

한국산 해조류의 어류병원성세균에 대한 항균활성

강소영[†] · 오명주 · 신종암^{*}

여수대학교 수산해양대학 수산생명의학과

^{*}여수대학교 수산해양대학 수산생명과학부 양식생물학전공

Antimicrobial Activities of Korean Marine Algae against Fish Pathogenic Bacteria

So Young Kang[†], Myung-Joo Oh and Jong-Ahm Shin^{*}

Department of Aqualife medicine, Yosu National University Yosu 550-749, Korea

^{*}Division of Aqualife Science, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

To obtain antimicrobial algae against fish pathogenic bacteria, we screened 80% methanolic extracts of 30 algae using fish pathogenic bacteria, *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Edwardsiella tarda* and *Vibrio anguillarum*. Among them, *Corallina officinalis*, *Dumontia simplex*, *Gloipeltis furcata*, *Grateloupia lanceolata* and *Grateloupia turuturu* were effective for growth inhibition of a Gram-positive bacterium, *Staphylococcus* sp.. *Sargassum thunbergii* and *Polysiphonia morrowii* exhibited significant inhibitory effects against the growth of Gram-negative bacteria, both *E. tarda* and *V. anguillarum*. Moreover, antimicrobial activity-guided fractionation for *P. morrowii* extract yielded significantly active 90% methanolic fraction. This fraction significantly inhibited the growth of *E. tarda* exhibiting a MIC of 1 mg/ml. In addition, its antimicrobial activity was stable under various pH conditions.

Key words : Antimicrobial algae, Fish pathogenic bacteria, *Edwardsiella tarda*, *Polysiphonia morrowii*, *Corallina officinalis*, *Dumontia simplex*, *Gloipeltis furcata*, *Grateloupia lanceolata*, *Grateloupia turuturu*, *Sargassum thunbergii*

해양생물은 해양이라고 하는 특수한 환경에서 서식하고 있어 육상생물과는 다른 여러 가지 화학구조를 갖는 다양한 화합물을 보유하고 있는 것으로 알려져 있다. 따라서, 최근 다양한 해양생물들이 신약후보물질 개발을 위한 생리활성물질의 pool로서 주목을 받고 있다. 이러한 해양생물 중에서 해조류는 기존의 전통적인 식품재료로서의 역할뿐만 아니라 다양한 질병을 치료 또는 예방할 수 있는 물질의 보고로서 항산화, 항바이러스, 항암, 항염증, 항균, 항혈액응고 및 면역조절작용 등의 다양한 생리활성을 갖는 물질들을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다

(Asai *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 1997; Mayor and Hamann, 2002, 2004). 그 중 지금까지 알려져 있는 해조류에 함유되어 있는 항균활성물질로는 할로겐화합물, diterpene 및 triterpene계 화합물 등이 보고되어 있다 (Ali *et al.*, 2002; Bennamara *et al.*, 1999; Enoki *et al.*, 1982; Kurata and Amiya, 1980a, 1980b; Vairappan *et al.*, 2004; Xu *et al.*, 2003). 그러나, 이러한 연구도 일부 해조류에 국한되어 있을 뿐만 아니라, 어류병원성세균에 대한 항균작용을 갖는 해조류에 관한 연구는 몇몇 미세조류 및 대형조류의 추출물 수준에서의 항균활성에 관한 소수의 보고에 그치고 있다. 근

[†]Corresponding Author : So Young Kang, Tel : 061-659-3176,
Fax : 061-659-3176, E-mail : sykang1@yosu.ac.kr

