

해양 미생물 유래 해조 다당류 분해 효소의 특성 및 산업적 응용

김정환¹ · 김연희^{1,2} · 김성구³ · 김병우^{1,4,5} · 남수완^{1,2,5*}

¹동의대학교 바이오물질제어학과(BK21), ²동의대학교 생명공학과, ³부경대학교 생물공학과,
⁴동의대학교 생명응용학과, ⁵동의대학교 블루바이오 소재개발 및 실용화 지원센터

Received : August 3, 2011 / Revised : September 6, 2011 / Accepted : September 7, 2011

Properties and Industrial Applications of Seaweed Polysaccharides-degrading Enzymes from the Marine Microorganisms. Kim, Jeong-Hwan¹, Yeon-Hee Kim^{1,2}, Sung-Koo Kim³, Byung-Woo Kim^{1,4,5}, and Soo-Wan Nam^{1,2,5*}. ¹Department of Biomaterial Control (BK21 program), Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea, ²Department of Biotechnology and Bioengineering, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea, ³Department of Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea, ⁴Department of Life Science and Biotechnology, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea, ⁵Blue-Bio Industry RIC, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea – Recently seaweed polysaccharides have been extensively studied due to their various biological functions including antitumor, antiviral, anticoagulant, and anti-inflammatory activities. Although seaweed polysaccharides are known to possess numerous beneficial properties, their industrial applications have been limited due to the low inclusion efficiency and high cost of manufacturing involved in chemical hydrolysis. In addition, the smell of seaweed has been a limiting factor in its application in the food and cosmetic industries. Therefore, novel hydrolysis methods and the deodorization of seaweed are required if the extensive application of seaweed polysaccharides is to be seen. A number of studies have examined various seaweed polysaccharide-degrading enzymes, which have been isolated from marine microorganisms, and enzymatic hydrolysis processes have been investigated for the improvement of production yields and the bio-efficacy of seaweed polysaccharides. This review is a synopsis on the properties of seaweed polysaccharides-degrading enzymes from marine microorganisms and their industrial applications. The review reveals the pressing need for more concentrated research on the development of new biological materials from seaweed.

Key words: Seaweed, polysaccharides-degrading enzymes, marine microorganisms, enzymatic hydrolysis, functionality, expression system

서 론

해조류는 역사적으로 오래 전부터 인류가 식용이나 산업 용으로 다양하게 이용하여 왔다. 아시아에서는 오랫동안 음식 재료로만 사용된 반면 서양에서는 귀중한 화학재료를 제조하기 위해 해조류를 사용하여 왔으며 이에 대한 연구도 상당히 진행되었다. 해조류를 구성하고 있는 주요성분은 다당류이며, 이들 다당류는 음식, 화장품, 의학 및 해조공업의 원료 등으로 다양하게 이용될 뿐만 아니라 근래에 들어 건강과 웰빙에 대한 관심이 깊어지면서 생체조절기능을 갖는 다기능성 올리고당의 소재로 각광받고 있다. 해양의 경우 육상생물과는 조금 다른 생리활성 물질을 함유한 해조류가 풍부하기 때문에 새로운 다당류를 포함한 생리활성 물질의 보

고라고 할 수 있다. 해조류의 특이성에 착안하여 새로운 생리활성 물질들이 탐색되고 있으며 해조류 유래 기능성소재는 항종양성[43], 항바이러스성[37], 항혈액응고[56] 및 면역력 증강[10] 등의 다양한 생리활성기능을 갖는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 이유로 많은 연구자들이 새로운 생리활성 물질들을 얻고자 해조류 연구에 대한 많은 관심을 기울이고 있다.

해조류의 생산량은 전 세계적으로 2006년 기준 약 1,500만 톤에 달하는 것으로 알려져 있으며 2020년에는 약 2,200만 톤 이상으로 증가될 것으로 예측되고 있다. 해조류의 대부분은 식물플랑크톤이라 불리는 단세포성 미세조류(microalgae)에 속하는데, 이들은 해양생태계의 기초 생산자로서 중요한 역할을 하고 있다. 그리고 다세포성 거대조류(macroalgae)는 빛깔을 바탕으로 녹조류(green algae), 홍조류(red algae), 갈조류(brown algae)로 나뉘며, 이들은 통상 해조류(seaweeds)라고 부르기도 한다(Table 1). 미세조류는 육상식물과 비슷한 광합성을 하지만 물과 이산화탄소와 다

*Corresponding author

Tel: +82-51-890-2276, Fax: +82-52-890-2632

E-mail: swnam@deu.ac.kr

Table 1. Constituents of marine seaweed.

Contents	Green algae	Red algae	Brown algae
Species	<i>Enteromorpha</i> , <i>Codium fragile</i> (Suringar) Hariot	<i>Porphyra tenera</i> , <i>Gelidium amansii</i>	<i>Undaria pinnatifida</i> , <i>Laminaria</i> , <i>Hizkia fusiforme</i> , <i>Sargassum fulvellum</i>
Dry matter (%)	20	30-40	5-10
Carbohydrates (%)	48-55	53-70	45-60
Cellulose (%)	5	3-16	5-9
Protein (%)	10-15	7-15	38-51
Lipids (%)	1-5	1-5	1-5

른 여러 영양분이 있는 해양에 서식하므로 태양에너지를 바 이오매스로 전환함에 있어 더욱 효과적이다. 현재 전 세계 적으로 약 200종의 해조류가 생산, 이용되고 있는데 녹조류 는 파래와 청각 등이 대표종으로서 48-55%의 총 탄수화물 함량을 가지며, cellulose, pectin, mannan 및 xylan 등의 다 당류를 포함하고 있다. 홍조류는 김과 우뚝가사리가 대표종 으로서 53-70%의 총 탄수화물 함량과 agarose, carrageenan 및 porphyran 등의 다당류가 포함되어 있으며 갈조류는 미 역, 다시마, 툇, 모자반 등이 대표종으로서 45-60%의 총 탄 수화물 함량과 alginate, fucoidan, laminaran 및 mannitol 등의 다당류를 포함하고 있다(Table 1). 이처럼 해조류의 다 당류 산업은 5억 6천만 달러의 시장을 형성하고 있으며 해 양바이오산업의 한 축을 담당하고 있다. 따라서 근래에 들 어 고부가가치 해조류 유래 기능성 신소재에 대한 관심이 깊 어지면서 해조다당류를 해조류로부터 효과적으로 추출할 수 있는 추출방법의 최적화 및 해조다당류의 저분자화를 통하 여 해조다당류 기능성 증진 방법에 대한 연구가 활발히 진 행되고 있다. 본 총설에서는 최근 부각되고 있는 해양 미생 물 유래 해조다당류 분해효소를 이용한 기능성 신소재 개발 및 산업적 응용에 대하여 논하고자 한다.

해조다당류의 종류별 특징과 이용

해조류 유래 기능성소재로서 대표적인 해조류 다당류로는 알긴산(alginic acid), 카라기난(carrageenan)과 한천(agar), 푸 코이단(fucoidan)이 보고되어 있다. 알긴산은 다시마, 미역, 갈태, 모자반 등과 같은 갈조류에 보편적으로 함유되어 있 는 산성 점질 다당류로서 알긴산을 함유하는 갈조류의 대부 분은 20°C 이하의 저수온 해역에 서식하며 일반적으로 15~35% 정도의 알긴산을 함유하고 있다[19]. 알긴산의 구조 는 β -D-mannuronic acid(M)와 α -L-guluronic acid(G)의 2 종류의 uronic acid가 각종 비율로 1, 4 glycoside 결합을 한 polyuronide이다. 알긴산의 M과 G의 비율은 해조류의 종류, 계절, 조체부위 등에 따라 다르다[17, 21]. 알긴산 제조용 원 료로는 알긴산이 많이 함유 되어 있어야 하고 색소나 탄닌 이 적어야 하며, 대량생산이 용이하고 채집이 용이 하여야 한다. 각국에서 사용되는 주요 원조를 보면 미국에서는

