

해양미생물을 이용한 유용물질의 생산

공 재 열

부경대학교 식품생명공학부 생물공학전공

해양은 그 특이한 환경으로 인하여 서식하고 있는 생물 및 미생물의 분포와 종류가 다양하여 학술적·실용적으로 흥미있는 대사산물의 보고라고 할 수 있다. 그러므로, 다양한 해양환경 속에는 우리에게 유용한 생물소재 혹은 지금까지 알려지지 않은 신물질들을 생산하는 수많은 해양생물들이 존재하리라 기대되고 있으며, 이러한 해양생물은 천연자원이 부족한 우리나라의 실정을 고려할 때 대단히 중요한 연구대상이라 할 수 있다.

해양생물공학이 생물공학의 새로운 응용분야로서 관심의 대상이 된 것은 생물공학 기술과 1970년대 이후 천연물화학이 해양생물에 접목되면서부터 이다. 또한 해양생물은 주로 단순한 식량자원, 비료, 사료 등의 저 부가가치성 소재로만 이용되어 왔으나, 서식환경이 육상생물과 다른 수생환경에 적응되어 있는 해양생물의 생리대사물질이 육상생물의 것과 다른, 특이한 화학구조를 가지고 있는 것으로 보고됨으로써 해양생물의 다양한 생리활성이 알려지기 시작하였다. 최근 해양생물 유래의 생체고분자 물을 의약품, 식품, 소재산업 등에 응용할 수 있는 유용자원으로 개발하기 위하여 생물공학기술을 응용하려는 시도가 이루어지고 있다. 특히 해양미세조류나 해양미생물은 대형 해조류나 해산동물에 비해 성장이 빠르고, 인공적으로 대량배양이 가능하며, 유전자재조합 및 단백질공학 같은 새로운 생물공학기술을 적용하기가 비교적 용이하여 유용하게 사용될 수 있다.

지금까지 본 연구자는 우리나라 연안의 각 지역으로부터 많은 해양미생물을 분리·보존하여 왔다. 이러한 해양미생물들은 육상유래 미생물과는 다른 생리적·생태적 특성을 나타내었으며, 특히 이들 중에는 유용물질을 생산하는 능력을 가진 균주도 다수 존재하였다.

그 중에서도 특히, 다당류를 생산하는 미생물, 다당류(한천)를 분해하는 미생물, 유류를 분해하는 미생물 다수를 분리하여 이들이 생산하는 유용물질의 개발을 위하여 이들 해양미생물을 동정하고, 유용물질의 생산을 위한 배양조건과 생산 유용물질의 분리, 물리·화학적 특성조사, 구조분석 등을 행하였으며 산업적으로 응용할 수 있는

방법에 대해서도 연구하였다.

1. 고 기능성 다당류를 생산하는 해양미생물

미생물 유래 다당류(polysaccharide)에 관한 연구는 1942년 *Leuconostoc mesenteroides*가 생산하는 dextran이 혈장증량제로 개발된 이래 xantangum, pullulan 등을 비롯한 여러 가지 다당류에 대하여 기초 및 응용연구가 진행되어 왔다.

이러한 미생물 유래 다당류는 분자량, 구성당의 종류, 결합순서, 결합양식, 결합위치 등에 따라 많은 종류가 존재하며 이들은 점성을 갖거나 분산을 용이하게 하는 성질을 지니고 있으며, 조건에 따라 겔 형성능, 유화안정능, 표면장력의 조절능, 수분흡수능, 점착능, 윤활능 및 필름형성능 등의 광범위한 기능을 가지고 있다. 본 연구실에서 한국 남해안의 해수로부터 분리한 다당류 생산 미생물을 동정한 결과, 지금까지 알려진 *Zoogloea* sp.와는 다른 균학적 특성을 지닌 새로운 *Zoogloea* sp.(KCCM 10036)로 판명되었다. 본 미생물은 지금까지 알려진 *Zoogloea* sp.들이 한 종류의 다당류를 생산하는데에 비하여 서로 다른 두 종류의 다당 즉, 세포외다당(water-soluble polysaccharide : WSP)과 세포벽부착다당(cell-bound polysaccharide : CBP)을 생산하는 새로운 특성을 지니고 있었다.

이 두 종류의 다당류는 서로 다른 조성과 성질을 지니며, CBP를 이용한 고정화 효소의 제조 및 그 효소의 비드화(bead) 방법에 대해서도 연구하였다.

두 종류의 다당류의 최적생산을 위한 미생물배양배지의 조성성분을 조사한 결과, biotin의 첨가에 의해 더욱 증가되었으며, 발효조 내의 공기 공급량을 조절함으로써 WSP와 CBP의 선택적 차별생산이 가능하였다.

이들 다당류의 산업적 응용을 위한 기초자료로 유동학적 특성을 조사한 결과, 농도 0.4% 이상의 용액에서는 의가소성 non-Newtonian 유체의 특성을 나타내었고, 증류수에 용해시켰을 경우 가장 높은 점도를 보였다.

