ISSN (Online) 2287-3406
Journal of Life Science **2023** Vol. 33. No. 8. 680~691 DOI : https://doi.org/10.5352/JLS.2023.33.8.680

- Review -

Recent Trends in The Production of Polyhydroxyalkanoates Using Marine Microorganisms

Seon Min Kim[1,2], Hye In Lee[1,2], Hae Su Jeong[1,2] and Young Jae Jeon[1,2]*

[1]*Pukyong National University, Department of Microbiology, Busan 48513 Korea*
[2]*Pukyong National University, School of Marine Fishery Life Science, Busan 48513, Korea*

Received July 28, 2023 /Revised August 17, 2023 /Accepted August 23, 2023

Peak oil, climate change, and microplastics caused by the production and usage of petroleum-based plastics have threatened the sustainability of our daily life, and this has emerged as a recent global issue. To solve this global issue, the production and usage of biodegradable eco-friendly bioplastics such as polyhydroxyalkanoates (PHAs) has been suggested as an alternative. Therefore, in this review, the present status of global PHA manufacturers, the advantages of the production of PHAs using marine-origin microorganisms (with their productivity potential) and further required research and development strategies for cost-competitive production of PHAs using marine-based microorganisms were investigated. In this review, PHAs produced from marine microorganisms were found to have similar physical properties to petroleum-based plastics but with several advantages that can reduce the costs of PHA production. Those advantages include, seawater used in the medium preparation step, and osmotic-based cell lysis technology used in the separation and purification steps. However, the PHA productivities from marine microorganisms showed somewhat lower efficiencies than those from the commercial strains isolated from terrestrial environments. In order to solve the problem, further research strategies using synthetic microbiology-based technology, the development of long-term continuous culture technology, and solutions to improve PHA efficiency are required to meet future market demands for alternative bioplastics.

Key words : Bioplastic, ecofriendly, halophiles, marine bacteria, polyhydroxyalkanoates (PHA)

서 론

석유합성 플라스틱은 현대인의 풍요롭고 편리한 일상을 제공하는 핵심 소재이다. 하지만 이들의 자연계 영속성(persistence)과 폐기물 관리 시스템의 비효율성은 생태계 및 생물권의 미세 플라스틱 오염이라는 지구상의 모든 생명체를 위협하는 환경위해성을 파생시키고 있다[33]. 산업혁명 이후 현재까지 매해 8백만 톤 규모의 플라스틱이 해양으로 의도치 않게 폐기되고 있으며, 이러한 현상은 현재 각국이 보유하고 있는 폐기물 관리체계에 심각한 위협요인이 되고 있다[57]. 게다가 석유합성 플라스틱은 생산과정에서 발생하는 온실가스의 배출, 그리고 폐 플라스틱 처분 과정에서 발생하는 부가적인 환경위해성을 초래하고 있다. 따라서 전 세계는 석유합성 플라스틱 생산 및 사용으로 인한 문제를 완화시키기 위해, 새로운 친환경 대체 소재의 개발과 폐플라스틱 발생량을 줄이기 위한 새로운 환경 정책 입안 및 폐기물 처리 방법 개발에 많은 역량을 쏟고 있다[57]. 따라서 세계 각국은 궁극적으로 플라스틱 사용에 의한 환경영향을 최소화하는 것뿐만 아니라, 현 인류에게 제공하고 있는 플라스틱의 편리성도 함께 제공해 줄 수 있는 효율적인 환경 정책안들을 고려하여야 할 것이다. 이러한 관점들을 모두 충족시킬 수 있는 해결책의 하나가, 기존 석유합성 플라스틱을 생분해성 플라스틱의 생산과 사용으로 대체하여 탄소중립 폐기물 순환 체계를 구축하는 것이다. 이러한 대체 소재 중 하나인 polyhydroxyalkanoate (PHA)는 많은 세균 및 고균과 같은 미생물이 보유한 다각적인 대사 역할을 통해 합성되는 천연 생분해성 폴리에스터 계 플라스틱이다[33]. 따라서 PHA 소재의 생 분해 바이오플라스틱은 환경을 위협하지 않으면서도, 석유합성 플라스틱이 제공할 수 있는 이점을 동시에 제공할 수 있다는 점에서 우수한 대체 소재가 될 것으로 사료된다.

최근 해양 또는 호염 환경에서 분리된 세균이 제공하는 다양한 이점을 활용하여, 석유합성 플라스틱 대체 원료로써 PHA를 생산하는 공정의 개발과 같은 연구가 큰 주목

***Corresponding author**
Tel : +82-51-629-5612, Fax : +82-51-629-5619
E-mail : youngjaejeon@pknu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

을 받고 있다[49]. 특히 *Halomonas*와 같은 호염성균을 활용한 생물공학적 생산공정은 비용 효율적인 PHA 생산공정 개발에 많은 이점을 제공할 것으로 사료되어 많은 연구가 수행되고 있다[5, 80].

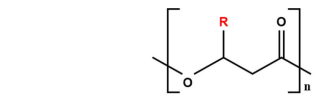
따라서 본 연구에서는 산업적으로 활용 가능한 호염 특성을 지니는 해양 미생물의 PHA 생산효율성을 조사하여, 향후 상용화 측면에서 이루어져야 할 연구방향에 대해 고찰하고자 한다.

생분해 바이오플라스틱 소재로서의 PHA

생분해 바이오플라스틱 소재인 PHA는 원핵생물이 질소, 인, 산소, 황, 마그네슘 등의 필수영양소가 제한된 환경과 탄소원이 풍부한 환경하에서 생산하는 세포 내 과립 형태의 에너지 저장 물질이다[37, 54]. 현재 약 90 속(genus)의 다양한 원핵생물이 간단한 단당류 또는 지질을 원료로 사용하여 PHA를 생합성 할 수 있다고 알려져 있다[4]. 또한 PHA는 미생물의 생장환경에 탄소원이 고갈되었을 경우, 분해 효소(PHA depolymerase) 생산을 통해 세포 내에 축적된 PHA를 분해하여 생장에 필요한 에너지원 및 탄소원으로 사용하는 생분해성 지질계 고분자물질이다[37, 50]. 따라서 수환경과 토양 환경 등에 비의도적으로 배출되어도 완벽히 분해되는 물리적 특성을 보유하고 있을 뿐만 아니라, 120℃의 오일 등에서도 견딜 수 있는 높은 견고성을 보유하여, polylactic acid (PLA)와 같은 타 생분해 플라스틱에 비해 높은 유용성을 보유하고 있다고 평가되고 있다[6, 59]. Dilkes-Hoffman 등[19]은 PHA로 제조된 용기가 해양 환경에서 1.5~3.5년 내에 완벽히 분해되는 반면, 석유합성 플라스틱은 동일 환경에서 수십 또는 수백 년에 걸쳐 분해될 수 있다는 보고사례를 언급하여 PHA가 친환경 생분해 플라스틱으로써 우수한 대체 소재임을 보고하였다. 또한 미생물의 주 탄소원과 보조 탄소원의 농도를 변화시켜 기계적 물성 등을 조절할 수 있는 다양한 PHA 공중합체(copolymer)를 합성할 수 있는 장점을 지니고 있어, 미용, 의학, 식품, 에너지 등 다양한 그린 소재 산업분야에서 활용 가능하다[44].

PHA의 구조 및 물리화학적 다양성

과거 PHA 생분해 바이오플라스틱의 상용화가 제한된 이유 중 하나는, 높은 생산 비용과 다양한 응용분야에 적용 가능한 우수한 물리적 특성을 가진 소재로 개발하는 것이 어렵다는 점이었다[51, 66]. 하지만 PHA 생분해 바이오플라스틱의 물리적 특성에 영향을 미치는 것이 이들을 구성하는 단량체(monomer)의 종류라는 것과, 자연계 미생물이 약 150종류의 다양한 PHA를 생합성 할 수 있다는 것이 밝혀지면서 석유합성 플라스틱 대체 소재로의 더욱 높은 중요성을 인식하게 되었다[44]. PHA는 단량체가 보유한 구성 탄소 원자의 수에 따라 크게 세분류로 나눌 수 있다. 탄소수가 5개 이하인 short chain length PHA (scl-PHA)와, 탄소수가 14개 이하인 medium chain length PHA (mcl-PHA), 그리고 탄소수가 15개 이상인 long chain length PHA (lcl-PHA)로 분류할 수 있다[52, 61]. 그리고 PHA는 다양한 단량체의 조합과 사슬의 길이 등에 의해 물질의 물성이 달라질 수 있어, 필요에 따라 다양한 응용분야에 적용 가능한 물리적 특성을 보유한 고부가가치 중합체 합성에 용이하다. 즉, 단량체의 비율, 호모폴리머(homopolymer), 랜덤 공중합체(random copolymer), 블록 공중합체(block copolymer) 등과 같은 고분자 미세구조의 정렬방법 등이 이러한 물리적 특성에 영향을 미칠 수 있다