Macrocystis periferia, *Ascophyllum nodosum* 등이, 영국에서 는 *Laminaria hyperborea*, *A. nodosum* 등이, 일본에서는 대항, 팽생이모자반, 다시마류 등이 사용되고 있다[23]. 우리 나라에서는 감태, 모자반류, 미역 등이 이용되고 있다. 알긴 산은 갈조류에 Na_2CO_3 또는 NaOH를 이용하여 추출한다. 알긴산은 물에 녹지 않으나 칼륨, 나트륨, 칼슘과 결합하면 물에 잘 녹아 점액성의 물질이 된다. 알긴산은 물성이 다양 하여 산업적으로 다양하게 이용되어 왔지만 상온에서 용해 되는 시간이 길고 알코올이 포함된 용매에는 잘 녹지 않으 며 농도가 증가함에 따라 점성이 높아져 식품 고유의 생리 적 기능성을 유지시키면서 단점을 보완하기 위한 저분자화 연구가 진행되고 있다. 알긴산의 산업적 용도는 크게 식품 가공용과 의약용으로 구분된다[54]. 알긴산은 식품가공시 안정제, 농후제, 유화제와 같은 식품첨가제로 사용되며, 실제 로 아이스크림, 오렌지주스, 맥주, 치즈 등의 안정제로 이용 되고 있다. 또한 알긴산은 소화·흡수가 되지 않기 때문에 알긴산으로 만든 젤리가 다이어트식품으로 이용되기도 한다. 알긴산의 의약용 이용으로는 인체 실험에서 장의 담즙산과 결합하여 콜레스테롤을 체외로 배출시키므로 혈중 콜레스테 롤을 낮추어 주는 효과가 있으며, 동물실험에서는 유해 중 금속을 흡착하여 체외로 배출시키고, 또 나트륨을 배설시켜 혈압을 낮추어 주는 것으로 알려져 있다[40]. 그 밖에 연고 지제, 정제부형제 등으로도 이용된다[39, 54]. 알긴산 산업은 2차 대전 이후 빠른 속도로 발전한 산업이며, 현재 전 세계 의 알긴산 수요는 연간 3만 5천 톤에 이르고 있다. 세계의 알긴산 총 수요의 60%는 섬유, 용접봉, 제지 등의 공업적인 것이며, 미국과 유럽을 중심으로 한 전세계 식품이나 의약 품 분야의 수요는 연간 15,000톤이다[23]. 최근에는 알긴산 이 신선한 소재로 인식되어 앞으로 식품이나 의약품 분야의 이용이 더욱 활성화될 것으로 기대된다[20, 29].

홍조류를 구성하는 세포벽 다당류는 셀룰로오스, 자일란, 만난, 한천 그리고 카라기난이 대표적인데 셀룰로오스는 그 다지 많지 않다. 홍조다당류인 카라기난은 Irish moss라고 하는 홍조류인 진두발속(*Chondrus*), 돌가사리속(*Gigartina*) 의 해조를 뜨거운 물 또는 뜨거운 알칼리성 수용액으로 추 출한 다음 정제하여 추출한 점질성 다당류이다. 카라기난은 냉수에서는 잘 녹지 않으나 30~60°C의 물에서는 녹으며 에

탄올에는 녹지 않는다[15]. 또 다른 홍조다당류인 한천은 세포벽과 세포질 사이의 세포간 다당으로 분포하고 있으며, 우뚝가사리속(*Gelidium*), 꼬시래기속(*Gracilaria*) 등의 홍조류에 포함되어 있다. 카라기난의 구성성분은 D-galactose와 3,6-anhydro-D-galactose로부터 된 고분자 다당류에 황산기가 일부 결합한 산성 다당류이다. 구성당이 한천과 비슷하나, 한천과 다른 점은 한천은 3,6-anhydro-L-galactose인데 비하여 카라기난은 3,6-anhydro-D-galactose이고, 황산기의 함량이 한천은 3~6% 정도로 적는데 비하여 카라기난은 20~25%로 극히 많이 존재한다. 또한 한천은 응고력이 강한데 비하여 카라기난은 응고력이 약하고 점성이 강한 점이라고 할 수 있다. 한천은 단일당으로 형성된 다당류가 아니고 agarose (60~80%)와 agarpectin(20~40%)의 혼합물이다[16]. 우뚝가사리과의 한천 함량은 계절에 따라 변동하지만, 건물로는 33~35% 정도이다. 카라기난은 점성, 젤 형성능, 유화 안정성, 결합성 등을 이용하여 아이스크림의 안정제, 초콜릿 우유의 방지제, 식빵 및 과자류의 조직 개량 및 보수제, 화장품의 점도 증강제 등에 이용되고 있다. 한천은 보수성, 응고성(젤형성능), 점탄성 등이 뛰어난 물성을 가지고 있어 광범위하게 이용된다. Agarose 겔은 Sepharose, Sepharose CL 등의 겔여과제나, 전기영동의 담체로 이용된다. 의약품으로서 비만방지용으로 사용되며, 지지체로서 연골, 좌약, 점결제, 혼탁방지제, 캡셀, 젤리 등의 원료로도 널리 사용되고 있다. 그리고 샴푸, 로션, 크림 등의 각종 화장품의 제제에도 이용된다. 한천은 그 자체가 식품, 과자에 사용되기도 하는데, 아이스크림, 요구르트, 치즈 등의 유제품과 젤리, 잼, 화과자 등의 제과용으로 널리 이용된다. 이 밖에 유화안정제, 젤화제, 형성제, 증량제, 건조방지제, 물성보지제 등으로도 광범위하게 사용된다[13, 32]. 더욱이, 지구온난화에 따른 친환경 바이오연료의 공급이 시급해짐에 따라 바이오에탄올 생산을 위한 새로운 바이오매스로서 관심도가 높은 다당류이다[3, 6, 8].

푸코이단은 알긴산과 같이 갈조류의 세포벽 성분인 점질 다당에 함유되어 있는 다당류로서 다시마와 미역포자엽의 건조중량 대비 3~4%의 소량이 함유되어 있다[50]. 그러나, 알긴산이 약 알칼리에서 추출되는 반면, 푸코이단은 물이나 묽은 염산에 의하여 추출되는 점조성 물질이다. 푸코이단은 *Fucus* 속, 다시마 속(*Laminaria*), 미역 속(*Undaria*)에 들어 있으나 그 함량은 종류, 시기, 수확에 따라 크게 달라지며 가을에서 초겨울에 걸쳐서 건물당 20%까지 함유하고 있으나, 봄에는 5%에 지나지 않는다. 푸코이단의 주요 구성성분은 L-fucose와 sulfate이고, 종류에 따라서는 galactose, xylose와 소량의 glucuronic acid도 들어 있다. 예를 들어 *Fucus* 속의 fucoidan은 fucose 57%, sulfate 38%, galactose 4%, xylose 1.5%, uronic acid로 되어 있다[5]. 해조류를 주식으로 하는 전복과 같은 연체동물은 장내에 알긴산을 분해하는 효소와 함께 fucoidan을 분해하는 효소도 가지고 있어

갈조류에 많이 함유된 다당류를 즐겨먹는 것으로 보인다. 푸코이단은 헤파린(heparin)과 유사한 구조를 가지고 있어서 헤파린을 대체할 수 있는 물질로 알려지면서 많은 연구가 진행되고 있다. 특히 푸코이단의 산업적 이용에서 가장 크게 차지하는 분야는 건강식품산업이다. 푸코이단의 효능은 혈액개선, 항암효과, 항알레르기, 항산화, 항바이러스, 혈액응고방지, 혈당상승 억제 효과 및 면역력 증강 효과가 있어서 암환자뿐만 아니라 당뇨, 고지혈증 환자에게 도움이 되고 있으며 이러한 푸코이단의 효능에 대하여 다방면에 걸쳐 그 효과들이 계속 밝혀지고 있다[2, 7, 14, 52, 53]. 1991년 러시아 예방의학센터를 비롯한 5개 기관에서는 5년 이상 실시한 각종 실험연구를 통해 세계 최초로 푸코이단을 인정하고, 유용한 건강식품으로 추천하였다. 일본에서도 1996년 제55회 일본암학회 총회에서 발표된 논문으로 세계 학계의 특별한 관심을 받았으며, 지금도 푸코이단에 대한 다양한 연구가 활발하게 전개되고 있다. 해조류로부터 푸코이단을 대량으로 추출해 내는 기술은 그 동안 일본이 독점하고 있었다. 그러나 2000년 초반 국내 해조전문회사에서 대량 추출에 성공하여, 일본이나 미국 등 푸코이단 제품이 다양하게 나와 있는 나라로 수출하였으며, 최근 정부기관에서도 푸코이단의 대량생산을 위한 자금이 지원되고 있다.