WSP와 CBP를 이용하여 bead를 만든 후 중금속 흡착능을 조사한 결과, 매우 높은 bead 강도와 중금속 흡착능을 보였으며, bead는 회수가 가능하므로 폐수처리시 중금속 흡착을 위하여 사용되었을 경우, 2차오염의 방지효과도 기대할 수 있다. 이외에도 이들 다당류는 alginate에 버금가는 새로운 고정화지지체로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

또한, 본 미생물이 생산하는 두 가지 서로 다른 다당류의 조성, 물리화학적 특성, 생리기능성 등을 검토하였다. 다당의 분자량은 WSP, CBP가 각각 4.07×10^6 , 3.43×10^6 였으며, 산 가수분해물을 분석한 결과, WSP, CBP는 Glucose, galactose, mannose을 함유하고

있으며, carboxyl group 및 β -glycosidic bond로 이루어진 것으로 관찰되어졌다. 기존 산업화된 다당류에 비해 높은 응집활성, 우수한 유화안정성, 수분 보수력을 함유한 것으로 나타났으며, 암세포 증식억제작용, 면역증강효과 등이 뛰어난 것으로 나타났다.

이러한 우수한 결과를 종합하여 다양한 산업부분에서 유화제, 겔형성제, 필름 형성제, 안정제, 점착제, 접착제, 중금속 흡착제 및 의약제재 등 신 바이오소재로서의 이용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

2. 한천올리고당을 생산하는 한천분해효소

해양에 존재하는 수많은 해조류 중에는 공업적 목적이나 식량으로서 사용할 수 있는 각종의 다당류가 존재하고 있으며, 한천, alginate, carrageenan 등은 이러한 다당류의 대표적인 예라고 할 수 있다. 그 중에서도 특히 한천은 홍조류로부터 추출되는 다당으로, 각종 식품산업 및 의약품 산업에서 이용되어 지고 있으며, 미생물의 배양배지와 electrophoresis, gel chromatography 등에도 널리 사용되고 있다.

이러한 한천의 분해 산물인 한천올리고당은 지금까지 알려진 각종 올리고당이 가지는 특징 외에도 난소화성, 전분노화억제, 정균작용 등의 기능성을 지니는 것으로 밝혀졌다. 그 기능성 등을 고려해 볼 때, 한천올리고당의 응용가능성은 대단히 뛰어나다고 할 수 있으며, 경제성도 매우 크게 기대되고 있다.

따라서 본 연구자는 해양으로부터 한천분해능을 가지는 미생물을 선별한 후, 효소의 대량생산에 의한 기능성 한천올리고당의 생산에 관하여 조사하였다. 먼저, 해양으로부터 한천분해능이 뛰어난 미생물을 분리하여 동정하고, 이들이 생산하는 한천분해효소(agarase)를 정제하여 생화학적 특성을 밝히고, 이들 효소를 이용하여 기능성 한천올리고당의 생산에 관해서도 검토하였으며, 유전자 조작에 의한 효소의 대량 생산 및 생물공정 설계를 통한 한천분해효소의 대량생산을 시도하였다.

이를 위하여 한국의 남해안에서 채취한 시료로부터 한천분해능에 뛰어난 세 균주 *Pseudomonas* sp., *Bacillus cereus*, *Cytophage agarovrans* 등을 분리·동정하였으며 각각의 미생물을 이용하여 한천분해효소 생산에 관한 최적 조건 및 생산된 한천분해효소의 특성을 조사하였다.

이러한 한천올리고당의 대량생산 공정설계를 하고, 효소고정화, 효소고정화 반응기를 이용한 회분식 및 연속식 가동으로 한천올리고당의 대량생산과 고농도의 한천을 기질로 사용한 올리고당 생산성 실험을 하였으며 실험결과와 자료를 바탕으로 한천올리고당 생산 공정을 설계하였다.

생산된 한천올리고당은 수용성 황색 분말로 100% 물에 용해되며 기존의 제품화된

올리고당에 비해서 고점성, 뛰어난 내산·내열성, 저 감미도를 지니고 있었으며, 기존의 제품화된 올리고당이 체내 흡수되는 당을 30%이상 함유하고 있는 것과는 달리 체내 흡수되는 당의 함량은 5%미만인 것으로 확인되어 한천을 기질로 생산된 한천올리고당은 훨씬 높은 올리고당 함유율을 가진 것으로 확인되었다. 또한, 항암작용, 면역활성 증강 기능, 항산화 기능(노화방지), 항 돌연변이성, 장내 병원성물질의 체내성장 억제, 변비 개선작용, 혈중콜레스테롤 저하, 정균작용, 당뇨병예방, 혈압상승억제 작용, 항균 및 항충치성 등의 다양한 기능성을 가지고 있어 기능성 식품, 건강보조식품, 식품물성 개량제, 음료와 주류 첨가제 이외에도 의약보조제, 화장품 보습제 등의 용도로 사용가능할 것으로 기대되어 진다.

3. 해양미생물이 생산하는 생물유화제에 관한 연구

최근, 잦은 선박사고, 해저유전 및 정유소로부터의 원유 유출, 각종 폐유의 유입 등에 의한 만성적인 해양오염은 날이 심해지고 있는 실정이며, 이러한 석유에 의한 해양오염은 자연환경 및 생태계에 영향을 미칠 뿐만 아니라 수산업에도 심각한 피해를 주고 있는 세계적인 문제점으로 대두되고 있다.

