

## 미세조류 유래 고부가 유용물질

오희목\* · 최애란 · 민태익  
한국생명공학연구원

**High-Value Materials from Microalgae.** Oh, Hee-Mock\*, Aeran Choi, and Tae-Ick Mheen. Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, P. O. Box 115, Yusong, Daejeon 305-600, Korea – Microalgae are a diverse group of photosynthetic organisms and abundant in every ecosystem in the biosphere. They are common in aqueous environments including marine, brackish and fresh waters and in some habitats that lack eukaryotic life such as some hot springs and highly alkaline lakes. Microalgal biotechnology that is focused on the microalgae-based production of a variety of useful materials such as pharmaceutical compounds, health foods, natural pigments, and biofuels is considered as an important discipline with the development of biotechnology. In addition, the mass cultivation of microalgae can also contribute to improving the environmental quality by reducing the concentration of CO<sub>2</sub> which is one of major gases lead to global warming. Consequently, it seems that the microalgae can be used as an efficient, renewable, environmentally friendly source of high-value biomaterials such as chemicals, pigments, energy, etc. and the microalgal biotechnology will most likely represent a larger portion of modern biotechnology.

**Key words:** Microalgal biotechnology, high-value biomaterials, bioactive compounds, pigments, health food

조류(algae)는 약 40,000종의 많은 종류가 알려져 있는 매우 다양한 특성을 지닌 생물군으로 자연 상태에서 다양한 유용물질을 생산하는 것으로 알려져 있다[15, 43]. 미세조류(microalgae) 유래의 유용물질은 가장 잘 알려진 건강보조식품 외에도 천연색소, 의약품 물질, 생화학물질, 사료, 대체에너지 등으로 매우 다양하다. 대표적 유용물질로는 vitamin, carotenoid, phycobiliproteins, polysaccharides, 조류의 biomass 등이 있다.

미세조류 배양의 가장 큰 장점은 작물생산에 적합하지 않은 염도 농도가 높거나 강한 알카리 등의 극한 환경에서도 성장 가능하다는 점이다. 지금까지 주로 동물, 식물, 세균 등을 대상으로 biotechnology가 발전하였으며, 근래에는 조류로부터 유용생물자원을 탐색, 생산, 이용하고자 하는 algal biotechnology 분야의 발전이 크게 기대된다.

본 고에서는 미세조류의 대량배양을 통하여 생산되는 다양한 물질 중에서 고부가가치의 유용물질을 대상으로 세계적으로 진행되고 있는 연구 및 생산현황을 개관하고, 국내에서 수행되고 있는 관련기술 개발현황을 요약하였다. 또한 최근 급속히 발전하고 있는 생명공학기술을 바탕으로 한 미세조류의 분자생물학적 연구현황 및 전망을 소개하고자 한다.

### 고부가 유용물질의 종류

미세조류는 수중에서 태양광, 이산화탄소 등을 이용하여 비교적 적은 비용으로 대량으로 배양될 수 있다[19, 42, 43]. 미세조류의 대량배양을 통하여 생산된 biomass는 Table 1에 정리된 바와 같이 다양한 종류의 유용물질을 함유한다[52].

#### 건강보조식품

**Biomass.** 미세조류를 식품으로 이용한 대표적 예로서 *Spirulina platensis*와 *S. maxima*는 아프리카에서 예로부터 식품으로 사용되어져 왔으며, 현재에도 아프리카 중북부 공화국인 Chad와 Mexico 등지에서 식품으로 이용되고 있다[13]. *Nostoc flagelliforme*은 중국에서 진미의 음식으로 통하기도 한다[17, 49]. 그 외 남조류 중 일부가 인도와 필리핀 등지에서 식품으로 사용된다는 보고가 있다[33, 50]. 미세조류의 대량배양으로서 1965년 일본과 대만에서는 건강보조식품으로서 *Chlorella*의 상업적 생산을 시작하였으며, 1965년 프랑스에서는 사상형 남조류인 *Spirulina*를 단백질원으로 개발하고자 대량배양을 시작하였다.

*Spirulina*는 단백질함량이 건량의 46-71%로 매우 높고(Table 2)[4],  $\gamma$ -linolenic acid(GLA), phycocyanin, myxoxanthophyll, zeaxanthin 등 약리작용을 나타내는 물질이 다량 함유되어 있어 사람뿐만 아니라 동물에게까지 단백질이나 vitamin을 제공하는 건강보조식품으로 선호되고 있다[12, 29].

\*Corresponding author  
Tel: 042-860-4321, Fax: 042-860-4598  
E-mail: heemock@kribb.re.kr

**Table 1. Commercial compounds produced from microalgae.**

Type	Compound
Amino acids	Proline, aspartate, alanine, histidine, serine, threonine, phenylalanine, leucine, ornithine, glutamate
Lipids	Lipids, fatty acids, sterols
Pharmaceuticals	Alkylguanidine compounds, arachidonic acid, microcystin, anatoxins, gallotannin, aponin, malyngolide
Pigments	Carotenoids, astaxanthin, chlorophyll, biliproteins
Polyols/Carbohydrates	Trehalose, glucose, sucrose, sorbitol, glycerol, glycolate, mannitol, mannose
Polysaccharides	Containing D-xylose, D-glucose, D- and L-galactose, methylxylose, D-glucuronic acid, etc.
Primary alcohols	Phytol
Vitamins	B <sub>1</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> , C, E, biotin, riboflavin, nicotinic acid, pantothenate

**Table 2. Chemical components of human food sources and different algae(% of dry weight).**

Commodity	Proteins	Carbo-hydrates	Lipids	Nucleic acids
Rice	8	77	2	1
Egg	47	4	41	-
Milk	26	38	28	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4.5
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	2-5

*Spirulina*의 경우 옥외배양이 가능하고, 고온성(35-37°C)이며 호알칼리성(pH 10)으로 비교적 배양이 용이하여 전 세계적으로 다수의 기업이 생산에 참여하고 있다. 실제로 미국의 Earthrise Farms에서는 연못(pond) 배양을 통하여 360톤(1995년)의 *Spirulina*를 생산하였고, 이외에도 Cyanotech Corporation(미국), Ballarpur Industries Ltd(인도), Siam Algae Co.(태국), Wuhan Microalga Biotechnology Co.(중국) 등에서도 많은 양의 *Spirulina*로부터 건강보조식품, 식품 착색제, 어류용 사료 등을 생산, 판매하고 있다.