Poly(3-hydroxyalkanoate) [PHA]

R group	Carbon number	PHA polymer name
Methyl	C_4	Poly(3-hydroxybutyrate)
Ethyl	C_5	Poly(3-hydroxyvalerate)
Propyl	C_6	Poly(3-hydroxyhexanoate)
Butyl	C_7	Poly(3-hydroxyheptanoate)
Pentyl	C_8	Poly(3-hydroxyoctanoate)
Hexyl	C_9	Poly(3-hydroxynonanoate)
Heptyl	C_{10}	Poly(3-hydroxydecanoate)
Octyl	C_{11}	Poly(3-hydroxyundecanoate)
Nonyl	C_{12}	Poly(3-hydroxydodecanoate)
Decyl	C_{13}	Poly(3-hydroxytridecanoate)
Undecyl	C_{14}	Poly(3-hydroxytetradecanoate)
Dodecyl	C_{15}	Poly(3-hydroxypentadecanoate)
Tridecyl	C_{16}	Poly(3-hydroxyhexadecanoate)

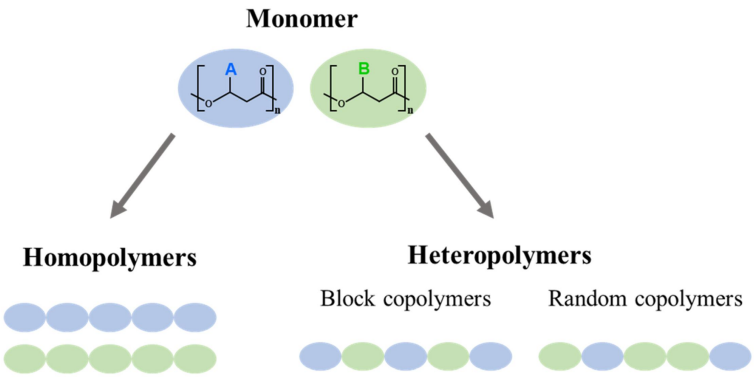


Fig. 1. Various polyhydroxyalkanoates (PHA) structures, including monomer diversity, homopolymers, random and block copolymers.

[76](Fig. 1). 또한 고분자체의 곁가지를 구성하는 부가적인 화학적 관능기(functional group)의 종류와 분자량(molecular weight) 등도 PHA 중합체의 물리/화학적 특성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[76]. Table 1에 제시된 바와 같이, 대표적인 scl-PHA에 속하는 PHB (polyhydroxybutylate)는 인장강도(tensile strength)와 성형성(modulus) 측면에서 석유합성 플라스틱인 polypropylene (PP)과 비교하였을 때 유사한 물질적 특성을 보유하지만, 연신율(elongation at breaks, 탄성도) 측면에서 비교하였을 때, PP에 비해 비교적 낮은 물리적 특성을 보유한다. 하지만 두 가지 이상 다른 종류의 단량체로 구성된 공중합체들은 단량체의 구성 비율과 종류에 따라 다양한 탄성과 인장강도를 가지는 특성을 보이는 다양한 소재로 개발이 용이하다. 이와 같이 상기 언급한 다양한 방법들의 조합과 분자량을 조절하여, 다양한 물성을 가지는 PHA 공중합체로 생산하기 위해 대사공학 및 합성생물학 기법 등을 활용한 다양한 연구가 진행되고 있다[78].

미생물의 PHA 생합성 과정은 미생물의 서식처에 영향을 받는 다양한 환경인자에 영향을 받는 대사 경로를 통해 이루어진다(Fig. 2). 그중 가장 잘 알려진 경로인 scl-PHA인 PHB의 생합성 경로는, 단당류의 해당과정을 통해 생산된 중간 대사체 acetyl-coA 두 분자를 축합하는 PhaA (β-ketothiolase) 효소에 의해 acetoacetyl-coA로 전환되어 PhaB (acetoacetyl-coA reductase)에 의해 한차례 환원된 후, 최종적으로 PhaC (PHA synthase)의 중합반응을 통해 PHB로 합성되는 비교적 간단한 세 단계 효소반응을 통해 이루어진다. 이러한 생합성 경로는 다양한 탄소원, 유기산 및 지방산 등이 기질로 이용될 경우에는 중간 대사과정인 TCA cycle을 거친 후, 지방산 생합성 및 아미노산 생합성 등과 같은 많은 대사 경로를 경유하여 다양한 PHA로 생합성 되며, 또한 적용 미생물의 종류에 따라 다양한 물리적 특성을 보유한 플라스틱 소재로 합성된다[40, 53, 72, 74, 79]. 대사공학 및 합성생물학 기법의 주요 전략은 PhaC의 기질 특성을 개선하는 것이다. 이는 생산 균주의 PhaC를 타균주 유래 PhaC, 또는 site-directed mutagenesis 기법 등을 활용하여, 기질 특이성이 변형된 PHA synthase로 대체하는 방법이다. 또한 새로운 대사 경로 재설계 및 PHA 분자량 조절을 통해 다양한 물성을 보유한 PHA를 생산할 수 있는 균주로 개발하는 연구들이 많은 성공사례를 통해 보고되고 있다[85]. 현재 *Pseudomonas, Cupriavidus, Aeromons, Escherichia coli* 등의 고효율 PHA 생산 원핵 미생물이 다양한 생물공학적 발효 기법과 합성생물학에 기반을 둔 균주 개선 연구를 통해 일부 상용화 공정에 활용되고 있다[9].

상용화 공정을 통해 생산되는 PHA 제품의 현황

최근 COVID-19 pandemic의 영향으로 석유합성 플라스틱 소재의 수요는 2020년 기준 3억 8천6백톤 까지 지속적으로 증가하고 있으나, 이들 중 바이오플라스틱의 연간 생산량은 약 1% 수준에 미치는 것으로 추정되고 있다[46, 59]. 이들 중 2020년 기준 가장 많이 생산되고 있는 생분해 플라스틱은 PLA로, 바이오플라스틱 생산 시장의 18.7%를 차지하고 있었으나, PHA는 1.7%를 차지하고 있는 것으로 보고되었다[59]. 열가소성 특징을 띄는 PLA는 적은 에너지로 화석연료 플라스틱과의 유사한 형태로 만들 수 있지만, 낮은 열 내성을 가지기 때문에 다양한 바이오플라스틱 제품 생산에 적용이 어렵다[6]. 반면 PLA와 같이 생물 유래 생분해성 소재인 PHA는 특히 약 150종류의 다양한 단량체의 중합체로 화석연료 플라스틱과 유사한

Table 1. Physical properties of various types of PHA

PHA	Tensile strength (MPa)	Modulus (MPa)	Elongation to break (%)	References
Scl-PHA				
P (3HB)	40	3500	6	[38]
P (3HB-co-20 mol% 3HV)[a]	20	800	5	[36]
Mcl-PHA				
P (3HB-co-17 mol% 3HHx)[b]	20	173	850	[26]
P (3HO-co-12 mol% 3HHx-co-2 mol% 3HD)[c]	9.3	147.69	380	[23]
P (HO)	NA	17	250-350	[43, 55]
P (3HB-co-6 mol% 3HA)[d]	17	200	680	[36]
P (3HO-co-5.4 mol% 3HHx)	23.9	493.7	17.6	[58]
P (3HO-co-7 mol% HHx)	17.3	288.9	23.6	[58]
P (3HO-co-8.5 mol% HHx)	15.6	232.3	34.3	[58]
Ploypropylene	38	1325	400	[47]

[a]3-hydroxyvalerate [3HV]. [b]3-hydroxyhexanoate [3HHx]. [c]3-hydroxoctanoate [3HO], 3-hydroxydecanoate [3HD].
[d]3-hydroxydecanoate (3 mol%), 3-hydroxydodecanoate (3 mol%), 3-hydroxyoctanoate (< 1 mol%), 3-hydroxy-cis-5-dodecanoate (< 1 mol%) [3HA].