Table 1. Antimicrobial activities of algae extracts^{a)}

Scientific name (Korean common name)	Bacterial Strains			
	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>E. tarda</i>	<i>V. anguillarum</i>
Chlorophyta	- ^{b)}	-	-	-
<i>Capsosiphon fulvescens</i> (매생이)	-	-	-	-
<i>Codium fragile</i> (청각)	-	-	-	-
<i>Enteromorpha linza</i> (잎파래)	-	-	-	-
<i>Enteromorpha prolifera</i> (파래)	-	-	-	-
<i>Monostroma nitidum</i> (홀파래)	-	-	-	-
<i>Ulva pertusa</i> (구멍갈파래)	-	-	-	-
Phaeophyta	-	-	-	-
<i>Hizikia fusiformis</i> (툇)	-	-	-	-
<i>Ishige okamurae</i> (패)	-	-	-	-
<i>Nemacystus decipiens</i> (미끈가지)	-	-	-	-
<i>Sargassum horneri</i> (괘쟁이모자반)	-	-	-	-
<i>Sargassum thunbergii</i> (지충이)	-	-	+	+
<i>Silvetia siliquosa</i> (뜸부기)	-	-	-	-
<i>Undaria pinnatifida</i> (미역)	-	-	-	-
Rhodophyta	-	-	-	-
<i>Callophyllis japonica</i> (벚붉은잎)	-	-	-	-
<i>Campylaeophora crassa</i> (붉은석목)	-	-	-	-
<i>Chondria crassicaulis</i> (서실)	-	-	-	-
<i>Corallina officinalis</i> (산호말)	+	-	-	-
<i>Dumontia simplex</i> (듀몬티아)	++	-	-	-
<i>Gelidium amansii</i> (가는우뭇가사리)	-	-	-	-
<i>Gloiopeltis furcata</i> (불등풀가사리)	+	-	-	-
<i>Gracilaria textorii</i> (잎꼬시래기)	-	-	-	-
<i>Gracilaria verrucosa</i> (꼬시래기)	-	-	-	-
<i>Grateloupia filicina</i> (지누아리)	-	-	-	-
<i>Grateloupia lanceolata</i> (개도박)	++	-	-	-
<i>Grateloupia turuturu</i> (미끌도박)	++	-	-	-
<i>Gymnogongrus flabelliformis</i> (부챗살)	-	-	-	-
<i>Lomentaria catenata</i> (마디잘록이)	-	-	-	-
<i>Polysiphonia morrowii</i> (모로우붉은실)	-	-	+++	++
<i>Pterocladia capillacea</i> (개우무)	-	-	-	-
<i>Schimmelmania plumose</i> (깃털납작풀)	-	-	-	-
Oxytetracycline (30 µg/disc)	++++	+++	++++	-
Norfloxacin (10 µg/disc)	++	+++	++++	++++

^{a)} The concentration of extracts loaded on disc was 2.5 mg/disc, respectively.

^{b)} Diameter of inhibition zone: no inhibition: -; 7~10 mm: +; 11~15 mm: ++; 16~20 mm: +++; 21~25 mm: ++++

래, 수산생물양식에 있어 밀식이나 양식환경오염 등에 의하여 항생제의 사용이 증가되고 이에 따른 항생제의 남·오용에 의한 약제내성발현균의 증가로 인하여 육상식물이나 해조류와 같은 천연물 유래의 새로운 구조를 지닌 항균활성 또는 면역증강활성물질의 중요성이 더욱 높아지고 있는 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 다양한 해조류들이 서식하고 있는 남해안 지역의 해역에서 채집된 해조류들을 대상으로 항균활성을 갖는 해조류를 발굴하고 이로부터 활성 지향적인 분리기법에 의하여 활성물질을 추적하여 활성물질 함유분획을 찾고자 하였다. 이를 위하여 주요 어류 병원성 세균인 *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Edwardsiella tarda* 및 *Vibrio anguillarum*에 대하여 30 종의 해조류 추출물들의 항균활성을 검색, 이로부터 우수한 항균활성을 갖는 몇 종의 해조류를 발굴하여 항균활성 해조류로서의 이용가능성을 제시하였다. 또한 가장 우수한 항균활성을 나타낸 *Polysiphonia morrowii*에 대하여 활성지향적인 분리기법으로

확보된 활성분획물에 대하여 이의 항균활성의 특성을 밝히고 활성물질을 추정하였다.

재료 및 방법

해조류 및 실험세균

본 연구에 사용된 해조류 30종은 2004년 11월부터 2005년 4월에 걸쳐 전남 여수시 및 완도 인근 해역에서 채집하였고, 각 해조류의 표본은 본 연구실에 보관하였다. 실험에 사용된 세균은 전남 여수시 인근 넙치 및 조피볼락 양식장의 병어에서 분리하여 연구실에 보관중인 *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *E. tarda* 및 *V. anguillarum*를 1.5% NaCl이 첨가된 50 ml의 멸균 brain heart infusion (BHI) broth에 접종하고 25°C에서 100 rpm으로 진탕하면서 18시간 배양하여 사용하였다.

