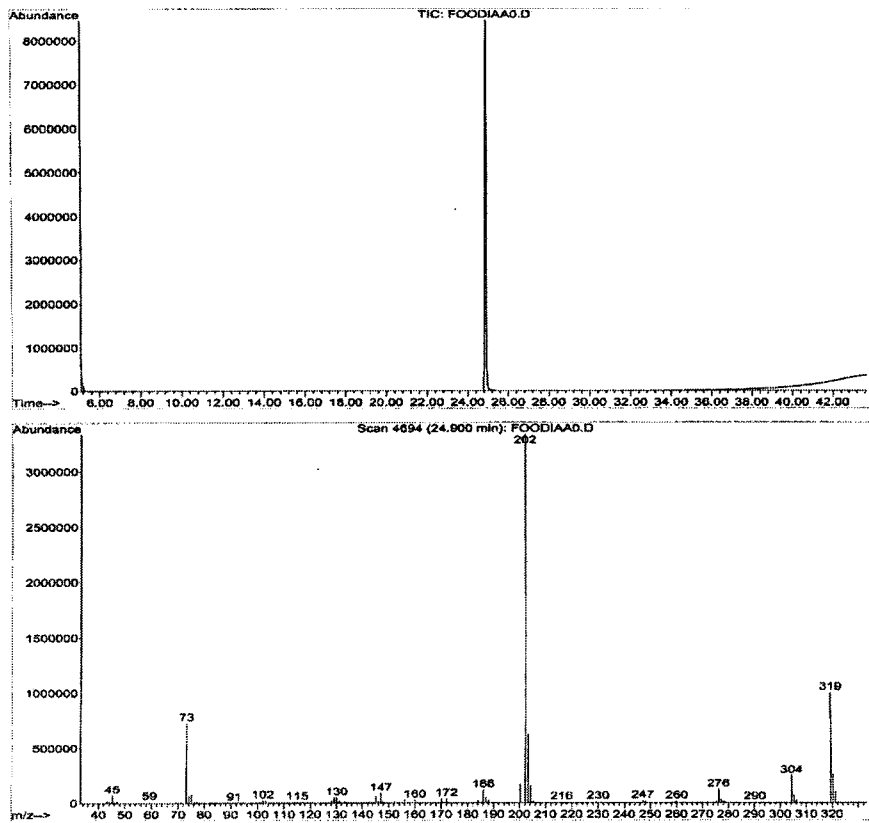


Fig. 35. GC/MS chromatogram of IAA.

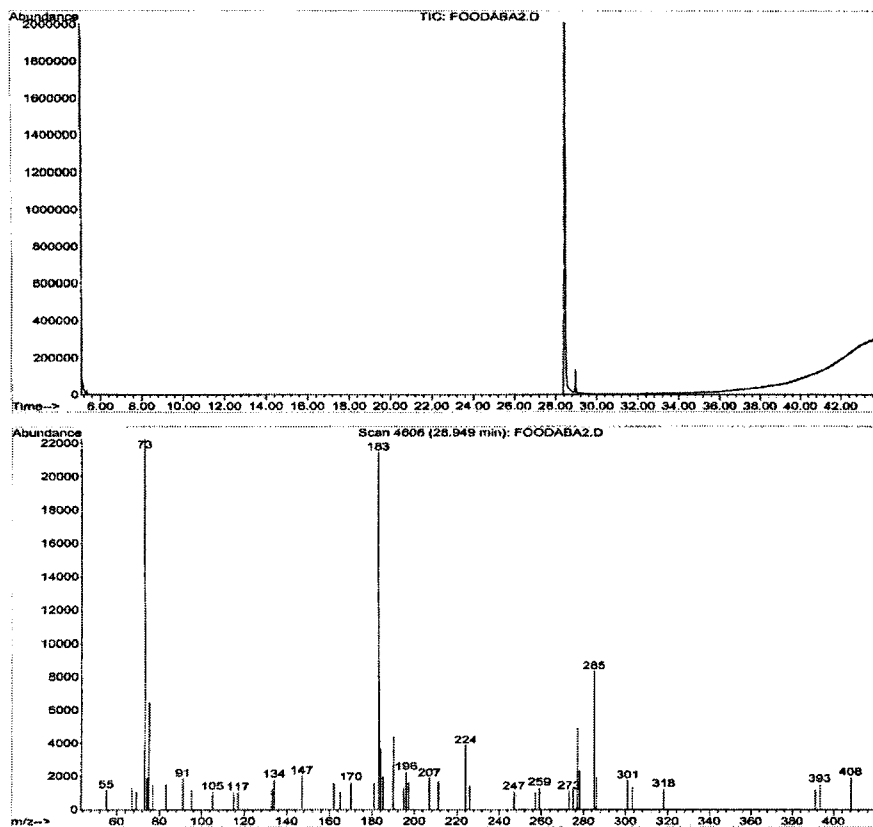


Fig. 36. GC/MS chromatogram of ABA.

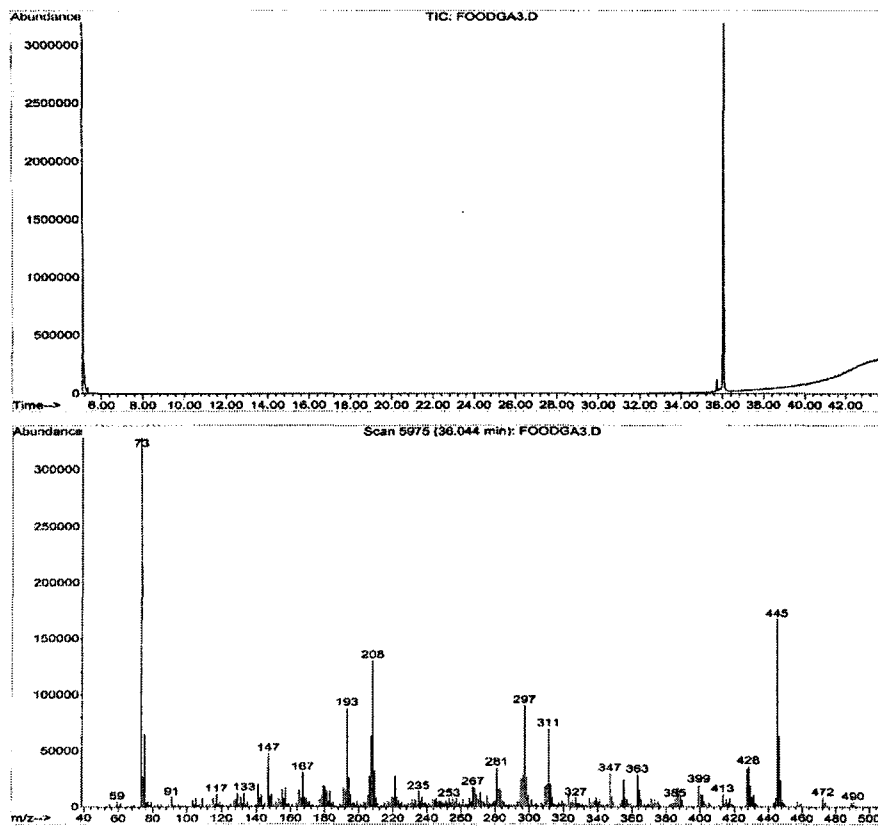


Fig. 37. GC/MS chromatogram of GA<sub>3</sub>.

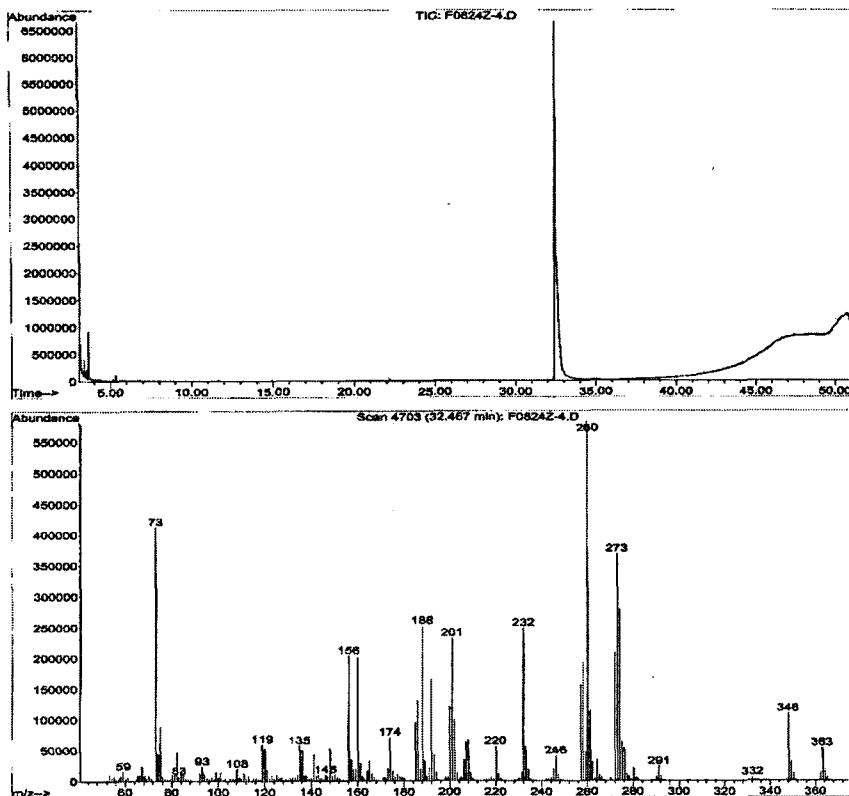


Fig. 38. GC/MS chromatogram of zeatin.



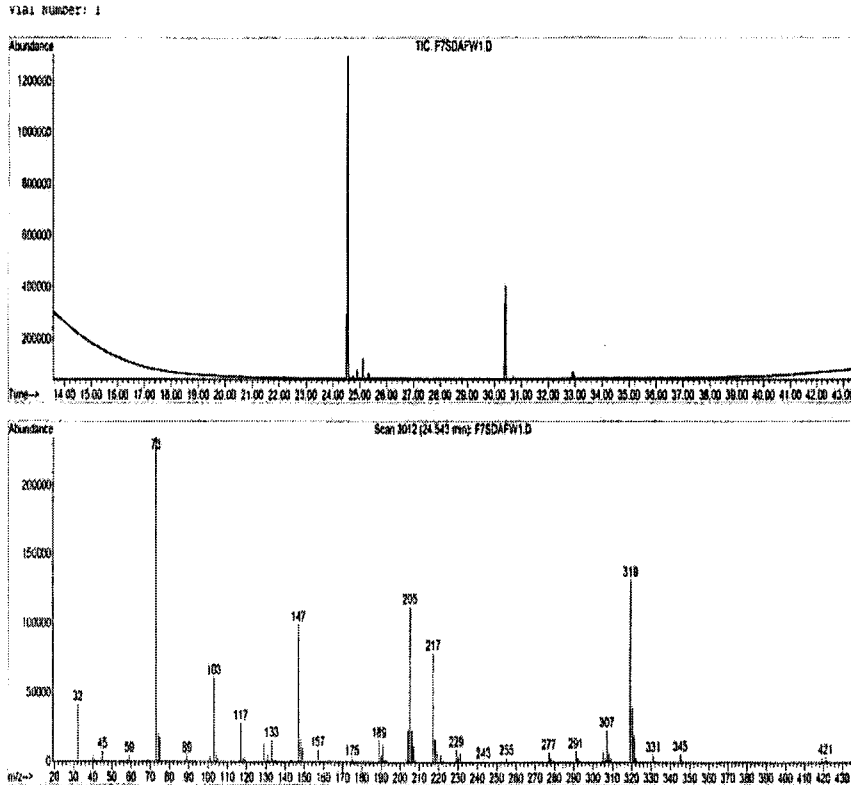


Fig. 39. Identification of indol-3-acetic acid (m/z 319) in sea mustard.

## 다. 유용케미칼의 산업화 가공 적성

### 1) 저온 진공법에 의한 해조 extract 농축액 제조

해조류로부터 성장 활성 물질을 효율적으로 추출하기 위하여 중탄산나트륨의 농도 및 가열시간 등의 영향 요인들에 대하여 조사하여 선정된 최적 제조 조건에 따라 대량생산을 위한 목적으로 scale-up하여 해조 extract를 제조하였다. 즉, 해조 시료 3 kg에 2%  $\text{NaHCO}_3$  용액 30  $\ell$ 을 넣은 후 30분간

가열 교반하여 해조 extract를 제조하였다. 해조 extract로부터 불용성물질을 제거하기 위하여 소량 생산의 경우에는 여포를 이용한 여과법을 사용하였으나 여액의 점도가 높아 여포를 이용한 여과법은 시간이 많이 소비되어 원심분리법으로 불용성 물질을 분리 제거하였다. 이러한 원심분리법이 여과법에 비하여 대량생산을 목표로 한 산업적 응용에 도움이 될 것으로 판단되었다.

원심분리법을 이용하여 분리된 여액은 따로 모아 저온진공법으로 그 부피를 약 1/10 정도 될 때 까지 농축한 후 4종류의 보존료를 각각 첨가하고 pH 3.0 으로 조정하여 보관하였다 (Fig. 40).

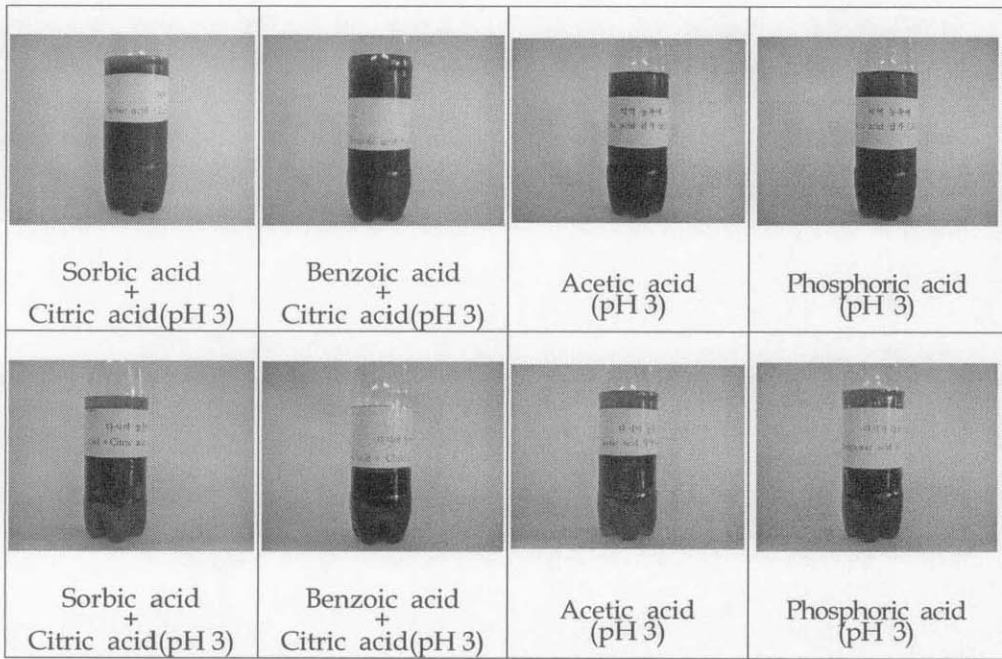


Fig. 40. Seaweed extracts prepared from sea mustard (above) and sea tangle (below).



Fig. 41. Commercial products based on seaweed extract.

## 2) 화인밀 공정에 의한 분말 제조

미역과 다시마의 염분을 제거하기 위하여 먼저 시료를 흐르는 수돗물에 30분간 침지 수세하였으며, 자연건조 및 동결건조한 후 분쇄하여 미세분말을 만들어 해조 분말시료로 사용하였다. 미역 및 다시마 조체의 수세에 따른 염분 농도의 변동을 조사한 결과는 Table 19과 같다. 즉, 수세용액과 해조 조체는 전반적으로 비슷한 염분 농도를 가졌으며, 평균적으로 4번째 수세과정인 20분에서 대부분의 염분이 제거되었다. 분쇄과정은 건초의 분쇄에 주로 이용되는 Burr mill법을 이용하였으며, 실험실 내에서는 mortar를 이용하여 분쇄하였다. 미세분말 형태는 미생물의 발육을 억제시켜 저장성을 높일 수 있을 뿐만 아니라, 영양성분의 보존에도 긍정적인 영향을 준다고 알려져 해조류를 이용한 다양한 산업화 응용에 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

## 3) 해조-토양 클러스터 제조

토양 클러스터의 제조 과정은 먼저 미역, 다시마를 이용하여 전처리 과정으로 세척과정에 의해 이들을 수돗물로 세척하여 동결건조 과정 후 이를 파쇄하여 분말형태로 만들었다. 즉 미역과 다시마 조체를 3회 수세 과정을 거쳐 염분을 제거한 뒤 건조, 분쇄하여 분말로 만들었다. 그 다음 해조류 분

말을 황토와 3 : 5의 중량 비율로 혼합하고 결착제를 사용하여 혼합, 압착, 사출, 세절, 성형 및 건조 공정을 통하여 제조하였다 (Fig. 42). 또한 제조 과정에 사용된 주요 제조장치 및 제품 사진은 각각 Fig. 43와 Fig. 44~46에 나타내었다.

**Table 19. Salinities of washing water during washing treatment  
(unit : %)**

| <b>Time</b> | <b>Sea mustard</b> | <b>Sea tangle</b> |
|-------------|--------------------|-------------------|
| <b>5</b>    | <b>11.00±0</b>     | <b>10.25±0.5</b>  |
| <b>10</b>   | <b>4.00±0</b>      | <b>4.00±0</b>     |
| <b>15</b>   | <b>1.33±0.47</b>   | <b>2.00±0.82</b>  |
| <b>20</b>   | <b>0±0</b>         | <b>0±0</b>        |

**\* Seaweed was used about 15g in each experiment.**

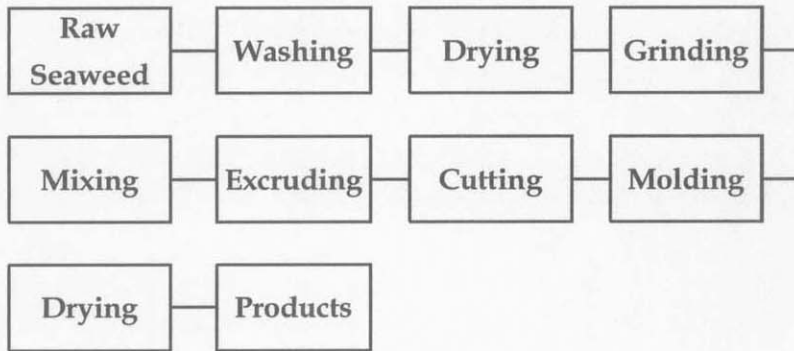
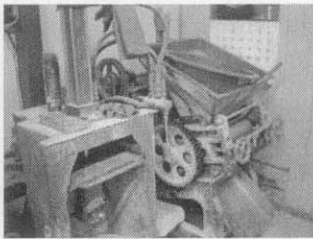
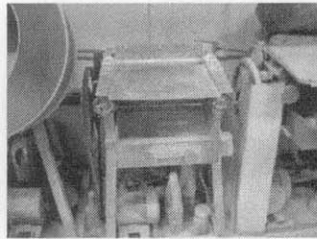


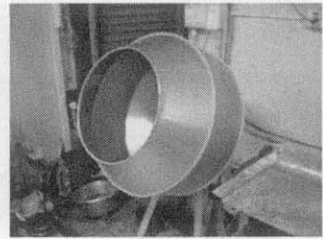
Fig. 42. The process for preparation of seaweed-soil cluster.



Excruder



Cutter



Rotary Mold

Fig. 43. Main equipments for processing seaweed-soil cluster.

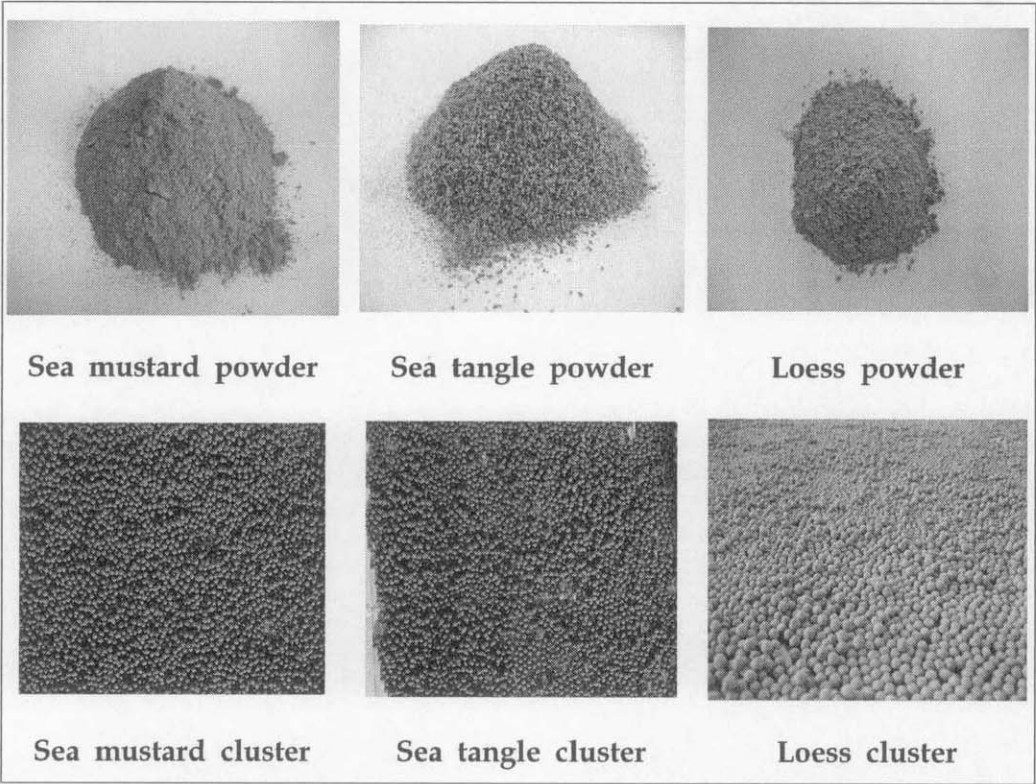


Fig. 44. Products of seaweed powder and seaweed-soil cluster.



Fig. 45. Packaged products of seaweed-soil cluster.

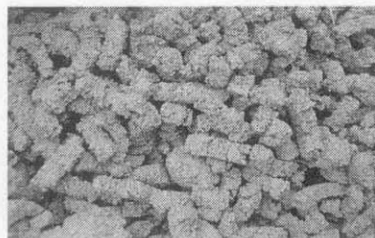


Fig. 46. Other types of soil cluster prepared from seaweeds.

## 제 3 절 제품의 품질안정성 및 산업적 응용 시험

### 1. 이론적 실험적 접근 방법

해조류는 많은 해양국가에서 식용으로, 산업용으로, 비료로 이용되고 있다. 식용으로 해조류를 주로 이용하는 곳은 아시아 지역이며, 이 때문에 해조류 양식은 주요한 산업이 되어왔다. 유럽에서는 식용 또는 가축사료로 주로 이용되고 있으며, 해조류 양식 기술은 크게 발전되지 못하고 있다.

그러나 유럽에서는 오래전부터 해안에 퇴적된 해조류는 "lazy beds"를 만드는데 이용되어 왔다. 토양 또는 모래는 채소류 재배, 특히 감자 생산을 위하여 해조류와 휘묻이되고 있다. 이러한 유기물질은 아일랜드와 스코틀랜드 지영 연안의 메마른 불모지에 매우 유용하다는 것으로 알려져 있다.

보수력이 매우 좋지 않은 토양이나 건조한 토양에 해조류는 보수력이 매우 좋기 때문에 매우 유용할 수 있다. 최근 비료와 토양 안정제로서 해조류는 영국에서 도로의 득(제방)에 파종하는데 이용되고 있다. 즉, 잔디 씨앗은 갈조류의 crude extract와 혼합하여 토양 속으로 잘 분산되도록 paste-like mixture를 만들어 사용되고 있다. 많은 산호초 외피는 무게 중량으로 80%에 달하는 Ca, Mg 탄산화합물을 함유하고 있다. 토양 첨가제로서 판매하고 있다. 해조류 중에는 미량원소가 상당히 풍부하기 때문에 유리한 점이 많다. 이들 제품은 유기농 종사자와 원예가들에게 관심이 높는데 그 이유는 화합 비료로부터 미량 원소를 첨가해야 할 필요성이 있는 곳에 해조류가 많은 미량 원소는 공급할 수 있을 것으로 믿고 있기 때문이다.

갈조류의 액상 extracts 는 농업용과 원예용으로 판매되고 있다. 이들 extracts의 대부분을 건조 *Ascophyllum nodosum* 분말 (예, "Maxicrop" 영국산), 또는 건조혼합 퇴비(흔히, blackseaweed) 로부터 만들지만 일부는 *Fucus serratus*, *Laminaria* species 등과 같은 해조류를 이용하고 있다 (예, "SM3" 영국산). 현재 시판중인 한 제품은 남아프리카산의 *Ecklonia maxima* 줄기로부터 만들고 있다 (예, "Kelpak 66"). 이 이외에 다른 제품을 노르웨이 회사인



Algea사 제품인 "Algifert", 뉴질랜드산인 "Seaagro", 그리고 Tasmania의 한 회사 제품인 "Seasol" 등이 있다. 건조 조체 또는 생조체의 열수추출물로 만들어지고 있으며 주로 추출효율을 높이기 위하여 탄산나트륨을 첨가하여 만들어지고 있다. "Maxicrop"은 주로 정원과 비닐하우스 작물재배에 이용되며 많은 국가에 수출되고 있다. Guyana에서는 감귤 재배에 그리스에서는 감귤류와 포도 재배에, 벨기에에서는 난초 재배에 태국에서는 정원용으로 아이슬란드에서는 비닐하우스 작물재배에 이용하고 있다. 뉴질랜드산의 "Seagro"는 주로 목초 배양에 이용되고 있지만 이것 역시 난초류 재배에도 이용되고 있다.