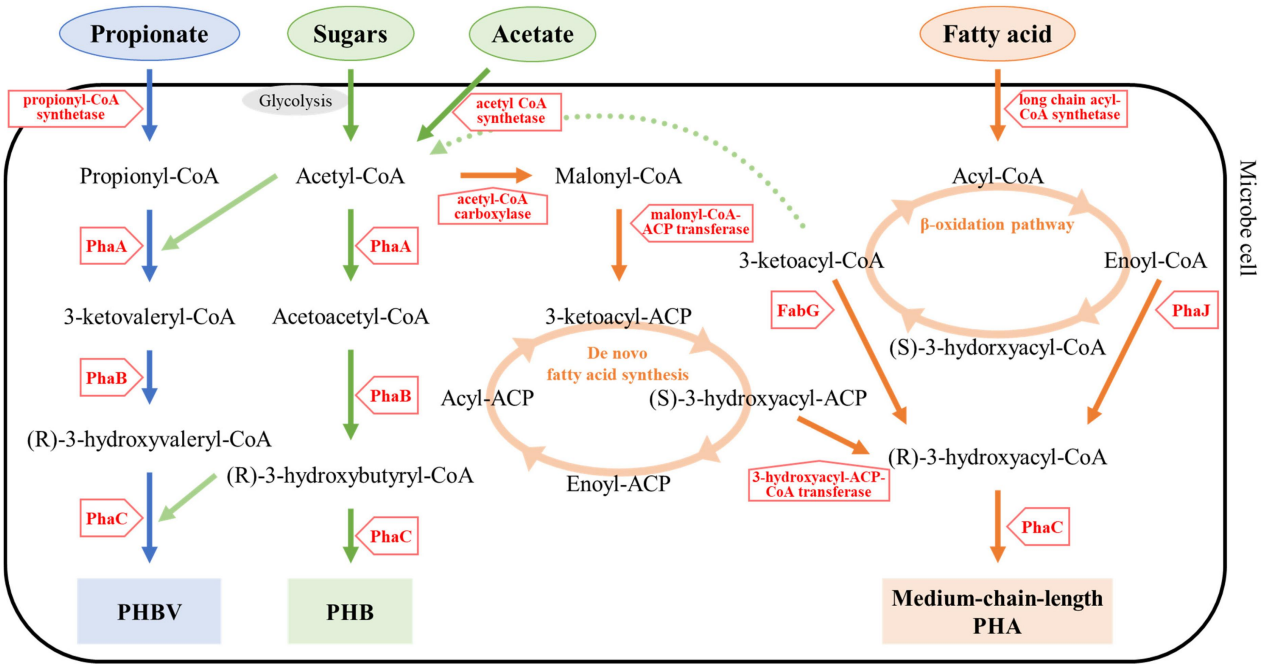


Fig. 2. Biosynthesis pathways of PHB (polyhydroxybutyrate), PHBV [poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)] and medium chain length (mcl) PHA from sugars and oils/fatty acids. PhaA, β-ketothiolase; PhaB, NADPH-dependent acetoacetyl-CoA reductase; PhaC, PHA synthase; PhaG, 3-hydroxyacyl-ACP-CoA transferase; PhaJ, (R)-enoyl-CoA hydratase; FabD, malonyl-CoA-ACP transacylase; FabG, 3-ketoacyl-CoA reductase]

특성을 가질 뿐만 아니라, 단량체 종류 및 사슬 길이에 따라 물리/화학적 특성 조절이 가능하다. 이러한 다양한 PHA polyester 계 플라스틱은 많은 종류의 기질과 미생물을 활용한 생물공학적 기법을 통해 생산되고 있으나, 현재 상용화 공정을 통해 생산되고 있는 주요 PHA 생산제품을 Table 1과 같이 정리하였을 때, 현재 5가지 종류인 poly (3-hydroxybutyrate) [P (3HB)], poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) [P (3HB-co-3HV)], poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxyvalerate) [P (3HB-co-4HV)], poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) [P (3HB-co-3HH)] 및 poly (4-hydroxybutyrate) [P (4HV)]로 제한적으로 생산되고 있음을 확인하였다[33]. 현재 주요 생산국으로는 미국, 중국, 브라질 등이 연간 100~10,000 톤 규모로 생산되고 있으며, 주로 활용되고 있는 대표적 산업용 생산 균주로는 *Cupriavidus necator*, Rec *E. coli*, *Halmonas* sp., *Aeromonas* sp. 등이 있다[4]. 이러한 주요한 생산 균주들은 대부분 육상 환경에서 분리된 종들로, 현재 해양 환경에서 분리된 종을 활용한 사례는 확인할 수 없었으나 고염 호수에서 분리한 *Halomonas* sp.을 활용하여 P (3HB-co-3HV)과 P (3HB-co-4HV) 등의 공중합체 scl PHA를 생산하는 Pha Builder (PR China), COFCO (PR China), Medpha (PR China) 등 중국 제조업체들이 있었다. 또 다른 예로, Bluepha PHA (PR China)는 고염 호수에서 분리하여 균주 개선 연구를 통해 개발된 호염성 Rec *C. necator*를 활용하여 P (3HB-co-3HH)를 생산한다. PHA 생산에 사용되는 주원료로는 glucose, sucrose, molasses, cassava starch, 식물유지 등 비교적 값비싼 원료들이 주 산업용 원료로 사용되고 있으며, 특히 공중합체 PHA를 생산하기 위해서는 비교적 값비싼 단위체 전구물질(propionate, 3-hydroxyvalerate, γ-butyrolactone, 1,4-butanediol)을 부가적 원료로 이용하여 생산하고 있다[4]. 이를 대체할 수 있는 값싼 대체원료를 확보하게 된다면 호염성 PHA 생산균주를 활용하였을 때 부가적인 생산 비용을 줄일 수 있는 우수한 공정이 될 것으로 사료된다.

PHA의 활용 분야

PHA의 구조 및 물리/화학적 다양성은 고분자 물질의 대체 소재로 적용 가능케 하여, 현재 일회용 생분해 플라스틱 소재에서부터, 가축사료, 바이오 에너지, 의료용 대체 소재뿐만 아니라 3D printing 및 스마트 소재로의 활용[10] 등 다양한 분야의 대체 소재로 개발되고 있다. 특히 생체적합성, 무독성의 특성을 가지고 있어 의학적으로 다양하게 응용되기에 적합하다고 알려져 주목받고 있다[60].

특히 Defoirdt 등[17]은 새우에게 병을 유발하는 *Vibrio campbelli*에 감염된 *Artemia nauplii*의 배양수에 1g l^{-1} PHB를 첨가한 결과 생존율이 약 73%로 향상되어 PHB가 병원성 *V. campbelli*의 생장억제 및 치료 효과를 입증하여 향후

해양 양식산업에 치료제로 응용될 수 있음을 보고하였다.

PHA 생산 비용 절감을 위한 전략

앞서 언급한 것처럼 PHA의 환경친화적 장점으로 지난 반세기 동안 다양한 고효율 PHA 생산 균주 개발과 각종 분야에 적용 가능한 PHA 소재를 개발하기 위한 꾸준한 연구가 진행되어 왔다. 하지만 PHA 다양성과 고효율 생산 균주의 개발에도 불구하고, 고액의 생산단가는 여전히 석유합성 플라스틱을 대체하기에 큰 장애물로 작용하고 있다. 미생물의 종류에 따라 차이가 있지만 PHA 생산단가는 약 UDS 2.6~6.7/kg으로 추정되고 있으며, 석유합성 플라스틱 생산 비용(USD 0.9~1.0/kg)과 비교하였을 때 약 7배가 높기 때문에 석유합성 플라스틱과 가격 경쟁을 위해 생산단가를 낮추는 것이 필요하다[15].

PHA 생산단가 절감을 위해 사용되는 값싼 원료

현 PHA 상용화 공정에서 옥수수전분, 사탕수수, 사탕무 등에서 유래된 자당, 포도당 등이 주 상업용 원료로 이용되고 있으며, Choi와 Lee의 연구[11]에 따르면 생산공정의 규모의 크기에 따라 생산단가가 다르지만, 100 톤 규모의 PHA 생산에 이용되는 탄소원 기질의 비용은 총 생산공정의 약 40%를 차지하여 이를 낮추기 위한 다양한 연구를 수행하고 있다. 그중 하나로 포도당 등의 값비싼 정제 탄소원을 대체할 수 있는 다양한 유기성 폐기물 및 식품 산업에서 파생되는 부산물 등을 이용하여 PHA를 생산하는 상용화 개발 연구가 활발히 진행되고 있다[85].

현재 상용화에 이용되어 PHA의 가격경쟁력을 높일 수 있는 유기성 폐기물로는 목질계 농업폐기물, 자당 생산공정에서 파생된 molasses와 유제품(dairy food) 생산에서 파생된 유청(whey), 바이오디젤 생산공정에 파생되는 glycerol 및 각종 식품 산업에서 파생되는 폐식용 등과 같은 값싼 원료들이 있다(Table 2). 그리고 식물유래 전분 및 목질계 바이오매스뿐만 아니라, 식품산업 유기성 폐기물 등과 같은 다양한 재생 가능한 값싼 원료의 사용과, 이를 이용할 수 있는 고효율 PHA 생산 미생물의 분리 및 개발, 상용화 공정에 적용할 수 있는 고밀도 세포 배양 기법의 개발 및 분리 정제 기술 개발 등이 있다[33, 48]. 이러한 다양한 기술에 적용할 수 있는 고효율 PHA 생산공정 개발을 통해, 비용 경쟁적인 생산이 가능하다면 화석연료 기반 플라스틱과도 물리/화학적 특성이 유사하여 대체 소재로 지속 가능한 소재 생산이 가능할 것으로 사료되고 있다[37, 75].