해조류 추출물의 제조

채취한 후 동정된 해조류를 증류수로 충분히

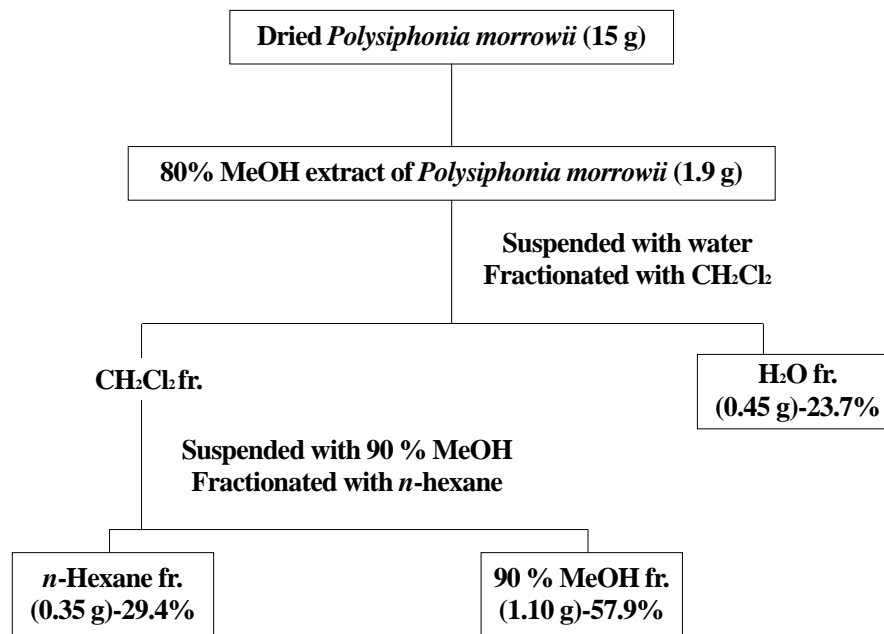


Fig. 1. Extaction and fractionation of *P. morrowii*

세척하여 염분을 제거하고, 동결건조 후 분쇄하였다. 각 해조류 분말 15 g을 80% methanol (MeOH) 1 L로 80°C에서 1시간씩 열탕추출 4회를 실시하여 추출액을 모아 vacuum evaporator로 감압농축하고 동결건조 후 항균 활성 측정을 위한 시료로 사용하였다.

Polysiphonia morrowii 추출물의 분획물 제조

80% MeOH 추출물 (1.9 g)을 증류수에 현탁한 후 methylene chloride (CH₂Cl₂)로 분획하였다. CH₂Cl₂분획물을 감압농축하여 90% MeOH에 용해시키고 이에 대하여 n-hexane으로 분획하여 총 3가지의 분획물, n-hexane (0.35 g), 90% MeOH (1.10 g), aqueous 분획물 (0.45 g)을 얻었다 (Fig. 1).

항균활성의 측정

해조류의 80% MeOH 추출물 및 분획물의 항균활성은 disc-diffusion assay (Naviner *et al.*, 1999)를 이용하여 측정하였다. 동결건조시킨 해조류 추출물 또는 분획물을 75% ethanol 수용액에 녹인 후 membrane filter (0.45 µm)에 여과한 것을 멸균된 직경 6 mm paper disc에 2.5 mg/disc의 농도로 흡착하여 실온에서 건조시켰다. 이를 각 실험세균이 접종된 agar plate에 올려 24시간 동안 25°C에서 배양하고 disc를 포함한 growth inhibition zone의 직경을 측정하였다.

