

해양 미세조류로부터 항균성 물질의 탐색

주동식 · 이응호[†]

부경대학교 수산과학대학 식품공학과

Searching of Antimicrobial Active compounds from Microalgae

Dong-Sik Joo and Eung-Ho Lee[†]

Department of Food Science & Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737

Abstract

As a part of the investigation on useful compounds from microalgae, and its recently that marine planktonic algae have been recognized as potential sources of antibacterial and antifungal substances, we searched for antimicrobial active compounds from the extracts of six microalgae-*Lyngbya* sp., *Tetraselmis* sp., *Microcystis* sp., *Chlorella* sp., *Nannocula* sp. and *Thalassiosira* sp.-treated with several solvents. There were two active species-*Lyngbya* sp., *Tetraselmis* sp.-in the antimicrobial activity test to bacteria, yeast and molds, especially the activity existed in the extracts by ethyl acetate of supernatants to the microalgae incubation. And there won't any activity in two diatoms to the test microorganism.

Key words : microalgae, antimicrobial active compounds

서 론

미세조류는 chlorophylls나 carotenoids 등의 색소를 함유하며 주로 광합성을 통해 세포 성장과 번식을 행하는 식물군으로 분류되고 있으며, 그 종류나 수에 있어서 일반 미생물과 비교될 수 있을 정도로 다양한 것으로 알려져 있다¹⁾. 이러한 미세조류에 대한 근년의 연구는 크로렐라(*Chlorella* sp.) 균체를 이용한 단백질 자원(SCP : single cell protein)으로서의 이용 방안에 대한 연구에서 시작되었다고 할 수 있는데, 최근에는 미세조류로부터 단백질뿐만 아니라 지질, 당질, 색소와 같은 다량 물질과 항균성 물질, 항암성 물

질, toxin 등과 같은 미량 물질의 생산 가능성에 대해 연구가 행해지고 있다^{2~7)}. 한편, 생리활성 물질 검색에 대한 연구는 과거에도 일부 행해져왔으나 최근에 그 존재에 대한 확실한 결과들이 확인되고 있고, 산업적 이용 가능성도 있는 것으로 알려져 있는데^{8,9)}, 그 중에서도 항균성 물질의 탐색과 그 결과에 대한 것이 많이 보고되고 있다^{10,11)}. 국내에서는 일부 연구자들에 의해 크로렐라의 치어 양식 사료로서 미세조류가 배양되고 있는 실정이고¹²⁾, 아직 미세조류의 생리활성 물질 탐색은 기초 단계에 있다고 할 수 있으며, 국내에 분포하고 있는 미세조류에 대한 정확한 정보가 없는 실정이고 미세조류의 이용성에 대한 연구도 미

[†] Corresponding author

미한 상태라고 할 수 있다. 따라서 국내 분포 미세조류의 이용성 증대를 위해서도 기초적인 물질 탐색 연구가 지속적으로 행해져야 하리라 판단되어진다.

본 연구는 국내에 분포하는 6종의 해양 미세조류로부터 항균성 물질을 탐색하고자 하였는데, 기초 배양 시스템에서 실험 미세조류를 배양하면서 균체 증가 양상에 따른 균체 내외에서 추출한 추출액의 몇몇 미생물에 대한 항균성을 확인하였기에 본 논문을 통해 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 조류 시료

본 실험에서 항균 물질 검색 시료로 사용된 미세조류는 독일 베를린 공대 생물공학과에서 분주 받은 것인데, 이 균주는 베를린 공대 생물공학 연구실에서 생리활성 검색용 시료로 사용하려고 해양에서 분리한 다음의 여섯종이었다. *Chlorella* sp.(Csp), *Tetraselmis* sp.(Tsp), *Microcystis* sp. (Msp), *Lyngbya* sp.(Lsp) 등 4종의 남조류(blue green algae)와 *Thalassiosira* sp.(Hsp), *Navicula* sp.(Nsp) 등 2종의 규조류(diatoms)로서 국내에서는 그 특징이 아직 검증된 바 없는 균주들이었다.