액상 해조 extracts의 유익한 효과에 대하여는 작물 수확량 증대, 작물의 내한성 증대, 토양으로부터 무기성분의 축적 증대, 각종 스트레스에 대한 내성 증대, 과일류의 저장 중 품질 보존성 증대 등 광범위하게 보고되고 있다. 액상 해조 extracts는 임의의 지역에 부합되는 매우 적은 양의 물질을 양에 해당되도록 매우 고도로 희석하여 사용되고 있다. 따라서 해조 extracts 내의 활성물질은 적은 농도에서 효과를 가질 수 있어야 한다. 미량 원소는 활성 성분인 것으로 간주되고 있으나, 해조류중의 이들 성분의 양을 곡물 총 요구량에는 매우 미미한 것이라고 보고 있다.

해조류 유래 농업화학제품의 3종류 형태는 아일랜드에서 만들어지고 있다. 즉, 분말, 액상 해조 extracts 및 클러스터 형태 제품이 주류를 이루고 있다. 현재 유럽의 경우 비료 및 기타 농업화학제품 시장은 약 30 billion (US)인 반면에, 유럽 액상 해조류 extracts 시장은 단지 20 million (US)에 불과하다. 그러나, 화학 살균, 살충제, 비료 등에 대하여 우려가 증가되고 있어 그 잠재적 가치는 매우 크다.

미역 및 다시마 분말을 이용한 토양 클러스터는 해조류의 미네랄, 아미노산, 옥신, 지베렐린, 사이토키닌 성분 등을 이용하여, 작물의 성장촉진, 과실의 비대 및 착색촉진에 있어서 효과를 보기 위하여 전통적으로 사용되어 온 고품퇴비를 개량하여 냄새가 나지 않고 미관상 보기 좋은 효과를 가지는 친환경적인 비료라고 할 수 있다.

한편, 비료 및 식물영양제의 개념 특성 및 국내 현황은 아래와 같이 정리할 수 있다.

□ 비료 및 식물영양제의 개념

◎ 비료의 정의

- 비료 : 식물에 영양을 주거나 식물의 재배를 돕기 위하여 흙에서 화학적 변화를 가져오게 하는 물질과 식물에 영향을 주는 물질을 말한다.
- 보통비료 : 부산물비료 외의 비료로서 공정규격이 정하여진 것을 말한다.
- 부산물비료 : 농업·임업·축산업·수산업·제조업 또는 판매업을 영위하는 과정에서 나온 부산물, 인분뇨, 음식물류폐기물, 토양미생물제재(토양효소제재를 포함한다), 토양활성제 등 비료 성능이 있는 물질로서 농림부장관이 지정하는 것을 말한다.
- 공정규격 : 농림부장관이 그 규격을 정하는 것이 필요하다고 인정하는 비료에 대하여 그 주성분의 최소량 또는 함유할 수 있는 유해성분의 최대량, 기타 주성분의 효능유지에 필요한 부가성분의 함유량 등 비료의 품질유지를 위하여 농림부장관이 정하여 고시한 규격을 말한다.
- 보증성분 : 비료업자가 생산·수입·수출 또는 판매하는 비료에 대해 그 비료가 함유하고 있는 주성분의 최소량을 백분율로 표시한 것을 말한다.

◎ 복합비료

- 비료의 3요소인 질소, 인산, 가리 중 2가지 이상의 성분을 함유한 비료를 말함

- 제4종 복합비료(액비) : 비료 성분함량 10% 이상
  - 질소, 인산, 가리 성분 중 2 이상을 함유하는 비료
  - 4종 복합비료는 엽면시비용, 양액재배용 또는 관주용, 화초용이 있으며 이는 수용제와 액제로 구분된다.
  - 수용제에는 3요소는 물론 각종 미량요소, 초미량요소, 각종 아미노산, 비타민, 효력 증진제등을 섞어 혼합제조하며
    - 액제는 사전 각 성분별 반응실험을 거친 후 제조한다.
    - 생산회사는 유일, 대유, 비왕산업 등

이상에서 살펴 본 바와 같이 해조류의 식물성장 촉진효능을 이용하여 경제적인 가치가 있는 농작물 비료로서 개발하기 위하여, 비료공정규격 조건을 충족시켜 공인된 비료로서 활용하기 위한 산업화 기술 개발이 필요하다고 생각된다.

## 2. 연구 내용

### 가. 시제품의 제조

해조 extract 농축액 및 해조 토양 클러스터는 제 2절에서 확립한 최적 제조 조건으로 제조되었으며 품질 안정성 시험, 품질 특성시험의 시험재료로 사용하였다. 한편, 이들 해조 extract는 시제품의 기능을 보완하기 위하여 다시 제4종 복합비료 제조공정에 따라 유효성분을 보강하였으며, 해조-토양 클러스터는 시험기간을 단축할 목적으로 분쇄하여 산업적 응용 시험의 시료로 사용하였다.

## 나. 제품의 품질 안정성 시험

### 1) 미생물 시험

미역 및 다시마 extract 농축액을 상온에 보관하였을 때의 가시적인 상태변화의 관찰과, 3M™ Petri film(Model Aerobic Count Plate, 3M™, USA, Model Yeast and Mold Count Plate, 3M™, USA)을 이용한 건조필름법을 이용하여 일반세균 및 곰팡이의 균수 측정 실험을 실시하였다. 한편, 해조 extract의 냉장 제품 및 토양 클러스터 제품은 예비실험을 통하여 미생물적 안정성이 확인되어 본 실험에는 제외시켰다.

#### 가) 가시적인 상태 변화의 관찰

미역 및 다시마 extract 농축액을, 80% 알코올로 소독하고 UV 조사한 50 ml 비이커에 40 ml씩 첨가하여 실온에서 15일간 각 시료의 외관적 상태 변화를 관찰하였다.

#### 나) 일반세균 실험

시료 1 ml를 취하고 살균되어진 Falcon tube에 증류수 9 ml와 함께 vortex하여 멸균한 증류수로 10배 희석하였다. 또한 필요에 따라 다시 10배씩 희석한 액을 3M™ Petri film (Microbiology Products 3M Health Care, USA)에 1 ml씩 2매에 분주하여 35℃ 인큐베이터에서 48시간 배양한 후 colony수가 10~250개가 나타나는 평판을 선택하여 산출하였다.

#### 다) 곰팡이 실험

해조 extracts의 저장 중 곰팡이의 증식을 조사하기 위하여, 3M™ Petri film (Microbiology Products 3M Health Care, USA)을 이용하여 곰팡이수를 측정하였다. 예비실험에서 상온 저장하여 가시적인 관찰을 한 경우

미역과 다시마 원액의 phosphoric acid 첨가구에서 곰팡이가 발견되고 나머지 extract에서는 발견되어지지 않음에 따라 미역과 다시마 원액의 phosphoric acid 첨가구와 sodium acid 첨가구 시료 3종류에 대하여 실험하였다.

상온에서 저장한 해조 extract를 Falcon tube에 15일 간격으로 1 ml 씩 취하여 멸균한 증류수에 10배 희석법으로 각 시료를 희석하고, 곰팡이용 Petri film에 분주한 후 25℃ 배양기에서 5일 동안 배양하여 곰팡이 수가 10~250개가 나타나는 평판을 선택하여 곰팡이수를 측정하였다.

#### 다. 제품의 품질 특성 시험

본 실험에서는 각각의 고품비료를 농촌진흥청에서 제시한 비료의 이 화학적 검사 방법에 따라 주성분과 유해성분 및 기타성분으로 분류하여 각각의 정량실험을 행하였으며, 주성분의 경우는 인산, 가리, 석회, 마그네슘(고토), 망간, 유기물을, 유해성분은 카드뮴, 크롬, 니켈, 납, 비소, 수은을, 기타성분은 수분, 유기물 대 질소의 비, 염분을 측정하였다.

#### 1) 성분분석 시험

##### 가) 주성분

##### (1) 인산 ( $P_2O_5$ )

인산의 정량분석 실험방법은 상법에서 제시한 퀴노린 중량법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제는 아래의 방법에 준하여 제조하였다.

##### (가) 퀴모시약 용액(Quimociac solution)

폴리브덴산나트륨( $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ) 70 g을 증류수 150 ml에 녹이고 구연산 60 g과 질산 85 ml를 150 ml 증류수에 녹였다. 폴리브덴산 용액을 구

연산용액에 넣으면서 저어주고, 5 ml 퀴노린( $C_9H_7N$ )과 35 ml 질산을 혼합한 후 100 ml 증류수를 첨가하였다. 이 용액을 폴리브덴 구연산용액에 천천히 넣고 그대로 이틀날까지 방치하였다. 여과한 후 여기에 280 ml 아세톤과 증류수를 가해서 1 l 되게 하고 냉암소에 폴리에틸렌병에 저장해 두고 필요시 여과하여 사용하였다.

(나) 질산마그네슘 용액

산화마그네슘 160 g을 가능한 한 소량의 질산에 녹이고 약간 과량의 산화마그네슘을 가하여 끓이고 여과시켜 과량의 산화마그네슘을 제거하고 증류수를 가하여 1 l로 하였다.

(다) 페텔만 구연산염액

결정 구연산 ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ) 173 g을 소량의 불에 녹이고 이것에 42 g의 질소에 상당하는 비중 0.96의 암모니아수를 냉각하면서 서서히 가하였다. 이 액을 15°C로 냉각시킨 후 같은 온도의 물을 가하여 1 l로 하였다.

(라) 구연산액

결정구연산 ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ) 100 g을 증류수에 녹여 1 l로 하여 만들었으며, 사용할 때에는 이 용액을 증류수로 5배 희석하여 사용하였다.

공시액의 조제는 유기질비료 및 유기물을 함유하는 비료로서 미역 및 다시마분말을 이용한 고형비료 2 g을 다음에 기재한 방법에 의하여 분해하고 물을 가하여 250 ml로 하고 건조여지로 여과하였다.

이렇게 만들어진 공시액 일정량을 300 ml 툴 비이커에 취하고 5 ml의 질산을 가하고 증류수로 80 ml되게 희석하고 시계접시를 덮고 3분간 끓인 후 시계접시와 비이커의 내벽을 증류수로 씻어 약 100 ml 되게 하고 즉시 약 50 ml 퀴모시약 용액을 가하였다.

60~65°C 수욕상에서 가끔 흔들면서 15분간 가열한 후 실온으로 방냉하였다. 다음에 미리 220±5°C에서 건조시키고, 평절판(눈금)이 없는 유리섬유 여지에 침전물을 여과한다.

증류수로 3회 씻어 침전물을 완전히 옮기고 증류수로 7~8회 세척 후 30분간  $220 \pm 5^\circ\text{C}$ 로 건조하였다. Silica gel이 들어있는 데시케이타에서 실온으로 2시간 냉각하였다. 인모리브덴산퀴노리늄 $[(\text{C}_9\text{H}_7\text{NH})_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3]$ 으로서 무게를 측정하고 이 값을  $\text{P}_2\text{O}_5$ 로 계산할 때는 0.03207을 곱하여 정량하였다.

## (2) 가리 ( $\text{K}_2\text{O}$ )

가리의 정량분석 실험방법은 상법에 제시한 테트라페닐 붕산나트륨법(중량법)을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

### (가) Tetraphenylborate 액

$[\text{Na}(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{B}]$  6.1 g을 250 ml의 메스플라스크에 취하고 물 약 200 ml를 가하여 녹이고, 이것에 염화알루미늄액 10 ml를 가하고 메칠레드를 지시약으로 NaOH 액으로 황색이 될 때까지 중화하고 눈금까지 물을 가해 잘 혼합한 후 건조여지로 여과하여 이용하였다.

### (나) 구연산액

구연산 100 g을 물에 녹여 1 l로 만들었고 사용시 이 원액을 5배로 희석하여 이용하였다.

### (다) EDTA - NaOH

Ethylenediminetetra acetate ( $\text{EDTA } 2\text{Na} : \text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 10 g 및 NaOH 8 g을 물에 녹여, 냉각 후 혼재한 가리량에 따라서 tetraphenyl - Borate액 6~16 ml (당량보다 4 ml과잉 정도)을 교반하면서 가하고 물을 가해 100 ml로 하였다.

### (라) Tetraphenyl borate 세척액

Tetraphenyl borate액 40 ml를 물로 희석하여 1 l로 하였다.

### (마) 염화알루미늄액

$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  12 g을 물에 녹여 1 l로 하였다.

(바) NaOH 액

NaOH 200 g을 물에 녹이고 1 l로 하였다.

◎ 공시액 조제

유기질 비료 또는 유기물을 함유하는 비료로서 미역 및 다시마 분말을 이용한 고품비료 5 g을 백금 도가니에 취하고, 저적열로 탄화하고 이것을 300 ml의 툴비이커에 물로 씻어 넣고, 염산 10 ml를 서서히 가해 넣고, 물을 가해 약 100 ml로 하고, 약 5분간 끓여 냉각하고 물을 가하여 500 ml로 하고 건조여지로 여과하여 이용한다.

공시액의 일정량 ( $K_2O$ 로써 30 mg)을 100 ml의 비이커에 정확히 취하고 테트라페닐 붕산염액 첨가후의 최후 액량이 50 ml가 되도록 적량의 물을 가하고 다음 염산의 량이 0.2 ml가 되도록 염산(1+9)을 가하였다.

다시 37% formaldehyde액 5 ml와 EDTA-NaOH액 5 ml를 순차로 가한다. 이것에 테트라페닐붕산염액을 당량보다 4 ml과량으로 매초 1~2방울씩 교반하면서 가하였다.

때때로 교반하고 약 30분간 방치한 후 우선 무게를 정확히 단 glass filter를 사용하여 여과하고, 테트라페닐붕산염 세정액으로 침전을 옮기고, 동액 약 5 ml씩을 사용하여 5회, 다음에 물 약 2 ml씩을 사용하여 2회 세정하고 120°C로 1시간 건조한 후 테트라페닐붕산가리  $[K(C_6H_5)_4B]$ 로써 무게를 정확히 달고 가리( $K_2O$ )의 량을 아래와 같이 계산하여 정량하였다.

$$\text{가리}(K_2O) = [K(C_6H_5)_4B] \times 0.1341$$

(3) 석회 (CaO)

석회는 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 EDTA법 (킬레이트법)을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법으로 준하여 조제하였다.



(가) 표준 EDTA액

EDTA-2 나트륨( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 3.7225 g을 증류수에 용해한 후 1 ℓ (0.01 M 용액)로 하여 폴리에틸렌 병에 저장하고, 이 용액의 농도는 표준 아연액 25 ml를 200 ml 삼각플라스크에 취한 후 증류수 약 10 ml 및 염화암모늄 완충액 5 ml (pH 조절)넣고 지시약 EBT 2~3 방울을 가한 후 적색이 완전히 없어지고 청색이 될 때를 종점으로 적정하여 검정하였다.

(나) 표준아연액

황산 데시게이터에 24시간 건조한 표준시약 아연 (Zn) 0.6538 g을 소량의 염산에 녹여 증류수로 1 ℓ로 하여 0.001 M 농도로 제조하였다.

(다) 표준 칼슘용액

110℃에서 2~3시간 건조한 특급  $\text{CaCO}_3$  1.0009 g을 비이커에 취하여 증류수를 넣고 시계접시를 덮은 후 소량의 염산을 서서히 가하여 녹이고 끓여 탄산 gas를 방출시키고 냉각 후 물을 가하여 1ℓ로 하여 0.001 M 농도로 제조하였다.

(라) 표준 마그네슘 용액

특급 마그네슘 (Mg) (99.98%이상) 0.243 g을 소량의 염산에 용해하고 증류수를 가하여 1 ℓ로 하여 0.001 M 농도로 제조하였다.

(마) 염화암모늄 완충액

염화암모늄 70 g을 증류수에 녹이고 암모니아수 570 ml와 증류수를 가하여 1ℓ로 제조하였고, 이 용액은 폴리에틸렌 병에 저장하였다.

(바) 수산화나트륨액

NaOH 40 g을 증류수에 녹여 1 ℓ로 하여 제조하였고, 폴리에틸렌 병에 저장하였다.

(사) KCN용액은 KCN 10 g을 증류수에 녹여 100 ml로 하였다.

(아) Triethanolamine 액은 1 : 3의 비율로 증류수를 가해 희석하였다.

(자) 과산화수소수는 시판 30%용액(특급)을 1 : 2의 비율로 증류수로 희

석하였다.

(차) 지시약

① Erio Black T.

Erio Black T, 0.5 g과 염산 Hydroxyl amine ( $\text{NH}_2 \text{OH} \cdot \text{HCl}$ ) 4.5 g을 95% 알콜에 녹여 100 ml로 하여 착색병에 저장하였다.

② NN지시약(Dotite NN)

2-Hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naphthyl-aze)-3-naphthoic acid 0.2 g과 초산가리 20 g을 유발 중에 넣고 잘 혼합하여 광구병에 넣어 두고 사용하였다.

(카)  $\text{NH}_2\text{OH}/\text{HCl}$  용액

25%  $\text{NH}_2\text{OH}/\text{HCl}$  용액을 조제하였다.

(타) 10% KOH 용액

KOH 10% 용액을 조제 사용하였다.

(파) 2% 구연산

◎ 공시액 제조

유기질 비료 또는 유기물을 함유하는 비료로서 공시품 5~10 g을 백금 접시(또는 자제 증발접시)에 취한 후 전기로에서 적당한 낮은 온도로 태워 코니칼 비이커에 옮기고 염산 10 ml를 서서히 가하여 30분간 끓인 다음 냉각하고 물을 가하여 250 ml로 한 후 여과하였다.

석회 공시액의 일정량 (CaO로서 20 mg 이하)을 200 ml 삼각플라스크에 취한 다음 NaOH액으로 중화하고 KCN액 1 ml와 TEA액 1~2 ml를 가하여 뷰렛에서 표준 EDTA액을 소과량으로 일정량을 가한 다음 NaOH액 20 ml를 가하여 알칼리성으로 하여 마그네슘을 침전시키고 NN 지시약을 가한 후 질 진탕 혼합하여 과량의 EDTA.를 표준 탄산칼슘 용액으로 역적정하여 CaO의 양을 산출하였다. 0.01 M EDTA 용액 1 ml는 0.5608 mg의 CaO에 상

당한다. 적정의 종점은 NN 지시약을 사용하면 청색이 적색으로 변한 점을 종점으로 하였다.

#### (4) 마그네슘 (MgO, 고토)

마그네슘의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 EATA법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법으로서 조제하였다.

(가) 표준 아연액 : 석회의 EDTA법에 준하였다.

(나) 표준 EDTA액 : 석회의 EDTA법에 준하였다.

(다) 표준 마그네슘액 : 석회의 EDTA법에 준하였다.

(라) 수산암모늄액 : 석회의 수산 암모늄법에 준하였다.

(마) 완충액 : 석회의 EDTA법에 준하였다.

(바) KCN : 석회의 EDTA법에 준하였다.

(사) 지시약

① EBT : 석회의 EDTA법에 준하였다.

② 메칠레드 : 메칠레드 0.2 g을 90%알코올에 녹여 100 ml로 하였다.

#### ◎ 공시액 조제

(가) 고토 전량 : 석회의 EDTA법에 준하였다.

(나) 수용성고토

공시품 1 g을 500 ml의 삼각플라스크에 정확히 취하고, 물 약 400 ml를 가하고 환류냉각기를 붙여서 30분간 끓이고, 냉각 후 물을 가하여 정확히 500 ml로 하여 건조여지로 여과하였다.

(다) 가용성(0.5 M 염산가용성)고토 : 석회의 EDTA법에 준하였다.

(라) 구용성 고토

공시품 1 g을 250 ml 메스플라스크에 정확히 취하고, 30℃의 구연산

150 ml을 가하여 1분간 30~40회 회전하는 진탕기로 진탕할 때 공시품이 응고되거나 기타 침출에 장애가 발생이 없도록 유의하며, 1시간 진탕하고, 속히 실온으로 하여 눈금까지 물을 가하고 건조여지로 여과하였다.

공시액의 일정량을 250 ml의 메스플라스크에 정확히 취하고, 염화암모늄 약 1 g 및 물을 가하여 약 150 ml로 하고, 메칠레드를 지시약으로 묽은 암모니아수 및 묽은 염산으로 용액의 색이 옅은 도색 (pH 5 부근)이 되도록 중화하고, 가열하여 진탕하면서 수산암모늄액 약 20 ml를 가하였다. (이 때 옅은 도색이 변화하므로 묽은 염산 및 묽은 암모니아수로 다시 pH를 조절) 다음에 수욕상에서 1시간 가열한 후 실온까지 방냉하여(필요하면 다시 메칠레드를 가하여 pH를 조절한다.) 눈금까지 물을 가하고 건조 여지로 여과하였다.

이 여액 20~100 ml를 삼각플라스크에 정확히 취하고 50 ml미만 시는 물을 가하여 약 50 ml로 하고, 아스코르빈산 약 0.1 g, TEA(1+3) 10 ml, KCN 약 10 및 2-아미노 에탄올 완충액 약 20 ml를 가하고, 다시 지시약으로 EBT 몇 방울을 가하고, 표준 EDTA액으로 적정하여 Mg 또는 MgO의 양을 산출하였다.

$$0.01 \text{ M EDTA } 1 \text{ mg} = 0.4030 \text{ MgO}$$

#### (5) 망간(MnO)

망간의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 비스마스산 나트륨법 (sodium bismuthate method)을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

(가) 표준 과망간산 가리액 석회의 수산법에 준하였다.

(나) 표준황산철(II) 암모늄  $[\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$  0.1 M 용액을 조제하고 (황산철(II) 암모늄 39.3 g을 적량의 물로 녹이고, 황산(1+1) 100 ml

를 가해 1ℓ로 한다) 착색병에 저장하였다.

(다) 구연산액 인산의 퀴노린법에 준하였다.

◎ 공시액의 조제

(가) 망간전량

공시품 1~2.5 g을 비이커에 정확히 취하여 물로 적시고, 시계접시로 덮고 염산을 약 20 ml를 가하고 가열 분해한 후, 질산 약 5 ml를 가해 서서히 가열하여 완전히 분해하고 다시 황산(1+1) 10 ml를 가하여 증발시키고, 황산의 흰 연기가 발생하면 다시 약 10분간 가열하고 잠시 방냉 후 비이커의 내벽을 소량의 물로 세척하고 다시 증발시켜 황산의 흰 연기가 발생하면 약 10분간 가열을 계속하였다.

방냉 후 물 약 50 ml를 가해 가열하여 녹이고, 여과하여 더운물로 충분히 세척하고 여액은 250 ml의 메스플라스크에 받고, 이 불용해물에 또 망간이 함유할 시는 여지와 함께 백금도가니에 옮기고, 강열, 회화 후 불용해물의 약 6배량의 무수 탄산나트륨을 가해 혼합하여 용해하고, 냉각 후 온수를 사용하여 도가니에서 비커에 씻어 옮기고 질산 (1+1)을 가해 산성으로 하여 녹이고, 앞의 수용액에 합쳐 눈금까지 물을 가한 것을 이용하였다.

(나) 수용성망간 인산 분석시의 공시액 조제에 준하였다.

(다) 구용성망간 인산 분석시의 공시액 조제에 준하였다.

공시액의 일정량을 비커에 정확히 취하고, 물을 가해 약 100 ml로 하고, 이것에 질산 15 ml를 가한 후, 비스마스산나트륨을 소량을 첨가하고 교반하여 2분간 격렬하게 끓였다. 다음 30% 과산화수소 2방울을 넣어 착색 또는 침전이 없도록 하여 다시 끓였다.

냉각 후 망간량에 따라 비스마스산나트륨 1.5 g을 한번에 가하고 잘 교반하고 정치한 후 깔때기 모양의 유리여과기(1G4)를 사용하여 질산(1+30)으로 여과하고 세척하였다.

여액은 물 약 150 ml를 가하여 희석하고, 이것에 표준황산철(II) 암모늄액 25~50 ml를 정확히 가하고 과망간산의 적자색이 없어지면, 표준과망산가리액으로 적정한다. 동시에 동일량의 표준황산철(II) 암모늄에 대하여 공시험을 행하고, 양 적정수치의 차에 의해 망간 (MnO)의 양을 산출하였다.

0.1 M (1/5 과망간산가리액) 1 ml = 1.419 mg MnO

#### (6) 아연 (Zn)

아연의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 Dithizone법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

##### (가) 표준 아연 용액

표준시약 아연 (Zn), 염산 (1+3), 물, 아세톤으로 순차적으로 씻어내고, 즉시 황산데시케이터에서 24시간 이상 건조한 표준시약 1 g을 1 ℓ 메스플라스크에 취하고, 염산 10 ml를 가해 녹인 다음 방냉 후 눈금까지 물을 가해 표준 아연 원액을 조제하였다. (이 용액 1 ml는 Zn으로써 1 mg을 함유한다). 사용할 때 이 원액의 일정량을 물로 정확히 1,000배로 희석하여 사용하였다. (이 용액 1 ml는 Zn 용액으로서 1 μg을 함유한다.)

##### (나) Dithizone용액

Dithizone[CS(NH)<sub>2</sub>N<sub>2</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>] 50 mg을 소형분액 깔때기에 취하고 사염화탄소 약 100 ml를 가해 몇 분간 흔들어 건조여지로 여과하였다. 여액은 대형분액 깔때기에 받고 0.02 M 암모니아수 약 400 ml를 가해 몇 분간 격렬하게 흔든 후 정치하여 사염화탄소층을 제거하였다. 다음에 CCl<sub>4</sub> 약 20 ml를 가해, 잠시 격렬하게 진탕 후 정치하고, 다시 이 조작을 2회 반복한 후 물층에 사염화탄소 100 ml 및 1 M 염산 9 ml를 가해 몇 분간 격렬하게 흔든 후 정치하여 사염화탄소층을 분리하였다. 이것을 사염화탄소로 4배 희석하여 착

색병에 넣어 냉암소에 저장하여 이용하였다.