최근 해양세균이 제공하는 다양한 이점을 활용하여, 특히 해양 및 육상 환경에 존재하는 유기성 폐자원을 활용한 PHA 생산공정 개발과 관련된 많은 연구사례들이 보고되고 있다[41, 63]. 따라서, 다양한 해양 환경으로부터 분리된 고효율 PHA 생산 균주를 확보한다면 생산 공정 개발 측면에서 가격 경쟁적인 장점을 도출할 수 있을 것이다.

PHA 생산 세균의 선별 기법

현재 고염 및 해양 환경에서는 PHA 생산 균주 분리를 목적으로 많은 연구가 진행되고 있으며[3, 7], 특히 해수, 해양 퇴적층, 심해 열수공, 다양한 해양 무척추동물, 해양 저서 미세조류에 노출된 해양세균과 같은 호염성 세균들 중 산업적으로 활용될 수 있는 PHA를 생산할 수 있는 균주가 보고되고 있다[1, 14, 18, 22, 82]. 따라서 높은 PHA 생산 효율을 보유한 균주 및 생산 조건 확보 등이 필수적으로 이루어져야 하며, 다양한 자연환경에 존재하는 PHA 생산 균주에 대한 스크리닝 방법이 일반적으로 이용되는 방법이다. 전통적인 스크리닝 기법으로는 대표적으로 유전적 기법과 염색 기법이 있다.

유전적 기법은 PHA 생산 균주가 가지는 *PhaC* 유전자를 타깃으로 하는 degenerate primer (Table 4)를 사용하여 PHA 생산능을 간접적으로 확인하는 방법이다. 이러한 기법은 적은 양의 균주 샘플로 신속하게 스크리닝 할 수 있고, 민감도(sensitivity)와 선택도(selectivity)가 높다는 장점이 있으며, 아미노산 비교 분석 등을 통해 phaC type을 유추할 수 있다. 그러나 비 특이적 유전자 증폭 등의 문제로 인해 검출 오류가 발생할 수 있다는 단점이 있다[34].

염색 기법은 주로 mineral salts medium (MSM)과 같은, 질소원 등 필수 영양 조건이 제한된 최소배지에 다량의 탄소원을 첨가하여 PHA를 생산하도록 유도한 후, 생산된 PHA를 nile red와 같은 lipophilic dye로 염색하여 관찰하는 기법이다[29]. 이 기법은 불특정 다수의 균주들을 육안을 통해 쉽고 빠르게 PHA 생산 균주를 선별할 수 있으며, PHA 생산에 사용하는 기질도 스크리닝 할 수 있기 때문에 범용성이 높다는 장점이 있다. 그러나 이러한 염료들은 PHA에만 특이적으로 결합하는 것이 아니라 지질과 같은 다른 친유성 물질들과도 결합할 수 있기 때문에 크로마토그래피 법 등을 활용한 부가적인 검증작업이 필요한 단점이 있다[29].

현재 이러한 스크리닝 단계에서 시간 대비 효율성, 양적, 질적 향상을 위해 자동화, 소형화를 통한 대규모 데이터 분석기술인 high throughput screening (HTS) 기법을 통해 많은 연구가 이루어지고 있다[45].

Choi 등[12]은 PHB 염색 기법으로 신규 lipophilic dye인 LipidGreen I을 사용하여, nile red보다 더 나은 정확도와 민감도를 보유한 장점이 있음을 보고하였다. 또한 형광 지속시간이 nile red의 약 40배 이상의 높은 지속성을 보유하여 PHA 생산 모니터링에 더욱 효과적이며, 해당 dye의 형광강도와 추출 법과 크로마토그래피 법을 통해 도출된 PHB의 정량적 상관관계를 규명함으로써, 빠른 시간 내에 산업적으로 활용할 수 있는 고효율의 PHB를 생산할 수

Table 2. The list of current PHA manufacturers [76]

Manufacturer	Microorganism	Substrate	PHA type	PHA Brand name	Capacity (t/year)
PHB Industrial S.A (PHB/ISA, Brazil)	*C. necator*	Sugar cane hydrolysate	P (3HB)	Biocycle	100
	Prarbukholderia sacchari	Sucrose	P (3HB)		
	C. necator	Cane sucrose hydrolysate plus propionate	P (3HB-co-3HV)		100
Bio-On, (Italy)	*C. necator*	Sucrose and molasses	P (3HB)	Minerv-PHA	2000
		Sucrose and molasses plus 3HV	P (3HB-co-3HV)	Minerv-PHA	2000
Biomer (Germany)	*Azohydromonas australica*	Sucrose	P (3HB)	Biomer	100
COFCO, Beijing, PR China	*Halomonas bluephaenesis*	Glucose	P (3HB)	COFOCO PHA	100
Tianan Biologic Materials Co. (PR China)	*Cupriavidus necator*	Glucose pluse 3HV precursor	P (3HB-co-3HV)	ENMAT	2000
PhaBuilder, Beijing, PR China	*Halomonas bluephaenesis*	Glucose plus 3HV precursor	P (3HB-co-3HV)	-	N.R*
	Halomonas sp. TD40	Glucose, corn steep liquor, and γ-butyrolactone	P (3HB-co-4HV)	mP34HB 10	1000~10,000
Tinajin GreenBio Materials Co. Ltd. (PR China)	Rec. *Echerichia coli*	Glucose plus 1,4-butanediole (4HB precursor)	P (3HB-co-4HV)	SoGreen	10,000
Medpha, Beijing, PR China	*Halomonas* sp.	Glucose, corn steep liquor, and γ-butyrolactone	P (3HB-co-4HV)	Medpha PHA	100
Danimer Scientific (USA)	*Aeromonas* sp.	Canola and soy spent oil	P (3HB-co-3HH)	Nodax	10,000
Kanegafuchi Chemical Industry Co. Ltd. (Kaneka, Japan)	Rec. *C. necator*	Vegetable oils	P (3HB-co-3HV)	GreenPlanet™	500

* Not reported.

Table 3. Degenerate primers used for *phaC* genes screening

Primer	Sequence (5'→3')	The type of *phaC*	References
phaCF1	ATCAACAA(GGG/A)T(TT/A)CTAC(AA/G)TC(CC/T)T(CC/G)GACCT	Class Ⅰ & Ⅱ	[68]
phaCF2	GT(CCC/GG)TTC(GGG/AA)T(GGG/CC)(AAA/GG)T(CC/G)(TT/A)(CCC/GG)CTGGCGCACCCC	Class Ⅰ & Ⅱ	[68]
phaCR4	AGGTAGTTGT(TT/C)GAC(CCC/GG)(AAA/CC)(AAA/CC)(GGG/A)TAG (TTT/G)TCCA	Class Ⅰ & Ⅱ	[68]
I-179L	ACAGATCAACAAGTTCTACATCTTCGAC	Class Ⅰ	[71]
I-179R	GGTGTTGTCGTTGTTCCAGTAGAGGATGTC	Class Ⅱ	[71]
P1	ATNGA(CT)TGGGGNTA(CT)CCN	Class Ⅲ	[25]
P2	(AG)AA(AGT)ATCCA(CT)TT(CT)TCCAT	Class Ⅲ	[25]
E1-D	GGAGCGTCGTAGATGAGTAACAAGAA	Class Ⅱ	[62]
E1-R	AGGTTGGCGCCGATGCCGTTGAA	Class Ⅱ	[62]
E2-D	TGCTGGCCTGGCGCATTCCCAA	Class Ⅱ	[62]
E2-R	AAGTGGTAGTAGAGGTTGCC	Class Ⅱ	[62]

Table 4. The comparison of PHA production between terrestrial produces and halophilic producers