**영양보충제.** 영양보충제로서 docosahexaenoic acid(DHA), eicosapentaenoic acid(EPA), arachidonic acid(AA)와 같은 긴 사슬불포화지방산(long-chain polyunsaturated fatty acids, LCPUFA)이 대표적 예가 된다[16, 48]. 미세조류 중에서 규조류, 황갈조류, 갈색편모조류, 외편모조류 등이 고농도의 LCPUFA를 생산하는 것으로 알려져 있다. 특히 규조류인

**Table 3. L-ascorbic acid concentration of microalgae.**

Microalgae	L-ascorbic acid (mg/L)	Specific formation (mg/g cells)
<i>Ankistrodesmus braunii</i> UTEX 187	0.35	0.57
<i>Bracteacoccus cinnabarinus</i> UTEX 56	0.37	0.23
<i>Chlorella emersonii</i> UTEX 1801	0.92	0.40
<i>C. miniata</i> UTEX 24	15	3.4
<i>C. pyrenoidosa</i> UTEX 1230	2.2	1.2
<i>C. pyrenoidosa</i> UTEX 1663	0.70	0.64
<i>C. regularis</i> var. <i>umbricata</i> UTEX 1808	1.8	0.69
<i>C. saccharophila</i> ATCC 30408	0.90	0.82
<i>C. salina</i> UTEX 1809	0.18	0.15
<i>C. sorokiniana</i> ATCC 22521	0.99	0.50
<i>C. variegata</i> UTEX 28	17	5.7
<i>C. vulgaris</i> UTEX 29	0.25	0.048
<i>Chlorocloster engadinensis</i> UTEX 307	1.4	1.4
<i>Coccomyxa elongata</i> UTEX 267	0.37	0.88
<i>Cyclotella</i> sp. UTEX 1269	0.55	0.80
<i>Dictyochloris fragrans</i> UTEX 33	0.43	0.77
<i>Euglena gracilis</i> UTEX 753	0.17	0.20
<i>Navicula incerta</i> UTEX 2046	0.92	0.58
<i>Neochloris alveolaris</i> UTEX 836	0.42	0.85
<i>Nitzschia laevis</i> UTEX 2047	0.97	0.81
<i>Poteriochromonas danica</i> UTEX 1298	2.5	0.33
<i>Scenedesmus brasiliensis</i> ATCC 30431	ND	-
<i>S. obliquus</i> UTEX 393	ND	-

*Phaeodactylum tricornutum*은 총지방산의 35% 이상이 EPA로 구성되어 있는 것으로 보고되었다[51].

DHA는 22개의 탄소원자와 6개의 이중결합(22:6)으로 이루어졌으며, 인간 두뇌의 회백질을 구성하는 지방산의 20-25%, 그리고 망막의 50-60%를 차지하는 등 신경조직에 많이 분포하는 지방산이다[2]. 외편모조류인 *Cryptochlorella*에서 추출한 DHA를 함유한 식물성 오일은 미국에서 건강보조식품으로 널리 판매되고 있다[6].

EPA는 20개의 탄소와 5개의 2중결합(20:5)을 갖는 LCPUFA이다. 미세조류 중에서 *Nitzschia*, *Nannochloropsis*, *Navicula*, *Porphyridium* 등이 EPA를 다량 함유한 것으로 알려져 있다. EPA의 부족은 혈관계의 이상을 초래할 수 있으며, EPA를 포함한 미세조류의 건조체가 상품화되었다. 그 외에도 미세조류에서 ascorbic acid와 같은 수용성 항산화제의 추출이 보고되었다(Table 3)[45].

### 천연색소

**Carotene.**  $\beta$ -carotene은 식품의 보조색소, 산화방지제, 화장품용 노화방지제 등으로 널리 사용되어 왔다. 근래에 미국 FDA에 의하여  $\beta$ -carotene의 항산화 효과가 인정된 후 항암제, 피부병 치료제 등의 의약품 수요가 국내·외적으로 급격히 증가하고 있다.

*Dunaliella salina*로부터 추출된  $\beta$ -carotene은 이미 상품화된 고부가(60달러/kg)의 조류산물로서, 호주(Western Biotechnology Ltd, Betatene Ltd), 미국(Microbio Resources Inc), 이스라엘(Naturebeta) 등에서 생산되고 있다[21, 44].

**Astaxanthin.** 담수조류인 *Haematococcus pluvialis*로부터 ketocarotenoid인 astaxanthin의 생산이 기대를 모으고 있으나, astaxanthin함량이 비교적 낮다는(1% dw) 단점이 해결해야 할 과제로 남아 있다.

Zeaxanthin은 *Spongiococcum* sp.에서 생산이 많이 되는 것으로 알려져 있고, 이 속 내에서도 *S. encentricum*에서 그 생산량이 큰 것으로 보고되고 있다(0.35-2.8 mg/g)[54]. 또, *Nannochloris*의 경우에도 violaxanthin, zeaxanthin 등의 식품착색제로 사용되는 색소를 생산하는 것으로 알려져 있다.

**Phycobilins.** Phycocyanin, phycoerythrin 등의 phycobilin계 색소는 홍조나 *Chlorogleopsis* sp., *Dermocarpa* sp., *Anabaena* sp., *Spirulina* sp. 등의 남조류로부터 쉽게 분리될 수 있다[34]. C-Phycocyanin과 allophycocyanin은 phycobiliprotein으로서 미생물학적으로 cell sorting시에 형광표지물질로 이용되거나, 고순도의 array를 screening하는데 있어서 사용되고 있다[18]. *Spirulina*로부터 이러한 allophycocyanin과 C-phycocyanin의 생산은 용이하고 비용이 적게 드는 장점이 있다[27].