(다) 초산나트륨 완충액

초산나트륨( $\text{NaCH}_3\text{CO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 136 g 및 초산 57 ml를 물에 녹여 1ℓ로 하고 혼재한 불순물을 dithizone용액으로 추출하여 제거한 후 건조 여지로 여과하였다.

(라) 치오황산나트륨액

치오황산나트륨( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 25 g을 물에 녹여 100 ml로 하여 사용하였다.

(마) 과염소산 질산액

과염소산 200 ml를 질산 800 ml에 가하여 사용하였다.

◎ 공시액의 조제

공시품 2~5 g을 툴 비이커에 정확히 취하고 질산 약 30 ml를 가하고 시계접시를 덮고 서서히 가열 (기포의 발생이 격렬시는 방냉하여 하룻밤 방치하면 좋다.) 격렬한 반응이 끝나면 시계접시를 치우고 증발을 계속하여 시럽상태를 유지시켰다.

시계접시의 하부 및 비이커의 내벽을 소량의 물로 세척하고 이것에 과염소산, 질산액 50 ml를 가해 다시 가열하여 과염소산의 흰 연기가 발생되면 시계접시를 덮고 약 10분간 가열하여 방냉, 이때 유기물의 분해가 불완전한 경우에는 잠시 방냉한 후 질산소량을 추가하여 가열, 분해를 반복하였다.

그 다음, 온염산(1+5) 약 25 ml를 가해 이하에 따라 공시액을 만들었다. 공시액의 일정량을 소형분액 깔때기에 정확히 취하고 0.1 M 염산 4 ml와 물을 가해 20 ml로 한다. 다음에 Na-acetate 완충액 20 ml와 25% 치오황산나트륨 용액 5 ml를 가하여 혼합하고 다시 dithizone용액 10 ml를 정확히 가해 3~4분간 격렬히 흔들었다.

정지한 다음 사염화탄소층을 분리하고 이 액 5 ml를 25 ml 메스플라스

크에 취하고 눈금까지 사염화탄소를 채우고 약 2시간 정치하였다. 동시에 조작한 공시험 용액을 대조액으로 파장 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동시에 표준 아연액을 몇 단계로 정확히 취하여 공시험의 경우와 동일조건에서 조작하여 작성한 검량선에서 아연의 양을 구하였다.

### (7) 철(Fe)

철의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 Phenanthroline법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시험액의 조제는 아래의 방법으로서 조제하였다.

#### (가) 표준철액

철 (Fe) 0.1 g을 톨비이커에 취하고, 염산 20 ml 및 물 약 50 ml를 가하고 가열하여 녹인 후 냉각하여 물을 가해 정확히 1 l로 하고 표준철 원액으로 사용하였다. 이 액 1 ml는 Fe로서 0.1 mg (100  $\mu$ g)을 함유한다. 이 원액 2, 4, 6 ml를 100 ml의 메스플라스크에 각각 정확히 취하여 염산(1+1) 2 ml 및 물을 눈금까지 가하여 혼합하였다. (액 1 ml는 Fe로서 2, 4, 6  $\mu$ g을 각각 함유한다.)

#### (나) Phenanthroline액

O-Phenanthroline( $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$ ) 0.1 g을 약 80°C의 물 80 ml에 녹여 냉각 후 물을 가해서 100 ml로 하고 냉암소에 저장하였다.

#### (다) Dipyridyl액

a,a-Dipyridyl ( $C_{12}H_8N_2$ ) 0.1 g을 물로 녹여 100 ml하고 냉암소에 저장하였다.

#### (라) 삼혼산액

질산 500 ml를 과염소산 200 ml 및 황산 100 ml를 순차로 가하여 이용하였다.

#### (마) 초산나트륨( $NaCH_3CO_2 \cdot 3H_2O$ ) 138 g 및 초산 120 ml를 물에 녹여



1 ℓ로 하여 이용하였다.

(바) 염산 Hydroxylamine액

염산하이드록실 아민( $\text{NH}_2\text{OHHCl}$ ) 200 g을 물에 녹여 1 ℓ로 하였다.

◎ 공시액의 조제

공시품 1 g을 비커에 정확히 취하고 황산 5 ml 및 질산 약 30 ml를 가해 가열하고 황산의 흰 연기가 발생하면 시계접시를 덮고 약 10분간 가열하여 이용하였다.

방냉 후 물 약 50 ml를 가하고 가열하여 녹이고, 냉각 후 250 ml의 메스플라스크에 옮기고 물로 눈금까지 채운 후 건조 여지로 여과하였다.

공시액의 일정량 (Fe로서 5~200  $\mu\text{g}$ 이 좋다)을 50 ml의 메스플라스크에 정확히 취하고 염산 Hydroxylamine액 3 ml, 초산나트륨 완충액 4 ml를 가하였다. 다음에 O-phenanthroline액 4 ml를 가해 눈금까지 물을 가한 후 공시험액을 대조액으로 파장 500~520 nm에서 흡광도를 측정하고, 따로 표준 철액을 각각 10 ml를 정확히 취하여 공시액의 경우와 동일조건에서 조작하여 작성한 검량선으로부터 철(Fe)의 양을 구하였다.

나) 유기물

유기물의 함량은 상법에 제시되어진 회화법에 준하여 그 함량을 구하였다. 즉, 해조-토양 클러스터를 유봉과 유발을 이용하여 마쇄한 후 5 g을 취하여 미리 함량이 구해진 도가니에 담아 회화로 300℃에서 1시간 예비 탄화시킨 후 600℃에서 12시간 회화한 후 30분간 방냉한 후 함량을 구하였고, 각각의 고형비료 중량에서 회분량을 제한 양을 유기물로 정하였다.

## 다) 유해성분

### (1) 카드뮴(Cd)

카드뮴의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 원자흡광분광법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

#### (가) 표준카드뮴액

카드뮴 (Cd) 1 g을 툴 비이커에 정확히 취하고 질산 10 ml 및 증류수 약 50 ml를 가해 가열하여 녹이고 냉각하여 증류수로 정확히 1 l로 하고 표준 Cd원액으로 이용하였다. (이 액 1 ml는 Cd로써 1 mg을 함유한다.) 사용할 때 이 원액을 0.5 M 염산으로 정확히 100배 희석하여 이용하였다.

#### (나) 칼슘액

CaCO<sub>3</sub> 2.497 g을 1 l의 메스플라스크에 취하고 물로 적신 후 염산 (1+1) 96 ml를 서서히 가해 녹이고 다시 물을 눈금까지 가하였다. (이 액은 염산으로 0.5 M이며, 1 ml 중 Ca으로 1 mg을 함유한다.)

#### (다) 과염소산-질산액

과염소산 200 ml를 질산 800 ml에 가하였다.

### ◎ 공시액의 조제

유기물을 함유하는 비료로서 아연의 원자흡광법, 공시액의 조제에 준하였다. 공시액 전부 또는 일부를 0.5 M 염산으로 정확히 일정배로 희석한 액을 원자흡광분석기로 파장 228.8 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동시에 표준 카드뮴액을 몇 단계로 메스플라스크에 정확히 취하고, 측정한 공시액 중의 Ca농도와 채운 후 거의 동일하도록 Ca액을 각각 첨가하여 눈금까지 0.5 M 염산을 가한 액에 대하여 공시액의 경우와 동일 조건에서 측정하여 Cd의 양을 구하였다.

## (2) 크롬 (Cr)

크롬의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 원자흡광분광법 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

(가) 표준크롬액 : 디페닐카바지드법에서와 같이 조제한 크롬원액을 사용할 때 몇 단계로 증류수로 희석하였다.

(나) 이황산칼륨액 : 특급 이황산칼륨( $K_2S_2O_7$ ) 100 g을 물로 용해하여 1 l 하였다.

공시액의 조제는 유기물을 함유한 비료로서 아연의 원자흡광분광법에서의 유기물을 함유한 비료와 같이 공시액을 조제하였다. 공시액의 일정량 (Cr으로서 10~1,500  $\mu\text{g}$ 가 좋다.)을 100 ml의 메스플라스크에 정확히 취해 5 M 염산을 가하여 희석후의 농도가 0.5~1 M의 사이가 되게 일정하게 하였다. 이황산칼륨액 10 ml를 가하여 눈금까지 물을 가하였다. 이 액을 원자흡광 분석장치에서 357.9 nm의 흡광도를 측정하였다. 동시에 표준 크롬액의 일정량을 몇 단계로 100 ml 메스플라스크에 정확히 취해 공시액과 같은 방법으로 조작하여 작성한 검량선으로부터 크롬 (Cr)의 양을 구하였다.

## (3) 니켈 (Ni)

니켈의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 원자흡광분광법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

(가) 표준니켈액 : 디메틸그리옥심법에 준해 조제한 표준니켈원액의 일정량을 사용할 때는 물로 정확히 500배 희석하였다 (이 액 1ml는 Ni로서 2  $\mu\text{g}$ 을 함유한다.)

(나) 디에칠디티오카바민산나트륨액 : 디에칠디티오카바민산나트륨  $[(\text{Na}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCS}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O})]$  1 g을 물에 녹여 100 ml로 하였다.

(다) 구연산2암모늄액 : 구연산2암모늄 $[(\text{NH}_4)_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7]$  200 g을 물에 녹여 1ℓ로 하였다.

(라) 간섭억제제액 : 칼슘의 원자흡광분광법에 준하였다

공시액의 조제는 아연의 원자흡광분광법에 의한 공시액의 조제에 준하였다. 공시액의 일정량 (Ni로서 50~500  $\mu\text{g}$ 이 좋다)을 50 ml메스플라스크에 정확히 취해 간섭억제제액 5 ml 및 5 M 염산 5 ml를 가하여 눈금까지 물을 가하고, 원자흡광분광분석기로 파장 232 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동시에 표준니켈액 일정량씩을 취하고 같은 조작을 하여 흡광도를 측정하고 작성한 검량선으로부터 니켈(Ni)의 양을 구하였다.

#### (4) 납 (Pb)

납 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 원자흡광분광법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

(가) 표준납용액

특급납(Pb) 1g을 톨비이커에 정확히 달아 질산 10 ml와 물 약 30 ml를 넣고 가열하여 녹였다. 냉각 후 물을 채워 정확히 1 L로 하고 표준납용액을 조제하였다. (이 용액 1 ml는 Pb로서 1 mg을 함유한다.)

사용직전에 이 용액 일정량을 물로 정확히 1000배로 희석 사용하였다. (이 용액 1 ml는 Pb로서 1  $\mu\text{g}$ 을 함유한다.)

(나) 요오드칼륨액 : 요오드칼륨(KI) 60 g을 물에 녹여 100 ml로 하였다. 공시액의 조제는 아연의 공시액 조제에 준하였다.

공시액의 일정량 (Pb로서 1~30  $\mu\text{g}$ , 액량 30 ml이하)을 분액깔때기에 정확히 넣고 특급인산 8 ml와 60% KI용액 2 ml를 넣고 물을 가해 40 ml로 한 후 메칠이소부틸케톤(methyl isobutylketone) 10 ml 정확히 넣어 약 1분간 격렬하게 흔든 후 잠시 정치시켰다. 직사광선을 피하여 methyl isobutylketone

층을 즉시 원자흡광분광광도계로 파장 283.3 nm에서 흡광도를 측정하였다.

동시에 표준납용액을 몇 단계로 정확히 뽑아 공시액과 같은 조건으로 조작하여 검량선으로부터 납 (Pb)의 양을 구하고, 필요에 따라 전 조작의 공시험을 실시하고 결과를 보정하였다.

#### (5) 티탄 (Ti)

납 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 과산화수소법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법으로 준하여 조제하였다.

(가) 표준티탄액 : 금속티탄(순도 99.6%이상) 0.1 g을 비이커에 정확히 취해 시계접시를 덮고 황산(1 : 1) 50 ml 및 염산(1 : 1) 10 ml를 가하여 가열 분해하고, 시계접시를 제거하고 질산 1 ml를 가하여 끓어오르지 않도록 가열하여 황산의 흰 연기가 발생하면 그쳤다. 방냉 후 황산 (1 : 9)으로 500 ml 메스플라스크에 옮긴 후 눈금까지 황산 (1 : 9)을 가하였다.

#### (나) 티오황산나트륨액

티오황산나트륨( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 25 g을 물에 녹여 100 ml로 하였다.

공시액 조제는 티오황산법의 공시액 조제에 준하였다.

공시액을 500 ml 비이커에 옮기고 물을 가하여 약 300 ml로 하고 암모니아수(1 : 1)를 가하여 백색양금이 생길 때까지 중화하고 다시 염산 (1 : 1) 5 ml를 가하고 티탄량에 상당하는 티오황산나트륨액을 40~80 ml를 가하였다. 이 용액을 10분간 끓인 후 여과 뭍은 초산(1 : 50)으로 침전을 씻어 내렸다. 건조 후 여지와 함께 자제도가니에 담아 회화 강열하였다.

다량의 규소를 함유할 경우에는 백금접시에 옮겨 황산 (1 : 1) 몇 방울 및 46% 불화수소산 5 ml를 가하여 규소를 제거시킨 후 사전에 3 g의 이황산 칼륨( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_7$ )을 녹인 다른 백금 접시에 옮겨 서서히 가열하여 용해하였다.

냉각한 다음 황산 (1 : 9)으로 용해하여 실온에서 방냉 후 100 ml 메스

플라스크에 옮기고 3% 과산화수소 10 ml 및 인산 5 ml를 가하여 발색시키고 눈금까지 황산 (1+9)을 가하여 약 30분간 방치 후 파장 400~420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

별도로 표준 티탄액을 몇 단계 정확히 취해 공시액의 경우와 같은 조건으로 조작하여 작성한 검량선으로 부터 티탄(Ti)의 양을 구하였다.

#### (6) 비소 (As)

비소 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 디에칠디티오카바민산은법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법으로서 조제하였다.

(가) 표준비소액 : 브롬화 제2수은지법에 준하였다.

(나) 디에칠디티오카바민산은액은

디에칠디티오카바민산은[Ag(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>NCS<sub>2</sub>] 0.5 g을 100 ml 피리딘(pyridine)에 녹여 냉암소에 저장한다. 또는 디에칠디티오카바민산은 0.5 g와 브루신 (C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O) 0.1 g을 클로로포름 200 ml에 녹여 (하룻밤 놓아두는 것이 좋다) 냉암소에 저장하였다.

(다) 염화 제1주석액

염화 제1주석 (SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O) 15 g을 염산 (1+1) 100 ml에 녹인 후 소량의 입상 주석을 가하여 착색병에 저장하였다.

(라) 옥화가리액

옥화가리 (KI) 200 g을 물에 녹여 1 l로 하였다.

(마) 식초산연유리슘 : 브롬화 제2수은지법에 준하였다.

(바) 페놀프탈레인 : 시안아미드태 질소 분석시의 시약조제에 준하였다.

#### ◎ 공시액 조제

공시품 1~5 g을 비이커 (자재가 좋다)에 정확히 취해 증류수로 축이고 황산 2 ml, 질산 5 ml 및 과염소산 20 ml를 가하여 가열하고 과염소산의

흰 연기가 발생하면 건고에 가깝도록 농축하였다. 방냉 후 물을 가하여 녹이고 방냉 후 100~200 ml의 메스플라스크에 옮겨 눈금까지 물을 가하여 건조여지로 여과하였다.

공시액의 일정량 (As로써 1~20  $\mu\text{g}$ 이 적당하고 액량은 40 ml이하)을 80 ml의 수소화비소 발생병에 정확히 취해 물을 가해 약 40 ml되게 하고 염산 10 ml, 20% 옥화가리액 2 ml를 가해 잘 혼합하고 몇 분간 방치하였다. 다음 염화 제1주석액 1 ml (철이 다량 함유할 때는 아스코르빈산 1 g 및 염화 제1주석액 2 ml를 가한다)를 가하여 잘 혼합하여 약 10분간 방치하였다. 이것에 비소가 없는 아연 (직경 1~1.5 mm) 2.5 g을 가하여 발생하는 가스를 식초산연유리솜이 충전된 유리관과 디에칠디티오카바민산은액 5 ml를 정확히 취한 흡수관에 통과하도록 하였다.

발생병과 유리관은 가스가 새지 않도록 잘 연결하고 25°C 전후에서 약 45분간 작용시켰다. 그리고 공시액과 동시에 조제된 공시험 용액을 대조로 사용하여 파장 510 nm에서 흡수관안에 발색된 공시액의 흡광도를 측정하였다. 공시액 경우와 같은 조건하에서 동시에 발색시킨 몇 단계 희석 표준비소 용액으로 작성한 검량선에서 비소의 양을 산출하였다.

## (7) 수은 (Hg)

수은의 정량분석 실험방법은 상법에 제시되어진 가열기화법을 이용하여 실험을 행하였으며, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

### (가) 표준 수은액

환원기화법에 준하여 조제한 표준 수은원액의 일정량을 정확히 취하고, 시스테인 (cysteine)액을 가하여 500배로 희석하여 1 ml중에 수은으로써 1  $\mu\text{g}$ 을 함유하는 표준액을 조제하였다.

(나) 시스테인액 : Cysteine [ $\text{HS} \cdot \text{C}_2\text{H}_3 \cdot (\text{NH}_2) \cdot \text{COOH}$ ] 10 mg에 물과

질산 2 ml를 가해 녹여 1 l로 하였다.

(다) 가열보조제 : Combustion auxiliaries

① 수산화칼슘 [ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ] 과 탄산나트륨( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )의 등량혼합물

② 활성화알루미나 (activated alumina)

①, ②는 사용할 때 800℃로 약1시간 가열하여 방냉하였다.

공시품 용기를 우선 약 800℃로 약 1시간 가열하여 살레(Pertri dish)내에서 방냉하였다. 이 용기에 가열보조제인 수산화칼슘과 탄산나트륨혼합물 약 3 g의 일부를 깔고, 그 위에 미분쇄한 공시품의 일정량 (10~200 mg으로 하고 Hg로써 0.1~ 1000 ng이 좋다.)을 정확히 취하여 넣고, 그 위에 소량의 활성화알루미나를 얇게 덮고, 다시 남은  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 와  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 의 혼합물로 덮었다. 이 공시품 용기를 수은 분석장치의 가열로에 넣고 파장 253.7 nm에서 수은의 흡광도를 측정하였다. 따로 표준 수은액을 몇 단계의 농도로 정확히 희석하고, 이들의 일정량을 마이크로피펫으로 정확히 공시품 용기에 취하고 (가열보조제는 가하지 않는다.) 똑같이 조작하여 작성한 검량선에서, 공시품 중의 수은의 양을 구하였다. 필요에 따라 가열보조제에 대하여 공시험을 하여 결과를 보정하였다.

## 라) 기타성분

### (1) 수분

상법에 제시되어진 가열감량법을 행하여 수분 함량을 측정하였다.

### (2) 염분

고형비료의 염분 측정실험은 상법에 제시되어진 질산은 ( $\text{AgNO}_3$ )법에 준하여 실험을 행하였다. 각각의 시료를 5 g정도씩 전자저울을 이용하여 측정 취하였고, 시료에 증류수 20 ml를 첨가한 후 거름종이를 이용하여 100 ml mess flask에 정용하였다. 그 후 조제한 시료 용액의 10 ml를 피펫을 이용하



여 삼각 flask에 정확히 취한 후 10% 크롬산칼륨 ( $K_2CrO_4$ ) 지시약을 4방울 떨어뜨린 후 0.05 N 질산은 표준용액을 이용하여 적정하였다.

---

#### 0.05 N $AgNO_3$ 용액의 표정

---

질산은 특급 고체시약 (Junsei, Japan)을 8.760 g을 증류수를 이용하여 mess flask 1 L에 mess up시킨 후 갈색공병에 보관하였다.

10% 크롬산칼륨 지시약의 조제는 크롬산칼륨 5 g을 증류수에 녹여 mess flask를 이용하여 100 ml로 하여 만들었다.

염화나트륨 특급고체시약(Junsei, Japan)을 약 0.121 g을 칭취하여 증류수 20 ml에 용해시키고, 10% 크롬산칼륨 지시약을 4방울 떨어뜨린 후 0.05 N 질산은 용액을 뷰렛을 이용하여 적갈색 침전이 생성되어 15초간 흔들어도 퇴색하지 않는 점을 종말점으로 하여 적정하였다.

$$\frac{0.121 \times 1000}{0.05 \times 58.44 \times 41.75} = 0.991856$$

소수점 6번째 자리에서 반올림하여 표준용액의 역가(F)를 0.99186로 구하였다.

---

### (3) 총질소

고형비료의 총질소 측정실험은 상법에 제시되어진 황산법에 준하여 실험을 행하였고, 시약의 조제와 공시액의 조제는 아래의 방법에 준하여 조제하였다.

#### ① 표준수산화나트륨액

수산화나트륨 0.1 N 용액을 조제한다. 특급 수산화나트륨 39.997 g을 10 l에 녹인다. 표준시약 설파민산 ( $HOSO_2NH_2$ , 감압 15 mmHg 이하 황산데 시케이터 중에서 48시간 건조한 것) 4.8549 g을 물에 녹여 500 ml로 하였다. 이 액은 01. N 용액임. 이 액 25 ml를 200 ml 삼각플라스크에 취하여 물 100 ml로 희석시켜 지시약 브롬치몰부루 몇 방울을 가하여 수산화나트륨액으로 적정하여 농도를 정하고 1 ml에 상당하는 질소의 양을 산출하였다.

② 표준 황산액

특급 황산으로 0.1 N 용액을 조제하고 0.1 N 수산화나트륨액으로 이의 농도를 결정하였다.

③ 황산염혼합 분말

황산가리 450 g과 황산동 50 g을 분쇄하여 40 mesh 체를 통과시키고 혼합하였다.

④ 황산액은 황산과 물을 1 : 1의 비율로 조제하였다.

⑤ 포화 수산화나트륨액

수산화나트륨 포화용액을 조제하였다.

⑥ 메칠레드는 메칠레드 0.2 g을 90% 알콜에 녹여 100 ml로 하였다.

⑦ 황산가리액

황산가리 40 g을 물에 녹여 1ℓ로 하고 필요하면 여과하였다. 시약에 대해서 특히 필요가 있을 때는 공시험을 시행하였다.

⑧ 붕산액

붕산 20 g을 혼합 지시약 5 ml가 들어 있는 물 1ℓ에 녹이고 묽은 황산 또는 묽은 염산이나 묽은 수산화나트륨 용액으로 pH 4.5가 되도록 조절하였다.

⑨ 혼합지시약

Brom cresol green 0.5 g과 methyl red 0.1 g을 95% 알콜 100 ml에 녹였다.

◎ 공시액의 조제

공시품 일정량을 분해 플라스크에 취하고 황산염 혼합분말 5 g을 가한 다음 황산 20 ml를 가하여 잘 흔든 다음 분해대에 이동하여 최초에는 서서히 가열하고 포말이 생기지 않으면 강열하여 완전히 분해되면 방냉한 다음 500 ml용 메스플라스크에 옮겨 눈금까지 물을 채웠다.

공시액의 전량 또는 일정량을 증류 플라스크에 취하고 200~300 ml의 물을 가하고 알칼리성이 되도록 충분한 량의 포화수산화나트륨액 또는 황색

산화 제2수은을 분해 촉진제로 넣었을 때는 수은을 침전시키는데 충분한 황화加里액 (황색산화 제2수은 0.7 g에 대해서는 25 ml로 충분함)과 소량의 입상 아연을 가하고 표준황산액을 넣은 수기를 증류장치에 연결 후 가열하여 증류플라스크의 내용액이 2/3정도 유출될 때까지 증류하고 유도관의 침단을 물로 씻어서 유출액에 지시약 메틸레드를 1~2 방울을 가하고 표준수산화나트륨액으로 적정하든가 또는 붕산액 일정량을 넣은 수기를 증류 장치에 연결하여 증류한 유출액을 표준황산액으로 적정하여 질소의 양을 산출하였다.

표준수산화나트륨액 1 ml는 0.001401 g의 질소 (N)에 상당한다. 수증기 증류를 할 경우에는 공시액의 일정량을 200~250 ml의 증류플라스크에 취하고 수산화나트륨액 혹은 황화加里액을 첨가하고 5분간에 약 30 ml 유출하는 정도의 수증기로 약 15분간 증류하였다. 증류플라스크의 액량이 130 ml이상이 될 때는 증류플라스크를 가열하여 질소의 유출을 완전히 하는 것이 필요하다.

## 2) 물리적 특성 시험

### 가) 붕해 시험

붕해시험법은 정제, 환제, 캡셀제, 과립제, 설탕 또는 다른 적당한 제피제로 제피를 한 정제, 장용성 제제 등 고형제제의 시험액에 대한 저항성을 시험하는 방법으로 식품의약품안전청고시 제2006-15호(식품공전)에서 정한 시험장치를 사용하였으며, 지시코사(J-MA, KOREA)에서 제작된 붕해측정기로 시험하였다. 시험조건은 아래의 표 1과 같다. 제1시험액으로 하여 외관이 부서지거나 흡이 없는 검체 6개를 취하여 유리판에 각 1개씩의 시료를 넣고, 보조판으로 덮은 다음 60분간 상하운동을 시킨 다음 검체의 잔류물이 유리판 내에 없는 시간을 측정하였으며, 검체의 잔류물이 남아있을 때에는 계속하여

제2시험액으로 60분간 상하운동을 시킨 다음 상기와 같은 방법으로 잔류물의 유무를 관찰하였다.

한편, 해조-토양 클러스터의 물에 대한 플립성을 병행, 총 3회 반복하여 실험 조사하였다. 즉, 실온에서 증류수에 각각의 분말 비료가 어느 정도의 플립성이 있는 지, 0일째, 1일째, 3일째, 5일째로 나누어 육안으로 관찰 시험하였다.

