

해양 녹조류로부터 Eicosapentaenoic acid(EPA) 생산의 최적 光度에 관한 연구

이현용*·강재구

강원대학교 식품공학과

The Effects of Light Intensity in Producing EPA from Marine Green Algae

Lee, Hyeon-Yong* and Jae-Koo Kang

Department of Food Engineering, Kangweon National University, Chuncheon 200-701, Korea

It is proved that marine algae, *Chlorella pyrenoidosa* can synthesize about 3.52% of eicosapentaenoic (EPA) of dry cell weight at the light intensity of 10 W/m² which is optimal light intensity of producing EPA at 25°C. An equation to predict the amounts of EPA in the culture broth is derived as an exponential form with 0.91 of the correlation factor. The behavior of cell growth follows a photo-inhibition model by showing 12 W/m² of saturation light intensity.

최근 급증하고 있는 성인병인 고혈압 및 동맥경화의 원인인 혈청중의 low density lipoprotein (LDL)의 농도를 낮추며, 혈소판 응집능력의 저하 및 혈압강하작용이 있다고 알려진 고도의 불포화 지방산인 eicosapentaenoic acid(EPA, 20:5w3)의 상업적 생산에 관한 연구가 급속히 추진되고 있다(1-4). 현재까지 생산되는 EPA의 대부분은 어류들, 특히 정어리와 고등어의 지질에서 추출하고 있는 실정이다(5). 이 어류지질은 총 지방산중 약 16% 정도의 EPA를 함유하고 있는 것으로 알려지고 있다(6). 하지만 이 EPA는 어류가 생체내에서 스스로 생합성하는 것이 아니라, 해조류의 섭취로 축적됨이 보고됐다(7).

따라서 이런 해조류로부터 직접 EPA의 추출이 가능하지만, 이런 광합성 균체의 대량 배양방법 및 광에너지의 효율적 전환에 관한 연구가 미흡한 실정이어서(8-11), 지금은 저가 및 공급이 용이한 어류에 의한 대량추출이 경제성이 있는 실정이다. 하지만 몇종의 해양조류들은 40% 이상의 EPA를 포함하고 있을 뿐만 아니라, 안정성이 어류에서 분리된 것보다 우수한 장점을 포함하고 있어 이같은 조류들

의 배양기술 개발이 촉구되고 있다. 특히 이런 해조류들은 적은 면적에서 실내 배양이 가능할 뿐만 아니라, 연속배양에 의한 생산성의 증가를 도모할 수 있으며 계절의 영향을 받지 않고 공급의 안정성을 꾀할 수 있는 장점을 갖고 있다(10). 따라서 본 논문은 EPA를 생산할 수 있는 해조류의 하나인 marine green algae, *Chlorella pyrenoidosa*의 배양 및 EPA 생산을 위한 동력학적 연구를 수행하고자 한다.

배양조건

Marine green algae인 *Chlorella pyrenoidosa* 15-1250(Carolina Biological Supply, NC, USA)를 Ott 배지(12)와 BBM 영양소(조성은 다음과 같다(13): NaNO₃, 10g/l; CaCl₂·2H₂O, 1.0g/l; MgSO₄·7H₂O, 3.0g/l; K₂HPO₄, 3.0g/l; KH₂PO₄, 7.0g/l; NaCl, 1.0g/l)를 섞은 인공 해양배지에 접종시켜 25°C 진탕항온조에서 11 w/m²의 빛을 조사해 최적조건으로 배양시킨 후, 동일배지 100 ml를 담은 5개의 250 ml 삼각 플라스크에 각각 접종시켜 빛의 세기를 다르게 해 25°C에서 4 일 동안

회분배양시켜 균체무게와 체내에 합성된 전체 지방산 및 EPA 양을 측정했다. 광원은 20W 규격의 일반 형광등을 사용해, 항온조와의 거리를 변화시켜 빛의 세기를 조절하였다. 빛의 세기는 LI-180 quantum sensor(Licor, NL, USA)를 사용해 측정했으며, 균체량은 0.45 μ m 여과지로 거른다음, 105°C oven에서 24 시간 건조시킨 후 건조 무게량을 잰다.

지방산 및 EPA 측정

위에서 건조된 균체를 Hara 와 Radin 의 방법(14)에 따라 hexane 으로 지방을 추출시켜, methanol 로 ester 화 시켜 petroleum ether 로 지방산만을 분리 후, gas chromatography(K1L-1049, Waters, USA)로 retention time 을 알고있는 표준지방산(Applied Science, State College, PA)(internal standard, 17:0 fatty acid)과 비교해 190°C에서 정량분석했다. Column 은 100 mesh 규격을 가진 Chromosorb 15% EGSSY-Y 가 함유된 glass column(Applied Science, State College, PA)을 사용했으며, 수소를 carrier gas 로 썼다.