Strain	Substrate	Mode of cultivation	PHA type	PHA contents (wt %)	References
Terrestrial producer					
Alcaligenes latus	Sucrose	Fed-batch	P (3HB)	88	[81]
Cupriavidus necator DSM 545	Glucose	Batch	P (3HB)	54.7	[65]
Methylobacterium organophilum	Methanol	Fed-batch	P (3HB)	52	[31]
Ralstonia eutropha	Glucose	Fed-batch	P (3HB)	82	[69]
Recombinant *E. coli*	Glucose	Fed-batch	P (3HB)	76	[30]
	Sucrose	Fed-batch	P (3HB)	27.5	[39]
Bacillus megaterium	Glucose	Batch	P (3HB-co-3HV)	73.5	[2]
Bacillus megaterium uyuni S29	Glucose	Batch	P (3HB)	69.2	[64]
Halophilic bacteria					
Halomonas boliviensis	Glucose	Fed-batch	P (3HB)	81	[56]
	Hydrolyzed starch	Fed-batch	P (3HB)	56	[70]
Halomonas sp. TD01	Glucose	Fed-batch	P (3HB)	80	[77]
Halomonas campisalis MCM B-1027	Maltose	Batch	P (3HB)	56.23	[35]
Halomonas i4786	Saccharose and stachyose	Batch	P (3HB)	78	[21]
Vibrio proteolyticus	Fructose	Batch	P (3HB-*co*-15.8% 3HV)	54	[28]
Halophilic archaea					
Haloferax mediterranei	Glucose	Fed-batch	P (3HB-co-10.7% 3HV)	48.6	[20]
	Extruded starch	Fed-batch	P (3HB-co-10.4% 3HV)	50.8	[8]
	Macroalgae hydrolysate	Batch	P (3HB-co-8% 3HV)	55	[24]
Haloferax mediterranei DSM 1411	Hydrolyzed whey	Fed-batch	P (3HB-co-6.0% 3HV)	72.8	[32]
Halogranum amylolyticum	Glucose	Fed-batch	P (3HB-co-20.1% 3HV)	26.6	[84]
Halogeometricum borinquense strain E3	Sugarcane bagasse	Batch	P (3HB-co-12.29% 3HV)	45.7	[67]
Natrinema pallidum 1KYS1	Corn starch	Batch	P (3HB-co-3HV)	53.14	[16]
Natrialba strain 56	Acetate and *n*-butyric acid	Batch	P (3HB)	53	[27]
Natrinema ajinwuensis RM-G10	Glucose	Batch	P (3HB-co-13.93% 3HV)	60.56	[42]

있는 미생물을 분리할 수 있는 기술에 적용할 수 있는 기술임을 보고하였다.

Christensen 등[13]은 Microarray 기법을 사용하여 96종류의 기질 중에서 PHA 생산에 최적인 기질을 스크리닝하였다. 이를 통해 배양 플라스크의 수백 ml에서 평가하는 방법을 96 well plate의 수백 μl규모로 스케일 축소시킴으로써 전통적인 스크리닝 기법의 노동집약적인 부분을 개선할 수 있는 고효율 스크리닝 방법을 제시하였다.

호염성 세균을 이용한 PHA 생산 방법 및 비용 절감 전략

다양한 해양 환경에서 분리된 PHA 생산균주가 생산하는 PHA 종류와 배양방법 및 이들의 PHA 생산효율은 Table 4에 요약하였다. 호염성 균주들은 기존에 활용되던 균주들의 포도당을 이용하였을 때의 PHA 수율과 비교하여 크게 수율이 떨어지지 않으며, 유청이나 기타 농업 폐기물을 기질로 이용하여 PHA를 생산하였을 때도 높은 PHA 생산율을 보인다. 이를 통해 전체 생산 비용의 약 40%를 차지하는 생산 원료의 비용을 줄일 수 있을 것이라 추측된다. 높은 염 농도에서 생장하는 특성으로 인해 비호염성균의 생장이 억제되어, 공정 과정 중 무균 조건을 유지하는 데에 쓰이는 비용이 절감될 수 있다는 것 또한 호염성 균주 활용 시 장점이 될 수 있다[56](Fig. 3). 한 예시로 *Haloferax mediterranei* 균주의 경우 세포 성장 및 PHA 생산을 위한 최적 염 농도가 22%(w/v) 이상이기 때문에 엄격한 무균 조건 없이 공정이 가능하여 멸균에 필요한 비용을 줄일 수 있다고 평가하였다[8]. 또한 세포의 hypo-osmotic shock로 인해 polymer를 쉽게 회수할 수 있어 전체 생산 비용의 최대 40%까지 차지하는 downstream processing 비용을 줄일 수 있기 때문에 PHA 생산 단가를 낮출 수 있다는 장점을 제공해 줄 것으로 기대된다[11, 73]. 이러한 PHA 생산 균주는 PHA뿐만 아니라 Alginate와 같은 다양한 생물 기반 화학제품을 생산할 수 있는 잠재

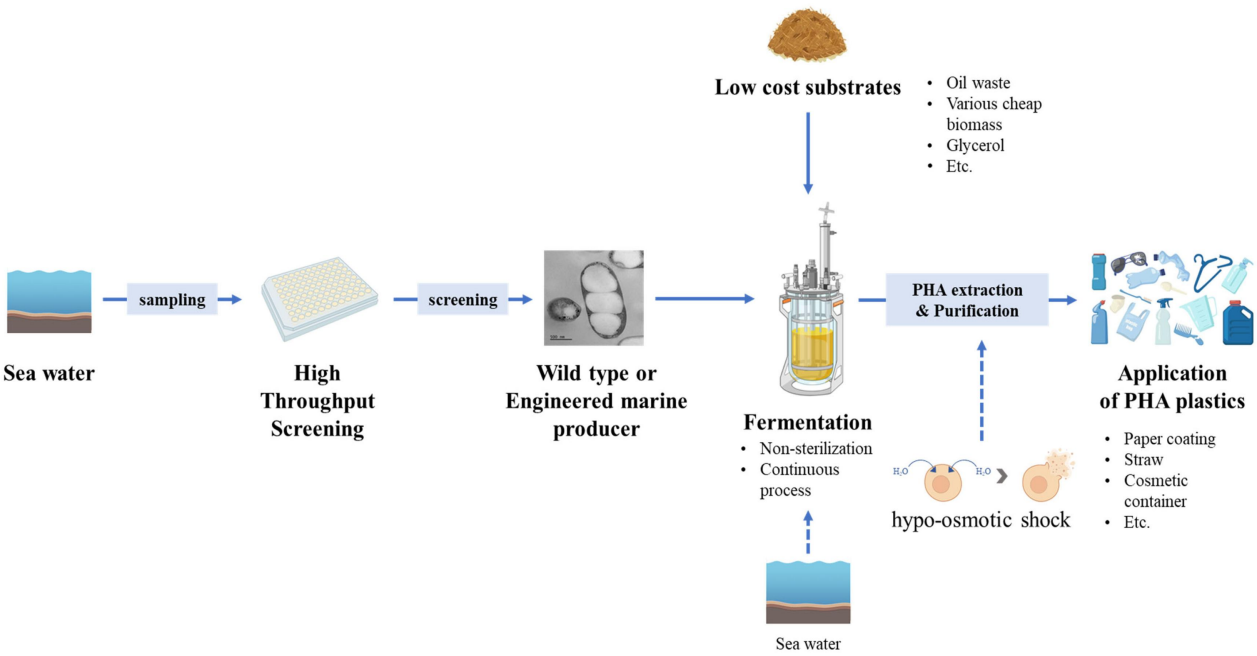


Fig. 3. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production process using marine bacteria from raw materials to PHA application.

성을 보유하고 있으며, 특히 합성 생물학 및 대사공학적 재설계에 의해 새로운 화학물질을 생산하는 차세대 생물공정에 활용될 잠재성을 보유하고 있다[83]. 특히 이러한 미생물은 이들이 보유한 물리 화학적 특이 환경에 대한 내성을 보유하는 측면에서, 대부분 유가 배양법을 활용하였을 때 더욱 높은 효율을 보이는 것으로 나타났다. 게다가, 육상에서 분리된 대부분의 PHA 생산 균주들은 glucose와 같은 단일 기질을 이용하였을 때, homopolymer인 P (3HB)를 생산한다. 하지만 호염성 균주들은 공중합체 PHA를 생산하기 위해서 사용되는, 비교적 값비싼 단위체 전구물질(propionate, 3-hydroxyvalerate, γ-butyrolactone, 1,4-butanediol)을 부가적으로 사용하지 않고도 단일 기질로부터 다양한 물리적/화학적 특성을 보유한 공중합체 PHA를 생산할 수 있는 장점이 있는 것으로 나타났다. 이러한 장점을 활용한다면 PHA 생산 시 원료 사용에 발생하는 부가적 비용을 줄일 수 있을 것으로 사료된다.

결론 및 향후 전망

본 연구를 통해 PHA 생산공정에 이용될 수 있는 해양미생물의 산업적 활용 이점과, 현재까지 밝혀진 해양미생물의 생산성 및 이들이 산업에서 활용되기 위해 필요한 연구개발 현황에 대해 조사하였다. 현재 다양한 해양 환경으로부터 분리된 PHA 생산 균주들에 대해 glucose와 같은 기존에 사용되고 있는 값비싼 기질 대신 산업적 폐기물과 같은 값싼 기질을 적용하여 PHA 생산 및 산업적 잠재성 파악을 위한 연구가 이루어지고 있다. 또한 PHA 생산균주를 분리하는 과정인 스크리닝에서 노동력, 시간, 비용 절감을 위해 HTS 기법을 적용시키는 연구 또한 진행되고 있다. 이러한 균주들을 이용한 PHA 생산은 높은 염농도로 인해 무균공정 처리 비용을 줄일 수 있고, 공정에 해수를 사용하여 배양하는 고밀도 세포 배양 기술의 개발 및 hypo-osmotic shock를 이용한 용이한 polymer 회수를 통해 downstream 처리 비용을 줄일 수 있다는 이점을 제공한다 (Fig. 3). 그러나 고염으로 인해 공정에서 이용하는 기기의 부식을 유발할 수 있다는 점이 단점으로 작용할 수 있다. 그리고 값싼 기질의 확보 단계에서부터 호염성 균주를 활용을 통한 PHA 생산 단계에 이르기까지 환경 전 공정 평가(life cycle assessment)를 통해 새롭게 개발될 차세대 PHA 생산공정의 통해 온실가스 발생량 평가 및 이들의 경제적 효율성도 등도 아울러 평가되어야 할 것으로 사료된다.