한편, 석유로 인해 오염된 해양의 환경복구를 위하여 석유를 분해하는 유화제(emulsifier, surfactant)가 널리 사용되고 있으나, 현재까지 개발되어 있는 대부분의 유화제는 화학합성에 의존하고 있기 때문에 과량으로 사용하였을 경우, 2차 오염을 일으킬 수 있는 문제점을 지니고 있다. 따라서 이러한 문제점의 해결을 위하여 원유를 비롯한 탄화수소 분해에 관한 연구가 미생물이 생산하는 생물유화제(bioemulsifier, biosurfactant)를 중심으로 행하여져 왔다. 화학적으로 합성된 유화제와 비교하여 미생물이 생산하는 생물유화제의 장점은, 구조적 특징과 물리적 성질 외에도 유전공학이나 생화학적 기법을 이용한 유용변이주로부터의 생산이 가능하고, 무엇보다도 생분해가 가능하므로 2차 오염의 위험이 없다는 점 등을 들 수 있다.

따라서 유류에 의한 환경 정화 뿐만 아니라 식품산업 및 의약품산업 등을 포함하는 각종 산업에서의 수요를 만족시킬 수 있는 새로운 생물유화제의 개발 필요성은 대단히 크다고 할 수 있다.

따라서, 한국 남해안의 유류 오염지역으로부터 우수한 유류분해능을 지닌 해양미생물을 분리하여 동정한 결과, 간균의 형태의 *Pseudomonas aeruginosa*로 동정되었다. 생산된 생물유화제를 추출·농축하여 구조분석 결과, 2-O- α -L-rhamnopyranosyl- α -L-rhamnopyranosyl- β -hydroxydecanoyl- β -hydroxy decanoic acid methyl ester로 밝혀졌다. 생물유화제는 유화활성 및 유화안정성, 생분해능, 표면장력, 계면장력, 열 안정성 등이

화학합성 유화제에 비해 매우 우수하였으며, 반회분발효 및 Air lift 생물반응기에서 연속반응을 통해 대량생산이 가능하였다. 생산된 생물유화제는 항균활성이 뛰어나고, 독성실험 결과 식품첨가물로 사용 가능한 것으로 판명되었으며, 항돌연변이 생리활성, 우수한 중금속 흡착능, 그리고 항종양활성을 가지고 있는 것으로 나타났다. 화학유화제에 비하여 CMC 값이 60배, 표면장력 저하능이 2배 가량 우수하며, 폐생선 어유를 기질로 사용하여 질 높은 생물유화제를 대량 생산할 수 있어 가격과 기능면에서 시판되는 기존의 생물유화제에 비해 경쟁력 있을 것으로 판단된다.

4. 참고문헌

1. Jang, J. H., S. K. Bae, D. J. Lim, B. J. Kim, and J. Y. Kong(2002) Rheological Properties of Polysaccharides Produced by Marine Bacterium *Zoogloea* sp., *Biotechnol. Lett.*, **24**(4), 297-301.
2. 孔在烈(2000) 寒天を利用した高機能性食品素材の開発, *FOOD MACHINERY*, 65号 **17**(1), 20-22.
3. 김학주, 김봉조, 공재열, 구현서(2000) 남해안 해수로부터 원유분해세균의 분리 및 특성, *한국생물공학회지*, **15**(1), 27-34.
4. Kim, B. J., H. J. Kim, S. D. Ha, S. H. Hwang, D. S. Byun, T. H. Lee, and J. Y. Kong(1999) Purification and characterization of β -agarase from marine bacterium *Bacillus cereus* ASK202, *Biotechnol. Lett.*, **21**, 1011-1015.
5. Kong, J. Y., H. W. Lee, J. W. Hong, Y. S. Kang, J. D. Kim, M. W. Chang, and S. K. Bae(1998) Utilization of Cell-Bound Polysaccharide Produced by the Marine Bacterium *Zoogloea* sp. - New Biomaterial for Metal Adsorption and Enzyme Immobilization, *J. Marine Biotechnol.*, **6**(2), 99-103.
6. Kong, J. Y., S. H. Hwang, B. J. Kim, S. K. Bae, and J. D. Kim(1997) Cloning and Expression of an Agarase Gene from a Marine Bacterium *Pseudomonas* sp. W7, *Biotechnol. Lett.*, **19**(1), 23-26.
7. Kim, S. K., I. S. Kong, K. J. Kwon, C. H. Rha, A. J. Sinskey, and J. Y. Kong(1994) Exopolysaccharides produced by *Z. ramigera* Mutants and Analysis of Solution Properties, *Biotechnol. Lett.*, **16**(8), 789-794.
8. Kwon, K. J., K. J. Park, J. D. Kim, J. Y. Kong, and I. S. Kong(1994) Isolation of Two Different Polysaccharides from Halophilic *Zoogloea* sp., *Biotechnol. Lett.*, **16**(8), 783-788.