PC-15

무절 석회 조류 (*Lithophyllum* sp.)로부터 잎파래 (*Enteromorpha linza*) 포자 부착 및 발아 억제 물질 분리

김미정 · 전병수* · 홍용기
부경대학교 생물공학과
*부경대학교 식품공학과

서론

최근에는 해양 생물로부터 2차 대사 산물의 특성과 분리에 관한 새로운 연구 분야의 발전과 무독한 방어도료제로 가능한 원료로서 자연의 allelopathy chemical에 관심을 가져왔다 (Callow, 1990). 많은 종류의 식물은 다른 종류의 식물의 성장을 억제하는 물질을 분비함으로써 그들의 영역을 유지하거나 확장해왔다 (Kakisawa, 1988). 그러나 allelopathy라고 불리는 이러한 작용은 육상식물에서는 잘 알려져 왔지만 해양식물에서는 알려진 것이 거의 없다.

무절 석회 조류는 열대지방에서 극지방까지 조간대 하부에 광범위하게 분포하는 석회 홍조류 (Adey, 1966)로 부착생물의 표면이나 바위에 피복하여 생육한다. 무절 석회 조류 위에는 상대적으로 부착생물이 거의 없다. 그에 대한 원인으로 초식동물, antifouling 메카니즘, 환경변화 그리고 해조와의 경쟁에서 석회 조류가 우위를 차지하기 때문이라는 등 여러 연구들이 수행 되어져왔다. 우리는 이러한 무절 석회 조류로부터 allelopathy 물질의 분리와 잎파래 (*Enteromorpha linza*, Chlorophyta) 상에서의 효과를 보고자 한다.

재료 및 방법

1. Diethyl ether 추출물 조제

Jin et al (1997)의 방법으로 무절 석회 조류 diethyl ether를 첨가하여 추출하였다. Diethyl ether 층을 회수하여, 이것을 35 ℃에서 용매를 증발, 제거시켰다.

2. Allelopathy 물질 분리

Diethyl ether를 이용하여 추출한 추출물은 Harborne (1998)의 방법으로 극성에

따라 5개의 fraction으로 분리하였다. 각 fraction은 methyl alcohol에 녹여 assay에 사용하였다. 활성이 있는 fraction은 전개용매, hexane : ethyl ether : ethylacetate = 1 : 3 : 2로 충진한 silica gel (70-230 mesh, Sigma) 칼럼 (7×25 cm)을 이용하여 분리하였다. 분리한 fraction들은 methyl alcohol에 녹여 활성을 확인하였다. 활성이 가장 좋은 fraction을 용출액을 methyl alcohol로 사용한 Sephadex LH-20 (Pharmacia biotech) gel filtration에 의해 분리하였다. 분리된 fraction 중 가장 활성이 좋은 fraction은 C_{18} column (μ Bondapak, 3.9×300 mm)에 적용하여 linear gradient로 50 - 100% acetonitrile를 50분 동안 200 nm에서 1 mL min^{-1}의 유속으로 용출하였다.

3. Bioassay

Fletcher (1989)와 Pandey et al. (1985)의 방법으로 잎파래 포자를 방출시켜 부착과 발아 실험에 사용하였다. 포자 부착 활성 테스트는 96 well-plate의 한 well당 200 μL PES 배지에 100개 정도의 포자와 1 μL 추출물을 넣고 하루동안 배양한 후 부착하지 않은 포자는 제거하고, 현미경 하에서 포자 수를 계측하여 대조군과 비교하여 계산하였다. 포자 발아 활성 테스트는 추출물 없이 포자를 부착시킨 후, 부착하지 않은 포자를 제거하여 부착한 포자 수를 계측하였다. 그리고 나서 추출물을 첨가하여 배양한 후 발아한 포자 수를 계측하여 추출물을 포함하여 배양했을 때 발아한 포자 수를 추출물을 포함하지 않고 배양했을 때 부착한 포자 수로 나누어 계산하였다.

결과 및 요약

극성 테스트 결과 잎파래의 포자 부착과 발아에 영향을 주는 물질이 alkaloids 계열의 물질임을 확인할 수 있었다. Silica gel column과 gel filtration 과정을 거쳐 HPLC에 적용하여 분리 · 정제를 진행 중에 있으며, 앞으로 이 allelopathy 물질을 순수 분리하여 Mass, NMR 등을 통하여 완전한 구조를 밝혀서 이 구조의 특성과 어떤 메카니즘으로 포자의 부착과 발아에 영향을 주는지 좀 더 깊은 연구가 필요할 것으로 사료된다. 무절 석회 조류의 antifouling에 대한 현재의 조사는 자연계에서 fouling을 저해하는 우리의 지식에 가치 있는 자산이 될 것이다.

참고문헌

Fletcher, R.L., 1989. A bioassay technique using the marine fouling alga *Enteromorpha*. Int. Biodeterior. 25 : 407-422.

Harborne J, B., 1998. Phytochemical methods : A guide to modern techniques of plants analysis. Chapman & Hall Publishing. p. 302.

Pandey, R.S. and M. Ohno, 1985. An ecological study of cultivated *Enteromorpha*. Rep. Usa mar. biol. Inst. Kochi Univ. 7 : 21-31.