**[표 1] 봉해측정을 위한 시험조건**

| 시 험 조 건   |  |
|-----------|--|
| 시험기의 운동조건 | 분당 30회 왕복운동, 진폭 55 mm  |
| 시험온도      | 35±0.5℃  |
| 시험액       | 제1액 : 염화나트륨 2.0 g + 묽은염산 24.0 ml/증류수 1 L, pH 1.2 부근<br>제2액 : 0.2 N-인산이수소칼슘액 250 ml+ 0.2 N-수산화나트륨 118 ml/증류수 1 L, pH 6.8 부근 |

**나) 점도 측정**

미역 및 다시마 extract 농축액의 점도는 점도시험법 (KSA 0531:2006)에 따라 Brookfield engineering사 (LVDV-II+, USA)에서 제작된 Brookfield viscometer로써 측정하였으며, 점도계의 사양은 Table 20과 같다.

**Table 20. Viscometer specifications**

| Model                            | Viscosity Range(mPA.s) |           | Speeds    |                      | Accuracy<br>± 1.0 %<br>of range | Repeatability<br>± 0.2 % |
|----------------------------------|------------------------|-----------|-----------|----------------------|---------------------------------|--------------------------|
|                                  | Min                    | Max       | RPM       | Number of Increments |                                 |                          |
| Brookfield Viscometer (LVDV-II+) | 1.0                    | 2,000,000 | 0.3 ~ 200 | 18                   |                                 |                          |

## 라. 산업적 응용 시험

### 1) 해조류 extract의 활성 검정

#### 가) 시험 종자

본 실험에 사용된 공시품종은 서울종묘(주)의 적치마 상추종자를 사용하였다.

#### 나) 발아율 시험

시험에 사용된 해조류 extract는 저장 안정성을 부여하기 위하여 유기산을 첨가, pH 3 부근의 산성영역으로 조정된 것으로서 이때 사용된 pH 조정제에 따라 A(Phosphoric acid), B(Acetic acid), C(Benzoic acid + Citric acid), D(Sorbic acid + Citric acid) 및 대조구로 실험군을 나누었다. 각각의 시료별로 원액과 물을 희석하여 1% NaOH 용액으로 pH 7로 조정하였다. 희석배율은 각각 100배, 300배, 500배, 750배, 1,000배로 구분하여 시험에 사용되었다. 종자발아에 적합한 온도조건을 위하여 25℃ 배양실을 이용하였다.

해조류 extract 시료가 식물의 발아와 생장에 영향을 미치는지를 알아보기 위해 각 농도별로 희석액을 조제하여 직경 약 9 cm Petri-dish에 흡습지를 깔고 각 배수별로 희석된 용액을 약 4 ml씩 투입하여 충분히 적신 후 적치마 상추 종자 10립씩 치상하여 정상상태의 22℃ 배양실내에서 실시하였다. 각 시료별로 4가지 배율로 희석된 용액을 사용하였으며 대조구를 포함하여 총 5개 시험구 3반복으로 실험을 수행하였다. 적치마상추 종자 치상 후 1일에서 3일까지는 6시간 간격으로, 4일에서 6일까지는 12시간 간격으로, 7일부터는 1일 간격으로 전체 15일 동안 발아여부를 조사하였는데 종자로부터 1 mm 이상 나온 것을 발아한 것으로 간주하였다. 상추종자는 약 2일 후부터 발아가 되기 시작하여 5일 후에는 완전히 발아되었다.

이 때 발아율은 다음의 식과 같이 측정되었다.

$$\text{발아율 (\%)} = \frac{\text{발아된종자의수}}{\text{투입한종자의수}} \times 100 \text{ ----- 식 (1)}$$

#### 다) 생육 시험

해조류 extract는 희석배율에 따라 대조구, 250배, 500배, 1000배로 희석하여 발아율 및 길이생장을 측정하였다. 발아율 및 적치마 상추의 생육시험은 농업용 비료학적 특성 분석 시험과 모두 동일한 조건에서 수행하였다.

해조류 extract가 식물 생장에 미치는 영향을 시험하기 위하여 상추종자를 원예용 상토(토실이)를 원예용 포트(φ 5 cm)에 물과 혼합하여 함수율 70%로 조절한 다음 상추 종자를 파종하였으며, 각 조건당 시료를 100배, 300배, 500배, 1,000배 희석하여 2일에 1회 3.5 mL 씩 시비하여 생장을 조사하였으며 종자의 생장은 종자 발아 후 18일 경과 후에 조사하고 각 3반복의 평균값으로 나타내었다. 발아율은 치상 후 23℃에서 명상태로 15일간 조사하였으며 발아는 유근이 2~3 mm 출현된 것을 발아한 것으로 보고 발아율을 산출하였다. 발아율 산출 공식은 위의 식(1)과 동일하다.

#### 2) 해조-토양 클러스터의 효능 시험

해조-토양 클러스터의 비료학적 효능시험은 적치마 상추 (*Lactuca sativa* Linn., lettuce) 종자 [서울종묘(주)]를 사용하여 아래와 같이 시험하였다.

#### 가) 발아율 시험

해조류를 혼합하지 않은 황토 단독으로 만든 클러스터, 미역 클러스터, 다시마 클러스터, 대조구는 기비가 전혀 되지 않은 흙을 선정하여 각각의 시료를 60 mesh로 분쇄하였다. 분쇄된 시료는 각각 A (대조구), B(해조류 무

첨가 클러스터), C(미역 클러스터), D(다시마 클러스터)로 구분하여 종자발아에 적합한 온도조건을 위하여 22℃ 배양실에서 실험을 수행하였다.

제공된 시료가 식물의 발아와 생장에 영향을 미치는지를 알아보기 위해 흡습지를 깔고 각 시료 20 g씩을 직경 약 9 cm Petri-dish에 넣고 물을 약 5 ml씩 투입하였다. 각각의 Petri-dish에 적치마 상추 종자 10립씩 치상하여 명상태의 22℃ 배양실내에서 실시하였다. 각 시료와 대조구를 포함하여 총 4개 시험구 3반복으로 실험을 수행하였다. 적치마상추 종자 치상 후 1일에서 3일까지는 6시간 간격으로, 4일에서 6일까지는 12시간 간격으로, 7일부터는 1일 간격으로 전체 15일 동안 발아여부를 조사하였는데 종자로부터 1 mm 이상 나온 것을 발아한 것으로 간주하였다. 적치마 상추종자는 약 2일 후부터 발아가 되기 시작하여 5일 후에는 완전히 발아되었다. 이때 발아율은 위의 식(1)과 같이 측정되었다. 발아율은 치상 후 23℃에서 명상태로 15일간 조사하였으며 발아는 유근이 2~3 mm 출현된 것을 발아한 것으로 보고 발아율을 산출하였다.

## 나) 생육 시험

제조된 비료는 각각의 함유조건에 따라 발아율 및 길이생장을 측정하였다. 발아율 및 적치마 상추의 생육시험은 해조 extract의 농업용 비료학적 특성 분석 시험과 모두 동일한 조건에서 수행하였다. 제조된 비료는 각각의 함유조건에 따라 발아율 및 길이생장을 측정하였다. 발아율 및 적치마 상추의 생육시험은 앞서 수행한 해조 extract의 농업용 비료학적 특성 분석 시험과 모두 동일한 조건에서 수행하였다. 각 조건별 시료가 식물 생장에 미치는 영향을 시험하기 위하여 상추종자를 시료와 물을 원예용 포트 (φ 5 cm)에 혼합하여 함수율 70%로 조절한 다음 상추 종자를 파종하였으며 2일에 1회 7.5 ml 씩 물을 관주하여 생장을 조사하였고 종자의 생장은 종자 발아 후 18일 경과 후에 조사하고 각 3회 측정한 평균값으로 나타내었다.

### 3. 연구결과

#### 가. 시제품의 제조

##### 1) 해조 extract

해조 extract 농축액은 비료공정규격에 의한 제 4종 복합비료 형태로 제조하였다. 즉, 질소전량, 수용성인산, 수용성가리 중 2종이상의 합계량이 10%이상이고 각 성분별 보증 성분의 함량은 1.0% 이상으로 하기 위하여 질소성분 7%, 수용성인산 2%, 수용성가리 5%로 하였으며 수용성 폴리브덴 0.0005%와 수용성 붕소 0.05%로 그 성분을 보증하였으며, 원예용 포트를 이용한 적치마 상추의 발아 및 생장 시험을 통해 가장 그 산업적 가능성을 시험하였다

##### 2) 해조-토양 클러스터

해조류에서 유래되는 유기질이 작물 초기 생육에 효과가 있을 뿐 아니라, 유기질 토양개토제로서의 시장 접근성이 다른 소재에 비해 용이하게 접목될 수 있다고 생각되어 해조-토양 클러스터의 유효성분이 토양에 이행되는 시간을 단축시켜 시험, 조사할 목적으로 앞의 제 2절의 방법과 동일하게 제조된 해조-토양 클러스터를 분쇄하여 작물성장에 미치는 효과를 조사하기 위한 시료로 사용하였다.

#### 나. 제품의 품질 안정성

##### 1) 가시적인 상태변화

미역 및 다시마 extract의 농축액은 상온 저장 6일차부터 중간의 층에 하얀색~초록색의 부유물이 발견되었으며, 좋지 않은 냄새가 나기 시작하였으



며 7일차에서는 다시마 extract에 phosphoric acid를 첨가한 액상비료에 하얀색의 곰팡이가 발견되었으며, 8일차에서는 미역 extract에 phosphoric acid를 첨가한 농축액에서 역시 하얀색의 곰팡이가 발견되어졌으며, 시간이 지날수록 점점 더 곰팡이의 성장이 왕성해 짐을 육안으로도 확인할 수 있었다. 그러나 acetic acid 와 sorbic acid와 같은 다른 보존료를 첨가한 해조류 extract에서는 별다른 변화가 없었다 (Fig. 47). 본 실험의 결과로 보아 acetic acid 또는 sorbic acid와 같은 보존료를 첨가하여 pH 3부근으로 조정된 extract의 경우는 보존성이 우수하여 상온 저장 30일째까지 품질이 안정됨을 알 수 있었다. 한편, 미역 및 다시마 extract를 acetic acid 및 sorbic acid로 pH 3 부근으로 조정된 후 -10℃ 부근의 냉장 저장하였을 경우는 예비실험을 통하여 12개월 정도까지도 품질 안정성이 있는 것으로 확인되었으며, 해조 분말 제품 및 해조-토양 클러스터 제품의 경우에도 상온 저장 시에 품질이 안정하여 본 실험에서는 제외시켰다.

## 2) 일반세균

실온 저장 중 보존료를 첨가하여 pH 3 부근으로 조정된 해조 extract 농축액의 일반세균수는 Table 21에 나타내었는데, 일반세균의 증식 및 성장을 억제하는데 효과가 있었다. 즉, 보존료를 첨가한 해조 extract 농축액은 저장 일수가 경과하더라도 일반세균의 증식이 없었으며, 보존료를 첨가하지 않은 미역과 다시마 extract 농축액의 일반세균수는 저장 10일째에 각각  $6.4 \times 10^4$  과  $4.45 \times 10^4$  CFU/g의 수준이었으며, 저장 일수에 따라 해조 extract의 균수는 점차적으로 증가하여 60일째는 모두 TNTC 수준이었다. 이러한 결과로 보아 acetic acid, phosphoric acid, sorbic acid 등의 보존료를 첨가하여 pH 3 부근으로 조절하여 해조 extract 농축액을 저장한 경우는 저장 60일째까지는 일반세균의 증식 및 성장을 억제하는데 충분한 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

### 3) 곰팡이

실온에서 저장한 경우, 보존료를 첨가한 해조류 extract 농축액의 곰팡이의 증식은 Table 22과 같다. 보존료를 첨가하지 않은 미역과 다시마 extract 농축액에서도 저장 40일째, 각각  $0.5 \times 10^3$  CFU/g 및  $0.63 \times 10^3$  CFU/g의 곰팡이가 측정되었다. 보존료로서 phosphoric acid를 첨가한 경우 미역 및 다시마 extract 농축액은 모두 저장 40일째부터 곰팡이가 발견되었고, 미역의 경우는  $1.7 \times 10^4$  CFU/g, 다시마의 경우는  $2.5 \times 10^4$  CFU/g의 균수가 측정되었다. 이러한 결과로 미루어 보아 해조 extract 농축액에 acetic acid와 sorbic acid를 첨가하는 경우에는 저장 60일째까지도 사용이 가능하다고 생각되며, phosphoric acid를 첨가할 경우 저장 40일 이상은 사용하는데 문제점이 있을 것으로 예상된다.

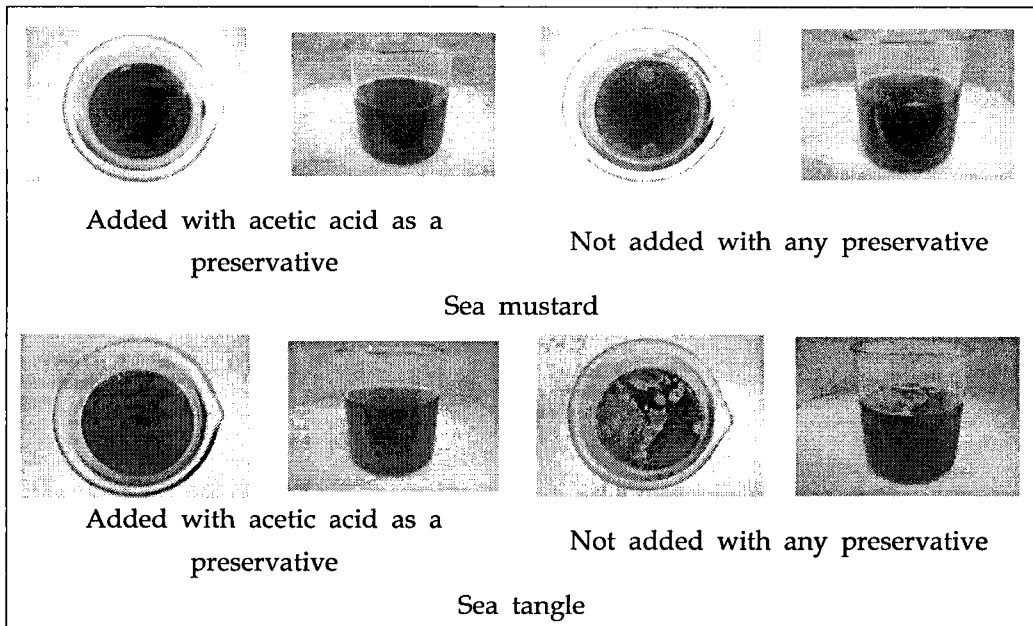


Fig. 47. Features of mold in the seaweed extracts during storage at room temperature.

**Table 21. Viable cell in the seaweed extracts during storage at room temperature**

**(Unit : CFU/g)**

| Samples             | Storage day |                    |                    |                    |                   |                      |          |
|---------------------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|----------------------|----------|
|                     | 0           | 10                 | 20                 | 30                 | 40                | 50                   | 60       |
| Control             | 0           | $6.4 \times 10^4$  | $8.00 \times 10^6$ | $2.18 \times 10^8$ | $1.8 \times 10^9$ | $2.7 \times 10^{10}$ | TNTC *** |
| SM*<br>Acetic acid  | 0           | 0                  | 0                  | 0                  | 0                 | 0                    | 0        |
| Phosphoric acid     | 0           | 0                  | 0                  | 0                  | 0                 | 0                    | 0        |
| Sorbic acid         | 0           | 0                  | 0                  | 0                  | 0                 | 0                    | 0        |
| Control             | 0           | $4.45 \times 10^4$ | $9.00 \times 10^6$ | $2.30 \times 10^8$ | $4.5 \times 10^9$ | $9.08 \times 10^9$   | TNTC     |
| ST**<br>Acetic acid | 0           | 0                  | 0                  | 0                  | 0                 | 0                    | 0        |
| Phosphoric acid     | 0           | 0                  | 0                  | 0                  | 0                 | 0                    | 0        |
| Sorbic acid         | 0           | 0                  | 0                  | 0                  | 0                 | 0                    | 0        |

\* SM : Sea mustard, ST\*\* : Sea tangle, \*\*\* TNTC : Too number to count

**Table 22. Mold in the seaweed extracts during storage at room temperature**

(Unit : CFU/g)

| Samples             | Storage day |    |    |    |                    |                    |                    |  |
|---------------------|-------------|----|----|----|--------------------|--------------------|--------------------|--|
|                     | 0           | 10 | 20 | 30 | 40                 | 50                 | 60                 |  |
| Control             | 0           | 0  | 0  | 0  | $0.5 \times 10^3$  | $3.75 \times 10^4$ | $5.28 \times 10^6$ |  |
| SM*<br>Acetic acid  | 0           | 0  | 0  | 0  | 0                  | 0                  | 0                  |  |
| Phosphoric acid     | 0           | 0  | 0  | 0  | $1.7 \times 10^4$  | $3.21 \times 10^4$ | $1.2 \times 10^7$  |  |
| Sorbic acid         | 0           | 0  | 0  | 0  | 0                  | 0                  | 0                  |  |
| Control             | 0           | 0  | 0  | 0  | $0.63 \times 10^4$ | $7.26 \times 10^4$ | $4.52 \times 10^6$ |  |
| ST**<br>Acetic acid | 0           | 0  | 0  | 0  | 0                  | 0                  | 0                  |  |
| Phosphoric acid     | 0           | 0  | 0  | 0  | $2.5 \times 10^4$  | $4.67 \times 10^4$ | $3.5 \times 10^7$  |  |
| Sorbic acid         | 0           | 0  | 0  | 0  | 0                  | 0                  | 0                  |  |

## 다. 제품의 품질 특성

### 1) 성분 특성

미역 및 다시마 extract 농축액의 비료학적 측면에서의 무기질 성분 특성은 Table 23 및 24와 같으며, 해조-토양 클러스터의 무기질 성분 특성은 Table 25~27과 같다. 즉, 미역 extract 농축액의 경우는 인산( $P_2O_5$ ),加里( $K_2O$ ), 석회( $CaO$ ) 및 마그네슘(고토,  $MgO$ )이 각각 7,839 mg/kg, 362.4

mg/kg, 138.1 mg/kg 및 136.9 mg/kg 이었고, 크롬(Cr), 구리(Cu), 철(Fe) 및 티타늄(Ti)이 각각 2.222 mg/kg, 0.338 mg/kg, 17.39 mg/kg 및 2.027 mg/kg이었으며, 납(Pb), 비소(As) 및 수은(Hg)은 검출되지 않았다. 다시마 extract 농축액의 경우도 미역 extract의 경우와 비슷하였는데, 인산( $P_2O_5$ ), 가리( $K_2O$ ), 석회(CaO) 및 마그네슘(고토, MgO)이 각각 7,817 mg/kg, 303.3 mg/kg, 148.2 mg/kg 및 100.6 mg/kg 이었고, 크롬(Cr), 구리(Cu), 철(Fe) 및 티타늄(Ti)이 각각 2.251 mg/kg, 1.166 mg/kg, 11.96 mg/kg 및 1.541 mg/kg이었으며, 납(Pb), 비소(As) 및 수은(Hg)은 검출되지 않았다.

미역과 다시마 분말을 이용하여 제조한 해조류-토양 클러스터의 경우 부산물비료의 퇴비로서 이용할 목적으로, 농촌진흥청고시 (제2004-19호, 2004. 10. 2)에 준하는 비료공정규격 조건 중의 부산물 비료의 퇴비 공정규격을 충족시킬 수 있는지를 검토하였다. 즉 각각의 토양 클러스터를 농촌진흥청에서 제시한 비료의 이화학적 검사 방법에 따라 주성분과 유해성분 및 기타성분으로 분류하여 각각의 정량실험을 행하였으며, 주성분의 경우는 인산, 가리, 석회, 마그네슘(고토), 망간, 유기물이 있으며, 유해성분으로는 카드뮴, 크롬, 니켈, 납, 비소, 수은이 있으며, 기타성분은 수분, 유기물 대 질소의 비, 염분에 대하여 분석 조사하였다.

미역 및 다시마 cluster는 농촌진흥청 고시 제2003 - 18호의 부산물 비료의 퇴비로서 사용하려고 하였지만, Pb의 함유량이 기준치의 150 mg/kg을 초과하여 미역-황토 cluster의 경우 184.940 mg/kg, 다시마-황토 cluster의 경우는 185.897 mg/kg이었다. 이러한 결과 값을 가지게 된 원인은 황토에서 유래된 납의 함유량 때문이라고 생각된다.

유기물 대 질소의 비 또한 기준치인 50 이하를 초과한 값을 가졌다. 미역-황토 cluster의 경우는 76.32 수준이었고, 다시마-황토 cluster의 경우는 94.06 수준이었다. 따라서 미역 및 다시마를 이용한 토양 cluster 제조 시에는 사전에 황토의 납 함유량에 대한 검토가 필요하다고 생각된다.

**Table 23. Major inorganic matters of sea mustard extract**

| Sea mustard                   |       |         |         |        |        |           |        |
|-------------------------------|-------|---------|---------|--------|--------|-----------|--------|
| Items                         | Units | Results | Abs     | Vol    | Wt     | mg/kg     | %      |
| P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | wt%   | 1.796   | 2.0055  | 20,000 | 5.1167 | 7839.0369 | 0.7839 |
| K <sub>2</sub> O              | wt%   | 0.044   | 18.5436 | 100    | 5.1167 | 362.4133  | 0.0362 |
| CaO                           | wt%   | 0.019   | 7.0638  | 100    | 5.1167 | 138.0538  | 0.0138 |
| MgO                           | wt%   | 0.023   | 7.0046  | 100    | 5.1167 | 136.8968  | 0.0137 |
| MnO                           | wt%   | 0.000   | 0.0657  | 100    | 5.1167 | 1.2840    | 0.0001 |
| Al                            | wt%   | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |
| Cd                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |
| Co                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |
| Cr                            | mg/kg | 2.222   | 0.1137  | 100    | 5.1167 | 2.2221    | 0.0002 |
| Cu                            | mg/kg | 0.338   | 0.0173  | 100    | 5.1167 | 0.3381    | 0.0000 |
| Fe                            | mg/kg | 17.390  | 0.8898  | 100    | 5.1167 | 17.3901   | 0.0017 |
| Ni                            | mg/kg | 0.893   | 0.0457  | 100    | 5.1167 | 0.8932    | 0.0001 |
| Pb                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |
| Ti                            | mg/kg | 2.027   | 0.1037  | 100    | 5.1167 | 2.0267    | 0.0002 |
| V                             | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |
| Zn                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |
| As                            | mg/kg | 0.0000  | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |
| Hg                            | mg/kg | 0.0000  | 0.0000  | 100    | 5.1167 | 0.0000    | 0.0000 |

**Table 24. Major inorganic matters of sea tangle extract**

| Sea tangle                    |       |         |         |        |        |           |        |
|-------------------------------|-------|---------|---------|--------|--------|-----------|--------|
| Items                         | Units | Results | Abs     | Vol    | Wt     | mg/kg     | %      |
| P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | wt%   | 1.791   | 1.9637  | 20,000 | 5.0239 | 7817.4327 | 0.7817 |
| K <sub>2</sub> O              | wt%   | 0.037   | 15.2366 | 100    | 5.0239 | 303.2823  | 0.0303 |
| CaO                           | wt%   | 0.021   | 7.4438  | 100    | 5.0239 | 148.1678  | 0.0148 |
| MgO                           | wt%   | 0.017   | 5.0526  | 100    | 5.0239 | 100.5713  | 0.0101 |
| MnO                           | wt%   | 0.000   | 0.0313  | 100    | 5.0239 | 0.6230    | 0.0001 |
| Al                            | wt%   | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |
| Cd                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |
| Co                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |
| Cr                            | mg/kg | 2.251   | 0.1131  | 100    | 5.0239 | 2.2512    | 0.0002 |
| Cu                            | mg/kg | 1.166   | 0.0586  | 100    | 5.0239 | 1.1664    | 0.0001 |
| Fe                            | mg/kg | 11.957  | 0.6007  | 100    | 5.0239 | 11.9568   | 0.0012 |
| Ni                            | mg/kg | 1.371   | 0.0689  | 100    | 5.0239 | 1.3714    | 0.0001 |
| Pb                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |
| Ti                            | mg/kg | 1.541   | 0.0774  | 100    | 5.0239 | 1.5406    | 0.0002 |
| V                             | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |
| Zn                            | mg/kg | 0.000   | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |
| As                            | mg/kg | 0.0000  | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |
| Hg                            | mg/kg | 0.0000  | 0.0000  | 100    | 5.0239 | 0.0000    | 0.0000 |