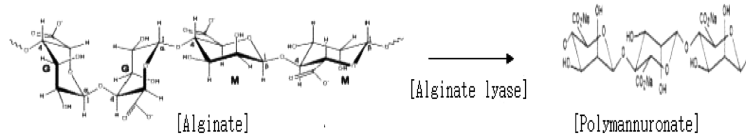
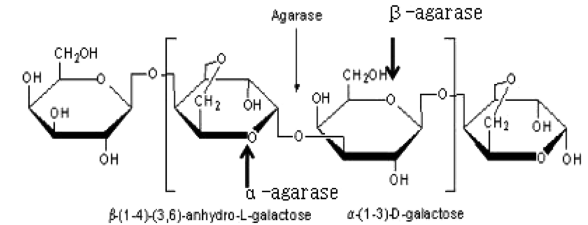
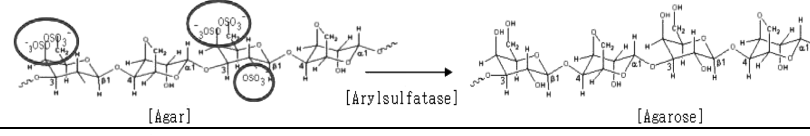
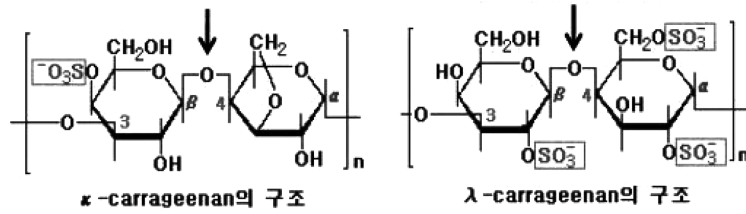
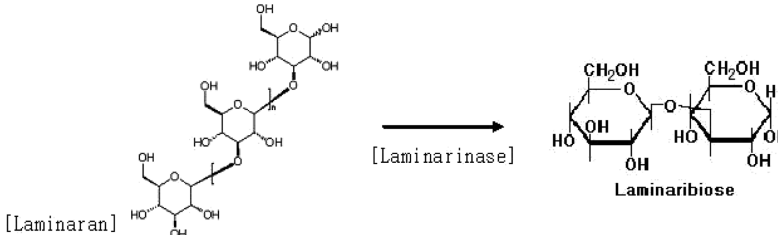
해조다당류 분해효소의 특성 및 산업적 이용

해조류를 이용한 가공에서 가장 문제가 되는 것은 단단한 조직과 세포벽 층진 물질인 세포간 다당의 유용성분을 추출하기가 어렵고, 추출한다 하여도 많은 비용을 필요로 한다. 최근 고부가가치 해조류 유래 기능성 신소재에 대한 관심이 깊어지면서 해조다당류를 해조류로부터 효과적으로 추출할 수 있는 추출방법의 최적화와 해조다당류의 저분자화를 통하여 해조다당류 기능성 증진 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 알긴산의 경우 폴리만뉴론산(polymannuronate)과 폴리글루론산(polyguluronate)으로 저분자화하면 항암 및 항근작용, 면역증강, 장내세균 군집 개선 효과, 항콜레스테롤 효과 및 기타 다양한 생체조절기능성이 월등히 높게 나타나고 있음이 보고된 바 있다[11, 20, 28, 40]. 해조류에서 알긴산 등의 유효성분을 분리하기 위한 물리 화학적 방법으로 첫째 고온고압, 고압 혹은 방사선으로 연화시킨 뒤 분리하는 방법과 둘째 산과 알칼리 처리를 이용하는 방법[58] 등이 보고되고 있으나 해조류 유래의 탄수화물 대부분이 산이나 알칼리에 비교적 안정하여 유효성분의 분리에 어려움이 있다. 따라서 최근에는 기능성 해조 올리고당 생산에 해조류 다당의 화학적 분해보다는 효소적 제조에 대한 연구가 진행되고 있다(Table 2). 알긴산 분해효소인 alginate lyase는 알긴산의 β -1,4-glycosidic 결합을 분해하여 4,5-unsaturated nonreducing 말단을 갖는 산물을 만든다(Table 3). 산업적 이용이 가능한 알긴산 올리고당의 생산을 위해서는 알긴산 분

Table 2. Classification of marine seaweed and its major sugar constituents.

Major sugar constituents		Degrading enzymes	Sources
Green algae	Cellulose, Mannose, Xylane	Cellulases	<i>Penicillium</i> sp., <i>Nectria catalinensis</i>
		Xylanases	<i>Bacillus</i> sp., <i>Aspergillus niger</i>
Red algae	Agar: agarose(70%)+agarofectin(30%) (β -D-galactose+3,6-anhydro-L-galactose) Carrageenan: D-galactose+sulfated galactan (3,6-anhydro-D-galactose+H ₂ SO ₄)	Arylsulfatase	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudoalteromonas carageenovora</i>
		α -agarase	<i>Vibrio</i> sp., <i>Thalassomonas</i> sp.
		β -agarase	<i>Cytophaga</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp., <i>Vibrio</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudoalteromonas</i> sp., <i>Alteromonas</i> sp., <i>Zobellia galactanivorans</i>
Brown algae	Alginate: D-mannuronic acid(M)+D-glucuronic acid(G) Fucoidan: sulfated L-fructose(major) Galactose, Xylose, Glucuronic acid(minor) Laminaran: β -1,3-glucan(major), β -1,6-glucan(minor)	Carrageenase	<i>Cytophaga drobachiensis</i> , <i>Pseudomonas alcaligenes</i>
		Alginate lyase	<i>Alginovibrio aquatilis</i> , <i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas maltophilia</i> , <i>Vibrio</i> sp.
		Endo- and Exo-1,3- β -glucanase	<i>Candida albicans</i> , <i>Thermotoga neapolitana</i> , <i>Neurospora crassa</i>
		Laminarinase	<i>Trichoderma viride</i>

Table 3. Chemical reactions of seaweed polysaccharides-degrading enzymes.

Seaweed polysaccharides-degrading enzymes	Chemical reactions
Alginate lyase	 <p>[Alginate] → [Poly-mannuronate]</p>
Agarase	 <p>$\beta(1-4)(3,6)$-anhydro-L-galactose $\alpha(1-3)$-D-galactose</p>
Arylsulfatase	 <p>[Agar] → [Agarose]</p>
Carrageenase	 <p>κ-carrageenan의 구조 λ-carrageenan의 구조</p>
Laminarinase	 <p>[Laminaran] → Laminaribiose</p>

해효소가 필요하며, 이들 알긴산 분해효소를 분비하는 미생물의 탐색을 위한 다양한 연구가 진행되어 왔다[33, 58]. 알긴산 분해효소는 싱게, 진복, 불가사리, 소라 등 해조류 섭식동물이나[31] *Alginovibrio aquatilis*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. maltophilia*, *Vibrio* sp. 등의 다양한 해양 미생물로부터 alginate lyase 활성이 측정되었으며, 이외에도 해수와 해저 도양, 섭식동물들의 분변 등으로부터 알긴산 분해능이 우수한 균주들을 찾아내고 있다

[25, 28, 40, 44, 51]. 국내에서는 해조류에서 알긴산 분해력이 뛰어난 미생물 균주를 분리하여 생육특성을 연구한 바도 있으며[30], 균주가 생산하는 균체외 알긴산 분해효소에 대한 정제 및 특성을 보고한 적도 있다[28, 34].

지금까지 자연계에 존재하는 해양 미생물을 이용하여 알긴산 분해효소를 생산하는 종을 찾아내고 산업적으로 적용하기 위한 다양한 연구가 진행되어 왔다(Table 4, 5). Lee 등 [41]은 해운대 연안에서 그람 음성균이면서 알긴산 분해효소

Table 4. Types and Properties of seaweed polysaccharides-degrading enzymes from the marine microorganisms.