### 의약품 물질

**생리활성물질.** 미세조류는 식물과 마찬가지로 다양한 종류의 유용물질을 생산하며 총체적으로 2차 대사산물로 분류할 수 있으며, 생리활성물질로 불리기도 한다. 이들 대사산물은 일반적으로 1차 생장기(primary growth phase)의 마지막으로부터 정지기(stationary phase)로 들어가는 단계에 합성된다. 조류독소(phycotoxins) 또는 관련 생산물은 유용한 의약품원료물질로 사용될 수 있다.

조류독소는 효능( $\mu$ g toxin/kg body mass)과 작용의 특이성(막의 이온 투과성 등)으로 구분될 수 있다. 주요 조류독소는 cyclic peptides, alkaloids, polyethers, glycolipids 등이 있다. 남조류인 *Anabaena flos-aquae*, *Aphanizomenon flos-aquae*가 생산하는 신경독(anatoxin)과 *Microcystis aeruginosa*가 생산하는 간장독(microcystin)은 가축에 독으로 작용하고 있다고 알려져 있다[8]. 따라서 자연계에서 이들의 생산에 대한 기작, 환경조건 등에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다[39].

수많은 화합물이 원핵 또는 진핵 미세조류로부터 분리되

**Table 4. Categories of bioactivity and the range of agents detected.**

Biological effect	Substance
Inhibitor	papain-, trypsin-, plasmin-, aminopeptidase-, chymotrypsin-, elastase-, protease inhibitor
Antiviral	$\beta$ -carbolines, sulfolipids, cyanovirin, indol-carbozole, calcium spirulan
Cytotoxic	lyngbyastatin, fischerellin
Fungicide	fischerellin A, phenolic, phytoalexin
Algicide	glycerolipids
Bactericide	kawaguchipeptin B
Cytostatic	symplostatin

었으며, 여러 가지 유형의 생리활성이 시험되었다. 그러나 현재까지는 극히 일부만이 약효가 알려져 있을 뿐이다. 따라서 미세조류로부터 유용물질 생산의 장래는 바이러스성 감염, 암, 항세균, 항균 등의 활성을 갖는 새로운 약물 개발에 최우선 순위가 있다고 할 수 있다. 생리활성물질의 효과 및 그 대표적 예는 Table 4와 같다[47].

항종양, 항세균, 항진균, 항바이러스, 신경활성과 같은 다양한 생리활성물질들이 미세조류에 의하여 생산 가능한 것으로 보고되었다[14, 36, 46]. 남조류인 *Tolypothrix byssoidea*로부터 추출한 질소화합물인 tubercidin은 P-388 림프성 백혈병에 *in vitro* 활성이 있는 것으로 보고되었다. 녹조류인 *Chlamydomonas*로부터 추출한 L-aspariginase는 쥐의 림프육종의 성장을 억제하였다. 미국 국립암연구소(National Cancer Institute, NCI)는 조류로부터 생리활성물질의 탐색에 중요한 역할을 수행하고 있으며, sulfolipids가 HIV virus에 대하여 *in vitro* 활성이 있음을 보고한 바 있다. 또한 최근에는 남조류 *Nostoc ellipsosporum*에서 추출한 저분자의 단백질인 cyanovirin이 숙주세포에 영향을 주지 않고 HIV를 불활성화할 수 있음이 보고되었다.

**의약품원료물질.** *Spirulina*는 피부 대사를 촉진하며 각질화를 막아주고 상처치유에 효과가 있는 것으로 알려져 있다[4]. 이들 효과는 조류가 포함하고 있는 엽록소, carotenoid 색소, vitamin B 등에 의한 것으로 추정되고 있다. 또한 *Spirulina*는 사람이나 동물에 의하여 합성되지 못하는 linolenic acid를 함유하고 있으며, 이 linolenic acid는 prostaglandin의 합성을 촉진하는 것으로 알려져 있다.

남조류인 *Synechococcus*의 추출물이 세포 성장을 촉진하는 것으로 보고되었으며, 이는 phycocyanin, allophycocyanin과 같은 phycobiliproteins에 의한 것으로 알려져 있다[4]. *Cystoseira barbata*, *Fucus gardnerii*, *Phyllophora nervosa* 등의 해조류는 혈장의 cholesterol 농도를 낮추어 고혈압이나 심장병을 예방할 수 있으며, 이는 이들 조류에 포함된 betaine에 의한 것으로 알려져 있다. 또한 담수조류 *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina*에서도 조류의 섬유질이 cholesterol 농도를 낮추는데 효과가 있음이 보고되었다.

**형광색소.** Phycobiliproteins는 남조류와 홍조류 등에 포함된 광합성 보조색소로서 스펙트럼의 특성에 따라 phycoerythrin(PE), phycocyanin(PC), 그리고 allophycocyanin(AP)의 세 가지로 구분된다. 이들 색소는 광에너지에 의하여 여기되면서 흡수된 에너지의 90% 이상을 형광으로 방출할 수 있다. 또한 항체, streptavidin, biotin 등과 안정된 접합체를 형성하는 특징이 있다. 따라서 phycobiliproteins는 세포의 유형과 단백질을 구분하기 위한 고도의 특이성이 있는 탐침자로서 형광표지의 기능이 있다. 실제로 phycobiliproteins는 flow cytometry나 fluorescence-activated cell sorting에 응용되고 있다.

**방사능 표지물질.** 미세조류는 상대적으로 저렴한  $^{13}\text{C}\text{O}_2$ ,  $^{15}\text{NO}_3$ ,  $^2\text{H}_2\text{O}$  등과 같은 무기물로부터  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^2\text{H}$ 를 함유한 고부가의 유기물을 광합성 작용으로 합성한다. 미세조류는 대사적으로 매우 유연하므로 배양조건을 변화시킴으로써 다양한 종류의 화합물을 대량으로 생산할 수 있다. 흔히 이용되고 있는 조류가 생산하는 방사능으로 표지된 화합물은 glucose와 glycerol이다. 즉, 조류가  $^{13}\text{C}\text{O}_2$ 의 존재 하에서 성장하면서 표지된 전분을 생산하고 이들은 가수분해되어 결정형의  $^{13}\text{C}$ -glucose를 생산하는 것이다. 이와 같이 조류가 유도한 안정된 방사능으로 표지된 화합물은 대사경로를 밝히기 위한 대사추적물질로 사용된다.