2. 배양 배지

미세조류 배양 배지는 blue green algae(BGA) 배양용 배지와 diatoms 배양용 배지를 사용하였는데, BGA 용은 KNO_3 0.2g, K_2HPO_4 0.02g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02g, M-S soln(D.W. 1L, H_3BO_3 0.568g, ZnCl_2 0.624g, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.268g, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.252g, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.420g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.360g, FeSO_4 1.360g, Na-Tartrate 1.770 g) 5ml, Tropic marine 181ml, D.W. 724ml, pH 7.0-8.0 를 가압 멸균한 다음, 멸균된 soil extract 30ml와 Vit B12 0.01mg을 첨가하여 사용하였고, diatoms 용은 NaCl 26.3 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4.9g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 4.1g, CaCl_2 1.1g, KCl 75mg, KNO_3 303mg, $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 12mg, $\text{Na}_2\text{-SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 40mg, Glycylglycin 660mg, M-S soln. 1ml, D.W. 1000 ml를 멸균한 후 Thiamine-HCl 0.5mg와 KH_2PO_4 0.045g 을 첨가하여 사용하였다.

3. 배양 장치 및 조건

배양은 20-25°C에서 빛 강도가 Csp, Tsp, Msp는 130 μE ($\text{μE}/\text{m}^2\text{sce}$), Lsp는 80 μE , Hsp, Nsp는 100-120 μE 되게 조절된 plate 위에 실린더형 배양기를 설치하여 공기를 지속적으로 주입하면서 시간별로 시료를 채취하여 pH 및 균체의 성장 정도를 15-23일간 측정할 수 있는 장치를 이용하였다(Fig.1).

4. 시험 시료 제조

항균성 측정용 시료는 균체 성장 정도에 따라 즉, 대수 증식기와 정지기에서 각각 한 번씩 채취하였고, 시험 sample은 다음과 같이 극성이 다른 용매를 이용하여 몇 가지로 나누어 제조하였는데(Fig.2), 시험 sample 제조에 사용된 유기용매는 특급 시약을 이용하였다.

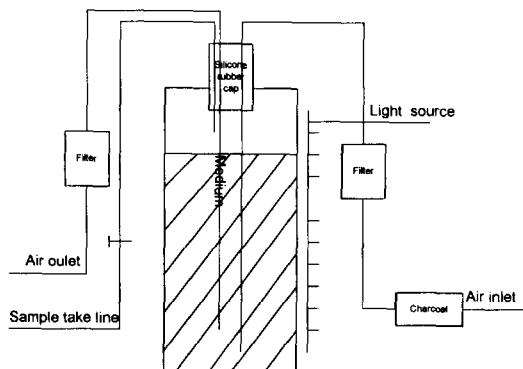


Fig. 1. Diagram of cylinder type incubator for microalgae.

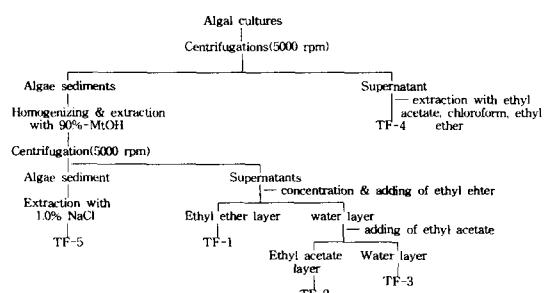


Fig. 2. Extraction flowsheet for test samples.