Enzyme	Source	Gene	Optimal pH/temp. (°C)	Molecular weight(kDa)	Enzyme activity	Reference
Alginate lyase ¹⁾	<i>Alteromonas</i> sp. 272	<i>Alg-272</i>	7.5-8.0/30	33.9	8.3 unit/mg	[25]
	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. SM0524	<i>Aly-SJ02</i>	8.5/50	32	-	[30]
	<i>Streptomyces</i> sp. ALG-5	<i>Alg-5</i>	7.0/30	28.2	-	[34]
	<i>Vibrio</i> sp. AL-145	<i>Al-145</i>	8.0/30	23	5 unit/mL	[28]
	<i>Azotobacter vinelandii</i>	<i>AlgL</i>	8.1-8.4/30	39	-	[50]
	<i>Pseudomonas</i> sp. N7151-6	<i>Alg-N7151-6</i>	7.0/30	30	110 unit/L	[40]
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>AlgL</i>	6.2/30	30	-	[44]
α -Agarase ²⁾	<i>Vibrio</i> sp. PO-303	<i>AgaA</i>	6.5-7.5/38-55	87.5	-	[1]
	<i>Thalassomonas</i> sp. JAMB-A33	<i>AgaA33</i>	8.5/45	85	40.7 unit/mg	[49]
β -Agarase ²⁾	<i>Agarivorans albus</i> YKW-34	<i>AgaB34</i>	7.0/30	49	242 unit/mg	[18]
	<i>Pseudomonas</i> sp. w7	<i>pSW3</i>	7.0/40	38	-	[38]
	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. AG4	<i>agrP</i>	5.5/55	33	207.5 unit/mg	[48]
	<i>Vibrio</i> sp. strain V134	<i>agaV</i>	7.0/40	50.35	-	[63]
	<i>Zobellia galactanivorans</i>	<i>agaB</i>	7.0/40	53	1.53 unit/mL	[55]
Arylsulfatase ³⁾	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	<i>atsA</i>	8.9/57	57	-	[4]
	<i>Pseudoalteromonas carrageenovora</i>	<i>astA</i>	8.5/40	57	143 unit/mL	[36]
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>astA</i>	7.4/37	57	123 unit/mg	[46]
	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>astA</i>	6.7/37	50	-	[22]

¹⁾One unit of alginate lyase was defined as the amount of enzyme required to increase the absorbance by 0.1 at 235 nm per min.
²⁾One unit of agarase was defined as the amount of protein that produced 1 μ mol of reducing sugar as D-galactose per min.
³⁾One unit of arylsulfatase was defined as the amount of enzyme required to release 1 μ mol *p*-nitrophenol from *p*-nitrophenyl sulfate per min.

Table 5. Recombinant expression of seaweed polysaccharides-degrading enzymes from the marine microorganisms.

Enzyme	Source	Host	Expression system	Culture	Enzyme activity	Reference
Alginate lyase ¹⁾	<i>Pseudomonas elyakovii</i>	<i>E. coli</i>	pALP4	50 mL flask	1.4 unit/g	[40]
	<i>Streptomyces</i> sp. ALG-5	<i>E. coli</i>	pColdI/Alg-5	50 mL flask	-	[34]
α -Agarase ²⁾	<i>Thalassomonas</i> sp. JAMB-A33	<i>Bacillus subtilis</i>	pEXA33	50 mL flask	6.9 unit/mL	[49]
β -Agarase ²⁾	<i>Agarivorans albus</i> YKW-34	<i>E. coli</i>	pUC18	50 mL flask	242 unit/mg	[18]
	<i>Pseudomonas</i> sp. w7	<i>E. coli</i>	pUC19	-	-	[38]
	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. AG4	<i>E. coli</i>	pMal-c2x- <i>agrP</i>	50 mL flask	207.5 unit/mg	[48]
	<i>Vibrio</i> sp. strain V134	<i>E. coli</i>	pETUA	-	-	[63]
	<i>Zobellia galactanivorans</i>	<i>Pichia pastoris</i>	pPIC-AgaB	50 mL flask	1.53 unit/mL	[55]
	<i>Streptomyces coelicolor</i>	<i>Streptomyces lividans</i>	pUWL201-DagA	-	-	[57]
Arylsulfatase ³⁾	<i>Pseudoalteromonas carrageenovora</i>	<i>E. coli</i>	pHCE-AST	Fed-batch	143 unit/mL	[36]
		<i>S. cerevisiae</i> EBY100	pCTAST	50 mL flask	1.2 unit/mL	[9]

¹⁾One unit of alginate lyase was defined as the amount of enzyme required to increase the absorbance by 0.1 at 235 nm per min.
²⁾One unit of agarase was defined as the amount of protein that produced 1 μ mol of reducing sugar as D-galactose per min.
³⁾One unit of arylsulfatase was defined as the amount of enzyme required to release 1 μ mol *p*-nitrophenol from *p*-nitrophenyl sulfate per min.

를 생산하는 세균을 분리하였다. 분리된 N7151-6 균주의 성장을 위한 최적 온도는 30°C, 최적 pH는 8.0으로 조사되었으며 0-7%(w/v) NaCl 농도에서도 성장 가능하였다. 16S rDNA 염기 서열 분석과 생화학적 분석에 의해 이 균주는 *Pseudomonas* 속으로 동정되어 *Pseudomonas* sp. N7151-6으로 명명하였다. *Pseudomonas* sp. N7151-6에서 생산하는 알긴산 분해효소를 한외여과(ultrafiltration; MWCO=30 kDa) 방법에 의해 부분 정제하였다. 분리된 효소의 최적 온도는 30°C, 최적 pH는 7.0으로 조사되었다. 또한 이 효소는 pH 5.0에서 9.0까지 안정하였으며, 23°C 에서 37°C까지의 범위에서도 안정성을 보여주었다. 알긴산 분해효소의 전체 활성은 110 unit/L이었다. Lee 등[40]도 다양한 종류의 미역으로부터 알긴산 분해 활성을 가지는 해양 미생물인 *Vibrio* sp. AEBL-211을 분리하였다. 우선, 알긴산 고체배지에서의 halo 크기가 크고 환원당 생성량이 가장 많은 해양 미생물을 선발하고, 생화학 및 영양적인 특성 분석 결과 등을 바탕으로 *Vibrio* 속으로 동정하였다. DE 52-cellulose 및 Sephacryl G-200를 이용한 음이온 교환 및 gel permeation chromatography를 통해 부분 정제된 alginase 효소액을 얻었으며 이 효소를 이용하여 guluronic acid에 대한 mannuronic acid의 비율이 다른 sodium alginate 시료에 대한 분해능을 평가한 결과, guluronic acid의 상대적 양이 많은 알긴산에 대한 활성이 상대적으로 우수하여 *Vibrio* sp. AEBL-211 유래의 alginase는 guluronic acid가 많은 G-rich block에 대한 분해 활성이 높은 특성을 가지는 것으로 판단되었다. Kim 등[37]은 알긴산 분해효소 활성이 뛰어난 세균을 확보하고 선정된 균주의 효소생산과 활성에 영향을 미치는 알긴산과 NaCl의 농도, 질소원 종류, 온도, pH 등을 분석하였다. 해조류 섭식 동물인 전복, 소라, 해삼, 멧게, 개불 등에서 유래한 총 5만여 콜로니 중 알긴산 분해효소 활성이 우수한 27개 균주를 분리하였고 최종적으로 전복 유래의 균주를 선정하였다. 16S rDNA 염기서열 분석으로 선정된 균주를 *Methylobacterium* sp. HJM27으로 명명하였고 알긴산 분해효소의 활성은 1.0% sodium alginate, 0.5% peptone, 0.3% yeast extract, 1.5% NaCl, 25°C, 48시간 배양에서 가장 높았다. 알긴산 분해효소의 활성은 25°C, pH 9에서 최대로 0.8%(w/v) sodium alginate 용액에서 30분만에 1.217 g/L의 환원당을 생성함을 확인하였다.