## 국내의 microalgal biotechnology

국가가 주도적으로 추진하고 있는 선도기술개발사업 등에서 세균, 곰팡이와 같은 미생물로부터 유용생물자원을 개발하고자 하는 연구가 활발하게 수행되고 있다. 또한 생물다양성 협약에 따라서 국내에서도 유용생물자원의 발굴 및 이 들로부터 천연소재의 개발에 대한 관심과 연구가 고조되고 있다.

미세조류의 산업적 이용에 대한 연구로서 수산양식의 식물먹이로서 *Chlorella* 등의 배양에 관한 연구[10, 25], 양식어의 사료용 미세조류의 개발[3, 26], *Isochrysis galbana*로부터 고도 불포화지방산인 EPA와 DHA의 생산[40] 등이 수행된 바 있다. 해양 녹조류로부터 EPA 생산의 최적 광도에 관한 연구로서 *Chlorella phyrenoidosa*는  $25^\circ\text{C}$ ,  $10\text{ W/m}^2$ 에서 건조중량의 3.52%를 EPA로 축적하는 것으로 보고되었다[31]. 또한 *Dunaliella*로부터  $\beta$ -carotene의 생산에 관해 연구하여 단시간 안에 carotene 생산성을 증진시키는 보고[11, 41] 등이 있다.

건강보조식품으로 이용되는 미세조류로서 수입에 의존하고 있던 *Chlorella*를 자체 생산하고 국내시장을 확대하기 위하여 대상(주)은 1997년 연간 360톤 규모의 발효조 배양법에 의한 *Chlorella* 생산설비를 갖추었으며, 1999년 제1회 국제 *Chlorella* 심포지움을 주관하면서 *Chlorella*를 건강보조식품, 색소, 영양 강화, 양식용 플랑크톤의 사료 등으로 분

격 개발하여 시판하기 시작하였다.

미세조류의 산업적 이용은 의약품, 색소, 탄수화물, 정밀 화학약품 등 고부가가치 유용물질의 잠재력 있는 생산원으로서 그 관심이 증가하고 있으며, 폐수처리와 농업으로까지 그 이용 범위가 확장되고 있다. 그러나 적합한 광생물반응기 등 미세조류 대량배양기술의 부족은, 미세조류 유래 물질도 미세조류에 의한 생산보다는 화학적 합성에 의한 생산이 더 경제적인 경우가 많아, 미세조류의 산업적 이용을 저해하는 요인으로 작용하였다.

전반적으로 국내에서 미세조류 생명공학은 1980년대에 수산양식용 식물먹이로서 연구되기 시작하였다. 최근에 들어 유용물질의 생산 및 환경처리 분야로 그 연구 영역을 확대해 가고 있으나, 아직 미세조류주 확보 및 기본기술 개발에 중점을 두고 연구되고 있다고 평가된다.

## 미세조류의 유용물질 관련 특허

### 특허동향

**항생물질 탐색.** 미세조류로부터 항생물질 탐색과 관련하여 최근에 등록된 대표적 특허는 다음과 같다. *Helicobacter* 감염의 예방 및 치료제 개발[1]은 *Helicobacter* sp.에 기인하는 포유동물 위점막의 염증 예방 및 치료제에 관한 것이다. 이러한 물질은 *Haematococcus* sp.가 생산하는 xanthophyll(지방산 에스테르화 astaxanthin), 조류의 세포벽으로부터 추출한 ascorbic acid와 같은 수용성 항산화제와 같은 탄수화물 등을 포함하고 있다.

조류추출물로부터 항생물질 개발[35]은 녹조류인 *Asparagopsis armata*의 추출물로부터 항세균, 항균 활성이 있는 물질의 제조에 관한 것이다. 이 추출물은 여과 과정을 통하여 분자량 10,000 이상의 할로겐화 유기분자를 포함하고 있다. 또한 *Spirulina*와 omega 지방산의 염증과 통증 치료효과[5]는 omega 지방산과 *Spirulina*의 혼합물로 구성되었다. 이러한 물질은 염증과 통증의 국소적 예방 및 치료에 사용될 수 있다.

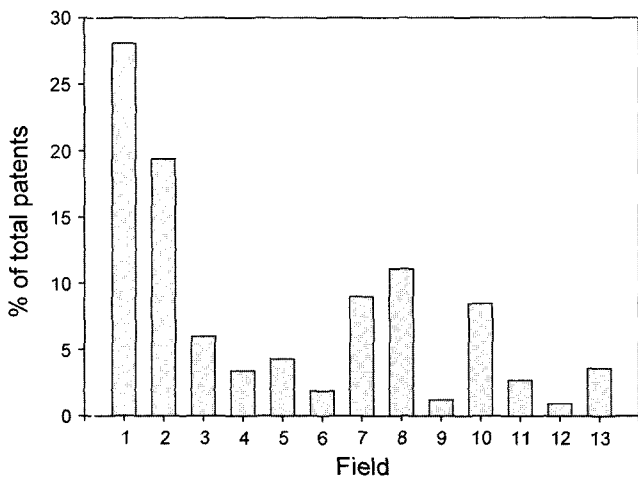
**분자생물학적 방법.** 최근에 많이 수행되고 있는 유전공학적 방법을 이용한 조류주 개량에 관한 연구는 다음과 같다. Astaxanthin 생합성 조류의 생명공학적 개량[23]은 *Haematococcus pluvialis*를 대상으로  $\beta$ -C-4-oxygenase 활성을 갖는 peptide와 DNA 절편, RNA 절편, 재조합 DNA 분자, 이를 포함하는 생물 그리고 이들 생물을 이용하여 astaxanthin을 생합성하는 방법에 관한 것이다.