5. 항균성 시험

항균성 시험은 세가지 종의 세균(*E.coli* ATCC 11775, *B.subtilis* ATCC 6633, *Pseu.putida* mt-2), 두가지 종의 곰팡이(*A.niger* ATCC 11414, *Pen.chrysogenum* RP-P1) 및 한 종의 효모(*C.tropicalis* ATCC 7349)에 대해서 행해졌다. 실험은 disk paper 법¹³⁾에 따라 행하였는데, 직경 8 mm의 paper disk에 각 배양 조건에서 얻어진 시료들의 용매추출 물질을 최종 methanol과 ethyl ether에 녹인 것을 적절한 농도(500μl, 100μl)로 흡착시킨 후 상온에서 2시간 정도 방치하여 완전히 용매를 건조시킨 후 시험균이 접종되어 세균은 2시간, 곰팡이는 12시간 정도 전배양된 평판 위에 놓은 다음, 균에 따라 배양 조건을 달리한 배양기에서 배양하면서 평판에 나타난 clear zone의 크기로 항균활성 정도를 판단하였다. 세균은 peptone 1.5%, yeast extract 0.3%, glucose 0.1%, NaCl 0.85% pH 7.2의 배지를, 곰팡이 중에서 *A.niger*는 peptone 0.8%, yeast extract 0.2%, glucose 5%, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.1%, pH 7.0의 배지를, *Pen.chrysogenum*은 glycerin 0.75%, molarasse 0.25%, yeast extract 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.005%, KH₂PO₄ 0.006%, FeSO₄·7H₂O 0.0003%, CuSO₄·5H₂O 0.0001%, pH 5.4%, 효모는 peptone 0.5%, yeast extract 0.3%, glucose 0.1%, malt extract 0.3%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.01%, NaCl 0.5%, (NH₄)₂HPO₄ 0.25%, pH 7.0의 배지를 각각 사용하여 곰팡이는 25°C, 세균과 효모는 37°C에서 각각 배양하면서 항균성을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 배양 시간에 따른 조류의 성장

배양 시간 경과에 따른 배양액중의 pH 변화를 측정한 결과(Fig.3), BGA는 배양 1일부터 급격한 pH 상승을 일으켜서 배양 7-9일째에 최대값을 보인후 pH의 감소가 일어난 후 10일 이후로는 일정한 pH를 유지하였다. 조류종에 따라 차이를 보여주고 있는데, Tsp는 8일째에 pH가 10.3 정도로 배양 조류종에는 가장높은 pH를 나타내었고, Lsp는 pH 9.5, Msp와 Csp는 pH 9.0을 나타내었다. 이는 일반적으로 보고되어 있는 미세조류 배양시의 pH 변화와 비교해볼 때 최대 pH가 상당히 낮은 것으로 생각되어지는데¹⁴⁾,

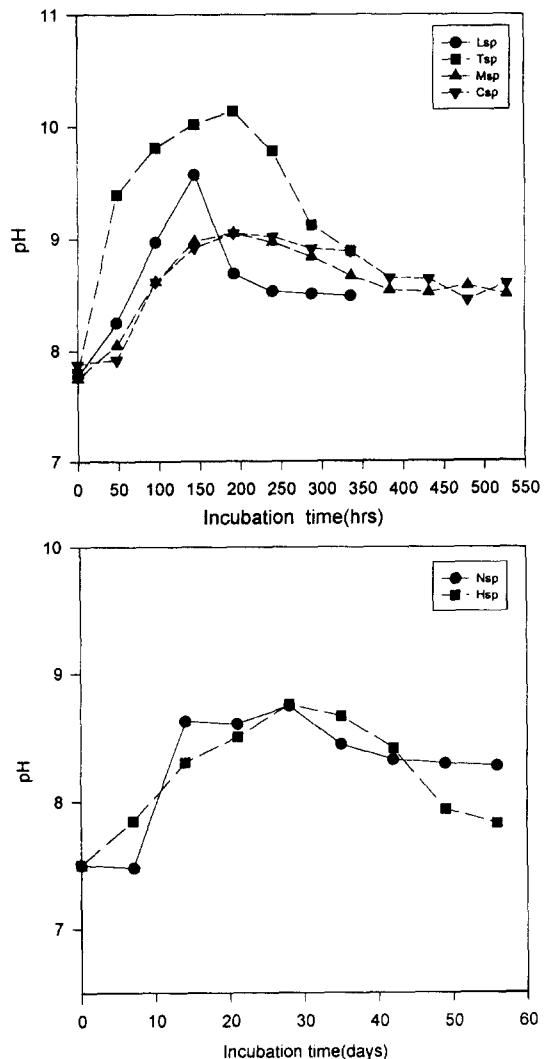


Fig. 3. Change of the pH with incubation time at each conditions.