**Table 25. Major inorganic matter and others of loess cluster**

| Items                            | Units | Results   | Loess cluster |       |        |            |        |
|----------------------------------|-------|-----------|---------------|-------|--------|------------|--------|
|                                  |       |           | Abs           | Vol   | Wt     | mg/kg      | %      |
| P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>    | wt%   | 0.126     | 2.7970        | 1,000 | 5.0720 | 551.4590   | 0.0551 |
| K <sub>2</sub> O                 | wt%   | 0.563     | 23.7100       | 1,000 | 5.0720 | 4674.6845  | 0.4675 |
| CaO                              | wt%   | 0.113     | 4.0850        | 1,000 | 5.0720 | 805.4022   | 0.0805 |
| MgO                              | wt%   | 0.429     | 13.1200       | 1,000 | 5.0720 | 2586.7508  | 0.2587 |
| MnO                              | wt%   | 0.139     | 5.4660        | 1,000 | 5.0720 | 1077.6814  | 0.1078 |
| Al                               | wt%   | 6.903     | 350.1000      | 1,000 | 5.0720 | 69026.0252 | 6.9026 |
| Cd                               | mg/kg | 0.000     | 0.0000        | 100   | 5.0720 | 0.0000     | 0.0000 |
| Co                               | mg/kg | 39.728    | 2.0150        | 100   | 5.0720 | 39.7279    | 0.0040 |
| Cr                               | mg/kg | 37.520    | 1.9030        | 100   | 5.0720 | 37.5197    | 0.0038 |
| Cu                               | mg/kg | 45.406    | 2.3030        | 100   | 5.0720 | 45.4062    | 0.0045 |
| Fe                               | wt%   | 4.665     | 236.6000      | 1,000 | 5.0720 | 46648.2650 | 4.6648 |
| Ni                               | mg/kg | 21.175    | 1.0740        | 100   | 5.0720 | 21.1751    | 0.0021 |
| Pb                               | mg/kg | 264.590   | 1.3420        | 1,000 | 5.0720 | 264.5899   | 0.0265 |
| Ti                               | mg/kg | 1,002.169 | 5.0830        | 1,000 | 5.0720 | 1002.1688  | 0.1002 |
| V                                | mg/kg | 69.460    | 3.5230        | 100   | 5.0720 | 69.4598    | 0.0069 |
| Zn                               | mg/kg | 194.460   | 9.8630        | 100   | 5.0720 | 194.4598   | 0.0194 |
| As                               | mg/kg | 0.0000    | 0.0000        | 100   | 5.0720 | 0.0000     | 0.0000 |
| Hg                               | mg/kg | 0.0000    | 0.0000        | 100   | 5.0720 | 0.0000     | 0.0000 |
| Moisture                         | wt%   | 2.3126    | -             | -     | -      | -          | -      |
| Organic matters                  | wt%   | 15.6122   | -             | -     | -      | -          | -      |
| Total nitrogen                   | wt%   | 0.0018    | -             | -     | -      | -          | -      |
| Ratio of organic matter/nitrogen | -     | 557.5767  | -             | -     | -      | -          | -      |
| Salinity                         | wt%   | 0.029     | -             | -     | -      | -          | -      |



**Table 26. Major inorganic matter and others of sea mustard-soil cluster**

| Sea mustard - loess cluster            |       |           |          |       |        |            |        |
|--|-------|-----------|----------|-------|--------|------------|--------|
| Items                                  | Units | Results   | Abs      | Vol   | Wt     | mg/kg      | %      |
| P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>          | wt%   | 0.209     | 4.5880   | 1,000 | 5.0227 | 913.4529   | 0.0913 |
| K <sub>2</sub> O                       | wt%   | 0.539     | 22.4900  | 1,000 | 5.0227 | 4477.6714  | 0.4478 |
| CaO                                    | wt%   | 0.353     | 12.6700  | 1,000 | 5.0227 | 2522.5476  | 0.2523 |
| MgO                                    | wt%   | 0.573     | 17.3700  | 1,000 | 5.0227 | 3458.2993  | 0.3458 |
| MnO                                    | wt%   | 0.116     | 4.5290   | 1,000 | 5.0227 | 901.7063   | 0.0902 |
| Al                                     | wt%   | 6.453     | 324.1000 | 1,000 | 5.0227 | 64527.0472 | 6.4527 |
| Cd                                     | mg/kg | 0.000     | 0.0000   | 100   | 5.0227 | 0.0000     | 0.0000 |
| Co                                     | mg/kg | 34.324    | 1.7240   | 100   | 5.0227 | 34.3242    | 0.0034 |
| Cr                                     | mg/kg | 32.234    | 1.6190   | 100   | 5.0227 | 32.2337    | 0.0032 |
| Cu                                     | mg/kg | 45.991    | 2.3100   | 100   | 5.0227 | 45.9912    | 0.0046 |
| Fe                                     | wt%   | 4.040     | 202.9000 | 1,000 | 5.0227 | 40396.5994 | 4.0397 |
| Ni                                     | mg/kg | 19.340    | 0.9714   | 100   | 5.0227 | 19.3402    | 0.0019 |
| Pb                                     | mg/kg | 184.940   | 9.2890   | 100   | 5.0227 | 184.9404   | 0.0185 |
| Ti                                     | mg/kg | 1,238.577 | 6.2210   | 1,000 | 5.0227 | 1238.5769  | 0.1239 |
| V                                      | mg/kg | 65.662    | 3.2980   | 100   | 5.0227 | 65.6619    | 0.0066 |
| Zn                                     | mg/kg | 177.833   | 8.9320   | 100   | 5.0227 | 177.8326   | 0.0178 |
| As                                     | mg/kg | 0.0000    | 0.0000   | 100   | 5.0227 | 0.0000     | 0.0000 |
| Hg                                     | mg/kg | 0.0000    | 0.0000   | 100   | 5.0227 | 0.0000     | 0.0000 |
| Moisture                               | wt%   | 3.8662    | -        | -     | -      | -          | -      |
| Organic matter                         | wt%   | 30.7322   | -        | -     | -      | -          | -      |
| Total nitrogen                         | wt%   | 0.4027    | -        | -     | -      | -          | -      |
| Ratio of organic matter/total nitrogen | -     | 0.0131    | -        | -     | -      | -          | -      |
| Salinity                               | wt%   | 0.334     | -        | -     | -      | -          | -      |

**Table 27. Major inorganic matter and others of sea tangle-soil cluster**

| Sea tangle - loess cluster               |       |           |          |       |        |            |        |
|--|-------|-----------|----------|-------|--------|------------|--------|
| Items                                    | Units | Results   | Abs      | Vol   | Wt     | mg/kg      | %      |
| P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>            | wt%   | 0.158     | 3.4880   | 1,000 | 5.0528 | 690.3103   | 0.0690 |
| K <sub>2</sub> O                         | wt%   | 0.721     | 30.2500  | 1,000 | 5.0528 | 5986.7796  | 0.5987 |
| CaO                                      | wt%   | 0.445     | 16.0600  | 1,000 | 5.0528 | 3178.4357  | 0.3178 |
| MgO                                      | wt%   | 0.584     | 17.8000  | 1,000 | 5.0528 | 3522.7992  | 0.3523 |
| MnO                                      | wt%   | 0.125     | 4.8810   | 1,000 | 5.0528 | 965.9991   | 0.0966 |
| Al                                       | wt%   | 6.317     | 319.2000 | 1,000 | 5.0528 | 63172.8942 | 6.3173 |
| Cd                                       | mg/kg | 0.000     | 0.0000   | 100   | 5.0528 | 0.0000     | 0.0000 |
| Co                                       | mg/kg | 33.407    | 1.6880   | 100   | 5.0528 | 33.4072    | 0.0033 |
| Cr                                       | mg/kg | 37.702    | 1.9050   | 100   | 5.0528 | 37.7019    | 0.0038 |
| Cu                                       | mg/kg | 40.710    | 2.0570   | 100   | 5.0528 | 40.7101    | 0.0041 |
| Fe                                       | wt%   | 4.025     | 203.4000 | 1,000 | 5.0528 | 40254.9082 | 4.0255 |
| Ni                                       | mg/kg | 18.503    | 0.9349   | 100   | 5.0528 | 18.5026    | 0.0019 |
| Pb                                       | mg/kg | 185.897   | 9.3930   | 100   | 5.0528 | 185.8969   | 0.0186 |
| Ti                                       | mg/kg | 1,244.854 | 6.2900   | 1,000 | 5.0528 | 1244.8543  | 0.1245 |
| V  | mg/kg | 66.775    | 3.3740   | 100   | 5.0528 | 66.7749    | 0.0067 |
| Zn                                       | mg/kg | 177.268   | 8.9570   | 100   | 5.0528 | 177.2680   | 0.0177 |
| As                                       | mg/kg | 0.0000    | 0.0000   | 100   | 5.0528 | 0.0000     | 0.0000 |
| Hg                                       | mg/kg | 0.0000    | 0.0000   | 100   | 5.0528 | 0.0000     | 0.0000 |
| Moisture                                 | wt%   | 3.9281    | -        | -     | -      | -          | -      |
| Organic matter                           | wt%   | 27.5123   | -        | -     | -      | -          | -      |
| Total nitrogen                           | wt%   | 0.2925    | -        | -     | -      | -          | -      |
| Ratio of organic matter / total nitrogen | -     | 0.0106    | -        | -     | -      | -          | -      |
| Salinity                                 | wt%   | 0.167     | -        | -     | -      | -          | -      |

## 2) 물리적 특성

### 가) 해조 extract 농축액의 점도

미역 및 다시마 extract 농축액의 점도를 측정결과는 Table 28에 나타내었으며, 미역 농축액의 경우 Spindle No.2를 사용하여 30 rpm의 회전속도로 측정하였으며 다시마 농축액의 경우 Spindle No.1을 사용하여 12 rpm의 조건으로 측정한 결과이다. 점도계의 Spindle No.가 높아질수록 점도가 높은 물질의 측정에 사용되는데, 미역 농축액이 다시마 농축액에 비해 상대적으로 점도가 높은 것으로 추정되며, 농축액은 온도가 상승함에 따라 점도가 감소하는 경향을 나타내었다. 미역 농축액의 경우 다시마 농축액 보다는 상대적으로 온도에 대한 영향이 크게 나타났다.

**Table 28. Viscosity of seaweed extracts at different temperature**

| Sea mustard |             |                        | Sea tangle  |             |                        |
|-------------|-------------|------------------------|-------------|-------------|------------------------|
| Temperature | Viscosity   | Remark                 | Temperature | Viscosity   | Remark                 |
| 20 ± 1℃     | 513 mPa · s |                        | 20 ± 1℃     | 347 mPa · s |                        |
| 25 ± 1℃     | 497 mPa · s | Spindle No.2<br>30 rpm | 25 ± 1℃     | 349 mPa · s | Spindle No.1<br>12 rpm |
| 30 ± 1℃     | 472 mPa · s |                        | 30 ± 1℃     | 331 mPa · s |                        |
| 35 ± 1℃     | 437 mPa · s |                        | 35 ± 1℃     | 301 mPa · s |                        |

### 나) 해조-토양 클러스터 입자의 중량

각각의 해조류-토양 클러스터 입자 10개씩을 3회 측정하여 구한 평균 입자 중량은 미역-토양 클러스터의 경우 1개 입자의 중량이 약 1.025 g, 다시마-토양 클러스터의 경우는 약 1.020 g으로 거의 비슷하였으나, 황토만으로 제조된 클러스터의 경우는 약 1.334 g으로 해조-토양 클러스터 보다 입자의 중량이 큰 것으로 나타났다 (Table 29).

**Table 29. Weight of one granular of seaweed-soil cluster obtained from ten granulars selected randomly at three times**

(Unit : g)

|             | Ist     | 2nd     | 3rd     | Mean    |
|-------------|---------|---------|---------|---------|
| Sea mustard | 0.99506 | 1.08558 | 0.99319 | 1.02461 |
| Sea tangle  | 0.91753 | 1.06959 | 1.07375 | 1.02029 |
| Loess       | 1.3104  | 1.3667  | 1.3242  | 1.33376 |

### (다) 해조-토양 클러스터 입자의 분해 시험

분해성 시험 결과는 Table 30에 나타난 바와 같다. 즉, 황토 단독으로 만든 클러스터의 경우 120분 이상 경과하여도 분해되지 않음을 알 수 있었으며, 미역-황토 클러스터의 경우 33분경과 후 분해됨을 알 수 있었다. 또한 다시마-황토 클러스터의 경우는 15분경과 후 완전 분해되어 미역-황토 클러스터보다는 빠르게 진행됨을 알 수 있었다.

이는 황토에 미역이나 다시마를 첨가하여 클러스터로 제작한 경우 비료 등의 목적으로 사용시 적당한 시간이 경과되면 토양에 분해되고 이들이 가진

기능성 물질이 토양에 이행되어 토양을 개선시키고, 농작물의 미량 영양분 및 기능성 물질의 서방성 흡수에 도움을 줄 것으로 생각된다.

또한, 봉해성 시험결과와 병행하여 실온에서 해조-토양 클러스터의 물에 대한 풀림성 정도를 육안 관찰하였다. 첫째 날은 각각의 토양 클러스터 입자 10개씩을 증류수 30 ml에 침지시켜 시간 경과에 따른 풀림성 정도를 관찰하였다. 모든 시료가 2일째는 약간의 풀림성을 나타내었으며, 다시마 클러스터의 경우가 풀림성 정도가 더 큰 것을 확인할 수 있었다. 그러나 황토만으로 제조한 고휘비료는 결착제의 첨가량이 상대적으로 많았기 때문인지, 미역과 다시마 클러스터보다 풀림성이 약했다. 3일째에서는 미역 클러스터는 2일째와 비슷한 풀림성을 나타내었고 다시마 클러스터는 풀림성이 다소 더 좋았다. 5일째에는 미역과 다시마 클러스터 모두 쉽게 붕괴될 정도로 풀림성이 확연히 나타났으며, 미역 클러스터에 비해서 다시마 클러스터의 경우가 풀림성이 더 우수하였다 (Fig. 48).

**Table 30. Disintegration test**

| Sample cluster    | Time (min) |
|-------------------|------------|
| Loess             | >120       |
| Sea mustard+loess | 33         |
| Sea tangle+loess  | 15         |

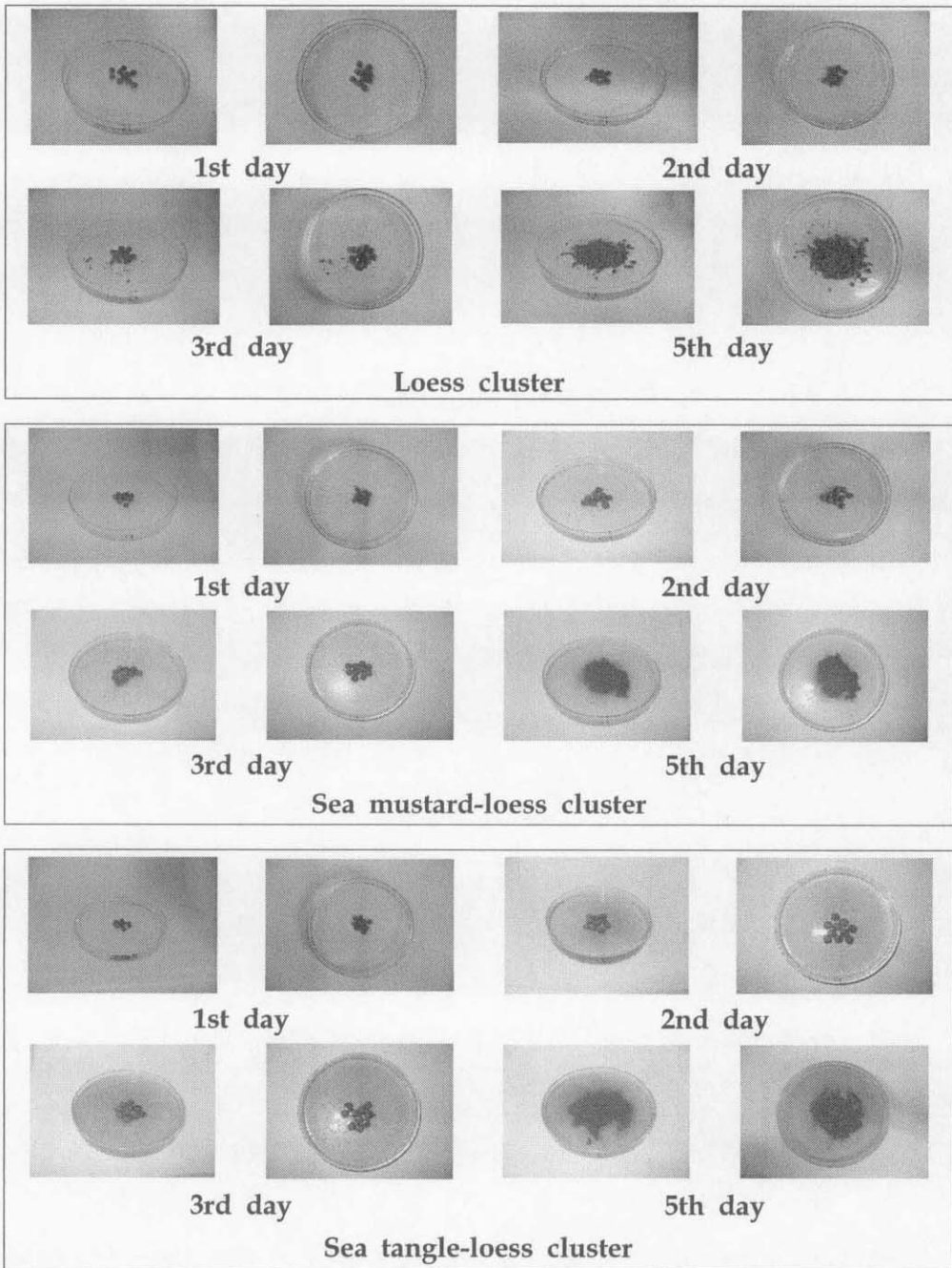


Fig. 48. Dissolving properties of seaweed-soil cluster by water-dipping.

## 라. 산업적 응용 시험

### 1) 해조 extract의 효능

#### 가) 보존료 및 희석배율의 영향

해조 extract에 첨가한 보존료의 종류 및 희석배율에 따른 적치마 상추의 발아율을 Petri-dish 상에서 조사한 결과 대조구를 포함한 5개의 실험구 중 phosphoric acid 첨가구(A구) 500배 희석액이 가장 뛰어났다. 나머지 acetic acid 첨가구(B구), benzoic acid + citric acid 첨가구 (C구), sorbic acid + citric acid 첨가구 (D구)는 대조구보다 발아율이 낮은 것으로 나타났다 (Table 31, Fig. 49~54).

각 시료별 적치마 상추의 길이생장 및 뿌리활착 시험을 원예용 포트 상에서 시험한 결과, A구 500배 희석액이 가장 뛰어났다. 그러나 C구의 경우 발아시점과 발아율은 낮았으나 발아 후 포토 상에서 잔뿌리가 다른 실험구보다 많은 것으로 보아 뿌리 활착력은 뛰어났다 (Fig. 55~62).

즉, 각 조건별 농도에 따라 상추의 생육상태가 다르다는 것을 알 수 있었다. 미역 추출물 원제의 비료학적 특성 분석 결과 적치마 상추 종자의 발아율은 A조건 500배 희석액과 B조건 750배 희석액, C조건 500배 희석액, D조건 1,000배 희석액, 대조구에서는 치상 5일 후에 78% 이상 발아가 되었으나 나머지 희석배율 조건에서는 치상 7일째 발아가 이루어졌다.

각 시료당 길이생장 및 식물생육은 A조건 500배 희석액이 가장 높았고, 대조구, C조건 500배 희석액, B조건 750배 희석액, D조건 1000배 희석액 순으로 나타났다. 즉 해조류 추출물의 4가지 조건 중 A조건의 500배 희석액이 식물의 성장 및 뿌리 발육에 많은 영향을 미치는 것으로 사료된다.

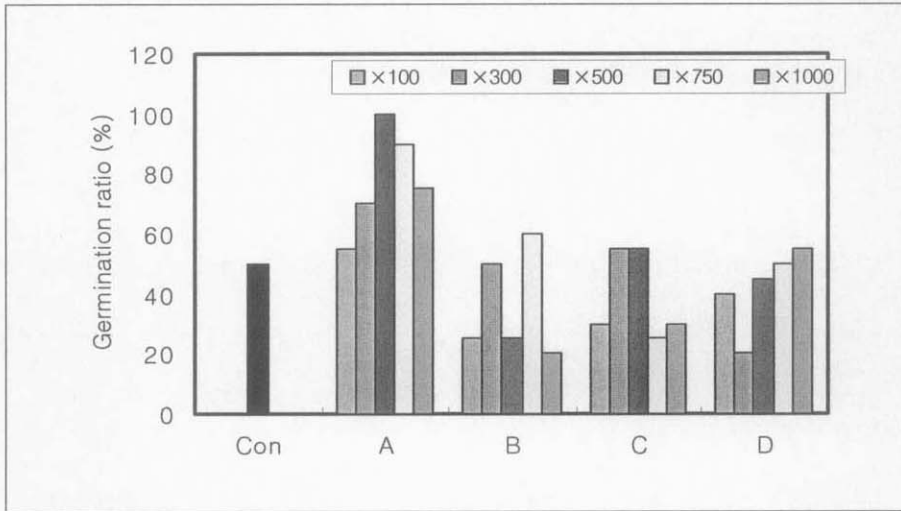
이상의 결과로 보아 사용된 해조류 추출물은 농업용 비료로서 적치마 상추의 발아율 시험과 생육실험에서 무처리구 보다 초기 발아율과 식물성장

을 촉진시키는 것으로 나타났다. 해조류 추출물의 4가지 조건 중 식물생장에 가장 효과적인 조건은 A조건으로 나타났으며 A조건 중 500배 희석액이 식물생장에 매우 우수한 효과를 나타내었으므로 원제를 농업용 비료로서 사용 시 500배로 희석하는 것이 바람직하였다.

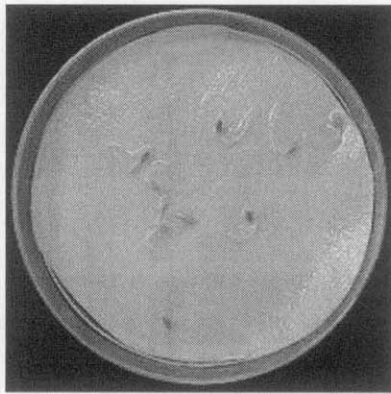
**Table 31. Germination rate of lettuce by the concentration of each seaweed extract(%)**

| Dilution            | Time (hr) |    |     |
|---------------------|-----------|----|-----|
|                     | 48        | 72 | 120 |
| Control (Tap water) | 33        | 50 | 100 |
| A                   | 20        | 55 | 100 |
| Phosphoric acid     | ×100      | 20 | 55  |
|                     | ×300      | 25 | 70  |
|                     | ×500      | 40 | 100 |
|                     | ×750      | 30 | 90  |
|                     | ×1,000    | 20 | 75  |
| B                   | 10        | 25 | 85  |
| Acetic acid         | ×100      | 10 | 25  |
|                     | ×300      | 0  | 50  |
|                     | ×500      | 0  | 25  |
|                     | ×750      | 30 | 60  |
|                     | ×1,000    | 35 | 20  |
| C                   | 20        | 30 | 80  |
| Benzoic acid        | ×100      | 20 | 30  |
|                     | ×300      | 20 | 55  |
|                     | ×500      | 10 | 55  |
|                     | ×750      | 10 | 25  |
|                     | ×1,000    | 10 | 30  |
| D                   | 15        | 40 | 85  |
| Sorbic acid         | ×100      | 15 | 40  |
|                     | ×300      | 20 | 20  |
|                     | ×500      | 30 | 45  |
|                     | ×750      | 30 | 50  |
|                     | ×1,000    | 40 | 55  |

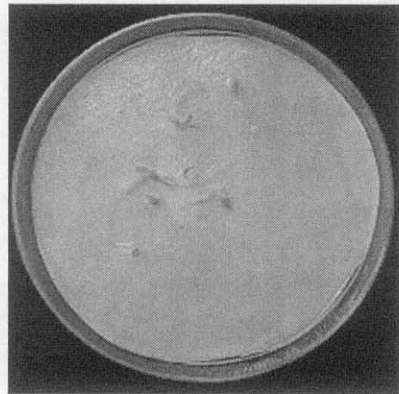




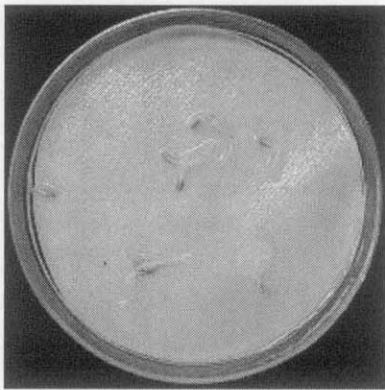
**Fig. 49. Germination ratio of lettuce seeds by different concentration of seaweed extracts.**



Control



A×100



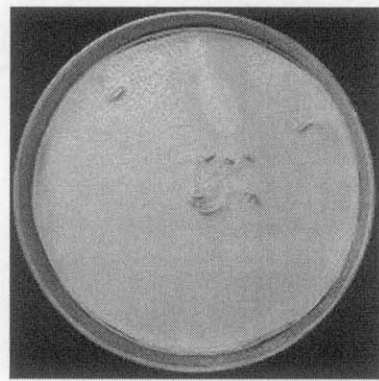
A×300



A×500

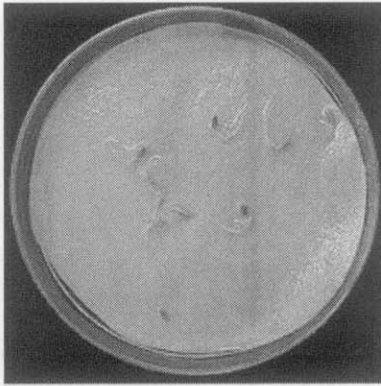


A×750



A×1,000

Fig. 50. Germination of lettuce seed by different concentration of seaweed extract A, controlled pH with phosphoric acid, on the 3rd day after seeding.



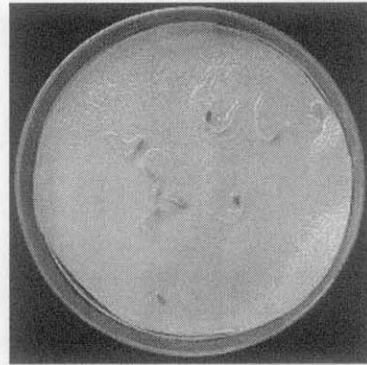
Control



B×100



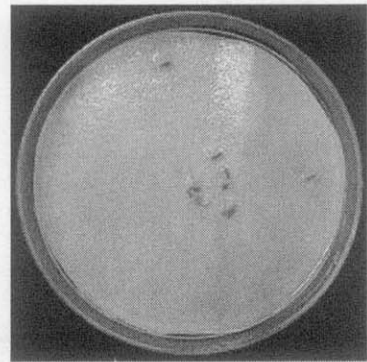
B×300



B×500



B×750



B×1,000

**Fig. 51.** Germination of lettuce seed by different concentration of seaweed extract B, controlled pH with acetic acid, on the 3rd day after seeding.