해산 규조류의 형질전환 방법[20]은 해산 진핵 미세조류인 *Phaeodactylum tricorutum*과 같은 규조류를 대상으로 항생제 Zeocin 내성유전자를 포함한 DNA(*sh ble*)의 형질전환 방법에 관한 것이다. 항생제 내성 유전자는 광 수확 promoter에 의해 조절된다. 또한 *Chlorella* 추출액으로부터 섬유세포증식 promoter 개발[9]은 섬유세포증식 promoter를

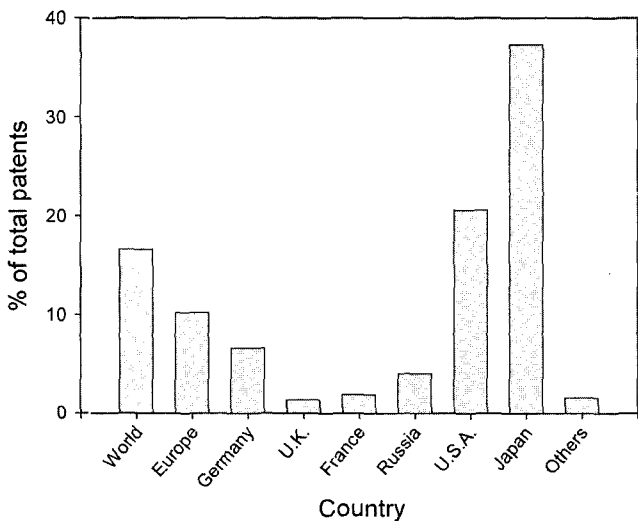
포함하는 녹조류 *Chlorella*의 수용성 추출액에 관한 것이다. 이와 같은 추출액은 습진, 가려움증, 피부 갈라짐 등에 의한 염증 예방과 치료에 사용될 수 있다.

**특허분석.** 조류로부터 유용물질 생산, 조류의 배양, 조류를 이용한 환경개선 등의 응용분야에 대한 특허동향을 파악하기 위하여, 1991년부터 2000년에 걸쳐 10년간 *Journal of Applied Phycology*에 보고된 특허자료를 종합적으로 분석하였다.

상기 조사된 자료에 의하면 미세조류 응용분야에서 지난 10년간 보고된 특허는 총 587건으로, 1990년대 중반에 많이 분포하였다. 1990년대에 제출된 미세조류의 특허분야별 분



**Fig. 1. Percentage of each application field of the microalgae-related patents(1991-2000).** 1, Bioactive & Useful compounds; 2, Biocides & Biological control; 3, Health foods; 4, Medical materials; 5, Feeds; 6, Pulp; 7, Photobioreactor; 8, Cultivation; 9, Harvest; 10, Environmental research; 11, CO<sub>2</sub> fixation; 12, Biofertilizers; 13, Molecular biology research.



**Fig. 2. Percentage of each registered country of the microalgae-related patents(1991-2000).**

포백분율은 Fig. 1과 같다. 특허분야별로는 유용물질 및 생리활성물질 분야가 전체의 28.1%에 해당하는 165건으로 가장 많았다. 그 다음으로 항생물질 분야가 19.4%로 114건, 미세조류의 배양기술 분야가 11.1%로 65건에 달하였다. 이외에도 광생물반응기 개발(9.0%), 폐수처리 등 환경개선에 활용하는 분야(8.5%), 건강보조식품 생산분야(6.0%) 등으로 조사되었다.

1990년대 10년간 제출된 미세조류의 특허 국가별 분포는 Fig. 2와 같다. 일본이 216건으로 전체의 37.3%로 가장 많았으며, 미국이 2위로 119건(20.6%), 전 세계 특허가 96건(16.6%)으로 조사되었다. 개별 국가별로는 유럽에서 독일, 러시아, 영국 등에서 비교적 많은 특허를 보유하고 있었다.

특기할 내용으로는 미세조류의 특허는 1995년까지 일본의 특허가 주를 이루었으나 1996년부터 미국 특허가 크게 증가하였으며 아울러 세계 특허가 증가하는 경향을 보였다.

### 고부가 유용물질 생산의 핵심기술

#### 미세조류의 순수분리

세균과 달리 미세조류에 속하는 종은 범위가 매우 다양하므로 아직까지 미세조류의 분리에 대해서는 표준화된 방법이 없으며, 단지 종간의 생장특성과 영양 요구성의 차이 등에 기반을 둔 분리방법이 개발되었다. 자주 이용되는 분리 방법으로는 capillary pipette, streak plating, spray plating, isolation on agar 등이 있다[24]. 이와 같은 방법 중에서 큰 실험기구의 사용 없이 비교적 손쉽게 많은 양의 시료로부터 동시에 탐색을 실시할 수 있는 선택배지를 이용한 streak plating이 주로 사용되고 있다.

분리된 조류를 무균 상태로 만들기 위해서는 꾸준하면서도 인내성 있는 작업이 계속되어야 한다. 실제방법으로는 세척, 초음파, 항생제, potassium tellurite 처리 등의 방법이 있으며, 실제로 이와 같은 방법의 복합적 적용에 의하여 무균 조류주(axenic strain)를 유도하고 있다[30, 38].

#### 배양공정의 최적화

미세조류의 산업적 이용이 지연되는 주요 이유는 생산가가 높고, 조류 biomass의 보편화에 어려움이 있기 때문이다. 유용물질 생산의 경우, 생산기작을 연구하는 경우 외에는 기존의 생산체계보다 생산가를 낮출 수 있는 대량배양시스템을 확립하지 않으면 안된다.