*Growth conditions

Light intensity(PFD : μE/m³/sec)

— Tsp, Msp, Csp : 130, Lsp : 80, Nsp,
Hsp : 120

Temperature : 20~22°C

Air flow rate : 600~750cm³/min

**Lsp : *Lyngbya* sp., Tsp : *Tetraselmis* sp., Msp : *Mycrocystis* sp.,

Csp : *Chlorella* sp., Nsp : *Navicula* sp., Hsp : *Thalassiosira* sp.

이는 단위 배양액당의 균체량에서도 검증되었지만 이들조류 배양 조건이 최적 상태가 아니어서 최대 성장에 이르지 못하기 때문인 것으로 판단된다. 한편 규조류인 Nsp와 Hsp의 경우는 더욱 낮은 pH 8.5-9.0의 범위로 나타났는데 성장 정도와 관련이 있다는 것을 배양 60일까지 배양하면서 확인되었다.

균체량의 변화를 확인한 결과, BGA 4종은 배양 10일까지 매우 느린 균체 증가를 보여주고 있는데(Fig.4), pH의 변화와는 관련성이 크지 않은 것으로 여겨졌다. 이후 Lsp와 Tsp는 배양 15일까지 균체량 증가없이 일정하여 약 0.6-1.0 mg/ml였고, Msp와 Csp는 배양 14일부터 급격한 균체량 증가가 일어나서 19일째에 최대를 나타내었는데, Csp가 약 2.0mg/ml, Msp가 1.5mg/ml인 것으로 확인되었다. 이들 4군주 모두 최적의 조건에서 배양될 경우 균체량이 보통 2.5-3.0mg/ml인것과 비교하면 성장의 정도가 양호하지 못하였으며, 특히 Lsp와 Tsp의 경우는 매우 성장 상태가 좋지 못한 것으로 판단되었다. 한편, 규조류인 Nsp와 Hsp는 배양 10일까지는 급격한 균체 증가를 보여주고 있으며, Nsp는 배야 20일까지 직선적인 증가로 약 1.2mg/ml의 균체량을 나타내었고, 반면, Hsp는 배양 10일 이후 균체량의 증가는 거의 관찰되지 않았고, 배양 65일까지 1.0mg/ml의 균체량을 나타내었다. 이상의 균체량 변화를 관찰한 결과, BGA와 규조류 모두 본 실린더형 배양 장치가 적절한 배양 조건이 되지 못한다는 것을 알수 있었고, 이후 지속적인 연구가 행해진다면 배양 방법을 달리하여 행하는 것이 바람직한 것으로 생각되었다. 한편, 항균활성 시험을 위한 시료는 BGA의 경우 7-9일째의 대수증식기와 16-23일째의 정지기 시료를 각각 취하였고, 규조류의 경우는 배양 20일째에 한 번 채취하여 실험 시료로 이용하였다.

2. 항균 활성

미세 조류의 특정 항균 활성에 대한 연구는 오래전부터 행해져왔고^{15,16}, 본 연구도 그러한 의도를 가지고 행해졌다. BGA로부터 만들어진 시료의 항균 활성 시험 결과는 Table 1과 같다. Lsp의 경우 7일 배양한 배양액을 원심분리하여 얻어진 상층액을 동량의 ethyl acetate로 추출한 회분에서만 항균 활성이 관찰되었는데, 세균과 효모에서뿐만 아니라 특히 곰팡이에 강한 활성을 나타내었는데 (Fig.5), 농도에 따른 상관성도 확실히 나타났다. 그러나