따라서, 아직 많이 연구되지 않은 다양한 호염성 미생물의 높은 잠재성은, 비용 효율적인 PHA 생산 공정 개발은 차세대 환경친화적 바이오플라스틱 사용의 범용화와 다양한 바이오산업에 적용할 수 있는 핵심적인 요소 기술로 대두될 수 있을 것으로 사료된다. 이를 위해 고효율 PHA 생산 호염성 균주의 분리를 위한 HTS 기법, 산업폐기물 등 값싼 원료를 활용한 고밀도 연속배양법, 그리고 비용 효율적인 PHA 추출 및 정제 기술이 개발된다면 궁극적으로 PHA 산업화뿐만 아니라, 다양한 바이오산업 분야에도 기여가 가능할 것이라 기대한다.

감사의 글

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2021년)에 의하여 연구되었음.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Abd El-malek, F., Rofeal, M., Farag, A., Omar, S. and Khairy, H. 2021. Polyhydroxyalkanoate nanoparticles produced by marine bacteria cultivated on cost effective Mediterranean algal hydrolysate media. *J. Biotechnol.* **328**, 95-105.
2. Akdoğan, M. and Çelik, E. 2018. Purification and characterization of polyhydroxyalkanoate (PHA) from a *Bacillus megaterium* strain using various dehydration techniques: PHA purification from *B. megaterium* using various dehydration techniques. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **93**, 2292-2298.
3. Alsaadi, A., Ganesen, S. S. K., Amelia, T. S. M., Moanis, R., Peeters, E., Vigneswari, S. and Bhubalan, K. 2022. Polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolymer synthesis by marine bacteria of the malaysian Coral Triangle region and mining for PHA synthase genes. *Microorganisms* **10**, 2057.
4. Anjum, A., Zuber, M., Zia, K. M., Noreen, A., Anjum, M. N. and Tabasum, S. 2016. Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: a review of recent advancements. *Int. J. Biol. Macromol.* **89**, 161-174.
5. Bhattacharyya, A., Pramanik, A., Maji, S. K., Haldar, S., Mukhopadhyay, U. K. and Mukherjee, J. 2012. Utilization of vinasse for production of poly-3-(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) by *Haloferax mediterranei*. *AMB Express* **2**, 1-10.
6. Bindu, J., Sathish Kumar, K., Panda, S. K. and Katiyar, V. 2019. Biopolymer dispersed poly lactic acid composites and blends for food packaging applications. In: Katiyar, V., Gupta, R., Ghosh, T. (eds), *Advances in Sustainable Polymers. Materials Horizons: From Nature to Nanomaterials.* Springer, Singapore.
7. Cervantes-Uc, J. M., Catzin, J., Vargas, I., Herrera-Kao, W., Moguel, F., Ramirez, E., Rincón-Arriaga, S. and Lizama-Uc, G. 2014. Biosynthesis and characterization of polyhydroxyalkanoates produced by an extreme halophilic bacterium, *Halomonas nitroreducens*, isolated from hypersaline ponds. *J. Appl. Microbiol*. **117**, 1056-1065.
8. Chen, C. W., Don, T. M. and Yen, H. F. 2006. Enzymatic extruded starch as a carbon source for the production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by *Haloferax mediterranei*. *Process Biochem*. **41**, 2289-2296.
9. Chen, G. Q. 2009. A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio- and materials industry. *Chem. Soc. Rev.* **38**, 2434.
10. Chiulan, I., Frone, A., Brandabur, C. and Panaitescu, D. 2017. Recent advances in 3D printing of aliphatic polyesters. *Bioengineering* **5**, 2.
11. Choi, J. and Lee, S. Y. 1999. Factors affecting the economics of polyhydroxyalkanoate production by bacterial fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **51**, 13-21.
12. Choi, J. E., Na, H. Y., Yang, T. H., Rhee, S. K. and Song, J. K. 2015. A lipophilic fluorescent LipidGreen1-based quantification method for high-throughput screening analysis of intracellular poly-3-hydroxybutyrate. *AMB Express* **5**, 48.
13. Christensen, M., Chiciudean, I., Jablonski, P., Tanase, A. M., Shapaval, V. and Hansen, H. 2023. Towards high-throughput screening (HTS) of polyhydroxyalkanoate (PHA) production via Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of *Halomonas* sp. R5-57 and *Pseudomonas* sp. MR4-99. *PLoS One* **18**, e0282623.
14. Crisafi, F., Valentino, F., Micolucci, F. and Denaro, R. 2022. From organic wastes and hydrocarbons pollutants to polyhydroxyalkanoates: bioconversion by terrestrial and marine bacteria. *Sustainability* **14**, 8241.
15. Crutchik, D., Franchi, O., Caminos, L., Jeison, D., Belmonte, M., Pedrouso, A., Val Del Rio, A., Mosquera-Corral, A. and Campos, J. L. 2020. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production: A feasible economic option for the treatment of sewage sludge in municipal wastewater treatment plants? *Water* **12**, 1118.
16. Danis, O., Ogan, A., Tatlican, P., Attar, A., Cakmakci, E., Mertoglu, B. and Birbir, M. 2015. Preparation of poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) films from halophilic archaea and their potential use in drug delivery. *Extremophiles* **19**, 515-524.
17. Defoirdt, T., Halet, D., Vervaeren, H., Boon, N., Van De Wiele, T., Sorgeloos, P., Bossier, P. and Verstraete, W. 2007. The bacterial storage compound poly-β-hydroxybutyrate protects Artemia franciscana from pathogenic *Vibrio campbellii*. *Environ. Microbiol.* **9**, 445-452.
18. Dhangdhariya, J. H., Dubey, S., Trivedi, H. B., Pancha, I., Bhatt, J. K., Dave, B. P. and Mishra, S. 2015. Polyhydroxyalkanoate from marine *Bacillus megaterium* using CSMCRI's Dry Sea Mix as a novel growth medium. *Int. J. Biol. Macromol.* **76**, 254-261.
19. Dilkes-Hoffman, L. S., Lant, P. A., Laycock, B. and Pratt, S. 2019. The rate of biodegradation of PHA bioplastics in the marine environment: a meta-study. *Mar. Pollut. Bull.* **142**, 15-24.
20. Don, T. M., Chen, C. W. and Chan, T. H. 2006. Preparation and characterization of poly(hydroxyalkanoate) from the fermentation of *Haloferax mediterranei*. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **17**, 1425-1438.
21. Elain, A., Le Grand, A., Corre, Y. M., Le Fellic, M., Hachet, N., Le Tilly, V., Loulergue, P., Audic, J. L. and Bruzaud, S. 2016. Valorisation of local agro-industrial