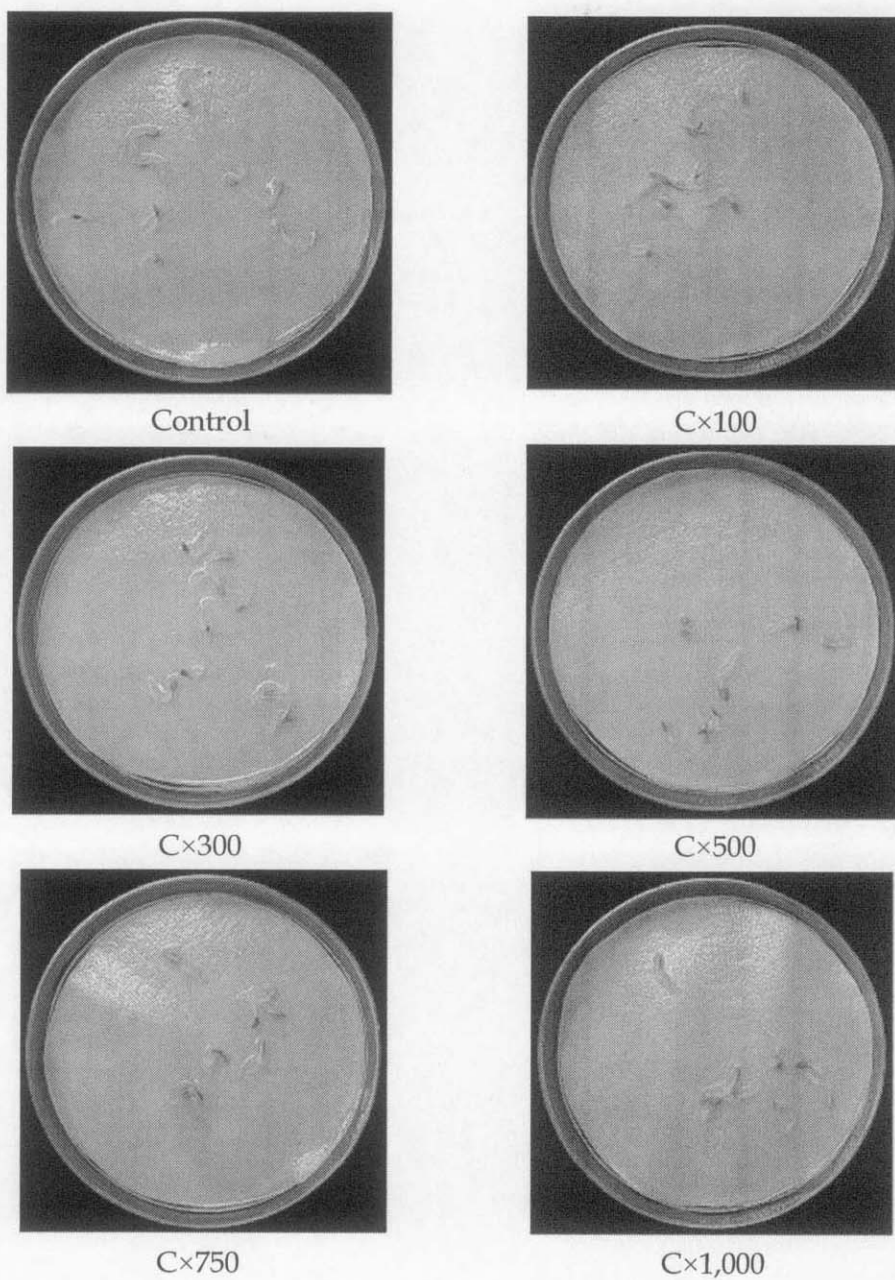


Fig. 52. Germination of lettuce seed by different concentration of seaweed extract C, controlled pH with mixture of benzoic acid and citric acid, on the 3rd day after seeding.

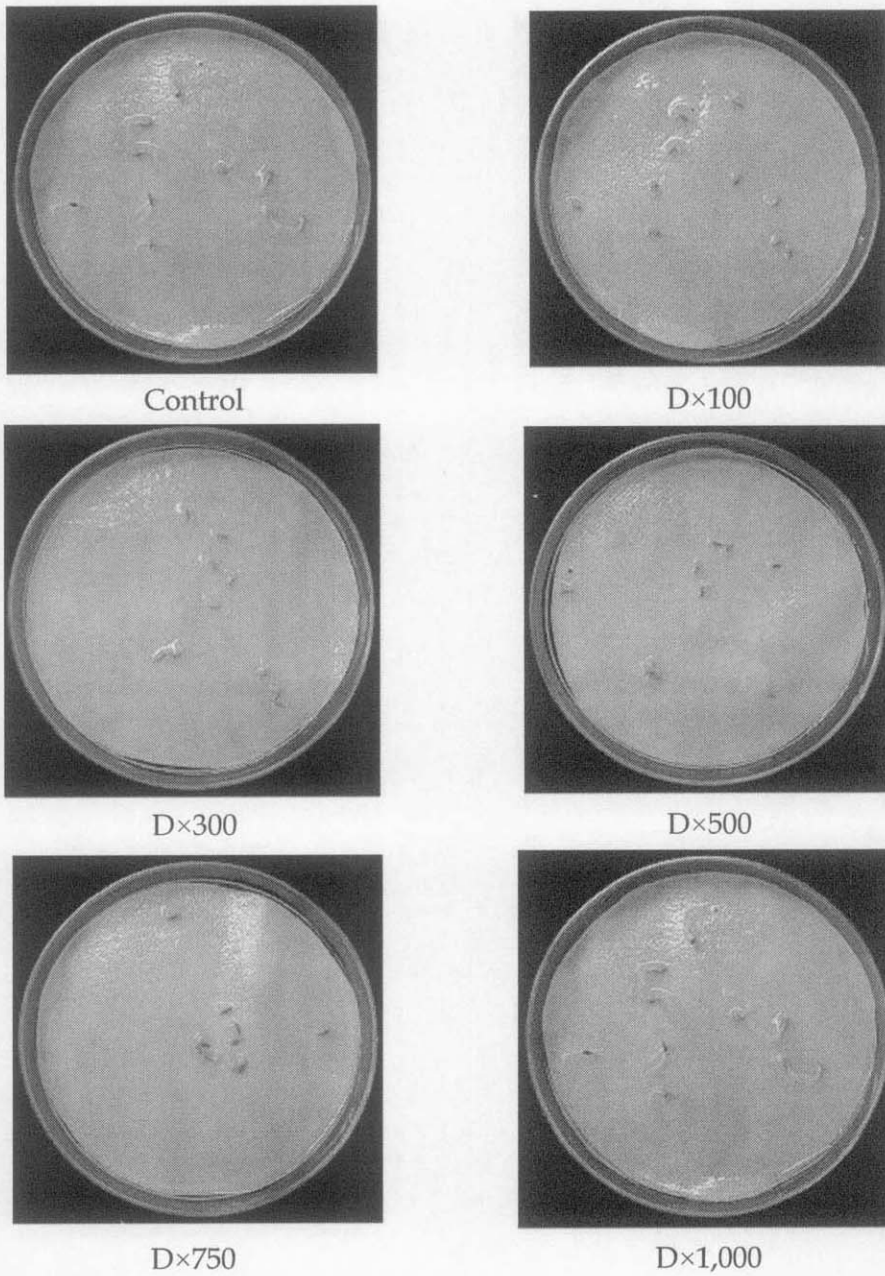
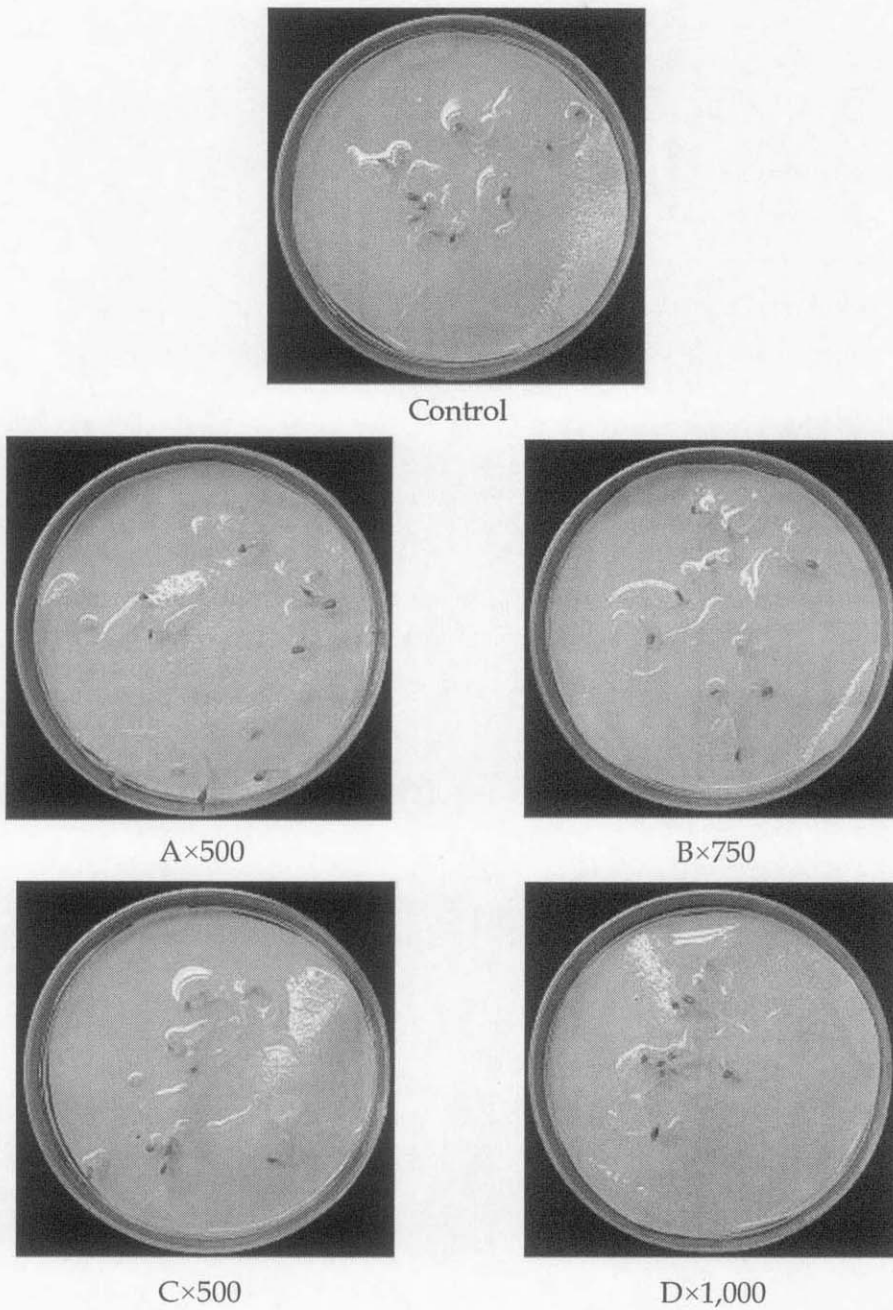


Fig. 53. Germination of lettuce seed by different concentration of seaweed extract, controlled pH with mixture of sorbic acid and citric acid, on the 3rd day after seeding.



**Fig. 54. The Maximum germination of lettuce seed by concentration of different seaweed extracts.**

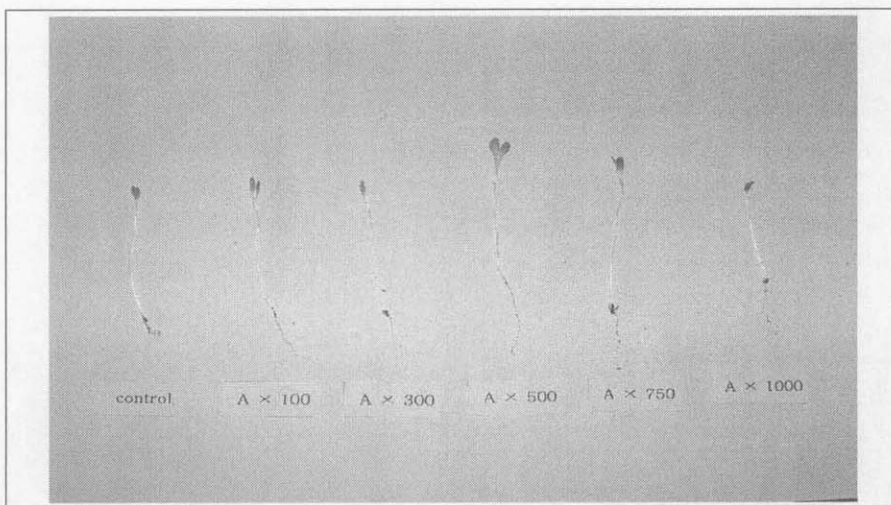


Fig. 55. Photograph of showing growth of lettuce by different concentration of seaweed extract A, controlled pH with phosphoric acid.

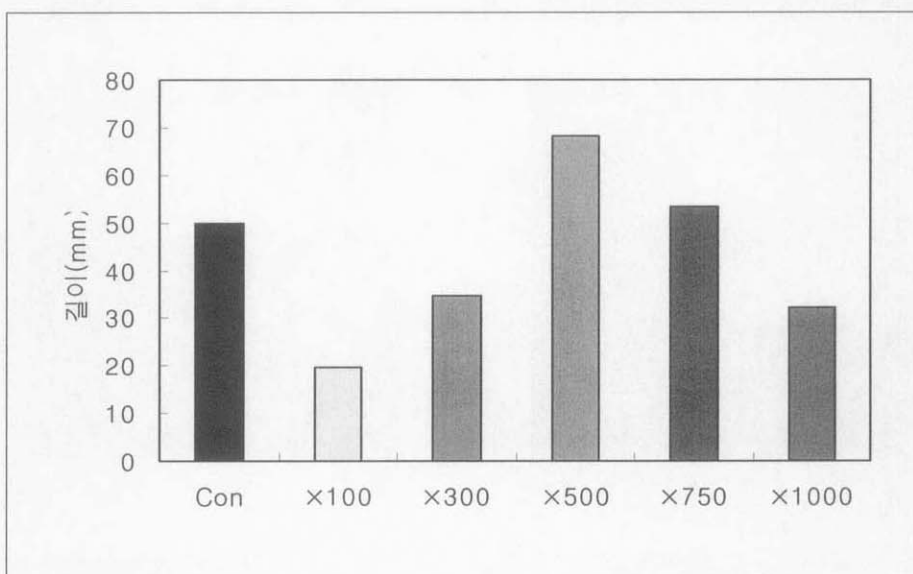
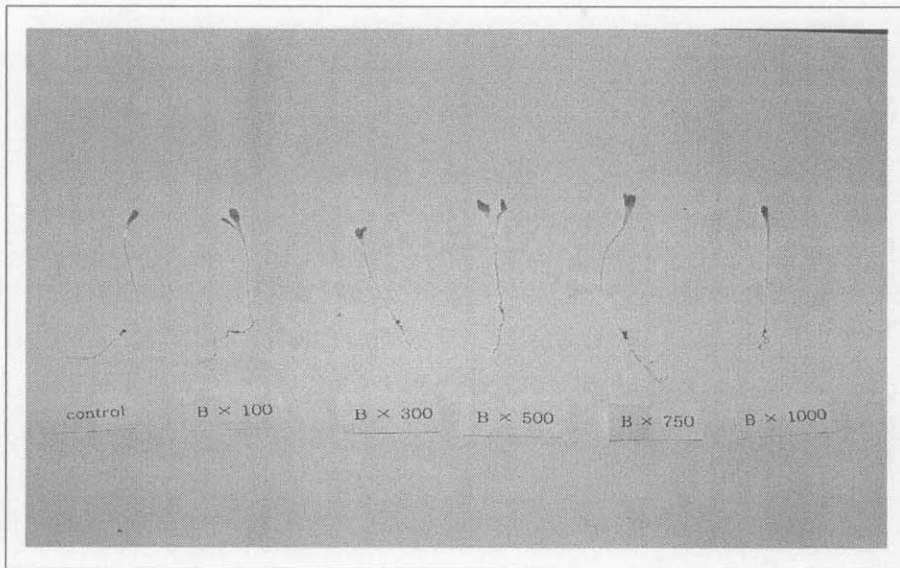
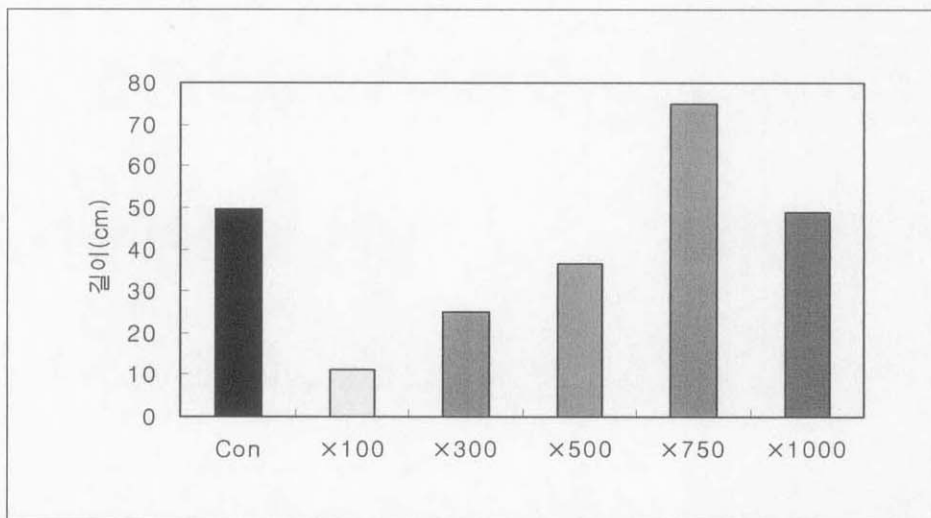


Fig. 56. Total growth length of lettuce by different concentration of seaweed extract A, controlled pH with phosphoric acid.

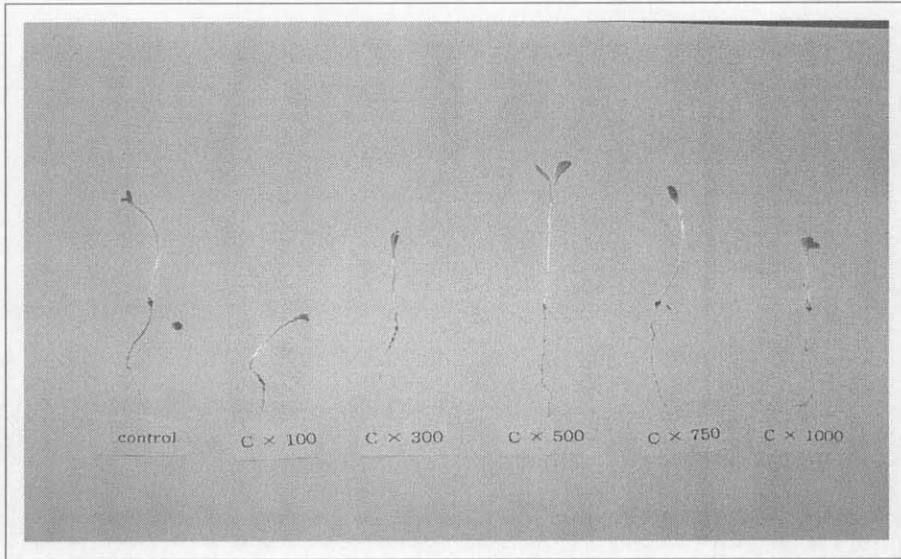


**Fig. 57.** Photograph of showing growth of lettuce by different concentration of seaweed extract B, controlled pH with acetic acid.

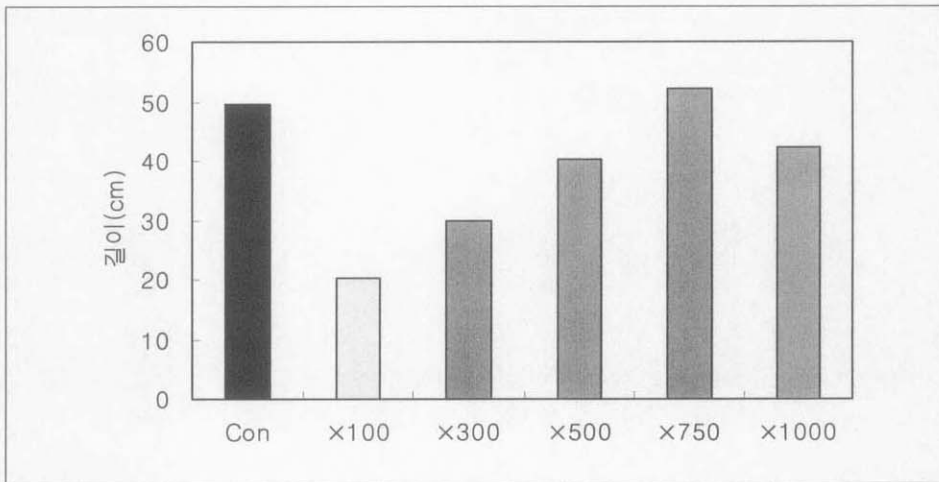


**Fig. 58.** Total growth length of lettuce by different concentration of seaweed extract B, controlled pH with acetic acid.

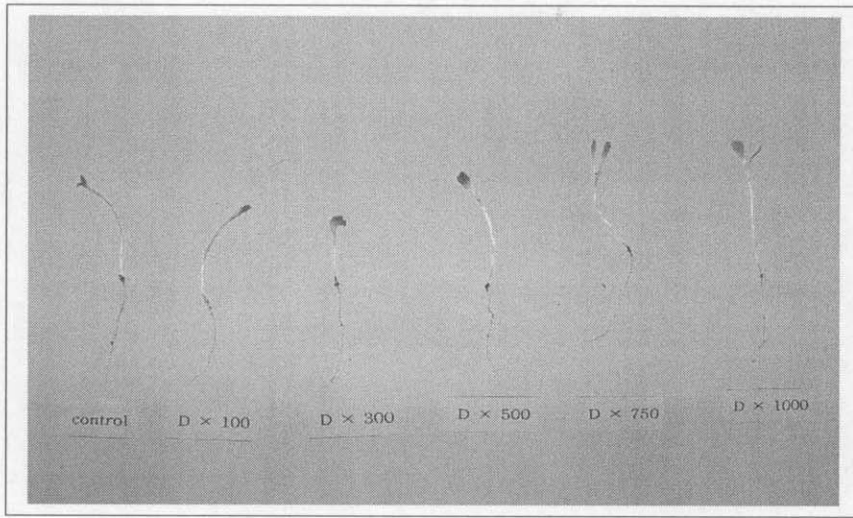




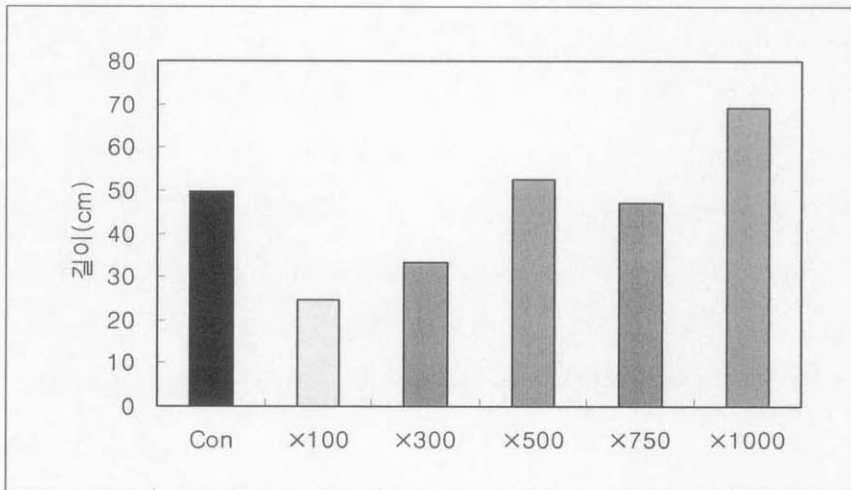
**Fig. 59.** Photograph of showing growth of lettuce by different concentration of seaweed extract C, controlled pH with a mixture of benzoic acid and citric acid.



**Fig. 60.** Total growth length of lettuce by different concentration of seaweed extract C, controlled pH with a mixture of benzoic acid and citric acid.



**Fig. 61.** Photograph of showing growth of lettuce by different concentration of seaweed extract D, controlled pH with a mixture of sorbic acid and citric acid.



**Fig. 62.** Total growth length of lettuce by different concentration of seaweed extract D, controlled pH with a mixture of sorbic acid and citric acid.

## 2) 제 4종 복합비료 공정규격에 의한 해조 extract의 배합

해조 extract 농축액 중 대표적인 시료로서 미역 extract 농축액을 선정하고 비료공정규격에 의한 4종 복합비료를 제조하였다. 즉, 질소전량, 수용성 인산, 수용성가리 중 2종이상의 합계량이 10%이상이고 각 성분별 보증 성분의 함량은 1.0%이상으로 하기 위하여 질소성분 7%, 수용성인산 2%, 수용성가리 5%로, 수용성 폴리브덴 0.0005%와 수용성 붕소 0.05%로 그 성분을 조정하였다. 미역 extract 농축액을 기본 소재로 한 제 4종 복합비료 시료로서 Petri-dish와 원예용 포트를 이용한 적치마 상추의 발아 및 생장 시험을 수행하여 그 효능을 조사하였다.

