

작은구슬산호말 (*Corallina pilulifera*) 물 추출물로부터의 항적조물질 분리

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

서 론

최근 연안어장의 환경오염, 양식생물의 생산력에 막대한 타격과 인간의 건강에 해로운 적조 (red tide)의 빈번한 발생으로 많은 관심이 부각되고 있다. 우리나라 연안에서 발생한 적조현상은 '80년대까지는 대부분 1주일정도 지속되었으나 최근에는 2주일 이상 그리고 '95년도에는 *Cochlodinium polykrikoides*가 2개월이나 지속된 바 있다. 이러한 현상은 매년 같은 시기에 발생하여 양식장 및 육상 축양장에 심각한 경제적 피해를 주고 있다. 현재까지 적조에 대한 대책으로서 가장 많이 이용되는 황토법은 적조생물을 침전시키므로써 적조생물을 제거하지만, 황토의 침전에 의한 2차적인 오염의 가능성이 있다. 생물학적 방제에는 바이러스(Drewes Milligan & Cosper, 1994), 박테리아(Fukami et al., 1992)의 방법이 강구되고 있지만, 산소고갈 등의 2차적인 부작용이 야기된다. 적조방제에 대한 방법 중 다른 생물에는 영향을 주지 않고, 선택적으로 적조생물에만 영향을 주는 방법은 현재 없는 상태이며, 어느 방법이든 경제성의 문제, 노동력의 문제, 타 생물에 대한 부작용, 2차적인 오염유발 등을 반드시 고려하여야만 한다. 본 연구는 적조에 강한 활성을 가진 작은구슬산호말 (*C. pilulifera*) 물추출물로부터 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. 적조생물은 국립수산진흥원에서 분양받았다. 분양 받은 적조생물은 항생물질이 포함된 Provasoli's enriched seawater배지 (PES, Provasoli, 1968)에 무균적으로 유지하였다. 배양은 20℃, 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에 배양하고, 2주에 한번씩 계대배양을 하였다.

Bioassay

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

항적조물질 분리

메탄올추출물을 행한 후, 남은 powder에서 메탄올을 완전히 제거하고, 증류수 1L에 powder 20 g의 비율로 첨가하여 온도별(60°C, 80°C, 100°C)로 10분간격으로 고온 추출하였다. 이 추출물을 가압막 여과기를 이용하여 조정제하였다. 그런 후 이 조정제 추출물을 HPLC C₈ reversed-phase column (Unisil Q, 10.7×250mm), HPLC DEAE-5PW column (7.5×75mm), HPLC C₈ reversed-phase column (Nova-Pak, 3.9×150 mm), HPLC SP-5PW column (7.5×75mm), HPLC C₈ reversed-phase column (Nova-Pak, 3.9×150mm)에 적용하여 순수분리하였다.

결 과 및 요약

메탄올추출물을 제조한 후, 남은 powder에서 메탄올을 완전히 제거하고, 증류수 1L에 powder 20 g의 비율로 첨가하여 온도별로 추출한 결과 100°C에서 40분, 50분, 60분에서 각각 0.007, 0.02, 0.02의 활성을 가졌다. 나머지 온도에서는 아주 낮은 활성이 나타났다. 분자량에 따른 분리를 행한 결과는 10,000 MW에서 3,000 MW사이에서 0.01 활성이 나타났다. 이 조정제 추출물을 HPLC C₈ reversed-phase column (Unisil Q, 10.7×250mm)에 적용한 결과 55% acetonitrile에 활성이 나타났다. 이 활성부위를 HPLC DEAE-5PW column (7.5×75mm)에 적용한 결과 0.25M NaCl에서 활성이 나타났다. HPLC C₈ reversed-phase column (Nova-Pak, 3.9×150mm)에 적용한 결과 15% acetonitrile에서 활성부위가 나타났다. 이것을 HPLC SP-5PW column (7.5×75mm)에 적용한 결과 0.01M NaCl에서 활성부위가 나타났다. 마지막으로 HPLC C₈ reversed-phase column (Nova-Pak, 3.9×150mm)에 적용하여 32% acetonitrile에서 최종적으로 분리하였다.

참고문헌

- Drewes-Milligan KL and Cosper EM (1994) Isolation of virus capable of lysing the brown tide microalga, *Aureococcus anophagefferens*. Science. 266: 805-807.
- Fukami K, Yuzawa A, Nishijima T, and Hata Y (1992) Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. Nippon Suisan Gakkaishi. 58: 1073-1077.
- Provasoli L (1968) Media and prospects for cultivation of marine algae. In Watanabe A., Hattori(eds), Cultures and collections of Algae. Jap. Soc. Plant. Physiol. 63-75