processing waters as growth media for polyhydroxyalkanoates (PHA) production. *Ind. Crops Prod*. **80**, 1-5.
22. Eronen-Rasimus, E., Hultman, J., Hai, T., Pessi, I. S., Collins, E., Wright, S., Laine, P., Viitamäki, S., Lyra, C. and Thomas, D. N. 2021. Sea-ice bacteria *Halomonas* sp. strain 363 and *Paracoccus* sp. strain 392 produce multiple types of poly-3-hydroxyalkaonoic acid (PHA) storage polymers at low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* **87**, e00929-00921.
23. Gagnon, K., Lenz, R., Farris, R. and Fuller, R. 1992. Crystallization behavior and its influence on the mechanical properties of a thermoplastic elastomer produced by *Pseudomonas oleovorans*. *Macromolecules* **25**, 3723-3728.
24. Ghosh, S., Gnaim, R., Greiserman, S., Fadeev, L., Gozin, M. and Golberg, A. 2019. Macroalgal biomass subcritical hydrolysates for the production of polyhydroxyalkanoate (PHA) by *Haloferax mediterranei*. *Bioresour. Technol.* **271**, 166-173.
25. Hai, T., Lange, D., Rabus, R. and Steinbüchel, A. 2004. Polyhydroxyalkanoate (PHA) accumulation in sulfate-reducing bacteria and identification of a class III PHA synthase (PhaEC) in *Desulfococcus multivorans*. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 4440-4448.
26. Hartmann, R., Hany, R., Pletscher, E., Ritter, A., Witholt, B. and Zinn, M. 2006. Tailor-made olefinic medium-chain-length poly [(R)-3-hydroxyalkanoates] by *Pseudomonas putida* GPo1: batch versus chemostat production. *Biotechnol. Bioeng.* **93**, 737-746.
27. Hezayen, F. F., Rehm, B. H. A., Eberhardt, R. and Steinbüchel, A. 2000. Polymer production by two newly isolated extremely halophilic archaea: application of a novel corrosion-resistant bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **54**, 319-325.
28. Hong, J. W., Song, H. S., Moon, Y. M., Hong, Y. G., Bhatia, S. K., Jung, H. R., Choi, T. R., Yang, S. Y., Park, H. Y., Choi, Y. K. and Yang, Y. H. 2019. Polyhydroxybutyrate production in halophilic marine bacteria *Vibrio proteolyticus* isolated from the Korean peninsula. *Bioprocess Biosyst. Eng*. **42**, 603-610.
29. Juengert, J., Bresan, S. and Jendrossek, D. 2018. Determination of polyhydroxybutyrate (PHB) content in *Ralstonia eutropha* using gas chromatography and nile red staining. *Bio-protoc.* **8,** e2748.
30. Kim, B. S., Lee, S. C., Lee, S. Y., Chang, H. N., Chang, Y. K. and Woo, S. I. 1994. Production of poly (3-hydroxybutyric acid) by fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with glucose concentration control. *Biotechnol. Bioeng.* **43**, 892-898.
31. Kim, S. W., Kim, P., Lee, H. S. and Kim, J. H. 1996. High production of Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) from *Methylobacterium organophilum* under potassium limitation. *Biotechnol. Lett.* **18**, 25-30.
32. Koller, M., Hesse, P., Bona, R., Kutschera, C., Atlić, A. and Braunegg, G. 2007. Biosynthesis of high quality polyhydroxyalkanoate co- and terpolyesters for potential medical application by the archaeon *Haloferax mediterranei*. *Macromol. Symp*. **253**, 33-39.
33. Koller, M. and Mukherjee, A. 2022. A new wave of industrialization of PHA biopolyesters. *Bioengineering (Basel)* **9,** 74.
34. Koller, M. and Rodríguez-Contreras, A. 2015. Techniques for tracing PHA-producing organisms and for qualitative and quantitative analysis of intra- and extracellular PHA. *Eng. Life Sci.* **15**, 558-581.
35. Kshirsagar, P., Suttar, R., Nilegaonkar, S., Kulkarni, S. and Kanekar, P. 2012. Scale up production of polyhydroxyalkanoate (PHA) at different aeration, agitation and controlled dissolved oxygen levels in fermenter using *Halomonas campisalis* MCM B-1027. *J. Biochem. Technol.* **4,** 512-517.
36. Lamberti, F. M., Román-Ramírez, L. A. and Wood, J. 2020. Recycling of bioplastics: routes and benefits. *J. Polym. Environ.* **28**, 2551-2571.
37. Lee, C. 2018. Control of molecular weight and terminal groups of poly (3-hydroxybutyrate) in bio-synthesis. *Text. Color. and Finish*. **30**, 130-140.
38. Lee, E., Jendrossek, D., Schirmer, A., Choi, C. and Steinbüchel, A. 1995. Biosynthesis of copolyesters consisting of 3-hydroxybutyric acid and medium-chain-length 3-hydroxyalkanoic acids from 1, 3-butanediol or from 3-hydroxybutyrate by *Pseudomonas* sp. A33. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **42**, 901-909.
39. Lee, S. Y. and Chang, H. N. 1993. High cell density cultivation of *Escherichia coli* W using sucrose as a carbon source. *Biotechnol. Lett.* **15**, 971-974.
40. Lee, S. Y., Lee, Y. K. and Chang, H. N. 1995. Stimulatory effects of amino acids and oleic acid on poly (3-hydroxybutyric acid) synthesis by recombinant *Escherichia coli*. *J. Biosci. Bioeng.* **79**, 177-180.
41. Linger, J. G., Vardon, D. R., Guarnieri, M. T., Karp, E. M., Hunsinger, G. B., Franden, M. A., Johnson, C. W., Chupka, G., Strathmann, T. J., Pienkos, P. T. and Beckham, G. T. 2014. Lignin valorization through integrated biological funneling and chemical catalysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **111**, 12013-12018.
42. Mahansaria, R., Dhara, A., Saha, A., Haldar, S. and Mukherjee, J. 2018. Production enhancement and characterization of the polyhydroxyalkanoate produced by *Natrinema ajinwuensis* (as synonym) ≡ *Natrinema altunense* strain RM-G10. *Int. J. Biol. Macromol.* **107**, 1480-1490.
43. Marschessault, R. H., Monasterios, C. J., Morin, F. G. and Sundararajan, P. R. 1990. Chiral poly(β-hydroxyalkanoates): an adaptable helix influenced by the alkane side-chain. *Int. J. Biol. Macromol.* **12**, 158-165.
44. Mathuriya, A. S. and Yakhmi, J. V. 2017. Polyhydroxyalkanoates: biodegradable plastics and their applications, pp. 1-29. In: Martínez, L. M. T., Kharissova, O. V. and Kharisov, B. I. (eds.), *Handbook of Ecomaterials.* Springer International Publishing: Cham.
45. Mayr, L. M. and Bojanic, D. 2009. Novel trends in high-throughput screening. *Curr. Opin. Pharmacol.* **9**, 580-588.
46. Mazhandu, Z. S., Belaid, M., Nhubu, T. and Muzenda,