조류생산 시스템은 배양재료 및 조류 biomass의 용도에 따라 크게 세 가지로 구분할 수 있다. 첫째, 특정 조류를 담수, 무기 영양염류, 탄소원을 이용하는 소위 청정공정에서 배양하는 것으로 생산된 biomass는 주로 식품첨가물로 이용된다. 둘째는 무기염류나 탄소의 첨가 없이 하수나 산업폐수를 배지로 이용하는 시스템이다. 이러한 시스템에서 조류

개체군은 다양한 종으로 구성되며 세균과 공존하게 된다. 이때 조류와 세균 사이의 공생적 영양계가 성립하게 된다. 즉, 조류는 산소와 광합성 산물을 생산하여 방출하게 되고 세균에 의하여 유기화합물의 호기적 분해에 이용된다. 이러한 과정에서 유기탄소화합물은 부분적으로 이산화탄소로 산화되고 조류에 의하여 고정된다. 추가적으로 조류는 배지로부터 용존 질소와 인을 이용하여 biomass로 전환되므로 세포대사에 필요로 하는 것보다 많은 양의 질소와 인이 소모(luxury metabolism)되어 폐수처리기능을 갖게 된다. 이러한 시스템에서 생산된 biomass는 조류, 세균, 동물플랑크톤으로 구성된다. 셋째는 태양광이나 인공광을 이용하여 폐쇄계에서 조류를 배양하는 것으로 독립영양배지에서 배양된다.

미세조류의 대량배양방법은 크게 두 가지로 분류할 수 있는데, 화학적 합성법 등의 다른 생산 방법들에 경쟁력을 갖기 위하여 운전비나 유지비가 저렴한 단순한 개방형 장치와 고가의 생리활성물질을 생산하는 특정 미세조류의 배양을 위한 복잡한 밀폐형 광생물반응기로 구분할 수 있다.

조류의 대량배양에 흔히 사용되는 개방형 배양의 경우 일부 타 생물에 의한 오염을 피할 수 없다. 오염의 주요 형태는 세균 이외에도 다른 조류, 동물플랑크톤, 바이러스, 곰팡이, 곤충 등이 있으며, 이들 오염의 방지 및 제거에 대한 기술개발이 필요하다.

미세조류의 대량 고농도 배양을 위해서는 많은 연구가 수행되어야 하며, 적합한 광생물반응기를 선택하거나 설계할 경우 광원의 종류, 광생물반응기의 기하학적 모양, 배양액의 깊이, 그 외의 영향인자 등을 충분히 고려하여야 한다. 더불어, 미세조류의 배양 시에는 조류의 성장 및 생산가능 물질의 특성을 잘 고려하여 수행되어야 한다.

### 미세조류의 수확

조류의 대량배양을 통한 유용물질의 생산과정에서 해결되어야 할 중요한 과제 중의 하나가 경제적인 수확법의 개발이다. 배양된 조류의 수확은 원심분리, 여과, 침전, 부유 등과 같은 복잡한 과정을 통해 이루어진다. 원심분리나 여과 방법은 미세조류의 질적 상태를 잘 유지할 수 있으나 비용이 높은 반면, 화학응집에 의한 방법은 미세조류의 질을 변형시키는 단점은 있으나 경제적이다(Table 5)[37]. 따라서 미세조류의 수확 방법은 사용 목적과 세포의 특성에 따라서 조절되어야 한다.

결국 미세조류 생산의 경제성은 조류 배양액의 수확과 농축기술에 의존한다고 할 수 있다. 대부분의 미세조류는 배양액에서의 농도가 낮으며, 크기가 30  $\mu\text{m}$  이하이고, 물의 밀도보다 약간 크다는 이유로부터 분리하기가 용이하지 않다. 적합한 수확방법은 조류의 종 및 조류로부터 얻어질 유용물질의 용도에 따라 달라지게 된다[32]. 그 예로, *Dunaliella salina*로부터 carotenoids를 얻고자 하는 경우, bubble column을 설치하여 수중 부유물질과 조류를 분리하

**Table 5. Advantage and disadvantage of different harvesting methods.**

Method	Reliability	Energy requirement	Quality for conversion
Centrifugation	Good	High	Good
Chemoflocculation	Good	High	Poor
Sandfiltration	Fair	Low	Poor
Ultrafiltration	Good	High	Good
Microsieving	Poor	Low	poor
Bioflocculation	Poor	Low	Good

고 유용물질을 효과적으로 수확할 수 있는 방법 등이 있다 [22, 28].

### 분자생물학적 연구

분자생물학의 발달은 특정물질의 생산이 우수하며 다른 미생물과 경쟁하여 생존할 수 있는 유전적으로 조작된 미생물(Genetically Engineered Microorganisms, GEMs)의 개발을 가능하게 하였다. 따라서 자연계로부터 분리한 미세조류에 대하여 돌연변이 유발과 같은 재래식 방법을 사용하거나 외부 유전자의 도입 및 유전자 조작 등을 통하여 세균에 대한 내성이 강하며, 최종적으로 생산수율이 높고 생장이 왕성한 우량 조류주의 개발에 대한 연구가 수행되고 있다.

광합성 효소인 Rubisco 내로 무기탄소의 운송은 광합성능을 결정하는 중요한 요인이다. *Synechococcus* sp.의 탄소농축기작(Carbon Concentrating Mechanisms, CCMs)은 에너지 의존적 수송체에 의한 무기탄소의 세포내 축적과 대부분의 Rubisco가 위치한 carboxysome 내에서 carbonic anhydrase에 의한 이산화탄소 고정의 두 단계로 구분될 수 있으며, 이에 관여하는 유전자의 분석이 이루어진 바 있다.

단세포와 사상형 미세조류용으로 여러 가지 vectors와 유전적 기법이 개발되었다. 형질전환(transformation), 전기천공법(electroporation) 그리고 접합(conjugation)이 유전자 전이에 사용되고 있다. 지금까지 유전체 염기서열이 완전 분석된 미세조류는 단세포성의 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803과 사상형으로 이형세포를 형성하는 *Anabaena* sp. strain PCC 7120이다. *Nostoc punctiforme* strain PCC 73102(ATCC 29133), *Synechococcus*, *Prochlorococcus*, *Gloeobacter* 등에 대한 유전체 염기서열 분석작업이 진행 중에 있다.

최근 EPA를 생산하는 세균인 *Shewanella* sp. SCRC-2738의 EPA 생합성 유전자군이 해산 *Synechococcus* sp. strain NKBG15041c 내부로 접합에 의하여 전이될 수 있음이 보고되었다[53]. 형질전환된 미세조류는 다량의 EPA와 전구물질인 20:4n-3을 생산하였다. 유전공학적으로 조작된 *Anabaena* 7120은 별도의 화학적 처리 없이 그대로 형광 표

지로 사용될 수 있는 순도가 높은 phycobiliprotein을 세포 내에서 생산할 수 있다[7].