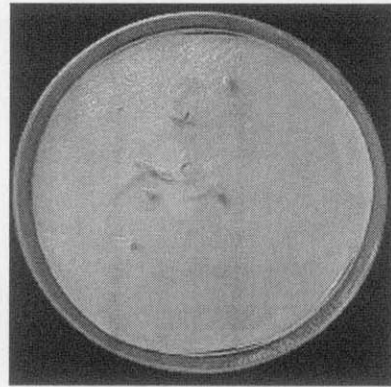
## 3) 해조 extract의 비료학적 특성

### 가) 발아율 시험

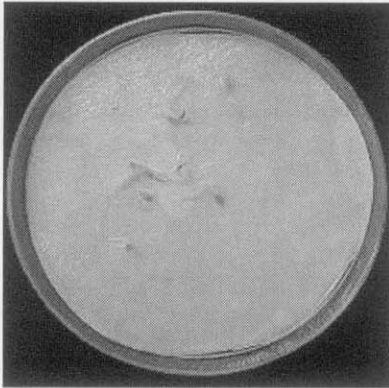
미역 extract를 원재로 조제한 제 4종 복합비료에 의한 Petri-dish상에서의 적치마 상추의 발아율을 측정 시험한 결과, 500배 희석액의 경우가 그 효능이 높은 것으로 나타났다 (Fig. 63~65, Table 32). 동일한 온도 조건과 비료 투입량으로 수행된 실험에서 발아율 및 식물생장에서 우수한 효과를 나타낸 미역 extract 농축액을 500배 희석한 경우의 시험결과로 미루어 보아 해조류 extract로 제조된 비료는 식물체의 생리작용을 활성화시키고 뿌리활력을 증진시키는 것은 물론 영양분 공급처 역할을 하는 것으로 사료된다.



Control



×250



×500



×1,000

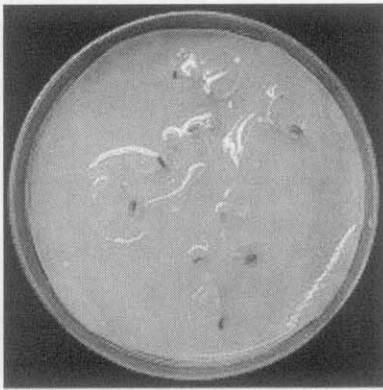
**Fig. 63.** Germination of lettuce seeds by dilution rate of mixed fertilizer No. 4 prepared from seaweed extract on the seeding 3rd day.



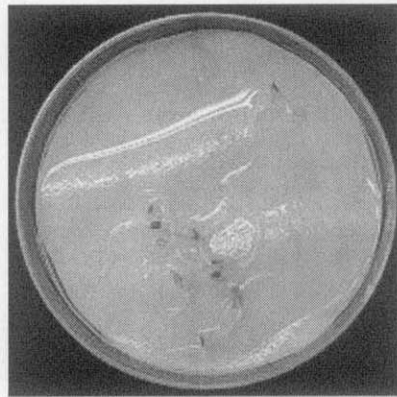
Control



×250



×500

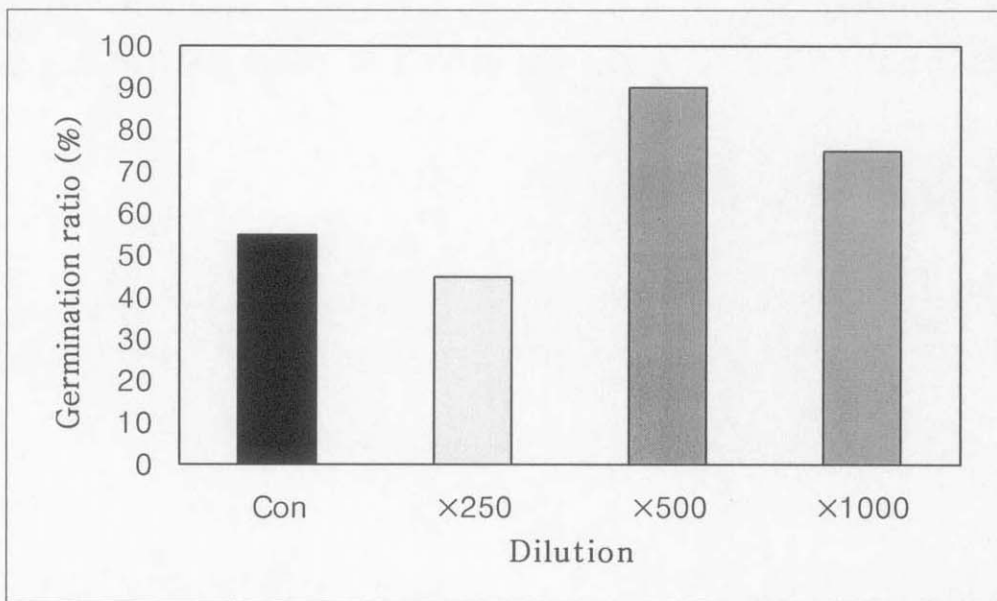


×1,000

**Fig. 64.** Germination of lettuce seeds by dilution rate of mixed fertilizer No. 4 prepared from seaweed extract on the seeding 6th day.

**Table 32. Germination ratio of lettuce seed by dilution of mixed fertilizer No. 4 prepared from seaweed extract**

| Dilution        | Time (hr) |    |     |
|-----------------|-----------|----|-----|
|                 | 48        | 72 | 120 |
| Control (Water) | 20        | 55 | 100 |
| ×250            | 30        | 45 | 75  |
| ×500            | 30        | 90 | 100 |
| ×1,000          | 40        | 75 | 100 |



**Fig. 65. Germination ratio of lettuce seeds by dilution rate of mixed fertilizer No. 4 prepared from seaweed extract on the 72 hr.**

## 나) 생육 시험

제 4종 복합비료로 제조된 해조 extract에 의한 적치마 상추의 길이생장 및 뿌리활착에 미치는 영향을 원예용 포트 상에서 조사한 결과, 500배 희석액이 적치마 상추의 길이생장 및 뿌리활착 효능이 높게 나타났다 (Fig. 66~71). 각각의 농도별 생육상태와 뿌리활착력은 500배, 1,000배, 대조구, 250배의 순으로 나타났다. 즉, 해조 extract 농축액은 적치마 상추의 발아율 시험과 생육실험에서 무처리구 보다 초기 발아율과 식물생장을 촉진시키는 것으로 나타났다. 즉, 뿌리활착력 및 엽의 상태, 조직, 색깔 등으로 미루어 보았을 때 500배 희석액이 식물생장에 우수한 효과를 나타내어 원제를 농업용 비료로서 사용할 경우에 500배로 희석하는 것이 바람직한 것으로 생각된다.

또한, 해조 extract 농축액을 원재로 하여 최적배합조건으로 제조된 제 4종 복합비료의 경우, 앞으로 N, P, K 의 함량을 조절하여 적절하게 사용하면 친환경적이면서 작물생육에 효과적인 우수한 신기능성 농업용 비료로서의 가능성이 있으리라 판단된다.

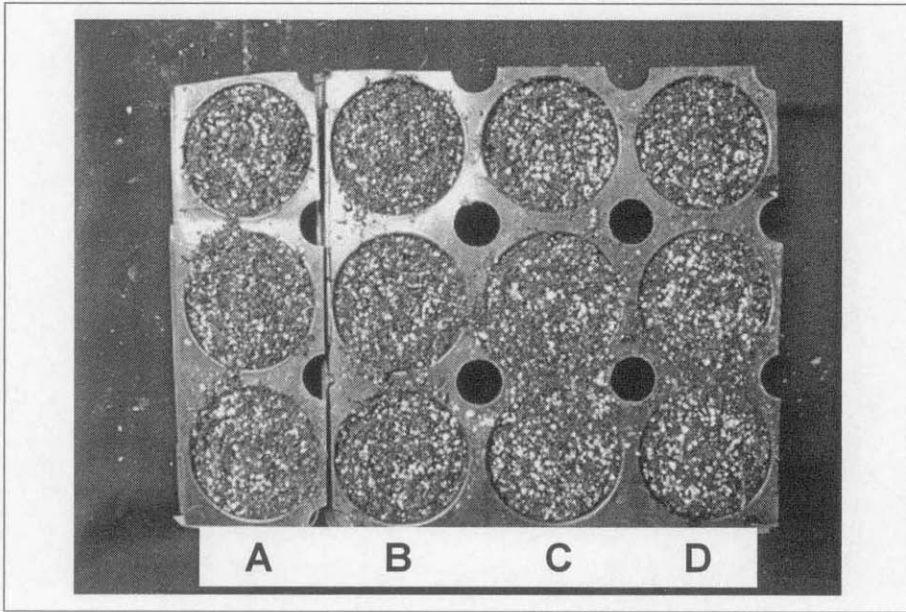
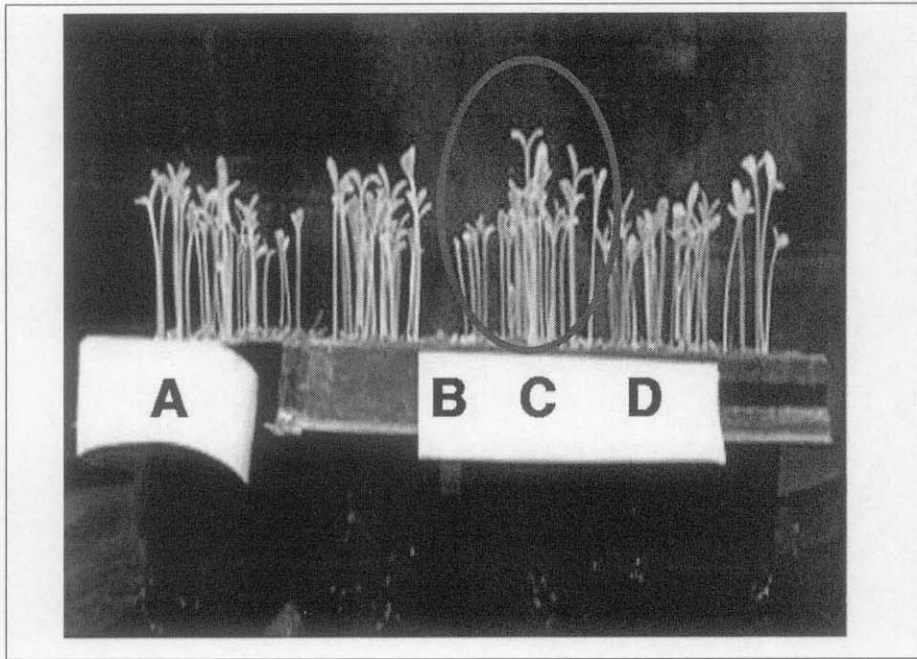


Fig. 66. Potting of 10 lettuce seeds in horticultural pots.  
A : Control, B : x250, C : x500, D: x1,000





**Fig. 67.** Effect of seaweed extracts on the growth of lettuce on the seeding 7th day in horticultural pots.

A : Control, B : x250, C : x500, D: x1,000

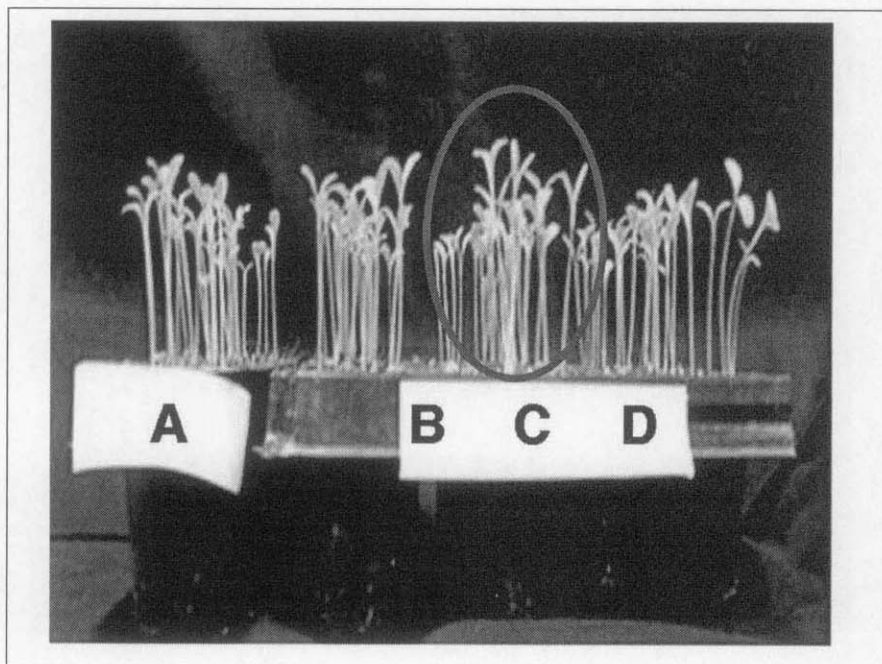


Fig. 68. Effect of seaweed extracts on the growth of lettuce on the seeding 13th day in horticultural pots.

A : Control, B : x250, C : x500, D: x1,000

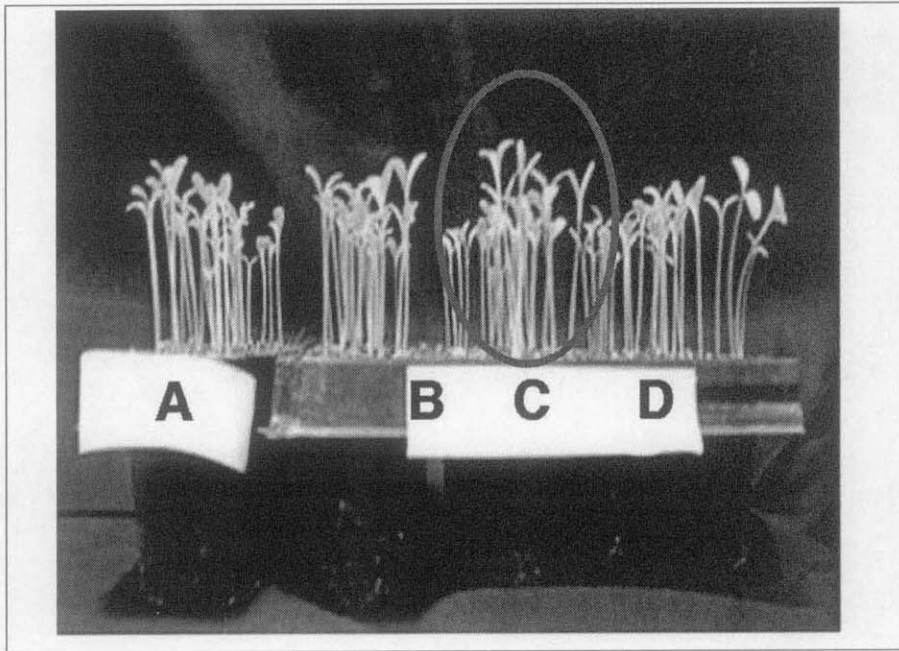
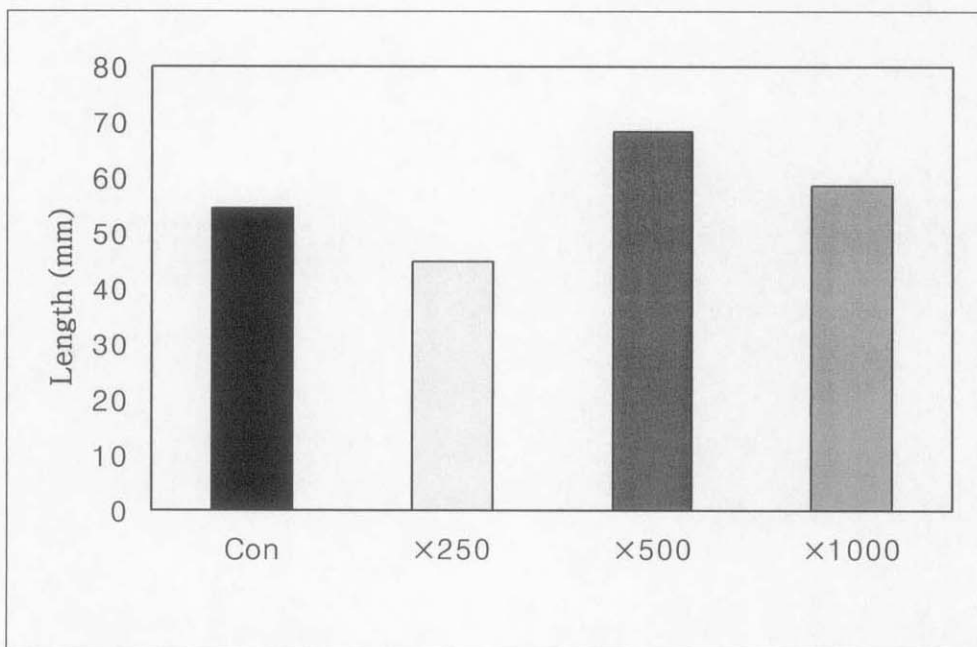


Fig. 69. Effect of seaweed extracts on the growth of lettuce on the seeding 18th day in horticultural pots.

A : Control, B : x250, C : x500, D: x1,000



**Fig. 70.** Germination ratio of lettuce seeds by dilution rate of mixed fertilizer No. 4 prepared from seaweed extract.

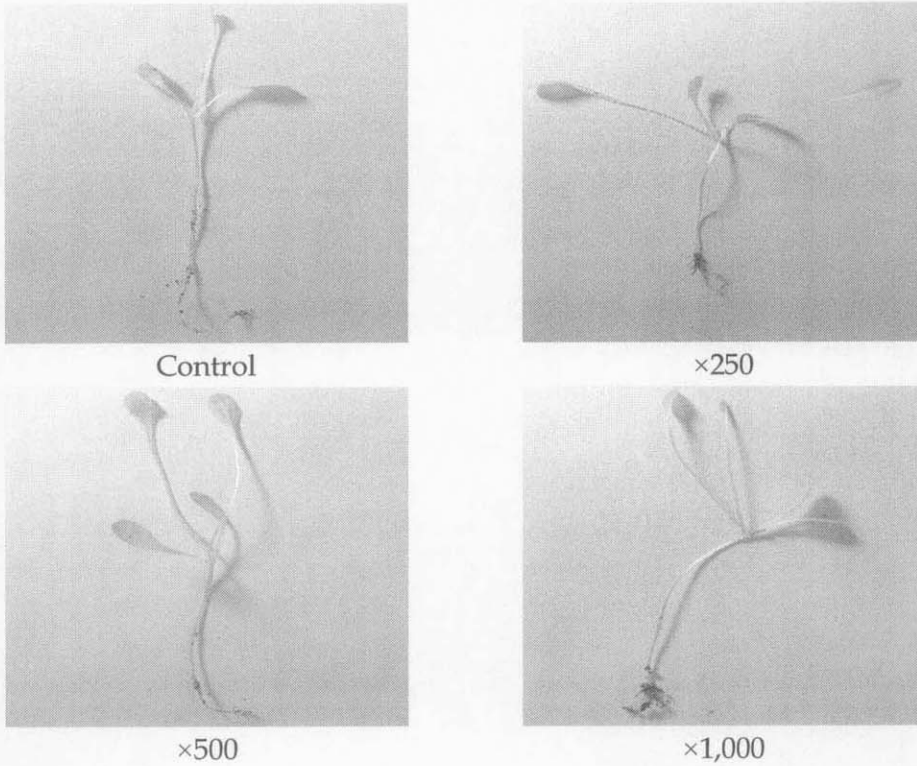


Fig. 71. Length growth of lettuce seeds by mixed fertilizer No. 4 prepared from seaweed extract.

#### 4) 해조-토양 클러스터의 비료학적 특성

##### 가) 발아율 시험

해조-토양 클러스터의 적치마 상추의 발아율에 대한 효과를 Petri-dish 상에서 조사한 결과는 Table 33과 Fig. 72에 나타낸 바와 같다. 즉, 발아율은 대조구 A를 포함한 4개의 실험구 중 C 조건 (미역-토양 클러스터)이 가장 뛰어났다. 나머지 B, D 조건은 대조구보다 발아율이 낮은 것으로 나타났다.

**Table 33. Germination ratio of lettuce seed by each condition (%)**

| Condition                        |     | Time (hr) |     |     |
|----------------------------------|-----|-----------|-----|-----|
|                                  |     | 48        | 72  | 120 |
| A<br>(Control)                   | A-1 | 20        | 30  | 80  |
|                                  | A-2 | 20        | 55  | 100 |
|                                  | A-3 | 10        | 55  | 100 |
|                                  | A-4 | 10        | 25  | 70  |
|                                  | A-5 | 10        | 30  | 75  |
| B<br>(Loess cluster)             | B-1 | 10        | 25  | 85  |
|                                  | B-2 | 0         | 50  | 100 |
|                                  | B-3 | 0         | 25  | 90  |
|                                  | B-4 | 30        | 60  | 100 |
|                                  | B-5 | 35        | 20  | 85  |
| C<br>(Sea mustard-loess cluster) | C-1 | 20        | 55  | 100 |
|                                  | C-2 | 25        | 70  | 100 |
|                                  | C-3 | 40        | 100 | 100 |
|                                  | C-4 | 30        | 90  | 95  |
|                                  | C-5 | 20        | 75  | 90  |
| D<br>(Sea tangle-loess cluster)  | D-1 | 15        | 40  | 85  |
|                                  | D-2 | 20        | 35  | 80  |
|                                  | D-3 | 30        | 45  | 95  |
|                                  | D-4 | 30        | 50  | 100 |
|                                  | D-5 | 40        | 55  | 100 |

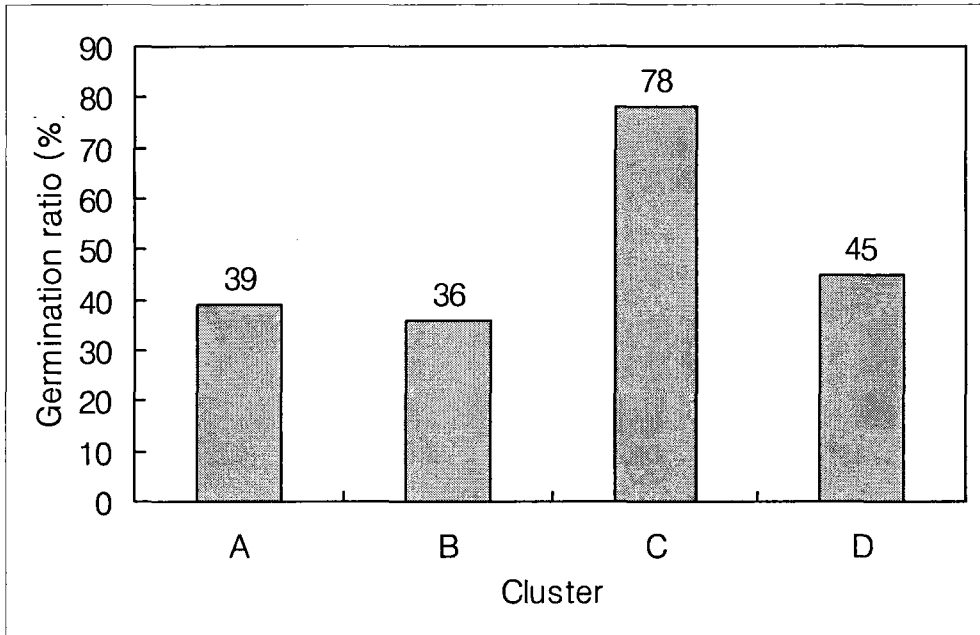


Fig. 72. Mean value of germination ratio for each cluster after 72 hr in the Petri-dish.

#### 나) 생육 시험

해조-토양 클러스터의 적치마 상추의 발아율 및 생육상태에 미치는 영향을 원예용 포트 상에서 조사한 결과는 Fig. 73 및 Fig. 74과 같다. 즉 시험 결과를 보면 각 조건에 따라 상추의 생육상태에 차이가 나타났는데, 특히 C 조건 (미역 클러스터)은 다른 3가지 조건의 경우보다 발아율 및 생육상태에서 우수하였고, 적치마 상추 종자의 발아율은 C 조건에서 치상 5일 후에 82% 이상 발아가 되었으며 A 조건 (대조구)을 포함한 나머지 B (황토 클러스터) 및 D 조건 (다시마 클러스터)에서는 치상 7일째 발아되었다.

또한, B 조건은 대조구보다 오히려 평균 생장을 및 발아율이 떨어지는 것으로 나타났다. 즉 대조구를 포함한 4가지 조건의 생육상태는 C 및 D 조건이 상추의 길이뿐만 아니라 잎의 전개 등을 매우 촉진하는 것으로 나타나 식물생육에 효과적인 것으로 판단된다.

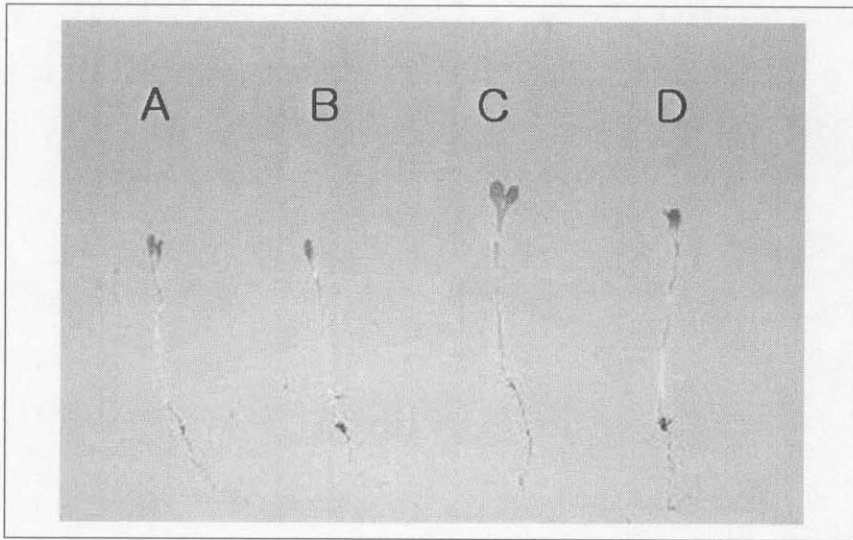


Fig. 73. The photograph of growth and root development of lettuce on the seeding 15th day by each cluster in the Petri-dish.