E. 2021. Potential impact of the Covid-19 pandemic on plastic medical waste management in South Africa: a narrative review. *2021 9th International Renewable and Sustainable Energy*. IEEE. 2021.
47. Mirjalili, F., Chuah, L. and Salahi, E. 2014. Mechanical and morphological properties of polypropylene/nano α-Al_2O_3 composites. *Sci. World J.* **2014**, 1-12.
48. Mitra, R., Xu, T., Xiang, H. and Han, J. 2020. Current developments on polyhydroxyalkanoates synthesis by using halophiles as a promising cell factory. *Microb. Cell Fact.* **19**, 1-30.
49. Mohammadipanah, F., Hamedi, J. and Dehhaghi, M. 2015. Halophilic bacteria: potentials and applications in biotechnology, pp. 277-321. In: Maheshwari, D., Saraf, M. (eds), *Halophiles. Sustainable Development and Biodiversity*. vol 6. Springer, Cham.
50. Moshood, T. D., Nawanir, G., Mahmud, F., Mohamad, F., Ahmad, M. H. and AbdulGhani, A. 2022. Sustainability of biodegradable plastics: new problem or solution to solve the global plastic pollution? *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **5**, 100273.
51. Naser, A. Z., Deiab, I. and Darras, B. M. 2021. Poly (lactic acid)(PLA) and polyhydroxyalkanoates (PHAs), green alternatives to petroleum-based plastics: a review. *RSC Adv.* **11**, 17151-17196.
52. Neoh, S. Z., Chek, M. F., Tan, H. T., Linares-Pastén, J. A., Nandakumar, A., Hakoshima, T. and Sudesh, K. 2022. Polyhydroxyalkanoate synthase (*PhaC*): the key enzyme for biopolyester synthesis. *Curr. Res. Biotechnol.* **4**, 87-101.
53. Numata, K., Morisaki, K., Tomizawa, S., Ohtani, M., Demura, T., Miyazaki, M., Nogi, Y. and Deguchi, S. 2013. Synthesis of poly-and oligo (hydroxyalkanoate) s by deep-sea bacteria, *Colwellia* spp., *Moritella* spp., and *Shewanella* spp. *Polym. J.* **45**, 1094-1100.
54. Park, D. H. and Kim, B. S. 2010. Characteristics of polyhydroxyalkanoates synthesis by *Ralstonia eutropha* from vegetable oils. *KSBB J.* **25**, 239-243.
55. Plackett, D. and Siró, I. 2011. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) for food packaging, pp. 498-526. In: Lagaron, J. M. (eds.), *Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging*, Woodhead Publishing Ltd.
56. Quillaguamán, J., Guzmán, H., Van-Thuoc, D. and Hatti-Kaul, R. 2010. Synthesis and production of polyhydroxyalkanoates by halophiles: current potential and future prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**, 1687-1696.
57. Rahman, M. H. and Bhoi, P. R. 2021. An overview of non-biodegradable bioplastics. *J. Clean. Prod.* **294**, 126218.
58. Rai, R., Keshavarz, T., Roether, J. A., Boccaccini, A. R. and Roy, I. 2011. Medium chain length polyhydroxyalkanoates, promising new biomedical materials for the future. *Mater. Sci. Eng. R Rep.* **72**, 29-47.
59. Rajpoot, A. S., Choudhary, T., Chelladurai, H., Nath Verma, T. and Shende, V. 2022. A comprehensive review on bioplastic production from microalgae. *Mater. Today: Proc.* **56**, 171-178.
60. Ray, S. and Kalia, V. C. 2017. Biomedical applications of polyhydroxyalkanoates. *Indian J. Microbiol.* **57**, 261-269.
61. Reddy, S. V., Thirumala, M. and Mahmood, S. 2009. A novel *Bacillus* sp. accumulating poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) from a single carbon substrate. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 837-843.
62. Revelo Romo, D. M., Grosso, M. V., Moreno Solano, N. C. and Montoya Castano, D. 2007. A most effective method for selecting a broad range of short and medium-chain-length polyhidroxyalcanoate producing microorganisms. *Electron. J. Biotechnol.* **10**, 348-357.
63. Riedel, S. L., Jahns, S., Koenig, S., Bock, M. C. E., Brigham, C. J., Bader, J. and Stahl, U. 2015. Polyhydroxyalkanoates production with *Ralstonia eutropha* from low quality waste animal fats. *J. Biotechnol.* **214**, 119-127.
64. Rodríguez-Contreras, A., Koller, M., Miranda-de Sousa Dias, M., Calafell-Monfort, M., Braunegg, G. and Marqués-Calvo, M. S. 2013. High production of poly (3-hydroxybutyrate) from a wild *Bacillus megaterium* Bolivian strain. *J. Appl. Microbiol.* **114**, 1378-1387.
65. Ronďošová, S., Legerská, B., Chmelová, D., Ondrejovič, M. and Miertuš, S. 2022. Optimization of growth conditions to enhance PHA production by *Cupriavidus necator*. *Fermentation* **8**, 451.
66. Sabapathy, P. C., Devaraj, S., Meixner, K., Anburajan, P., Kathirvel, P., Ravikumar, Y., Zabed, H. M. and Qi, X. 2020. Recent developments in Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production–A review. *Bioresour. Technol.* **306**, 123132.
67. Salgaonkar, B. and Bragança, J. 2017. Utilization of sugarcane bagasse by *Halogeometricum borinquense* strain E3 for biosynthesis of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Bioengineering* **4**, 50.
68. Sheu, D. S., Wang, Y. T. and Lee, C. Y. 2000. Rapid detection of polyhydroxyalkanoate-accumulating bacteria isolated from the environment by colony PCR. *Microbiology* **146**, 2019-2025.
69. Shim, H. J., Ryu, H. W., Cho, K. S., Kim, B. S., Chang, Y. K. and Chang, H. N. 1999. Mass production of poly (3-hydroxybutyrate) by fed-batch cultures of *Ralstonia eutropha* with nitrogen and phosphate limitation. *J. Microbiol. Biotechnol.* **9**, 751-756.
70. Singh Saharan, B., Grewal, A. and Kumar, P. 2014. Biotechnological production of polyhydroxyalkanoates: a review on rrends and latest developments. *Chin. J. Biol.* **2014**, 1-18.
71. Solaiman, D. K. Y., Ashby, R. D. and Foglia, T. A. 2000. Rapid and specific identification of medium-chain-length polyhydroxyalkanoate synthase gene by polymerase chain reaction. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **53**, 690-694.
72. Son, H. J., Min, K. P. and Lee, S. J. 1995. Production of poly (hydroxybutyric-co-hydroxyvaleric) acid by *Pseudomonas* sp. HJ. *KSBB J.* **10**, 349-356.
73. Stanley, A., Mutturi, S. and Vijayendra, S. 2021. Halophilic microorganisms as potential producers of polyhydrox-

yalkanoates, pp. 277-294. In: Kuddus, M. (eds.), *Bioplastics for Sustainable Development*, Springer Singapore.
74. Surendran, A., Lakshmanan, M., Chee, J. Y., Sulaiman, A. M., Thuoc, D. V. and Sudesh, K. 2020. Can polyhydroxyalkanoates be produced efficiently from waste plant and animal oils? *Front. Bioeng. Biotechnol.* **8**, 169.
75. Takahashi, R. Y. U., Castilho, N. A. S., Silva, M. A. C. d., Miotto, M. C. and Lima, A. O. D. S. 2017. Prospecting for marine bacteria for polyhydroxyalkanoate production on low-cost substrates. *Bioengineering* **4**, 60.
76. Tan, D., Wang, Y., Tong, Y. and Chen, G. Q. 2021. Grand challenges for industrializing polyhydroxyalkanoates (PHAs). *Trends Biotechnol.* **39**, 953-963.
77. Tan, D., Xue, Y. S., Aibaidula, G. and Chen, G. Q. 2011. Unsterile and continuous production of polyhydroxybutyrate by *Halomonas* TD01. *Bioresour. Technol.* **102**, 8130-8136.
78. Tan, G. Y. A., Chen, C. L., Li, L., Ge, L., Wang, L., Razaad, I. M. N., Li, Y., Zhao, L., Mo, Y. and Wang, J. Y. 2014. Start a research on biopolymer polyhydroxyalkanoate (PHA): a review. *Polymers* **6**, 706-754.
79. Tsuge, T., Hyakutake, M. and Mizuno, K. 2015. Class IV polyhydroxyalkanoate (PHA) synthases and PHA-producing *Bacillus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **99**, 6231-6240.
80. Van-Thuoc, D., Huu-Phong, T., Minh-Khuong, D. and Hatti-Kaul, R. 2015. Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) production by a moderate halophile *Yangia* sp. ND199 using glycerol as a carbon source. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **175**, 3120-3132.
81. Wang, F. and Lee, S. Y. 1997. Poly (3-hydroxybutyrate) production with high productivity and high polymer content by a fed-batch culture of *Alcaligenes latus* under nitrogen limitation. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 3703-3706.
82. Wei, Y. H., Chen, W. C., Wu, H. S. and Janarthanan, O. M. 2011. Biodegradable and biocompatible biomaterial, polyhydroxybutyrate, produced by an indigenous *Vibrio* sp. BM-1 isolated from marine environment. *Mar. Drugs* **9**, 615-624.
83. Yadav, B., Talan, A., Tyagi, R. D. and Drogui, P. 2021. Concomitant production of value-added products with polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesis: a review. *Bioresour. Technol.* **337**, 125419.
84. Zhao, Y. X., Rao, Z. M., Xue, Y. F., Gong, P., Ji, Y. Z. and Ma, Y. H. 2015. Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) production by haloarchaeon *Halogranum amylolyticum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **99**, 7639-7649.
85. Zheng, Y., Chen, J. C., Ma, Y. M. and Chen, G. Q. 2020. Engineering biosynthesis of polyhydroxyalkanoates (PHA) for diversity and cost reduction. *Metab. Eng.* **58**, 82-93.

초록 : 해양 미생물에 의한 폴리하이드록시알카노에이트 생산의 최근 동향

김선민[1,2] · 이혜인[1,2] · 정해수[1,2] · 전용재[1,2*]
([1]부경대학교 자연과학대학 미생물학과, [2]부경대학교 일반대학원 해양수산생명과학부)

오일 피크, 기후변화 그리고 미세 플라스틱과 관련된 석유합성 플라스틱의 생산과 사용은, 지속 가능한 인류 생활을 위협하는 범세계적 이슈로 대두되고 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 다양한 생분해성 친환경 바이오플라스틱 소재가 대안이 되고 있으며, 그중 주목받고 있는 소재 중 하나는 polyhydroxyalkanoates (PHA) 생분해성 바이오플라스틱이다. 본 총설은 PHA 생산공정에 이용될 수 있는 해양 미생물의 산업적 활용 이점과 현재까지 밝혀진 해양미생물의 생산성을 비교하고, 이들이 산업에서 활용되기 위해 필요한 연구개발 현황에 대해 조사하였다. 조사 결과 해양미생물로부터 생산된 PHA는 석유합성 플라스틱이 보유한 다양한 물리적 특성을 띄는 중합체 소재로의 대체 가능성과, 배지 제조 시 해수를 사용할 수 있는 장점, 특별한 멸균 과정이 필요치 않은 장점, 그리고 분리 정제 과정 등에서 비용 절감의 장점을 제공할 수 있음을 확인하였다. 하지만 해양미생물의 PHA 생산성은 육상에서 분리된 상용화 균주에 비해 다소 떨어지는 효율을 보이는 것을 확인하였다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 최근 선진 omics 기반 합성 미생물학 기반 기술을 활용하여, 고밀도 연속배양기술 개발, PHA 효율 증진 및 다양한 시장 요구에 필요한 생분해성 플라스틱 소재 개발이 미래 플라스틱 대체 소재 개발에 필요한 연구임을 확인하였다.