한천의 분해는 주로 해조류들에 기생 혹은 공생하는 해양 미생물들에 의하여 이들이 생산하는 한천분해 효소인 agarase의 가수분해 작용으로 해조류의 주된 구조 다당류인 agarose의 분해에 의하여 이루어진다[1]. Agarose 분해효소인 agarase는 작용양식에 따라 α -(1 \rightarrow 3)결합을 분해하여 agarobiose를 구성단위로 하는 agarooligosaccharide를 생산하는 α -agarase와 β -(1 \rightarrow 4)결합을 분해하여 neoagarobiose를 구성단위로 하는 neoagarooligosaccharide를 생산하는 β -agarase 효소가 알려져 있다(Table 3). 즉 α -agarase는 3,6-anhydro- α -L-galactose

의 (α -1 \rightarrow 3) β -Dgalactose 사이의 결합을 끊어 환원 말단으로 3,6-anhydro- α -L-galactose 잔기를 형성하는 agarooligosaccharide를 생산하며, 또한 β -agarase는 β -D-galactose(β -1 \rightarrow 4) 3,6-anhydro- α -L-galactose 사이의 결합을 가수분해하여 환원 말단으로 β -D-galactose 잔기를 형성하는 neoagarooligosaccharide를 생산한다. Agarase는 주로 해양 세균만이 생산하며 대부분의 균주들은 적어도 한 가지 이상의 agarase를 생산하는 것으로 나타났다(Table 4). β -agarase의 경우 한 균주가 서로 다른 특성을 가진 두 가지 이상의 isoenzyme를 생산하는 예는 많이 보고되어 있으나, α -agarase가 한 균주에서 두 가지 이상 생산된 예는 거의 없다. 특히 β -agarase를 생산하는 균주 중 α -agarase 생산이 보고되지 않은 종이 더 많이 있다. 이처럼 한천분해효소와 그 유전자에 관한 연구는 대부분 *Cytophaga* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptomyces* sp., *Vibrio* sp., *Bacillus* sp., *Pseudoalteromonas* sp. 및 *Alteromonas* sp. 등이 생산하는 β -agarase의 효소학적 및 유전학적 특성규명이 두드러지게 연구되었다[18, 38, 60]. Oh 등[48]과 Fu 등[18]의 최근 연구결과에 따르면 해양 미생물 *Pseudoalteromonas* sp. AG4나 *Agarivorans albus* YKW-34 유래의 β -agarase 유전자를 *E. coli*에서 과발현시켜 생산된 재조합 β -agarase 효소 활성을 측정함으로써 생물학적 생산 공정에 적용 가능성을 확인하였다[18, 48]. Seok 등[55]은 β -agarase의 대량 생산 최적화를 위해 효모 *Pichia pastoris*에서 재조합 β -agarase를 분비 생산하고자 하였다. *Zobellia galactanivorans* 유래의 β -agarase 유전자(*agaB*)가 클로닝되었고, *AOX1*(alcohol oxidase 1, methanol inducible) promoter 하류에 *Saccharomyces cerevisiae* mating factor alpha-1 secretion signal(MF α 1)를 연결하여 MF α 1-AgaB를 구축하였다. 구축된 plasmid pPIC-AgaB(9 kb)를 *P. pastoris* genome에 *HIS4* gene 위치에 integration하였고, colony PCR을 통해 확인하였다. Methanol 첨가 배지에서 자란 형질전환체는 iodine solution의 첨가에 의해 red halos를 보였으며, *P. pastoris*에서 *agaB*의 효율적 분비 발현을 확인하였다. SDS-PAGE와 zymographic analysis에서 β -agarase의 분자량은 약 53 kDa으로 추정되었으며, 15% 정도의 N-linked glycosylation이 일어났음을 알 수 있었다. *P. pastoris* GS115/pPIC-AgaB의 48시간 baffled flask culture에서 세포 외 β -agarase의 활성은 각각 0.1, 0.5, 1% methanol의 유도에 의해 1.34, 1.42 그리고 1.53 units/mL의 활성을 보였다. 대부분의 β -agarase의 활성은 세포 외에서 관찰되었고, 분비 효율은 98%였으며 분비시의 glycosylation에 의해 열안정성도 증가되었다. α -agarase의 경우 그램 음성 세균에 존재하리라고 예측되지만 정제효소의 특성 및 그 유전자가 보고된 결과는 없고 α -agarase의 활성이 일부 보고 되어 있다[49]. 또한 대부분의 agarase는 30-40°C, pH는 중성영역에서 최적 활성을 가지며 분자량은 최저 18,000 Da에서 360,000 Da의 다양한 크기로 나타났다. 최근 Yun 등[62]은 *Saccharophagus*

degradans 2-40가 생산하는 agarolytic 효소에 의해 홍조류 agarose로부터 3,6-anhydro-l-galactose(L-AHG)의 생산에 관한 연구를 수행하였다. Agarose로부터 L-AHG 생산을 위한 최적 *S. degradans* 2-40 유래 agarolytic 효소를 얻기 위하여 세포 내외 또는 표면의 효소 분획 및 탄소원이 최적화 되었고, 이들 효소 분획의 agarose 가수분해 특징이 분석되었다. 그 결과, agarose, agar 또는 red macroalgal biomass에서 배양된 세포가 glucose 또는 galactose에서 배양된 세포와 비교해 볼 때 agarase 활성 및 AHG 생산 활성이 높게 나타났다. 특히, agar에서 배양된 세포의 경우 cell-free lysate에서 agarase 활성 및 AHG 생산 활성이 extracellular fraction에 비해 매우 높게 측정되었다.

한천의 경우 2011년 세계 연간 생산량은 약 6,000톤 정도라고 추정되고 있으며, 우리나라의 연간 생산량은 약 600~800톤 정도이다. 현재 국내 생산 한천의 국내 소모량은 200톤 정도로 추정되며, 400톤 이상이 수출되어 고부가가치 agarose나 sepharose 등으로 역수입되고 있는 실정이다. 한천(agar)은 agarose와 agaropectin으로 구성되어 있으며, agaropectin의 경우 agarose에 황산기, pyruvic acid 및 uronic acid 잔기 등의 산성기들을 함유하고 있어 전기장하에서 물질의 이동에 영향을 줄 뿐만 아니라 겔 강도를 약화시키는 주요 원인이 된다[13]. 따라서 여러 단계의 유기 용매 분획을 통하여 한천 중의 agaropectin을 제거함으로써 agarose 순도를 높여 의학과 생명공학 분야에 사용되고 있다. Agarose를 정제하기 위하여 제조사들은 여러 가지 방법들, 즉, pyridine-무수초산법, dimethylsulfoxide 분리법, cetylpyridinium chloride 및 cetyltrimethyl ammonium 추출법, polyethylene glycol 추출법, sodium iodide 분리법, nal-acrinol 분리법, ethanol 침전법 및 양이온 계면활성제 분리법 중에서 2-3가지 정제 방법을 병용하고 있다. 하지만 이러한 유기용매에 의한 agarose의 정제법은 과도한 유기용매 사용으로 인한 공정비가 과도하게 소요될 뿐만 아니라 고가의 장비와 이에 따른 고도의 기술 및 유기용매 재처리 시설을 요구하고 있다. 하지만 생물공정법을 적용할 경우 효소 촉매를 사용한 공정의 도입으로 환경친화적인 agarose 생산이 가능하며, 유기용매 정제법에 비해 용매 사용량을 20-40%로 저감할 수 있다. 또한 유기용매 재처리시설 감소 및 정제 단계 축소를 통해 공정과정을 획기적으로 간소화 할 수 있으며, 이를 통하여 유기용매 추출법 대비 50% 이상 수율 증대를 기대할 수 있다. 따라서 최근 탈황효소를 이용한 생물학적 생산 공정법에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

Arylsulfatase는 agaropectin에서 황산기를 제거하는 기능을 가진 대표적인 탈황효소로 알려져 있다(Table 3). 해조류를 섭취하는 해양 동물의 경우 소화효소의 일부로서 arylsulfatase가 분포하는 것으로 알려져 있으며, 이 효소는 해조류에 함유되어 있는 다당류의 sulfate ester 결합을 분해하여 해조 다당류의 체내 이용도를 높이고[24], 특히 해조류에서