균체량과 EPA 생산에 대한 빛 강도의 영향

Table 1 은 빛의 세기를 변화시켜, 한 빛의 강도에서 4 일간씩 배양시킨 결과로, 빛의 강도에 따른 균체량 및 지방산의 함량변화를 알 수 있다. 전반적으로 낮은 빛의 강도에서 균체량 및 지방산, EPA 양이 적고, 빛의 강도가 증가함에 따라 균체량은 증가

했으나 지방산 및 EPA 양의 변화는 미미했다. 특히 전체 지방산의 양은 10% 로 일정하게 유지됐다. 즉 균체내의 지방산 양은 빛의 강도에 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 하지만 흥미롭게도 EPA 양은 빛의 강도에 영향을 받았으며, 이는 Orcutt 와 Patterson 의 결과(15)와 상반됐으나, 본 논문과 같은 균주를 가지고 실험한 Collyer 와 Fogg 의 결과(16)와는 유사한 경향을 보였다. 빛의 강도가 증가함에 따라 10 W/m²에서 최대 균체량을 형성한 후 감소하는 추세를 나타내고 있는데, 이는 이때의 빛의 강도가 saturated light intensity 임을 의미하며, 전체적으로 성장 model 은 photo-inhibition growth 임을 알 수 있다(17). 따라서 균체성장의 최적 빛의 세기는 약 10 W/m²이며 낮은 빛의 강도에서 균체성장률이 높은 강도때보다 느리기 때문에, 효과적인 빛의 전달이 균의 생육에 매우 중요한 효소임을 입증하고 있다.

또한 균체량에 따른 EPA 의 생산량과의 관계를 고려해 보면, 균체량이 증가함에 따라 EPA 양이 기하급수적으로 증가됨을 보이고 있어, 건조균체량에 따른 EPA 생산의 model 을 설정하기 위해 Fig.1 과 같이 도면화했다. Table 1 의 자료로서 균체량과 EPA 양이 서로 지수관계가 있을 것으로 예측해 자연대수로 전환시킨 결과 상관계수, ρ 가 0.91 로 좋은 직선관계를 나타냈다. 그 결과 식은 다음과 같다. $Y=0.663 \times X^{-1.16}$ 로, 여기서 Y 는 생성되는

Table 1. Results of cultivating green algae, *Chlorella pyrenoidosa* 15-1250 under various light intensities.*

Light Intensity, I (W/m ²)	Celldry weight, X (g/l)	Total fatty Acids (TFA) (%) ⁺	Total fatty Acids (TFA) (mg/l)	EPA (%) ⁺⁺	EPA (mg/l)
2	0.04	3.8	1.52	0.95	0.38
5	0.09	10.1	9.15	2.22	2.01
10	0.18	11.0	19.80	3.52	6.34
20	0.15	10.4	15.60	3.12	4.68
30	0.11	10.3	11.33	2.68	2.95

* Cultures were grown in 250 ml flasks under various light intensities at 25°C for four days, then cells were collected at 0.45 μ m filter paper to measure dry weight and amounts of fatty acids. Working volume was 100 ml.

+ Weight percentage of total fatty acids in dry cell weight.

++ Weight percentge of EPA in dry cell weight.

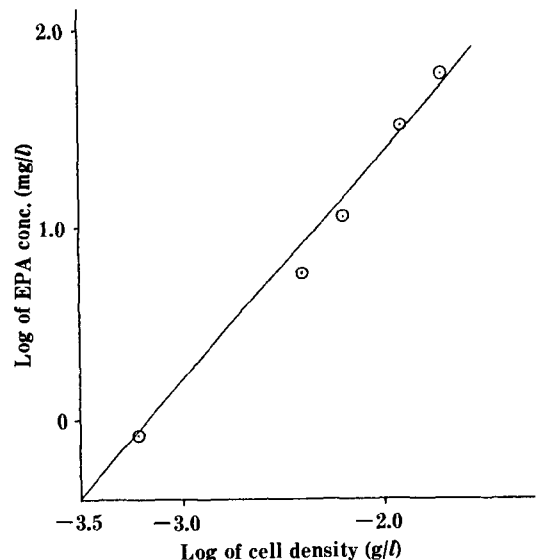


Fig. 1. Result of plotting log of cell density vs. log of EPA concentration.

Solid line is the result of linear regression analysis.