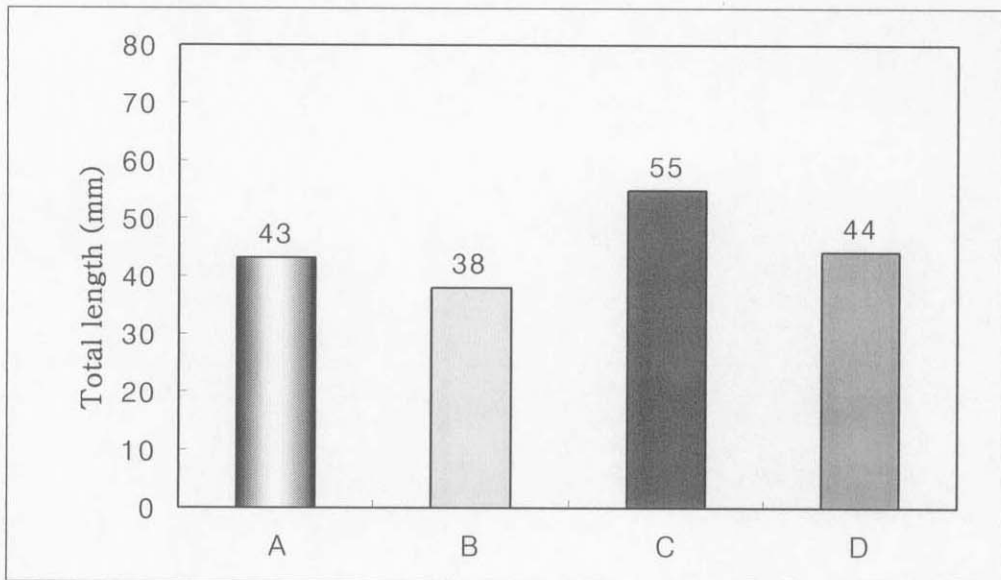


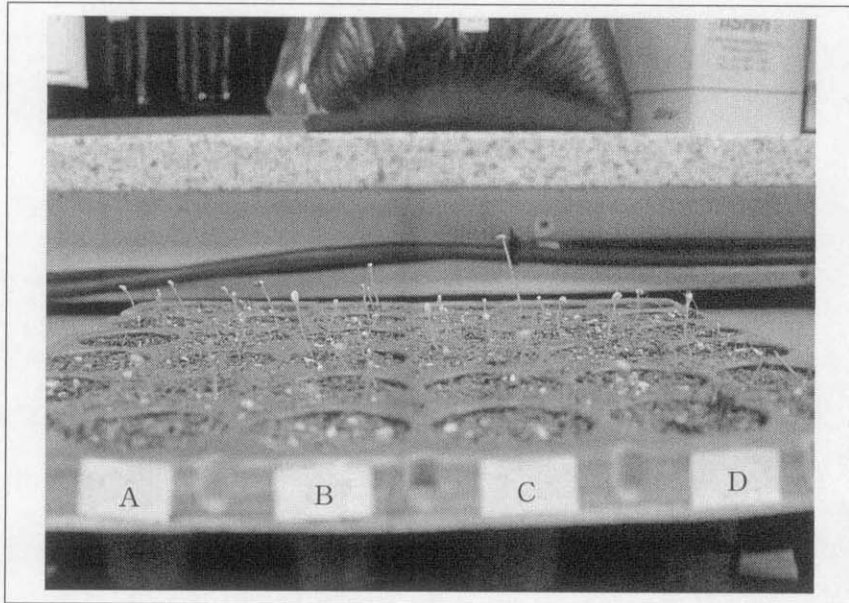
Fig. 74. The total length of lettuce lettuce on the seeding 15th day by each cluster in the Petri-dish.



한편, 해조-토양 클러스터의 길이생장 및 뿌리활착에 미치는 영향을 원예용 포트 상에서 조사한 결과 (Fig. 74~80), C 조건 (미역-토양 클러스터)이 가장 뛰어났다. D 조건 (다시마-토양 클러스터)의 경우 발아시점과 발아율은 낮았으나 발아 후 포토 상에서 잔뿌리가 다른 실험구보다 많은 것으로 보아 뿌리 활착력은 우수한 것으로 사료된다.

즉, 해조-토양 클러스터는 농업용 비료로서 적치마 상추의 발아율 시험과 생육실험에서 무처리구보다 초기 발아율과 식물생장을 촉진시키는 것으로 나타났는데, 이는 해조류에서 유래되는 유기질이 작물 생육에 미치는 효과가 우수하여 유기질 토양개토제로서의 시장 접근성이 다른 소재에 비해 용이하게 접목될 수 있다고 생각된다.

따라서 해조-토양 클러스터는 식물생장에 우수한 효과를 나타내고 있어 친환경적이면서 작물생육에 효과적인 기비 비료로서의 시장 접근 가능성이 있으리라 생각된다. 그러나 기존의 토양개토제 시장이 크게, 퇴비 시장과 기비 시장으로 구분되어 있으나 퇴비 시장에 비해 비교적 고부가가치의 효과가 있는 기비물질로써의 응용이 필요하다고 판단되어진다.



**Fig. 75. Potting 10 seeds of lettuce in horticultural pots.**



**Fig. 76.** Effect of seaweed-soil clusters on the growth of lettuce on the 7th day of seeding in horticultural pots.  
A : Control, B : Loess cluster, C : Sea mustard cluster,  
D : Sea tangle cluster

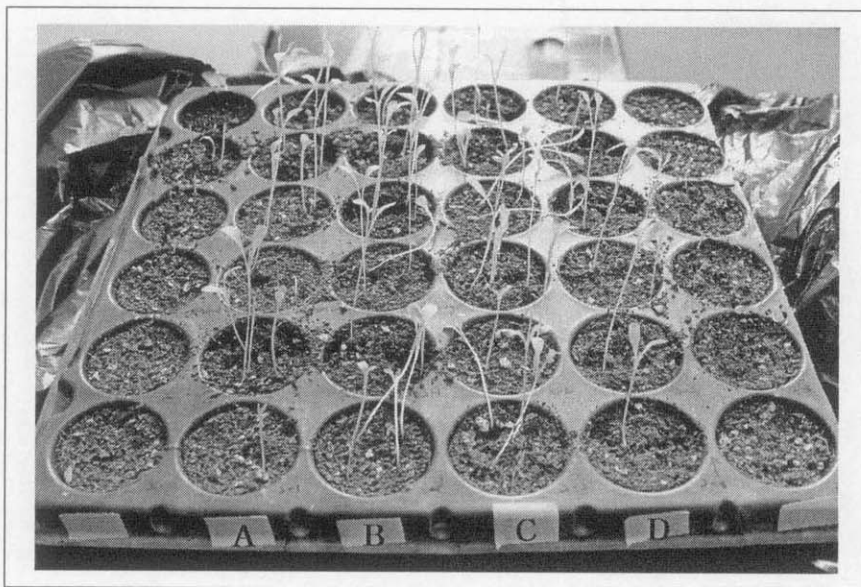
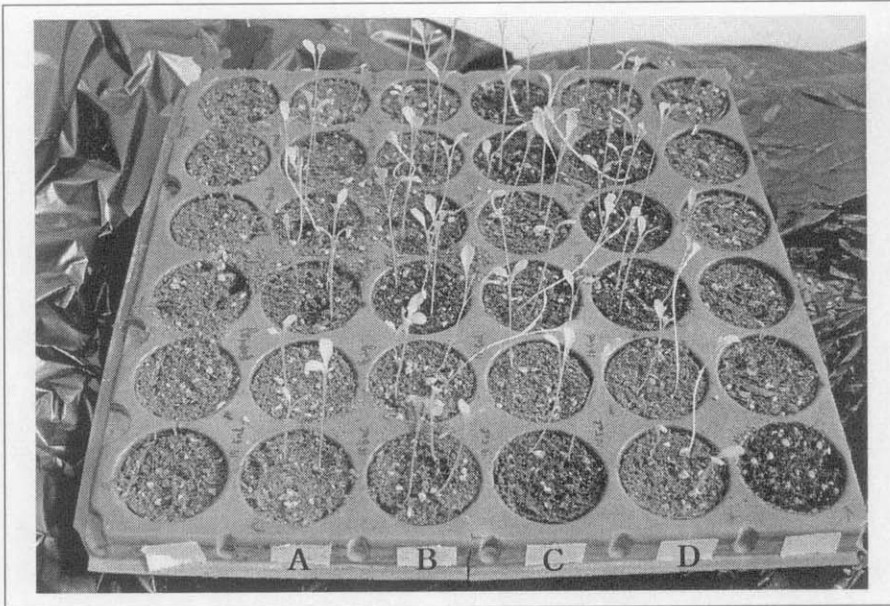


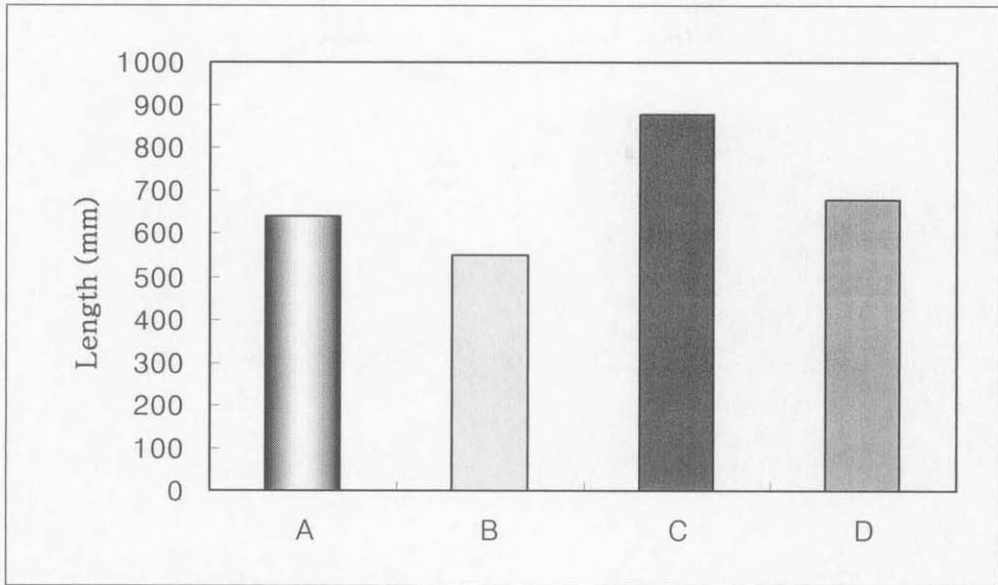
Fig. 77. Effect of seaweed extracts on the growth of lettuce on the 10th day of seeding in horticultural pots.  
A : Control, B : Loess cluster,  
C : Sea mustard cluster, D : Sea tangle cluster



**Fig. 78.** Photograph of the growth of lettuce on the 18th day in horticultural pots.

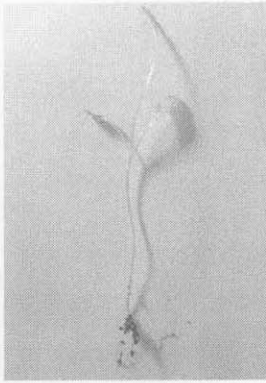
**A :** Control, **B :** Loess cluster,

**C :** Sea mustard cluster, **D :** Sea tangle cluster

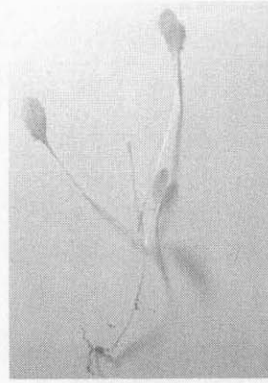


**Fig. 79.** The growth length of lettuce on the 18th day in the horticultural pots.

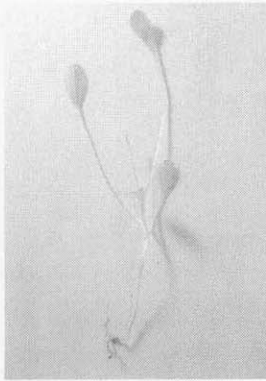
A : Control, B : Loess cluster, C : Sea mustard cluster,  
D : Sea tangle cluster



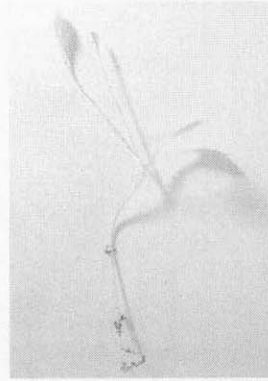
A (Control)



B (Loess cluster)



C (SM-loess cluster)



D (ST-loess cluster)

**Fig. 80. The growth length and root development of lettuce on the 18th day in the horticultural pot.**

**SM : Sea mustard, ST : Sea tangle**

## 제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 가. 연구개발 목표의 달성도

본 연구는 해조류 가공 부산물로부터 성장홀몬 및 관련 케미칼의 산업화 응용 기술을 개발, 해조류 유래 특수 유용 성분을 이용한 농작물 천연비료, 가축 성장 촉진 사료, 기능성 식품 재료 등으로 응용할 수 있는 산업화 공정 및 제품화 기술 개발로 산업적 제품 생산을 최종목표로 설정 추진하였다. 이러한 목표 달성을 위하여, 해조류의 성분특성, 해조류 품종별, 부위별, 성장 홀몬의 탐색 및 분석, 활성물질의 분리 정제 기술은 유용 케미칼의 산업적 가공 적성을 확립하는 것으로, 구체적으로는 각종 원료로 이용 가능한 해조류의 성분 특성 및 HPLC를 이용한 성장홀몬의 분석 및 생물검정법에 의한 활성물질의 검색, 활성물질의 분리 정제를 위한 추출조건을 검토하고 액상 및 분말상 시제품을 제조하였다. 즉, 원료 해조류의 수집, 해조류 성분 특성, 성장 홀몬의 분리 및 HPLC에 의한 분석법 확립, 생물검정법에 의한 활성물질의 검색, 활성물질의 분리 정제기술, 해조 extract 제조기술 등은 앞으로 유용케미칼의 산업적 가공을 위한 기반 여건을 확립하였다. 또한 대상 해조류의 활성물질의 생물학적 검정, 기기분석에 의한 성장 활성성분의 확인, 활성물질의 산업화 적용 시험을 수행하였으며 생물검정법에 의한 활성물질의 검색, 성장활성 물질의 기기분석 및 해조류 액상 농축물, 분말 및 토양-클러스터 시제품을 제조하고 그 효능을 시험하여 유기농 비료제로서의 사용 가능성을 확인하였다. 또한 비료학적 특성 및 제품의 품질 안정성을 확인하여 해조 extract, powder 및 해조-토양 클러스터 제품의 제조기술 등은 앞으로



해조류 유용케미칼의 산업적 이용을 위한 기반 여건을 확립하였다고 할 수 있다.

#### 나. 상기 평가의 착안점에 따른 달성도에 대한 자체평가

본 연구는 원료 해조류의 성분 특성 시험과 해조류 품종별, 부위별, 성장 홀몬 및 관련 케미칼의 탐색, 활성물질의 분리 정제, 활성성분의 기기분석 및 확인, 산업적 이용을 위한 해조 extract, powder 및 해조-토양 클러스터 제품의 제조, 품질 안정성 및 제품 특성, 농작물 비료로서의 효능 등을 검토하고 산업적 이용 기술을 확립한 것이라 할 수 있다. 본 연구결과를 종합적으로 평가할 때 가장 주안점으로 두어야 할 사항으로서는, 해조류 중의 성장 홀몬 및 관련 케미칼의 분리, 정제 분석 방법이라 할 수 있다. 활성물질의 분석은 정확성과 편리성 때문에 HPLC로 분석하기 위한 조건을 선정하는데 많은 노력을 기울였다. 해조류로부터 대표적으로 4종류의 활성성분을 여러 가지 방법으로 추출, 분리, 정제하여 분석 지표성분으로 이용가능성을 타진하였다. 또한 분석 대상 활성물질의 특성에 따라 HPLC에 의한 분석에 이용하기 위한 각종 분리 용매와 분석조건을 선정하기 위하여 여러 가지 방법을 검토하였다. 이와 병행하여 생물검정 시험을 실시하여 활성물질을 검색하였다. 또한 해조류 가수분해 조건을 검토하여 액상 및 분말형 시제품을 제조하였으며, 현장에서의 편리성을 감안하여 해조-토양 클러스터 형태 제품을 개발하였다. 천연 농작물 비료, 성장촉진제 등 다양한 용도의 제품을 제조하기 위하여 기반이 되는 활성물질의 검색 기술의 확립, 해조류 중의 활성물질의 분리 정제 기술, 다양한 형태의 비료 제조 기술, 효능, 품질 특성 및 품질안정성 등을 검토하여 산업화 기반기술을 확립한 것으로 평가된다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 과제를 통하여 도출된 연구 결과는 다음과 같이 활용할 계획이다.

1. 기술실시계약을 통한 산업화 : 현재 참여기업 외에 2~3개 업체에 산업화를 위한 사전협의를 진행 중에 있다. 참여기업과 협의하여 산업화 가능성이 가장 우수하다고 인정되는 기업과 기술실시계약을 체결할 예정이다.
2. 교육 및 지도활용 : 참여기업 및 관심있는 산학연에 특강 및 기술지도를 할 계획이다.
3. 학술지 게재 : 본 과제를 통하여 얻은 기술을 보호하기 위하여 기술실시계약이 이루어지면 이와 동시에 특허를 출원하고, 관련 학술지에 투고 게재할 계획이다.
4. 학술발표대회 : 이미 지난 2007년 춘계 한국수산학회 공동 학술발표대회에 2편의 논문을 구두 및 포스터 발표하였으며, 추계 학술발표대회에도 추가 발표할 계획이다.
5. 언론 및 저널보도 : 이미 관련 전문 월간지에 관련 정보의 일부를 투고 게재된 바 있으며, 앞으로도 기회가 되면 기술이 노출되지 않는 범위 내에서 보도 자료로 활용할 계획이다.
6. 전시회 및 기타 홍보 : 기술실시계약이 이루어지고 산업화가 이루어지면 각종 전시회에 참가 제품을 홍보할 계획이다.

## 제 6 장 참고문헌

- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington DC., pp. 409~410.
- Archibald, D. D., Kays, S. E. 2000. Determination of total dietary fiber of intact cereal food products by near-infrared reflectance. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4477~4486.
- Black, W.A.P., Cornhill, W.J., Dewar, E.T. & Woodward, F.N.(1951). Manufacture of algal chemicals. II. Laboratory'scale isolation of laminarin from brown marine algae. *J. Appl. Chem.* 1, 505~507
- Cho, D. M., D. S. Kim, D. S. Lee, H. R. Kim and J. H. Pyeun. 1995. Trace components and functional saccharides in marine algae. 1. Changes in proximate composition and trace elements according to the harvest season and places. Elements according to the harvest season and places. *J. Korean Fish. Soc.*, 28(1), 49~59 (in Korean).
- Dubois, M., K. A. Gillis, J. K. Hamilton, P. A. Rdbers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350~356.
- Ebihara, K., S. Kiriyaama. 1990. Physico-chemical Property and Physiological Function of Dietary Fiber. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 37(11), 916~933.
- Fujihara, M. and T. Nagumo. 1989. Determination of the molecular weights of alginates by agarose gel filtration. *J. Chromatography*, 465. 386~389.

- Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., Martin-Belloso, O. 2001. Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples. *J. Agric. Food Chem.* 49, 952~957.
- Haug, A. & Larsen, B. 1962. Quantitative determination of the uronic acid composition of alginates. *Acta Chem. Scand.* 6, 1908~1918
- Haug, A, B, Larsen and O, Smodsrod. 1967. Studies on the sequence of uronic acid residues in alginic acid. *Acta Chem. Scand.*, 21, 691~704.
- Haug, A. 1959. Fractionation of alginic acid. *Acta Chem. Scand.*, 13(3), 601~602.
- Haug, A. and B. Larsen. 1964. Studies on the composition and properties of alginates. IV Congress International Des Algues. 331~337.
- Hirada, S., N. Aoyama. 1989. 水溶性食物繊維の食品への利用. *New Food Industry*, 31(5), 18~23.
- Jensen, J. B., H. Egsgaard, H. V. Onckelen, and B. U. Jochimsen. 1995. Catabolism of indole-3-acetic acid and 4- and 5-chloroindole-3-acetic acid in *Bradyrhizobium japonicum*. *J. Bacteriol.* 177(20), 5762~5766.
- Kim, C. Y. and Y. H. Park. 1975. Alginic acid contents in brown algae. *Bull. Nat. Fish. Univ. Busan*, 15(1,2), 27~30 (in Korean).
- Kim, D. S. and Y. H. Park. 1985. Uronic acid composition, block structure and some related properties of alginic acid. 3. On alginic acid

prepared from *Sargassum ringgoldianum*. J. Korean Fish. Soc., 18(1), 29~36 (in Korean).

Kim, D. S., D. S. Lee, D. M. Cho, H. R. Kim and J. H. Pyeun. 1995. Trac components and functional saccharides in marine algae. 2. Dietary fiber contents and distribution of the algal polysaccharides. J. Korean Fish. Soc., 28(3), 270~278 (in Korean).

Korean Fisheries Association. 1996. Catches by species, 418~419, Dong Yong Moon Hua Printing Co. Ltd., Seoul, Korea (in Korean).

Lee, M. J. 1989. Bioassays of plant hormones and plant growth regulating substances. I. Auxins, gibberellins, and cytokinins. Hanjacgi, 1, 4~15(in Korean)

Lee, J. M., W. S. Kwon., T. J. Lee, H. S. Ham, and H. J. bang. 1999. Quantification of cytokinins by HPLC after purification with immuno affinity chromatography and application to crop production. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 40(1), 13~18(in Korean)

Mori, B., K. Kusima, T. Iwasaki and H. Omiya, 1981. Dietary fiber content of seaweed. Nippon Nogeikagaku, 55(9), 787~791 (in Japanese).

National Fisheries Research and Development Agency. 1989. Chemical composition of marine products in Korea. Yemunsa, 64~69(in Korean).

Nishide, E. 1981. Extraction of fucose-containing polysaccharide from the brown alga *Kjellmaniella Crassifolia*. Bull. Jpn. Soc, Fish., 47 (9), 1233~1235.

- Nishide, E., Y. Kinoshita, H. Anzai and N. Uchida. 1988. Distribution of hot-water extractable material, water-soluble alginate and alkali-soluble alginate in different parts of *Undaria pinnatifida*. Nippon Suisan Dakkaishi. 54 (9), 1619~1622(in Japanese).
- Nishimune, T., T. Suminoto, T. Yakusiji and Kunita. 1991. Determination of total dietary fiber in Japanese foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 74(2), 350~359.
- Noda, K. and K. Takada. 1983. Mannuronic to guluronic acid ratios of alginic acids prepared from various brown seaweeds. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49 (10), 1591~1593.
- Ooishi, K.I. 1994. Nutrition of seaweeds in seaweed science. Asakura Shoten. Tokyo, Japan, 132~138 (in Japanese).
- Oscare, E. A. and S. P. Ivan. 1984. Selenium in foods purchased or produced in south Dokata. J. Food Sci., 49, 446~452.
- Park, Y. H. 1969. Seasonal variation in the chemical composition of brown algae with special reference to alginic acid. J. Korean fish. Soc., 2(1), 71~82(in Korean).
- Percival, E. & McDowell, R. H. 1967. Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides, Academic Press, London & New York.
- Quillet, M. 1958. Glucide Metabolism of Brown Algae. Presence of small quantities of laminarin in numerous new species, distributed over the entire group of *Phaeophyceae*. Compt. Rend. Hebd. Seanc. Acad. Sci., Paris 246, 812~815.

- Suzuki, T., K. Nakai, Y. Yoshie, T. Shirai and T. Hirano. 1993. Seasonal variation in the dietary fiber content and molecular weight of soluble dietary fiber in brown alga, Hijiki. *Nippon Suisan Dakkaishi*, 59(9), 1633
- Tsuji, K. 1989. 食物繊維とコレステロール代謝. *New Food Industry*, 31(8), 9~17.
- Zvyagintseva, T. N., Shevchenko, N. M., Popivnich. I. B., Isakov, V. V., Scobun, A. S., Sundukova, E. V., Elyakova, L. A. 1999. A new procedure for the separation of water-soluble polysaccharides from brown seaweeds. *Carbohydrate Research*. 322, 32~39.
- 安本教傳, 吉田宗弘. 1988. セレンの食品化学. *Nippon Nōgeikagaku Kaishi*, 62(7), 1090~1093.
- 堀口辰司. 1962. ワカメ加工に関する試験-1. 昭和 36, 37年度 千葉県 水試事業報告, 208~218.
- 佐藤照彦, 坂本正勝, 船岡輝幸. 1969. ワカメの加工について-6. ワカメの保藏試験, 北水試月報, 26(12), 25~47.
- 渡邊忠美, 西澤一俊. 1982. 灰干しおよび素干しワカメにおける アルギン酸リアセ活性の比較研究, 日水誌, 48, 237~241.
- 김동수, 박영호. 1984. 알긴산의 화학적 조성 및 그 물성에 관한 연구, 한국수산학회지, 17, 391.

김길환, 김창식. 1982. 미역김의 제조와 이화학적 특성에 관한 연구, 14, 336.

나정주. 1982. 해초유동식의 제조방법. 대한민국 특허청, 738, 33

李斗石, 李彰國, 張英順. 1996. 韓國沿岸 海藻類의 食餌纖維 含量. 水振研究報告, 52, 99~106.

李仁圭. 姜在源. 1986. 韓國産 海藻類의 目錄. 藻類學會誌, 1(1), 311~326. 농림수산부, 1991. 농림수산통계연보. p.300.

이강호, 유병진, 정인학. 1983. 염장미역의 가공 및 저장조건. 한국영양식량학회지, 12, 66.

이응호, 차용준, 김정균, 권칠성. 1983. 해조류의 가공 및 이용에 관한 연구. 한국영양식량학회지, 12, 382.