PC-9

작은구슬산호말 (*Corallina pilulifera*)의 Methanol 추출물로부터 항적조물질 분리

진형주 · Long-Guo JIN · 김미정 · 홍용기
부경대학교 생물공학과

서 론

적조에 대한 대책으로서 가장 많이 이용되는 황토법은 적조생물을 침전시키므로써 제거하지만, 황토의 침전에 의한 2차적인 오염의 가능성이 있다 (Na et al., 1996). 황산구리, 과산화수소와 Triosyn에 의한 적조 살조효과가 있지만, 이러한 화학물질은 모든 생물에 대한 살조효과가 있으므로 현상에 사용하기는 힘들다. 생물학적 방제에는 바이러스, 박테리아의 방법이 강구되고 있지만, 산소고갈 등의 2차적인 부작용이 야기된다. 해조류는 해양에 널리 분포하고 쉽고, 낮은 비용으로 대량 얻을 수 있으며, 다양한 생리활성물질을 함유하고 있다. 최근 생물학적인 적조방제방법의 하나로 한국산 해조류 추출물에 의한 적조방제에 대한 연구가 보고 되었으며, 대상해조류 중 작은구슬산호말 (*C. pilulifera*)이 적조에 가장 효과적인 것으로 나타났다 (Jeong et al., 2000). 본 연구는 적조에 강한 활성을 가진 작은구슬산호말 (*C. pilulifera*) methanol 추출물로부터 적조살조물질을 분리하고자 한다.

재료 및 방법

해조류 및 적조생물

작은구슬산호말은 부산 근교의 해안에서 채집하여 실온 응달에서 2일정도 완전히 말렸다. 그런 후 coffee grinder를 이용하여 powder로 만들어 사용하였다. 그리고, 적조생물은 국립수산진흥원에서 분양받았다. 분양 받은 적조생물은 항생물질이 포함된 Provasoli's enriched seawater배지 (PES, Provasoli, 1968)에 무균적으로 유지하였다. 배양은 20℃, 40 μmol m^{-2} s^{-1} 에 배양하고, 2주에 한번씩 계대배양을 하였다.

Bioassay

96 well-plate 한 well당 PES배지에 접종하고 추출물을 첨가하여 하루 후에 현미경하에서 세포수를 계측하였다. 상대성장비는 추출물을 포함하여 배양한 세포수를 추출물을 포함하지 않은 배양세포수로 나누어 계산하였다.

항적조물질 분리

작은구슬산호말 methanol 추출물은 해조체 20 g당 methanol 1 L 비율로 첨가하여 추출하였다. methanol 추출물을 분액깔대기에 붓고, 동량의 n-hexane, Ethyl ether로 분획을 하였다. 나누어진 분획에서 활성있는 층을 TLC, Silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 gel filtration colunm를 이용하여 조정제하였다. 조정제 추출물은 HPLC C_8 reversed-phase column (Unisil Q, 10.7×250mm), HPLC C_{18} reversed-phase column (μBondapak, 3.9×300mm), Superdex peptide HR10/30 (10×300 mm) gel-filtration을 행하여 순수분리하였다.

결 과

작은구슬산호말은 methanol로 추출하여, hexane, ethyl ether, methanol 로 분획하였고, 활성은 hexane층에서 나타났다. hexane층은 Silical gel chromatography에 적용하여, 한 fraction당 50 mL로 하여 추출하였다. 추출결과 fraction Ⅰ, fraction Ⅱ, fraction Ⅲ, fraction Ⅳ, fraction Ⅴ로 나누었고, fraction Ⅰ, Ⅱ, Ⅳ에서 활성이 나타났으며, 활성이 가장 강하게 나타난 fraction Ⅰ (CP1)을 먼저 Sephadex LH-20에 적용하여 활성실험을 한 결과 fraction No. 34-45에서 강한 활성을 나타내었다. 이 조정제 fraction을 HPLC C_8 reversed- phase column (Unisil Q, 10.7×250mm) 에 적용한 결과 39% acetonitrile에서 활성이 나왔고, 이 활성부위를 HPLC C_{18} reversed-phase column (μBondapak, 3.9×300mm)에 적용한 결과 39% acetonitrile에 활성이 보였으며, 마지막으로 Superdex peptide HR10/30 (10×300 mm) gel- filtration을 행하여 순수분리를 하였다. Fraction Ⅱ (CP2)은 Sephadex LH-20에 적용한 결과 fraction 32-43에서 강한 활성을 나타내었다. 이 조정제 fraction을 농축하여 HPLC에 적용하였다. HPLC C_{18} reversed-phase column (μBondapak, 3.9×300mm)에 적용한 결과 3 % acetonitrile에 활성이 보였다. 조정제된 CP1과 CP2를 적조에 적용한 결과 *Scrippsiella trochoidea*를 제외한 나머지 적조생물에 대해서는 강한 살조효과가 나타났다.

참고문헌

Jeong JH, Jin HJ, Sohn CH, Suh KH and Hong YK (2000) Algicidal activity of the seaweed *Corallina pilulifera* aganist red tide microalgae. J. Appl. Phycol. 12: 37-43.

Na GH, Choi WJ, Chun YY (1996) A study on red tide control with loess suspension. Kor. J. Aquacult. 9: 239-245.

Provasoli L (1968) Media and prospets for cultivation of marine algae. In Watanabe A., Hattori(eds), Cultures and collections of Algae. Jap. Soc. Plant. Physiol. 63-75