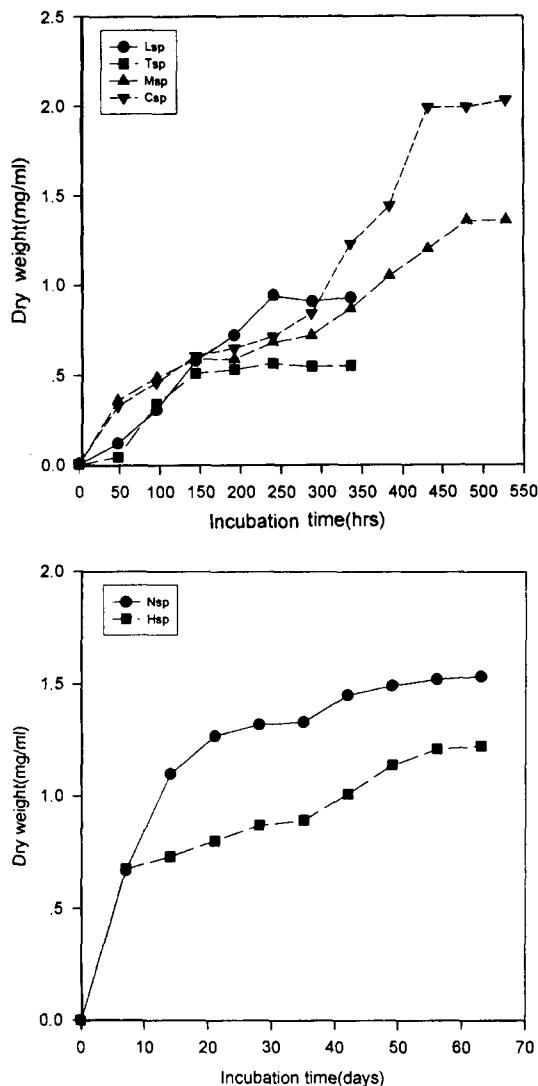


Fig. 4. Change of the biomass weight with incubation time at each conditions.

*Growth conditions

Light intensity(PFD : $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{sec}$)

- Tsp, Msp, Csp : 130, Lsp : 80, Nsp, Hsp : 120

Temperature : 20-22°C

Air flow rate : 600-750cm³/min

**Lsp : *Lyngbya* sp., Tsp : *Tetraselmis* sp., Msp : *Mycrocystis* sp.,

Csp : *Chlorella* sp., Nsp : *Navicula* sp., Hsp : *Thalassiosira* sp.

Table 1. Antimicrobial activity of the each solvent extracts from microalgae(BGA)

Samples ^{*2}	Test microorganism ^{*1}											
	Pse		Bac		Esc		Can		Asp		Pen	
	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100
Lsp-A 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	+	++	+	++	+	++	+	++	++	++	++	++
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lsp-B 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	+-	-	-	+-	+	+	+	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	++	++
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tsp-A 1	+	+	+-	+-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tsp-B 1	-	-	+-	+-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Msp-A 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Msp-B 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Csp-A 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Csp-B 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*1 : Pse : *Pseudomonas*, Bac : *Bacillus*, Esc : *Escherichia coli*, Can : *Canthocamptus tropicalis*, Asp : *Aspergillus niger*, Pen : *Penicillium chrysogenum*,
50,100 : injection sample volume(μl)

*2 : Lsp : *Lyngbya* sp., Tsp : *Tetraselmis* sp., Msp : *Microcystis* sp., Csp : *Chlorella* sp.

A : incubation time-7days(Lsp,Tsp) or 9days(Msp,Csp)

B : incubation time-16days(Lsp, Tsp) or 23days(Msp,Csp)

1 : ethyl ether soluble fraction of algae

2 : ethyl acetate soluble fraction of algae

3 : water soluble fraction of algae

4-1 : ethyl acetate soluble fraction of supernatant

4-2 : ethyl ether soluble fraction of supernatant

4-3 : chloroform soluble fraction of supernatant

5 : salt(1.0% NaCl) soluble fraction of algae

*3 : Diameter of inhibition zone : - no inhibition zone, + - 8-15mm,
+ 15-20mm, ++ more than 20mm