세균증식에 미치는 영향 및 최소발육저지농도 (minimal inhibitory concentration: MIC)의 측정

P. morrowii 추출물의 90% MeOH 분획물을 최소한의 DMSO에 용해 후 (최종 농도 0.2% 이하) 세균배양에 사용된 BHI broth 배지에 2배 농도 구배로 희석하여 최종농도, 2 mg/ml 부터 0.125 mg/ml까지의 5가지 농도에 대하여 세균증식에 미치는 영향을 측정하였다. 실험에 사용된 세균은 미리 18시간동안 배양하여 10⁸ CFU/ml로 조정된 후 시료와 동량 (1 : 1)으로 96-well

microplate에서 혼합한 후, microplate reader (SPECTRA MAX 340, USA)에 넣고 25°C에서 약 20~24시간동안 배양하며 1시간 간격으로 620 nm에서의 흡광도 (optical density)를 측정하여 세균의 증식 패턴을 관찰하였다 (Park *et al.*, 2003). 최소발육저지농도 (MIC)는 Langfield *et al.* (2004)의 방법을 이용하여, 0.2 mg/ml의 *p*-iodonitrotetrazolium violet (*p*-INT) 40 µL를 96 well plate에 넣고 2시간 동안 배양 후 INT formazan의 생성에 의한 red color가 발색되지 않은 최소농도로 결정하였다.

pH변화에 따른 항균활성의 안정성

활성분획물의 pH변화에 따른 항균활성의 안정성은 HCl과 NaOH를 이용하여 pH를 조절한 각 용액 (pH 2.0, 4.0, 7.0, 9.0, 11.0)에 일정량의 활성분획물을 녹인 다음 상온에서 24시간동안 방치한 후 다시 pH 7.0으로 중화하여 *E. tarda*에 대한 항균력을 측정하고 비교하였다.

분획물 중의 할로겐 함유 페놀성 화합물에 대한 검출 반응

활성분획물중의 페놀성 화합물의 존재 여부를 알아보기 위하여 페놀성 화합물에 대한 검출반응에 사용되는 spray reagent인 10% FeCl₃ methanol용액 (우, 2002)을 이용하여 분획물의 TLC (thin layer chromatography) plate 크로마토그램 (전개용매: chloroform : MeOH = 10 : 1)에 시약을 뿌린 후 건조시켜 반응을 관찰하였다. 청색~진남색의 반응이 나타나는 경우 양성으로 판단하였다. 또한, 활성분획물 중의 할로겐 함유 화합물의 존재여부는 N,N-dimethyl-1,4-phenylenediamine reagent (Jork *et al.*, 1994)를 이용하여 위와 동일한 TLC plate 크로마토그램에 적용하여 진회색~진남색의 반응이 나타나는 경우 양성으로 판단하였다.

결 과

1. 해조류 추출물의 항균활성

주요 어류병원성 세균에 대하여 항균활성을 갖는 해조류를 선별하기 위하여 녹조류 (Chlorophyta) 6종, 갈조류 (Phaeophyta) 7종 및 홍조류 (Rhodophyta) 17종의 80% MeOH 추출물을 사용하여 *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Edwardsiella tarda* 및 *Vibrio anguillarum*에 대한 항균활성 검색을 실시하였다. 그 결과, 6종의 녹조류 추출물들은 4종의 세균에 대하여 항균활성을 전혀 갖고 있지 않는 것으로 나타났으며, 7종의 갈조류 중에서는 *Sargassum thunbergii* (지층이) 추출물 1종만이 그람음성균인 *E. tarda*와 *V. anguillarum*에 대하여 항균활성을 나타내었다. 항균활성이 검색된 17종의 홍조류 중에서는 *Corallina officinalis* (산호말), *Dumontia simplex* (듀몬티아), *Gloiopeltis furcata* (불등풀가사리), *Grateloupia lanceolata* (개도박) 및 *Grateloupia turuturu* (미끌도박)의 추출물이 그람양성균인 *Staphylococcus* sp.에 대해 항균활성을 나타내었다. 특히, *Polysiphonia morrowii* (모로우붉은실)의 경우 그람음성균인 *E. tarda*와 *V. anguillarum*에 대하여 높은 항균활성을 나타내었고, 이는 검색된 30종의 해조류 추출물의 항균활성 중 가장 높은 것으로 나타났다.