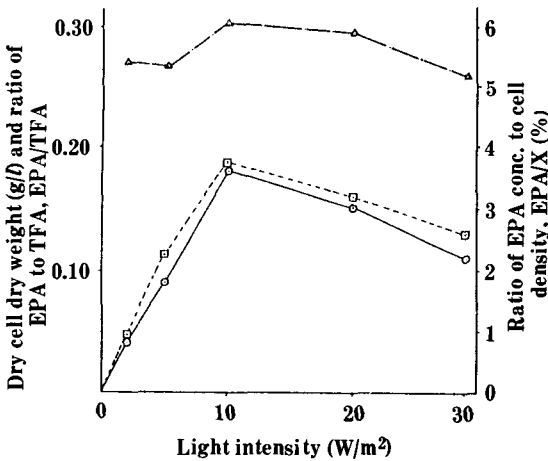


Fig. 2. Correlation of cell growth, productions of total fatty acids and EPA concentrations according to various, light intensities.

○, —, cell density, g/l; △, ---, EPA/TFA; □, ----, EPA/X, %.

EAP 양으로 mg/l이며, X는 건조균체량, g/l이다. 따라서, 이 조류의 연속 대량배양시, 균체량의 측정만으로 생산되는 EPA 양을 예측할 수 있으며, 공정의 공업화를 위한 기초자료를 산출할 수 있다.

Fig. 2는 빛의 세기의 변화에 의한 EPA 및 지질 함량변화와 균체의 상관관계를 나타낸 것으로, 균체내의 EPA 양은 세포의 증식과 밀접한 연관성을 보이는 반면, 총 지방산에 대한 EPA 양은 약 30%로 상대적으로 일정했다. 그 이유는 앞에서 언급된 바와 같이 균체내의 총 지방산이 약 10%로 일정하기 때문이다. 이것으로 EPA 생산의 최대화를 위해서는, 지방산의 함량과는 관계없이 최대 균체성장 위한 생육공정이 최적화에 중점을 두어야 할 것이다.

결 론

Marine green algae인 *Chlorella pyrenoidosa*가 건조균체당 약 3~4%의 EPA를 함유하고 있음이 확인되어 기존의 EPA 공급원인 고등어와 정어리의 평균 함유율인 4~6%와 비교해 대체가능성이 높으며, 특히 이 녹조류는 실내·외에서 적은 면적으로 배양이 가능하며, 계절에 관계없이 연속적으로 생산 및 농축이 가능해, 본 논문에서 얻어진 생물공학적 자료들을 바탕으로 이 광합성의 효율성 증대 및 연

속배양조의 최적화로써 녹조류의 최대생산에 의한 EPA의 생산성을 크게 증진시킬 수 있는 것과 더불어 생산단가의 절감효과도 얻을 수 있다.

사 사

이 연구를 위해 지원을 아끼지 않으신 태광화학의 박민태 사장님께 감사드립니다.

참고문헌

1. Dyerberg, J.: *Lancet*, **2**, 433 (1979).
2. Bang, H.O.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2657 (1980).
3. Watanabe, T., F. Oowa, C. Kitajima and S. Fujita: *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 35 (1980).
4. Dyerberg, J., E. Stofferson, S. Moncada and R.J. Vane: *Lancet*, **2**, 117 (1979).
5. Tokiwa, S., A. Kanazawa and S. Teshima: *Bull. Japn. Soc. Sci. Fish.*, **47**, 6750 (1981).
6. Owen, J.M., J.W. Adron, J.R. Sargent and C.B. Cowey: *Mar. Biol.*, **13**, 160 (1972).
7. Sargent, J.R.: *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology*, P.C. Malmes and J.R. Sargent (eds.), Academic Press, London (1976).
8. Lee, H.Y. and L.E. Erickson: *Biotechnol. Bioeng.*, **29**, 476 (1987).
9. Lee, H.Y., L.E. Erickson and S.S. Yang: *Biotechnol. Bioeng.*, **27**, 1640 (1985).
10. Lee, H.Y., L.E. Erickson and S.S. Yang: *Biotechnol. Bioeng.*, **29**, 832 (1987).
11. Arthur, K.K.: *Food Eng.*, **58**, 46 (1988).
12. Ott, F.D.: *J. Sci. (N.S.)*, **16**, 205 (1965).
13. Bishoff, H.W. and H.C. Bold: *Phycological Studies IV*, pp. 95, The Univ. of Texas Pub. no. 6318, Austin (1963).
14. Hara, A. and N.S. Radin: *Anal. Biochem.*, **90**, 420 (1978).
15. Orcutt, D.M. and G.W. Patterson: *Lipids*, **9**, 1000 (1974).
16. Collyer, A. and G.E. Fogg: *J. Exp. Bot.*, **6**, 256 (1955).
17. Lee, H.Y. and L.E. Erickson: *Symp. Biotechnol. for Fuels and Chemicals*, **8**, 127 (1986).

(Received January 25, 1989)