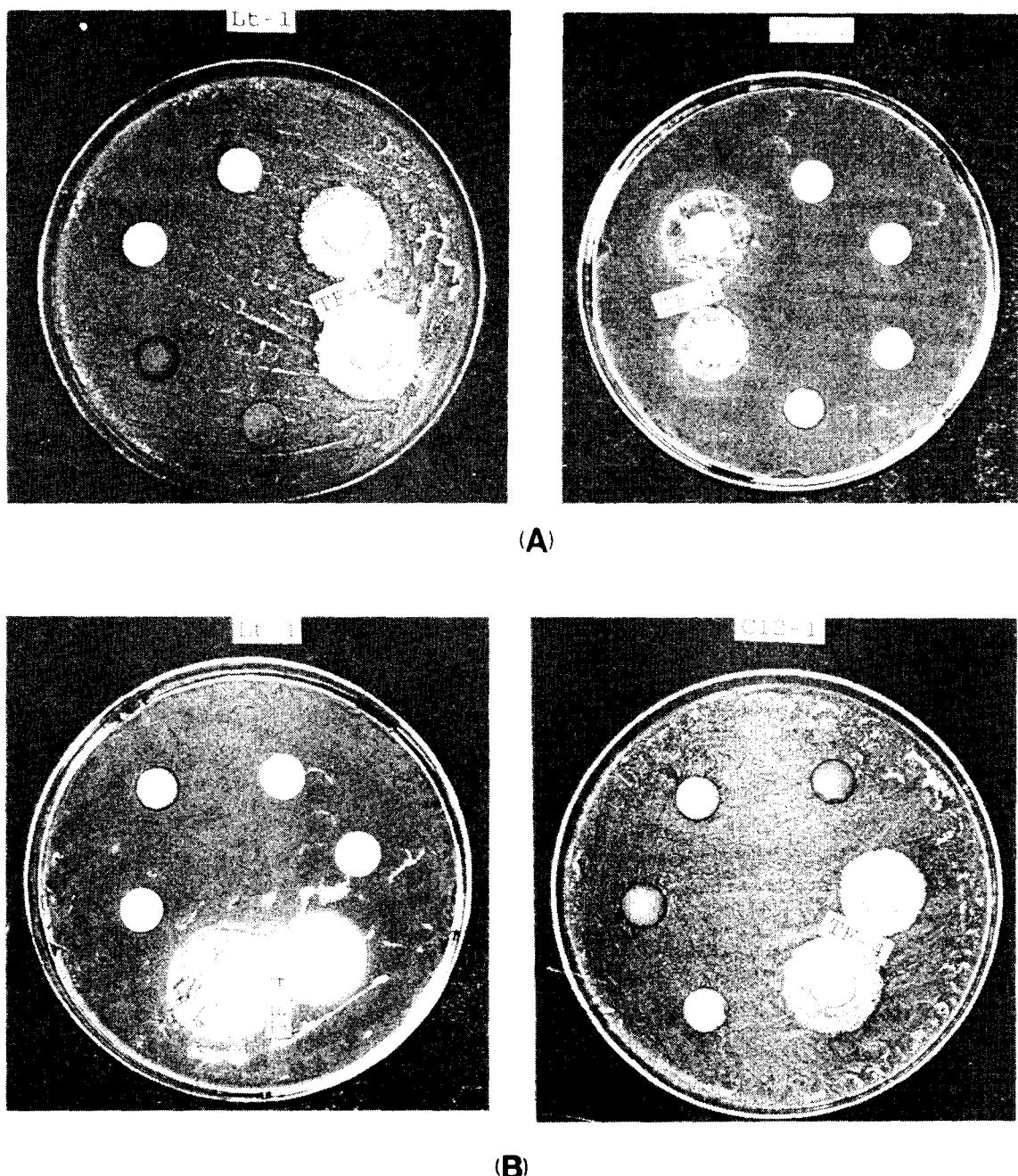


Fig. 5. Formation of inhibitory zones for the growth of *A. niger*(A) and *Pen. chrysogenum*(B) with different concentration of TF4 fraction of *Lyngbya* sp.(Lt) and *Tetraselmis* sp.(C12).

