

해양미생물로부터 신기능성 생리활성물질인 콘드로이틴 황산의 생산

김경석 · 박유수* · 이원재

부경대학교 미생물학과, * (주)바이넥스

서론

콘드로이틴황산의 다양한 기능성에 따라 의학분야의 임상분야에서 의약품으로 이용되고 있고, 화장품업계에서는 콘드로이틴황산이 노화와 밀접한 관계(1)를 가지며 피부미용효과가 우수하기 때문에 화장품원료로서 이용하고 있으며, 독성이 낮아 경구 투여로도 효과가 있기 때문에(2) 식품에서는 최근에 건강음료로 개발되는 등, 시장성이 매우 큰 기능성 물질이다. 의약품 및 화장품용은 상어지느러미와 연골에서 추출되며, 식품용은 소나 양의 연골 등에서 정제되며, 무척추동물로는 달팽이 등이 이용된다. 현재 해양미생물로부터는 해삼 및 우렁쉥이 껍질에서 추출되고 있으나 생산성 및 경제성면에서 매우 떨어지는 단점이 있다. 그러나 미생물로부터 추출된 콘드로이틴황산은 다른 물질의 혼재가 적어(3) 의약품 및 화장품, 식품용 원료로서 정제공정이 간단하고 매우 경제적이다. 또한 콘드로이틴황산을 제거한 미생물 잔사는 사료로서 이용도 가능(3,4)하다.

본 연구는 해양세균로부터 신기능성 생리활성물질인 콘드로이틴 황산을 탐색하고 콘드로이틴 황산의 대량생산에 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

2001년 1월부터 12월까지 통영, 여수 및 부산 지역에서 시료를 채취하였다. 시료를 pH 7.6으로 조절된 PPES-II (Taga, 1968) 평판배지에 심진법으로 희석하여 평판도말법 (Buck and Cleverdon, 1960)으로 접종하여 20℃에서 1주일간 배양한 후 나타난 colony 중에서 특징적인 형태를 나타내는 colony를 선별하였다. 이들 중 국립보건원의 기준 및 시험방법에 따른 확인 시험을 통하여 1차적으로 콘드로이틴황산 생성균주를 분리하였다. 세균의 온도에 따른 증식을 조사하기 위해 PPES-II broth에서 preculture된 세균 배양액 100 μ l를 PPES-II broth 100 ml가 포함된 300 ml 삼각 플라스크에 접종한 후, 각각 4℃, 10℃, 20℃, 25℃, 30℃, 37℃, 41℃, 50℃에서 배양하였다

(pH 7.5, NaCl 3%). 그리고 염에 대한 증식을 조사하기 위하여 증류수를 사용한 PPES-II broth 100 ml에 염을 0%, 1%, 2%, 2.5%, 3%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 11%, 13%, 15%로 맞추고 세균 배양액 100 μ l를 접종하여 shaking incubator에서 180rpm으로 배양하였다(pH 7.5, 온도 25°C). 또한 pH에 대한 증식을 조사하기 위하여 PPES-II broth 100 ml에 pH를 4, 5, 6, 7, 7.5, 8, 9, 10, 12로 맞추고 세균 배양액 100 μ l를 접종하여 shaking incubator에서 180rpm으로 배양하였다(NaCl 3%, 온도 25°C). 세균의 당의 종류에 따른 증식 조건을 조사하기 위해 NaCl 10%, pH 9.0, 온도 25°C로 맞춘 PPES-II broth에 xylose, arabinose, glucose, fructose, galactose, rhamnose, mannitol, sorbitol, dulcitol, inositol, adonitol, arginine, lysine, maltose, lactose, sucrose, cellobiose, starch를 1%가 되게 첨가하고, PPES-II broth에서 preculture된 세균 배양액 100 μ l를 접종하여 배양하였다. 또한 Glucose 농도가 1%, 2%, 3%, 5%가 되게 첨가하고, PPES-II broth에서 preculture된 세균 배양액 100 μ l를 접종하여 배양하였다. 배양된 배양액으로부터 콘드로이틴황산의 추출은 Suda Tandavanitj 등의 방법에 따랐다. 단백질 정량을 통한 단백질 제거율은 Lowry 등의 방법을 이용하였다. 콘드로이틴황산의 정량은 식품 공전법에 준하여 실험하였다.

결과 및 요약

분리된 균주는 NaCl 10%, pH 9.0, 온도 25°C에서 가장 잘 자랐으며, 또한 Glucose 1%일 때 더 나은 성장을 보였다. 단백질 제거율은 약 77%였으며, 콘드로이틴황산의 함량은 1% phenol를 2시간 처리했을 때 12%, 6시간처리했을 때 27.58%였다.

참고문헌

- 1.하배진. 1999. The Effect of Chondroitin sulfate on the mature of Collagen and Aging. 한국식품위생안전학회. 1-49
- 2.Baggio B, Gambaro G, Marchini F. 1991. Correction of erythrocyte abnormalities in idiopathic calcium-oxalate nephrolithiasis and reduction of urinary oxalate by oral glycosaminoglycans. Lancet 338:403-5.
3. Kazuyuki S, Hiroshi K. 2000. Recent advances in the study of the biosynthesis and functions of sulfated glycosaminoglycans. Current Opinion in Structural Biology. 10:5:518-527
- 4.Tandavanitj S, Miki E, Okutani K. 1990. The flow property of an extracellular mucopolysaccharide produced by marine strain of Pseudomonas. Nippon Suisan Gakkaishi. 56:1865-1869