의 황의 동화와 이화작용에 관여하는 것으로 알려져 있다[12]. 또한 미생물을 이용한 arylsulfatase 효소 생산을 위하여 *Klebsiella pneumoniae*[46], *Salmonella typhimurium* [22], *Pseudomonas aeruginosa*[4] 및 *E. coli*[26]와 같은 병원성 미생물을 이용한 연구가 활발히 진행되어 왔다(Table 4). 최근 보고된 연구에 따르면 *E. coli*에서 과발현되어 생산된 재조합 arylsulfatase 효소를 이용하여 제조한 agarose의 경우 황 함량과 gel 강도 측면에서 상업적 agarose와 상당히 유사한 결과를 보여 줌으로써 고순도 agarose의 생물학적 생산 공정에 적용 가능성을 확인하였다(Table 5)[35, 36]. Cho 등 [9]은 *Pseudoalteromonas carageenovora* 유래의 arylsulfatase 유전자를 표면 발현용 벡터로서 *GAL1* promoter를 가진 유도 발현용 벡터인 pCTcon에 구축을 하고 구축된 pCTAST (7.1 kb)를 *S. cerevisiae* EBY100을 이용하여 효모 세포벽에 성공적으로 표면 발현시켰고, 표면 발현된 pCTAST(7.1 kb)를 처리하여 제조한 agarose와 시판용 agarose를 DNA 전기영동하여 분리능과 이동능을 비교한 결과, 시판용 agarose와 유사함을 확인하였다. 이러한 결과로 볼 때, 효모 *S. cerevisiae*의 세포 표면에서 발현된 재조합 arylsulfatase 효소를 이용하여 한천으로부터 전기영동용 고순도·친환경적인 agarose 생물 생산 공정에 적용 가능성을 알 수 있다.

해조다당류로부터 바이오에너지 생산

최근 전 세계적으로 석유 및 석탄에너지의 고갈로 인하여 신재생에너지의 개발과 연구가 활발히 진행되고 있다. 새로운 신재생에너지원으로 각광을 받고 있는 것 중의 하나가 바이오에너지이다. 바이오에너지는 바이오매스(biomass)로부터 연료를 얻어 이를 발효시켜 얻는 것으로 보통 수송용 연료를 대체하는 에너지를 말한다. 해양 생물자원에 의한 바이오에너지 생산은 비 식량 에너지원으로써 생산성이 월등해 경제적 효과가 뛰어나고, 육상에서 키우는 식량자원과는 달리 극한 환경에서도 자랄 수 있어 환경 문제와 에너지 생산 분야에 동시에 공헌하여 발전가능성이 높은 분야이다.

바이오에너지 생산에 유용한 해조류 유래 다당류를 생산하는 방법에는 산처리를 통한 화학적 가수분해법과 해조류 가수분해 효소를 이용한 효소학적 방법이 알려져 있다. 현재 바이오에너지 생산 공정에 있어 산처리를 통한 해조다당류의 저분자화가 일반적으로 적용되고 있지만, 산처리의 경우 해조다당류를 원하는 저중합도의 활성형으로 선택적으로 분해하는 것이 매우 어렵고, 중화과정을 요구하는 단점이 있는 반면, 해조류 가수분해 효소를 이용할 경우 해조다당류를 원하는 저분자 활성형으로 선택적으로 분해할 수 있기 때문에 효소적 가수분해 방법이 관심을 받고 있다[60, 61]. 최근 바이오에너지 생산에 적합한 해양 미세조류 및 해조류를 선택 및 육종개량하고, 바이오매스 및 지질함성에 영향을 주는 요소들을 공학적으로 최적화하는 연구들이 진행되고 있

다[3, 8]. 뿐만 아니라 대량 배양하는 배양기의 제작 및 양식 기술을 개발하고 해조다당류를 해조류로부터 효과적으로 추출 및 저분자화 할 수 있는 방법의 최적화를 통해 효율적인 바이오연료 생산공정을 설계개발하고자 노력하고 있다[6]. 해양생물자원 유래 바이오에너지 생산은 화석연료의 고갈로 기인되는 고유가시대를 효과적으로 타개 할 수 있는 가장 현실적인 대체에너지인 동시에 청정에너지로서 지구온난화의 주범인 온실가스 감축에도 적극 활용될 전망이다.

해조류바이오에너지란 기존의 전분질계(1세대) 및 목질계(2세대) 자원을 이용한 바이오에너지 생산의 단점을 극복할 수 있는 제 3 세대 신재생에너지인 해조류 이용 바이오알콜로 바이오에탄올, 바이오부탄올, 바이오디젤, 바이오수소 및 바이오가스(메탄) 등을 생산하는 것이다. 이러한 해조류바이오에너지의 장점으로는 재생 가능(renewable), 막대한 부존량(abundant), 비식용 자원(non-edible), 해양조류 유래의 유용 물질(useful), 탄소배출권(CDM) 획득 등을 들 수 있다. 해조류 바이오매스를 이용하여 바이오연료를 생산할 경우, biochemical conversion, direct combustion 및 thermal conversion 등에 포함되는 다양한 공정을 통해 생산 공정에 필요한 power 뿐만 아니라 바이오디젤, 바이오에탄올, 바이오부탄올, 바이오수소 및 바이오가스 등 다양한 형태의 바이오연료 생산이 가능하다. 현재 해조류로부터 생산 가능한 다양한 형태의 바이오연료 중 기술 수준 및 현실적인 여건을 감안해 볼 때 해양거대조류를 이용한 바이오에탄올[27]과 바이오부탄올 생산과 미세조류를 이용한 바이오디젤 생산이 가장 유력할 것으로 판단된다[42, 59].

바이오에탄올 생산에 적용 가능한 해양거대조류(macroalgae)로는 녹조류, 홍조류, 갈조류 등이 있다. 녹조류는 파래와 청각 등이 대표종으로서 48~55%의 총 탄수화물 함량을 가지며, cellulose, pectin, mannan 및 xylan 등의 다당류를 포함하고 있다. 홍조류는 김과 우뚝가사리가 대표종으로서 53~70%의 총 탄수화물 함량과 agarose, carrageenan 및 porphyran 등의 다당류가 포함되어 있으며 갈조류는 미역, 다시마, 툇, 모자반 등이 대표종으로서 45~60%의 총 탄수화물 함량과 alginate, fucoidan, laminaran 및 mannitol 등의 다당류를 포함하고 있다(Table 1). 특히, 미역, 다시마, 모자반 등의 갈조류는 국내에서 실제 대량생산이 가능한 종으로서 국내 해양바이오매스 확보에 가장 유리하다. 해조류로부터 이론적으로 생산 가능한 바이오에탄올의 양은 해조류 건중량 1 ton을 기준으로 할 때 최종수율 31%인 310 kg 수준이 될 것으로 예상된다[6]. 하지만 갈조류 다당을 분해해서 나온 분해산물을 효율적으로 에탄올 생산에 이용하기 위해서는 아직까지 연구가 더 진행되어야 할 것이다. 예를 들면 agarose로부터 당화된 galactose를 효모가 더 잘 이용할 수 있도록 glucose로의 conversion(epimerization)을 위한 유전자[GAL1 gene, galactokinase(GALK), GAL7 gene, galactose-1-phosphate uridyl-transferase(GALT), GAL10 gene, UDP-

galactose-4-epimerase GALE]가 과발현된 재조합 효모를 육종한다거나, alginate의 분해산물인 mannuronic acid나 guluronic acid 등의 이용능을 높이는 연구도 해조다당 분해산물의 효과적인 이용을 위한 대안이 될 수 있을 것이다.

결론 및 향후 기술 전망

해조류는 복합다당류로 구성되어 있으며, 기능성식품, 의약품, 화장품의 기초원료 및 첨가제를 비롯하여, 해조공업의 원료 등으로 다양하게 이용되고 있다. 예를 들면, 해조류로부터 유래되는 대표적인 다당류인 한천, 알긴산, 카라기난, 푸코이단 등은 오래 전부터 인류 생활에 유용하게 이용되어 왔을 뿐만 아니라 바이오플리머로서 높은 부가가치를 가진다. 식품용 agar는 15 달러/kg이나 시약용의 전기영동용 고품질 agarose는 100~200 달러/kg 수준이다. 알긴산의 경우 매년 상업적으로 3만여 톤이 생산되는데 염료고정제, 제제첨가제, 응집제 등 일반 상용화 제품의 판매 가격은 5~20 달러/kg이지만 면역촉진제나 세포고정화용 등의 의약품용 고순도 알긴산일 경우는 40,000 달러/kg이 되는 고부가가치를 지니고 있다. 따라서 해조류로부터 고부가가치 고분자 물질의 생산과 인간생활의 질적 향상을 위한 자원의 하나로서 해조 다당류에 관심이 집중되고 있다. 특히 이들 해조다당류를 저분자화하면, 항암 및 항균작용, 면역증강, 항비만 효과, 항산화, 항염증과 같은 생리적 활성 및 미백효과, 보습효과 등 다양한 생리조절기능성이 월등히 높아 다기능성 올리고당의 소재로 각광받고 있다. 또한, 화학연료의 고갈과 환경오염문제에 따른 친환경 바이오연료의 공급이 시급해짐에 따라 바이오에너지 생산을 위한 새로운 바이오매스로서 해조류 유래 다당류의 이용에도 관심이 집중되고 있다[3, 6, 8, 27, 42, 59].