균체로부터 추출된 ethyl acetate 희분은 활성이 거의 없어서 균체외 물질 축적 특성을 가지는 것으로 추측되지만 일부 잔존하는 물질 존재가 확인되지 않은 것이 시료량 또는 추출 방법에 문제가 있는지는 좀더 실험을 진행시켜보아야 할 수 있을 것 같다. 16일째에 얻어진 Lsp 시료에서도 앞의 7일째 시료와 마찬가지로 균체 분리 상층액의 ethyl acetate 추출 희분에서 6종의 시험 균주에 대해 활성을 보였는데 역시 곰팡이 균에 대해 강한 활성을 보였다. 16일째 시료가 7일째 시료와 다른 점은 균체에서 추출된 ethyl acetate 희분에서 *E.coli*와 *Can.tropicalis*에 대한 확실한 항균 활성을 가지고 있는 것이지만, 곰팡이에 대해 활성이 강했던 상층액 추출 희분과는 상이한 결과였다. 한편, Tsp 7일 배양액의 추출 시료의 경우도 균체 분리 상층액의 ethyl acetate 희분에서 세균과 곰팡이 대해 강한 항균 활성을 보였으며, 아울러 염추출 희분의 경우 *Pseu.putida*와 *B.subtilis*에 대해서 항균 활성을 나타내었다. 이 염추출 희분의 경

우 1% NaCl이 포함되어 있는데 이것이 균의 성장에 영향을 미칠 수도 있을 것으로 판단되나 향후 실험에서 확인되어야 할 것 같다. 그러나 Tsp 배양 16일째 시료의 경우는 7일째 배양 시료와는 완전히 다른 결과를 보여주고 있는데, 특히 분리 상층액 ethyl acetate 희분에서 전혀 항균 활성이 관찰되지 않았다. 반면 염추출 희분이 *B.subtilis*에, 균체 ethyl acetate 추출 희분이 *E.coli*에 대해 항균 활성을 나타었는데 이러한 결과에 대한 정확한 결론은 반복 배양 실험과 배양 조건 규명이 완전히 이루어진 후 재검토되어야 할 것으로 판단되었다. 그리고 Msp, Csp의 경우는 배양 일수와 추출 용매의 종류에 관계없이 시험에 이용된 미생물에 대해 항균 활성이 전혀 관찰되지 않았다.

한편, 규조류인 Nsp와 Hsp 추출물의 항균 활성 실험 결과는 Table 2와 같다. 배양과 추출 조건에 관계없이 전체적으로 추출 물질의 항균 활성이 거의 없는 것으로 확인되었으며, Nsp의 염 또는 물 추출 희분에서 일부 세균과 곰

Table 2. Antimicrobial activity of the each extracts from diatoms

Samples ^{*2}	Test microorganism ^{*1}											
	Pse		Bac		Esc		Can		Asp		Pen	
	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100	50	100
Nsp	1	+- ^{*3}	+-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	+-	+-	-	-	-	+-	+-
	4	-	--	-	--	-	--	-	--	--	--	--
Hsp	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*1 ; Pse : *Pseu.putida*, Bac : *B.subtilis*, Esc : *E.coli*, Can : *Can.tropicalis*, Asp : *Asp.niger*,

Pen : *Pen.chrysogenum*,

50,100 : injection sample volume(μl)

*2 ; Nsp : *Navicula* sp., Hsp : *Thalassiosira* sp.

1 : ethyl ether soluble fraction of algae

2 : ethyl acetate soluble fraction of algae

3 : water soluble fraction of algae

4 : ethyl acetate soluble fraction of supernatant

*3 : Diameter of inhibition zone : - no inhibition zone, +- 8-15mm,

+ 15-20mm, ++ more than 20mm

팡이 대해 미약한 활성을 보였으나, 주목할 정도의 활성을 없었다. 이상의 결과는 향후 재실험으로 재확인한 후 항균 활성이 강한 획분의 주성분 분리 및 구조 확인 연구가 지속된다면 중요한 결과가 나올 것으로 여겨진다.