2. *P. morrowii* 추출물의 항균활성

2.1. *P. morrowii* 추출물의 각 유기용매 분획별 항균활성

이상의 검색 결과로부터 가장 우수한 항균활성을 보유한 것으로 나타난 *P. morrowii*에 대하여 활성지향적인 분리기법에 의하여 활성분획을 탐색하고자 유기용매의 극성을 높여가며 분획을 실시하였다. 먼저, *P. morrowii*의 80% MeOH 추출물을 물에 현탁시킨 후 CH_2Cl_2 로 분획하여 2.5 mg/disc의 농도로 *E. tarda*와 *V. anguillarum*에 대한 CH_2Cl_2 분획물 및 물분획물의 항균활성을 검색하였다. 그 결과, *E. tarda*에 대하여 CH_2Cl_2 분획물에서 높은 항균활성이 확인되었고 물분획물에서는 활성이 나타나지 않았다. 반면, *V. anguillarum*의 경우, 물분획물에서 항균활성이 약하게 나타났으나 CH_2Cl_2 분획물에서는 항균활성이 전혀 나타나지 않았다. 이에, 높은 활성을 나타낸 CH_2Cl_2 분획물을 다시 *n*-hexane 및 90% MeOH 분획으로 나누어 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 항균활성검색을 실시하였다. 그 결과, 90% MeOH 분획물에서 항균활성이 현저히 집중되어 나타남을 확인할 수 있었다 (Fig. 1, Table 2).

Table 2. Antimicrobial activities of fractions of *P. morrowii* extract

Fraction (2.5 mg/disc)	Bacterial strains	
	<i>E. tarda</i>	<i>V. anguillarum</i>
80% Methanol extract	+++ ^{a)}	++
Methylene chloride	+++++	-
<i>n</i> -Hexane	+++	-
90% Methanol	+++++	+
Aqueous	+	+
Oxytetracycline (30 μg /disc)	++++	-
Norfloxacin (10 μg /disc)	++++	++++

^{a)} Diameter of inhibition zone: no inhibition: -; 7~10 mm: +; 11~15 mm: ++; 16~20 mm: +++; 21~25 mm: ++++; 26~30 mm: +++++

2.2. 90% MeOH 분획물의 *E. tarda*의 증식 패턴에 미치는 영향 및 최소발육저지농도 (MIC)의 결정

*P. morrowii*의 항균활성 분획물인 90% MeOH 분획물의 *E. tarda*의 증식패턴에 미치는 영향을 알아보기 위하여 먼저, 96 well microplate에 균액과 분획물을 2, 1, 0.5, 0.25 및 0.125 mg/ml의 5가지 농도로 혼합한 후 20시간동안 배양하며 620 nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다 (Fig. 2). 그 결과, 2 및 1 mg/ml의 농도에서는 배양 후 1시간에서 약 30%의 세균증식억제효과가 나타났으며 배양 후 3시간부터는 각각 60 및 50% 정도의 세균증식억제효과를 계속 유지하는 것으로 나타났다. 2 mg/ml의 경우, 배양 후 12시간부터 세균의 증식이 전혀 일어나지 않는 것을 관찰할 수 있었다. 또한, 0.5, 0.25 및 0.125 mg/ml에서도 유의성 있는 세균증식억제효과가 나타남을 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라, *p*-INT용액을 이용하여 MIC를 측정한 결과, 1 mg/ml에서부터 INT formazan의 red color가 전혀 발색되지 않는

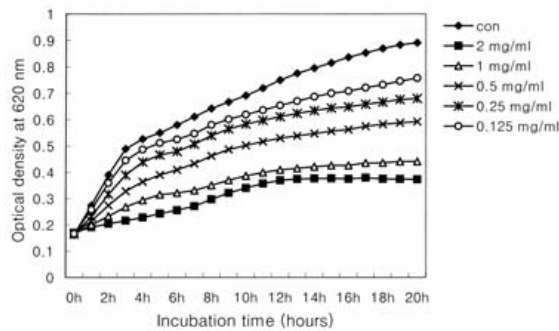


Fig. 2. Inhibitory effects on proliferation of *E. tarda* of 90% MeOH fraction of *P. morrowii* extract

것으로 나타나 (data not shown) *P. morrowii*의 90% MeOH 분획물의 *E. tarda*에 대한 MIC는 1 mg/ml로 결정되었다.