## 요 약

미세조류는 다양한 서식환경, 분류군, 종조성 등의 특징을 갖는 미생물군이며, 이들은 각종 유용물질을 생산하는 것으로 알려지고 있다. 따라서 지금까지 유용물질 생산을 위하여 집중적으로 연구되었던 세균, 곰팡이 등과 함께 미래의 유용한 물질생산의 보고로 간주되고 있다.

미세조류 배양의 가장 큰 장점은 대부분의 작물생산에 적합하지 않는 높은 염도, 강한 알카리 등의 극한 환경에서도 성장하는 조류가 있다는 점이다. 최근 유용 미생물 탐색, 미생물 배양, 유용물질 탐색기술 등의 기반 기술이 크게 발달하면서 미세조류 배양 및 물질생산 비용은 점차 저렴해지고 있다. 또한 최근 급격히 발달된 생명공학기술을 이용한 유전공학적 조류주 개량 등으로 유용물질 생산 효율도 크게 증가시킬 수 있게 되었다.

한편 전 세계적으로 지구환경문제가 중요 쟁점으로 등장하였으며, 동시에 생물다양성협약 등 생물자원의 보존 및 확보가 무엇보다도 중요한 시점이라 할 수 있다. 미세조류의 대량배양 시 배지로서 축산폐수를 이용한다면 유용물질의 생산과 동시에 폐수의 고차처리, 대기 중 이산화탄소의 고정화 등 당면한 환경문제를 해결할 수 있는 환경친화적 기술로 평가되고 있다.

따라서 미세조류의 대량배양을 통하여 biomass로부터 건강보조식품, 천연색소, 의약품 물질 등의 고부가 유용물질을 생산하여 경제적 가치를 창출할 수 있다. 또한 미세조류의 대량배양은 부수적으로 생물학적 이산화탄소 고정화를 통한 대기 중 농도감소 등의 지구환경문제의 해결에도 기여할 수 있다. 즉, microalgal biotechnology는 생물산업의 활성화와 함께 환경산업의 발전을 도모할 수 있는 유망한 미래 산업으로서 앞으로 큰 발전이 기대된다.

## 감사의 글

이 논문은 과학기술부 지원으로 수행하는 21세기 프론티어사업(이산화탄소 저감 및 처리기술)의 일환으로 수행되었음.

## REFERENCES

- Alejung, P. A. R. and T. Wadstroem. 1998. Oral preparation for the porphyllactic and therapeutic treatment of *Helicobacter* sp. infection. World, patent 9837874.
- Apt, K. E. and P. W. Behrens. 1999. Commercial developments in microalgal biotechnology. *J. Phycol.* **35**: 215-226.
- Bae, J. H. and S. B. Hur. 1995. Comparison of dietary values in seven species of marine diatoms. *J. Aquaculture* **8**: 355-366.
- Becker, E. W. 1994. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Bockow, B. 1998. Compositions of *Spirulina* algae and omega fatty acids for treatment of inflammation and pain. US, patent 5709855.
- Brower, V. 1998. Nutraceuticals: poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nat. Biotechnol.* **16**: 728-731.
- Cai, Y. A., J. T. Murphy, G. J. Wedemayer, and A. N. Glazer. 2001. Recombinant phycobiliproteins. *Anal. Biochem.* **290**: 186-204.
- Carmichael, W. W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. *J. Appl. Bacteriol.* **72**: 445-459.
- Chikamatsu, Y., K. Ito, M. Hori, H. Ando, and Ichimaru Pharcos Co. Ltd. 1997. Fibroblast proliferation promoter containing water extract from *Chlorella*. Japan, patent 9040523.
- Cho, M.-G., H.-S. Yoo, and J.-G. Koo. 1997. Optimization of plate bioreactor system for mass production of microalgae. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **12**: 127-130.
- Chung, W.-J., M. Wang, S. Choi, J. Kim, and B. Jeong. 1999. High cell density cultures of micro-algal *Dunaliella baradawil*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **14**: 160-166.
- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiol. Rev.* **47**: 551-578.
- Ciferri, O. and O. Tiboni. 1985. The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*. *Annu. Rev. Microbiol.* **39**: 503-526.
- Codd, G. A. 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Wat. Sci. Tech.* **32**: 149-156.
- Enoki, T., H. Sagawa, T. Tominaga, Eiji N., Nobuto K., T. Sakai, F.-G. Yu, K. Ikai, and I. Kato. 2002. Drugs, foods or drinks with the use of algae-derived physiologically active substances. US, patent 6475990.
- Erbe, J. G. Kohn, G. Sawatzki, and F. Schweikhardt. 1993. Lipid(s) with high content of long chain highly unsaturated fatty acids. German, patent 4219360.
- Gao, K. 1998. Chinese studies on the edible blue-green alga *Nostoc flagelliforme*: a review. *J. Appl. Phycol.* **10**: 37-49.
- Glazer, A. N. 1988. Phycobiliproteins. *Methods Enzymol.* **167**: 291-303.
- Gorenbein, D. I. A. Siddiqui, E. R. Ceja, and C. M. Horvath. 2001. Multi-carotenoid product. US, patent 6309677.
- Grossman, A. R., K. Apt, D. Kyle, and F. C. T. Allnut. 1997. Methods and tools for transformation of eukaryotic algae. World, patent 9739106.
- Guanghua, Y., Q. Huylan, and Y. Sheng. 1994. Harvesting *Dunaliella* and extracting beta-carotene. China, patent 1084848.
- Guelcher, S. A. and J. S. Kanel. 1999. Method for dewatering microalgae with a bubble column. US, patent 5910254.
- Hirschberg, J. and T. Lotan. 1999. Polynucleotide molecule from *Haematococcus pluvialis* encoding a polypeptide having a beta-C-4-oxygenase activity for biotechnological pro-