요 약

미세 조류의 항균성 탐색을 위해 배를린 공대 생물공학 연구실에서 본 균주를 분양받아 독일 현지 연구실에서 연구를 행하였다. 6종의 미세 조류로부터 항균성 시험 시료를 획득하기 위해 먼저 배양에 따른 미세 조류 배양액의 변화를 pH와 균체량으로 관찰하였고, 이를 토대로 시험 시료를 대수증식기와 정지기 두 구간으로 나누어 채취하였다. 얻어진 시료를 균체와 균체 상층액으로 분리하여 각종 용매를 이용하여 분획을 행하여 4·7종의 획분을 얻었고 이들이 가지는 항균 활성을 시험하였다. BGA(blue green algae) 4종류 중에서 Lsp(*Lyngbya* sp.)와 Tsp(*Tetraselmis* sp.)에서 항균 활성이 관측되었는데, 특히 균체의 상층액의 ethyl acetate 추출 획분이 세균과 특히 곰팡이에 대해 강력한 항균 활성이 있는 것으로 확인되었고, 그외 2종의 BGA와 2종의 규조류(diatoms)에서는 항균 활성 획분이 확인되지 않았다.

참 고 문 헌

- Trainor, F. R. : *Introductory phycology*, p.1, John Wiley & Sons, New York(1978).
- Kenyon, C. N., Rippka, R. and Stainer, R. Y. : Fatty acid composition and physiological properties of some filamentous blue-green algae, *Arch.Microbiol.*, 83, 216(1972).
- Ben-Amotz, A., Katz, A., and Avron, M. : Accumulation of beta-carotene in halotolerant algae : purification and characterization of beta-carotene rich globules from *Dunaliella bardawil(chlorophycea)*, *J. Phycol.*, 18, 539(1982).
- Percival, E. and Foyle, R. A. J. : The extracellular polysaccharides of *Porphyridium cruentum* and *Porphyridium aerugineum*, *Carbohy. Res.*, 72, 165(1979).
- Aaronson, S., Dhawale, S. W., Patni, J., De Angelis, B., Frank, O. and Baker, H. : The cell content and secretion of water soluble vitamins in several freshwater algae, *Archives of Microbiology*, 112, 57(1977).
- Antia, N. J., Desai, I. D. and Romilly, M. J. : The tocopherol, vitamin K, and related isoprenoid quinone composition of a unicellular red algae, *J. Phycol.*, 6, 305(1970).
- Ben-Amotz, A. and Avron, M. : Glycerol, β-carotene and dry algal meal production in commercial cultivation of *Dunaliella*. In *Algae Biomass*, ed., G. Shelef & C. J. Soeder, pp.603-610, Elsevier/North Holland Biomedical Press.(1980).
- Moore, R. E. : Constituents of blue-green algae, in *Marine Natural Products Chemical and Biological Perspectives*, p.1, Vol.4, Scheuer, P. J., Ed., Academic Press, New York(1980).
- Hoppe, H. A. : Marine algae and their products and constituents in pharmacy, in *Marine algae in Pharmaceutical Science*, p.1, Hoppe, H. A., Levring, T. and Tanaka, Y., Eds., Water de Gruyter, Berlin(1979).
- Nakai, H., Satake, M., Murata, M. and Yasumoto, T. : Screening of marine phytoplankton for antifungal substances. in "Proceedings of 4th International Conference on Toxic Phytoplankton" (E.Granelli et al.ed), pp. 385-390, Elsevier, North-Holland(1990).
- Murakami, M., Makabe, K., Okada, S., Yamaguchi, K. and Konosu, S. : Screening of biologically active compounds in microalgae, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54, 1035(1988).
- Marquez, F. J., Sasaki, K., Kakizono, T., Nishio, N. and Nagai, S. : Growth characteristics of *S. platensis* in Mixotrophic and Heterotrophic conditions, *J. Ferment. & Bioeng.*, 75, 408(1993).
- Viso, A. C., Pesando, D. and Baby, C. : Antibacterial and antifungal properties of some marine diatoms in culture, *Botanica Marina*, 30, 41(1987).
- Duff, D. C. B. and Bruce, D. L. : The antibacterial activity of marine planktonic algae, *Can. J. of Microbiol.*, 12, 877(1966).
- Sharma, G. M., Michaels, L. and Burkholder, P. R. : Goniodomin, a new antibiotic from a dinoflagellate, *The J. of Antibiotics*, 21, 659(1968).
- Findlay, J. A. and Patil, A. D. : Antibacterial constituents of the diatom *Navicula delognei*, *J. Nat. Pro.*, 47, 815(1984).