현재 해조 다당류를 활용한 연구 및 신기술은 전세계적인 관심 속에서 지속적으로 발전해 왔으며 그에 따른 산업 시장은 확대될 전망이다. 따라서 해조다당류를 해조류로부터 효과적으로 추출할 수 있는 추출방법의 최적화 및 해조다당류의 저분자화를 통하여 해조다당류 기능성 증진 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 해조다당류 저분자화는 염산 등을 이용한 화학적 가수분해법 및 효소학적 방법을 이용할 수 있는데, 화학적 산가수분해법은 해조다당류를 생리활성이 높은 저중합도의 활성형으로 선택적으로 생산하는 것이 매우 어렵고, 식품첨가물로서의 부적합성 및 안정성 등에 문제가 있는 반면, 효소학적 방법은 해조다당류를 선택적으로 분해할 수 있는 기질 특이성 때문에 효소적 가수분해 방법이 더 유리하다고 할 수 있다. 따라서 해양 미생물 유래 해조다당류 분해 효소를 이용한 새로운 추출 및 저분자화 방법에 대한 다양한 국내외 연구는 해양자원의 고부가가치 창출과 더불어 기능성 식품, 화장품산업, 및 바이오에너지 산업분야의 응용범위를 넓히는데 크게 이바지할 것으로 사료된다.

요 약

최근에 해조류 유래 기능성소재는 항종양성, 항바이러스성, 항혈액응고 및 면역력 증강 등의 다양한 생리활성기능을 갖는 것으로 알려져 있다. 특히 해조다당류를 저분자화하면 다양한 생체조절기능성이 월등히 높게 나타나고 있음이 보고되고 있다. 따라서 해조다당류를 해조류로부터 효과적으로 추출할 수 있는 추출방법의 최적화 및 해조다당류의 저분자화를 통하여 해조다당류 기능성 증진 방법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 총설에서는 최근 부각되고 있는 해양 미생물 유래 해조다당류 분해효소를 이용한 기능성 신소재 개발 및 산업적 응용에 대하여 논하고자 한다.

Acknowledgments

This research was supported by a grant from (Development of marine-bioenergy) Program Funded by Ministry of Land, Transport and Maritime Affairs of Korean Government. J. H. Kim is the research professor from the Ministry of Education through the Brain Korea 21 Project.

REFERENCES

- Araki, T., M. Hayakawa, Z. Lu, S. Karita, and T. Morishita. 1998. Purification and characterization of agarases from a marine bacterium, *Vibrio* sp. PO-303. *J. Mar. Biotechnol.* **6**: 260-265.
- Asia, Y., Y. Miyakawa, T. Nakazato, H. Shibata, K. Saito, Y. Ikeda, and M. Kizaki. 2005. Fucoidan induces apoptosis of human HS-sultan cells accompanied by activation of caspase-3 and down-regulation of ERK pathway. *Am. J. Hematol.* **78**: 7-14.
- Beer, L., E. S. Boyd, J. Peters, and M. Posewitz. 2009. Engineering algae for biohydrogen and biofuel production. *Current Opinion in Biotechnology* **20**: 264-271.
- Beil, S., H. Kehrl, J. Peter, W. Staudenmann, A. M. Cook, T. Leisinger, and M. A. Kertesz. 1995. Purification and characterization of the agaropectin sulfatase synthesized by *Pseudomonas aeruginosa* PAO during growth in sulfate-free medium and cloning of the arylsulfatase gene(atsA). *Eur. J. Biochem.* **229**: 385-394.
- Berteau, O. and B. Mulloy. 2003. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiol.* **13**: 29-40.
- Buck, B. C. and C. M. Buchholz. 2004. The offshore ring: A new system design for the open ocean aquaculture of macroalgae. *J. Appl. Phycol.* **16**: 355-369.
- Chevolot, L. A. Foucault, F. Chaubet, N. Kervarec, C. Sinquin, A. M. Fisher, and C. Boisson-Vidal. 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carbohydr. Res.* **319**: 154-165.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* **25**: 294-306.
- Cho, E. S., J. H. Kim, Y. H. Kim, and S. W. Nam. 2010. Characterization of Agarose Produced by Yeast Cell Surface Displayed-Arylsulfatase. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 428-433.
- Cho, K. J., Y. S. Lee, and B. H. Ryu. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Kor. Fish. Soc.* **23**: 345-352.
- Davidson, I. W., I. W. Sutherland, and C. J. Lawson. 1976. Purification and properties of an alginate lyase from a marine bacterium. *Biochem. J.* **159**: 707-713.
- De Hostos, E. L., R. K. Togasaki, and A. Grossman. 1988. Purification and biosynthesis of a derepressible periplasmic arylsulfatase from *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Cell Biol.* **106**: 29-37.
- Do, J. H. 1997. Extraction and purification of agar from *Gelidium amansii*. *J. Korean Fish Soc.* **30**: 423-427.
- Dobashi, K., T. Nishino, M. Fufihara, and T. Nagumo. 1989. Isolation and preliminary characterization of fucose containing sulfated polysaccharide with blood anticoagulant activity from the brown seaweed. *Carbohydr. Res.* **194**: 315-320.
- Dolan, T. C. S. and D. A. Rees. 1965. The carrageenans. II. The positions of the glycosidic linkages and sulphate esters in λ -carrageenan. *J. Chem. Soc.* 3534.
- Duckworth, M. and W. Yaphe. 1971. Structure of agar. I. Fractionation of a complex mixture of polysaccharides. *Carbo. Res.* **16**: 189-197.
- Fisher, F. G. and H. Dorfel. 1955. The polyuronic acids of brown algae. Part I. *Z. Physiol. Chem.* **302**: 186-203.
- Fu, X. T., C. H. Pan, H. Lin, and S. M. Kim. 2009. Gene cloning, expression, and characterization of a beta-agarase, agaB34, from *Agarivorans albus* YKW-34. *J. Microbiol. Biotechnol.* **19**: 257-264.
- Gacesa, P. 1988. Alginates. *Carbohydr. Polym.* **8**: 161-182.
- Guyen, K. C., Y. Ozsoy, and O. N. Ulutin. 1991. Anticoagulant, fibrinolytic and antiaggregant activity of carrageenans and alginic acid. *Botan. Marin.* **34**: 429-435.
- Haug, A., B. Larsen, and O. Smidsrød. 1966. A study of constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis. *Acta. Chemica. Scand.* **20**: 183-190.
- Henderson, M. J. and F. H. Milazzo. 1979. Arylsulfatase in salmonella typhimurium: Detection and influence of carbon source and tyramine on its synthesis. *J. Bacteriol.* **139**: 80-87.
- Hicks, S. J. and P. Gacesa. 1996. Heterologous expression of full-length and truncated forms of the recombinant guluronate-specific alginate lyase of *Klebsiella pneumoniae*. *Enzyme Microbiol. Technol.* **19**: 68-73.
- Hoshi, M. and T. Moriya. 1980. Arylsulfatase of sea-urchin sperm. 2. Arylsulfatase as a lysin of sea-urchins. *Dev. Biol.* **74**: 343-350.
- Iwamoto, Y., R. Araki, K. Iriyam, T. Oda, H. Fukuda, S.