- duction of (3S,3S) astaxanthin. US, patent 5916791.
24. Hoshaw, R. W. and J. R. Rosowski. 1973. Methods for microscopic algae, pp. 53-68. In J. R. Stein (ed.), *Handbook of Phycological Methods*, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
  25. Hur, S. B. and H.-J. Kim. 1988. *Chlorella* cultivation for mass culture of rotifer, *Brachionus plicatilis* I. Selection of suitable *Chlorella* species. *J. Aquaculture* **1**: 135-143.
  26. Hur, S. B., C.-K. Lee, and E.-H. Lee. 1989. Selection of suitable phyto-food organisms for the rotifer, *Brachionus plicatilis* cultivation in high and low water temperature seasons. *J. Aquaculture* **2**: 96-106.
  27. Jung, T. and M. Dailey. 1989. A novel and inexpensive source of allophycocyanin for multicolor flow cytometry. *J. Immunol. Methods* **121**: 9-18.
  28. Kanel, J. S. and S. A. Guelcher. 1999. Adsorptive bubble separation methods and systems for dewatering suspensions of microalgae and extracting components therefrom. US, patent 5951875.
  29. Kay, R. A. 1991. Microalgae as food and supplement. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **30**: 555-573.
  30. Kim, J.-S., Y.-H. Park, B.-D. Yoon, and H.-M. Oh. 1999. Establishment of axenic cultures of *Anabaena flos-aquae* and *Aphanothece nidulans* (Cyanophyta) by lysozyme treatment. *J. Phycol.* **35**: 865-869.
  31. Lee, H.-Y. and J.-K. Kang. 1989. The effects of light intensity in producing EPA from marine green algae. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **17**: 170-172.
  32. Lee, S.-J., S.-B. Kim, J.-E. Kim, G.-S. Kwon, B.-D. Yoon, and H.-M. Oh. 1998. Effects of harvesting method and growth stage on the flocculation of the green alga *Botryococcus braunii*. *Lett. Appl. Microbiol.* **27**: 14-18.
  33. Martinez, M. R. 1988. *Nostoc commune* Vauch. a nitrogen-fixing blue-green alga, as source of food in the Philippines. *Philippine Naturalist* **71**: 295-307.
  34. Mihama, H. 1994. Separation of colouring matter from *Spirulina*. Japan, patent 6271783.
  35. Moigne, J.-Y. 1998. Method of obtaining an antibacterial and/or antifungal extract from the algae, bonnemaisoniacea. World, patent 9810656.
  36. Moore, R. E. 1996. Cyclic peptides and depsipeptides from cyanobacteria: a review. *J. Indust. Microbiol.* **16**: 134-143.
  37. Nouë, J. D. L. and N. De Pauw. 1988. The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. *Biotech. Adv.* **6**: 725-770.
  38. Oh, H.-M. and G.-Y. Rhee. 1990. Preparation of unialgal cultures from natural waters by a micropipette technique. *Korean J. Phycol.* **5**: 131-136.
  39. Oh, H.-M., S. J. Lee, M.-H. Jang, and B.-D. Yoon. 2000. Microcystin production of *Microcystis aeruginosa* in P-limited chemostat. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 176-179.
  40. Oh, Y.-K., Y.-J. Kim, and S. Park. 1997. Production of EPA and DHA from marine microalga *Isochrysis galbana* Parke. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **12**: 328-335.
  41. Park, Y.-S., H.-K. You, S.-J. Ohh, and H.-Y. Lee. 1993. Kinetics of producing  $\beta$ -carotene from *Dunaliella salina* by light limited turbidostat cultivation. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**: 342-347.
  42. Radmer, R. J. 1996. Algal diversity and commercial algal products. *Bioscience* **46**: 263-270.
  43. Radmer, R. J. and B. C. Parker. 1994. Commercial applications of algae: opportunities and constraints. *J. Appl. Phycol.* **6**: 93-98.
  44. Richheimer, S. L., C. J. Kurtz, D. T. Bailey, Z. Z. Liu, R. Arslanian, R. J. Daughenbaugh, L. A. Kaufmann, and J. M. Piffarerio. 2002. High purity beta-carotene and process for obtaining same. US, patent 082459.
  45. Running, J. A., R. J. Huss, and P. T. Olson. 1994. Heterotrophic production of ascorbic acid by microalgae. *J. Appl. Phycol.* **6**: 99-104.
  46. Sivonen, K. 1996. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia* **35**: 12-24.
  47. Skulberg, O. M. 2000. Microalgae as a source of bioactive molecules - experience from cyanophyte research. *J. Appl. Phycol.* **12**: 341-348.
  48. Stanner, S. 2000. n-3 fatty acids and health. *Nutrition Bulletin* **25**: 81-84.
  49. Takenaka, H., Y. Yamaguchi, S. Sakaki, K. Watarai, N. Tanaka, M. Hori, H. Seki, M. Tsuchida, A. Yamada, T. Nichimori, and T. Morinaga. 1998. Safety evaluation of *Nostoc flagelliforme* (nostocales [sic], Cyanophyceae) as a potential food. *Food Chem. Toxicol.* **36**: 1073-1077.
  50. Tiwari, D. N. 1978. The heterocysts of the blue-green algae *Nostochopsis lobatus*: effects of cultural conditions. *New Phytol.* **81**: 853-856.
  51. Veloso, V., A. Reis, L. Gouveia, H. L. Fernandes, J. A. Empis, and J. M. Novais. 1991. Lipid production by *Phaeodactylum tricorutum*. *Bioresource Technol.* **38**: 115-119.
  52. Vilchez, C., I. Garbayo, M. V. Lobato, and J. M. Vega. 1997. Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzyme Microb. Technol.* **20**: 562-572.
  53. Yu, R., A. Yamada, K. Watanabe, K. Yazawa, H. Takeyama, T. Matsunaga, and R. Kurane. 2000. Production of eicosapentaenoic acid by a recombinant marine cyanobacterium, *Synechococcus* sp. *Lipids* **35**: 1061-1064.
  54. Zeagen Inc. 1993. Zeaxanthin production. Japan, patent 5219983.

(Received Dec. 11, 2002/Accepted May 21, 2003)