- Hayashida, and T. Muramatsu. 2001. Purification and characterization of bifunctional alginate lyase from *Alteromonas* sp. strain no. 272 and its action on saturated oligomeric substrates. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **65**: 133-142.
26. Jansen, H. J., C. A. Hart, J. M. Rhodes, J. R. Saunders, and J. W. Smalley. 1999. A novel mucin-sulphatase activity found in *Bukholderia cepacia* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med. Microbiol.* **48**: 551-557.
27. John, R. P., G. S. Anisha, K. M. Nampoothiri, and A. Pandey. 2011. Micro and macroalgal biomass: a renewable source for bioethanol. *Bioresour. Technol.* **102**:186-193.
28. Joo, D. S., J. S. Lee, J. J. Park, S. Y. Cho, C. B. Ahn, and E. H. Lee. 1995. Purification and characterization of the intracellular alginase from *Vibrio* sp. AL-145. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 432-438.
29. Joo, D. S., J. S. Lee., J. J. Park., S. Y. Cho., H. K. Kim, and E. H. Lee. 1996. Preparation of oligosaccharides from alginic acid enzymatic hydrolysis. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**: 146-151.
30. Joo, D. S., S. Y. Cho, and E. H. Lee. 1993. Isolation of alginate-degrading bacteria and production of alginate degrading activities by bacteria. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**: 207-213.
31. Jung, J. Y., S. S. Hur, and Y. H. Choi. 1999. Studies on the efficient extraction process of alginic acid in sea tangle. *Food Eng. Prog.* **3**: 90-97.
32. Kato, I. 2000. Antioxidative and antitumorigenic properties of agarooligosaccharide. *Bio Industry* **17**: 13-19.
33. Kim, B. J., S. D. Ha., D. J. Lim., C. Song, and J. Y. Kong. 1998. Production of agarase from marine bacterium *Bacillus cereus* ASK202. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **13**: 524-529.
34. Kim, D. E., E. Y. Lee, and H. S. Kim. 2009. Cloning and characterization of alginate lyase from a marine bacterium *Streptomyces* sp. ALG-5. *Mar. Biotechnol.* **11**:10-16.
35. Kim, H. C., H. J. Kim, W. B. Choi, and S. W. Nam. 2006. Inulooligosaccharides production from inulin by *Saccharomyces cerevisiae* strain displaying cell-surface endoinulinase. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**: 360-367.
36. Kim, M. J., J. H. Kim, and S. W. Nam. 2011. Constitutive overexpression of *Pseudoalteromonas carrageenovora* arylsulfatase in *E. coli* fed-batch culture. *Kor. J. Chem. Eng.* **28**: 1101-1104.
37. Kim, O. J., D. G. Lee, S. M. Lee, S. J. Lee, H. J. Do, H. J. Park, A. Kim, J. H. Lee, and J. M. Ha. 2010. Isolation and characteristics of alginate-degrading *Methylobacterium* sp. HJM27. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 144-150.
38. Kong, J. Y., S. H. Hwang, B. J. Kim, S. K. Bae, and J. D. Kim. 1997. Cloning and expression of an agarase gene form a marine bacterium *Pseudomonas* sp. w7. *Biotechnol. Lett.* **19**: 23-26.
39. Lee, B. H., S. B. Lee, and W. K. Kim. 2009. Alginate fiber. *Fiber Technol. Ind.* **13**: 21-24.
40. Lee, J. H. and E. Y. Lee. 2003. Isolation of alginate degrading marine bacteria and characterization of alginase. *J. Life Sci.* **23**: 718-722.
41. Lee, J. H., M. J. Bae, Y. C. Kim, and S. W. Nam. 2009. Identification and characterization of alginate lyase producing *Pseudomonas* sp. N7151-6. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 350-354.
42. Lee, S., Y. Oh, D. Kim, D. Kwon, C. Lee, and J. Lee. 2011. Converting carbohydrates extracted from marine algae into ethanol using various ethanolic *Escherichia coli* strains. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **164**:878-888.
43. Lee, Y. S., D. S. Kim, B. H. Ryu, and S. H. Lee. 1992. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward sarcoma-180 cell. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**: 544-550.
44. Linker, A. and L. R. Evans. 1984. Isolation and characterization of an alginase from mucoid strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **159**: 958-964.
45. Luning, K. and S. J. Pang. 2003. Mass cultivation of seaweeds: current aspects and approaches. *J. Appl. Phycol.* **15**:115-119.
46. Miech, C., T. Dierks, T. Selmer, K. V. Figura, and B. Schmidt. 1998. Arylsulfatase from *Klebsiella pneumoniaecarries* a formylglycine generated from a serine. *J. Biol. Chem.* **273**: 4835-4837.
47. Nakashima, H., Y. Kido, N. Kobayashi, Y. Motoki, M. Neushal, and N. Yamamoto. 1987. Purification and characterization of an avian myeloblastosis and human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor sulfated polysaccharide extracted from sea algae. *Agents Chemother.* **31**: 1524-1528.
48. Oh, C. H., C. Nikapitiya, Y. D. Lee, I. S. Whang, S. J. Kim, D. H. Kang, J. H. Lee. 2010. Cloning, purification and biochemical characterization of beta agarase from the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. AG4. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 483-494.
49. Ohta, Y., Y. Hatada, M. Miyazaki, Y. Nogi, S. Ito, and K. Horikoshi. 2005. Purification and characterization of a novel α -agarase from a *Thalassomonas* sp. *Curr. Microbiol.* **50**: 212-216.
50. Park, K. Y., J. H. Back, W. Hur, and S. Y. Lee. 2007. *In vitro* glucose and bile acid retardation effect of fucoidan from *Laminaria japonica*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **4**: 265-269.
51. Park, Y. H., D. S. Chang, and S. B. Kim. 1994. Symbiotic formation of alginate lyase in mixed culture of bacteria isolated from soil. *J. Ferment. Bioeng.* **69**: 192-194.
52. Pereira, M. S., B. Mulloy, and P. A. S. Mourao. 1999. Structure and anticoagulant activity of sulfated fucans. *J. Biol. Chem.* **274**: 7656-7667.
53. Preeprame, S., K. Hayashi, J. B. Lee, U. Sankawa, and T. Hayashi. 2001. A novel antivirally active fucan sulfate derived from an edible brown alga. *Chem. Pharm. Bull.* **49**: 484-485.
54. Rehm, B. H. A. and S. Valla. 1997. Bacterial alginates: biosynthesis and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **48**: 281-288.
55. Seok, J. H., H. G. Park, S. H. Lee, S. W. Nam, S. J. Jeon, J. H. Kim, and Y. H. Kim. 2010. High-level secretory expression of recombinant β -agarase from *Zobellia galactanivorans* in

- Pichia pastoris*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 40–45.
56. Scot, M., G. M. Colin, J. David, L. Mills, and J. B. Brian. 1987. Estimation of meiobenthic nematode diversity by non specialists. *Marine Pollu. Bulletin.* **18**: 646-649.
57. Temuujin, U., W. J. Chi, S. Y. Lee, Y. K. Chang, and S. K. Hong. 2011. Overexpression and biochemical characterization of DagA from *Streptomyces coelicolor* A3(2): an endo-type β -agarase producing neoagarotetraose and neo-agarohexaose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* DOI:10.1007/S00253-011-3347-7
58. Uo, M. H., D. S. Joo, S. Y. Cho, and T. S. Min. 2006. Purification and characterization of the extracellular alginase produced by *Bacillus licheniformis* AL-577. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**: 231-237.
59. Wang, X., X. Liu, and G. Wang. 2011. Two-stage hydrolysis of invasive algal feedstock for ethanol fermentation. *J. Integr. Plant Biol.* **53**: 246-252.
60. Yang, J. S. and S. R. Lee. 1997. Effect of ionizing radiation on the extraction yield and viscosity of alginate. *Korean J. Food Sci. Technol.* **9**: 194-198.
61. Yeon, J. H., S. E. Lee, W. Y. Choi, D. H. Kang, H. Y. Lee, and K. H. Jung. 2011. Repeated-batch operation of surface-aerated fermentor for bioethanol production from the hydrolysate of seaweed *Sargassum sagamianum*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **21**: 323-331.
62. Yun, E. J., M. H. Shin, J. J. Yoon, Y. J. Kim, I. G. Choi, and K. H. Kim. 2011. Production of 3,6-anhydro-l-galactose from agarose by agarolytic enzymes of *Saccharophagus degradans* 2-40. *Process Biochemistry* **46**: 88-93.
63. Zhang, W. W. and L. Sun. 2007. Cloning, characterization, and molecular application of a beta-agarase gene from *Vibrio* sp. strain V134. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**: 2825-2831.