2.3. 90% MeOH 분획물의 pH에 따른 항균활성의 변화

*P. morrowii*의 항균활성 분획물인 90% MeOH 분획물의 pH에 따른 항균활성의 변화를 알아보았다. Table 3에서와 같이, pH 2.0에서부터 11.0까지 조절한 활성분획물에서 항균활성의 유의적인 차이가 나지 않는 것으로 보아 90% MeOH 분획물은 pH의 변동에 따른 항균활성의 차이가 거의 없는 것으로 판단되었다.

2.4. 90% MeOH 분획물 중의 할로겐 함유 페놀성 화합물의 검출

해조류 중의 항균활성물질로 보고된 화합물에는 다양한 종류가 있으나, 특히 *P. morrowii*가 속한 빨간검등이과 (Rhodomelaceae) 해조류에서는 bromophenol 계열 화합물의 항균활성이 잘 알려져 있다 (Wang *et al.*, 2005). 따라서, 활성분획물 중의 bromophenol과 같은 할로겐 함유 phenol의 유무를 알아보려고 phenol모핵을 검출하는 10% FeCl₃ methanol 시약과 할로겐 함유 화합물을 검출하는 N,N-dimethyl-1,4-phenylenediamine 시약을 이용하여 검출반응을 실시하였다. 그 결과, 약 0.50 (spot 1) 및 0.37 (spot 2)의 R_f값을 갖는 두 major spot에서 10% FeCl₃ methanol 시약에 대한 진청색~보라색의 양성반응 및 N,N-dimethyl-1,4-phenylenediamine 시약에 대한 청색의 양성반응을 각각 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 따라서, 할로겐 함유 phenol 계열 화합물들이 활성분획물을

Table 3. The effects of pH on antimicrobial activity of 90% methanolic fraction^{a)} of *Polysiphonia morrowii* extract

pH	2	4	7	9	11
<i>E. tarda</i>	+++++ ^{b)}	+++++	+++++	+++++	+++++

^{a)} The concentration of extracts loaded on disc was 2.5 mg/disc, respectively.

^{b)} Diameter of inhibition zone: 26~30 mm: +++++

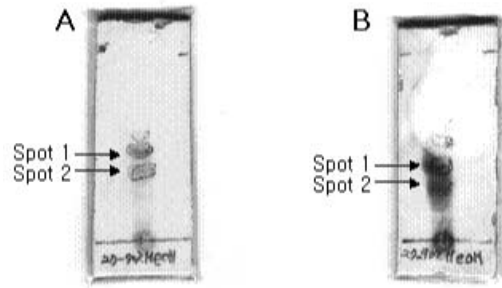


Fig. 3. Chromatogram of 90% MeOH fraction of *P. morrowii*. (A) Detection of phenolic compounds by 10% FeCl₃ methanol reagent. (B) Detection of halogen-containing compounds by N,N-dimethyl-1,4-phenylenediamine reagent.

구성하고 있는 주요 성분인 것으로 추정되었다.

고 찰

본 연구에서는 주요 어병세균인 *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 해조류 추출물의 항균활성을 검색하여 갈조류인 *S. thunbergii* 및 홍조류인 *C. officinalis*, *D. simplex*, *G. furcata*, *G. lanceolata*, *G. turuturu* 및 *P. morrowii*의 80% MeOH추출물이 항균활성을 보유하고 있음을 확인하였다. 그 중 *C. officinalis*, *D. simplex*, *G. furcata*, *G. lanceolata* 및 *G. turuturu*의 경우는 그람 양성균인 *Staphylococcus* sp.에 대한 유의성 있는 항균활성을 나타낸 반면, *S. thunbergii* 및 *P. morrowii*는 그람 음성균인 *E. tarda*와 *V. anguillarum*에 대한 항균활성을 나타내었다. 현재까지 보고된 연구 결과들을 살펴보면, *D. simplex*, *G. furcata*, *G. lanceolata* 및 *G. turuturu*에 대한 항균활성이나 항균활성성분에 관한 보고는 없었으나, *Gloiopeltis furcata*에서 분리된 황함유 다당류인 funoran이 구강내 세균의 부착과 콜로니화를 저해한다고 보고되어 있다 (Saeki *et al.*, 1996). 또한, 최근에 Awad *et al.* (2003)이 *C. officinalis*의 *n*-hexane추출물 중의 hydrocarbon 계열물질을 함유한 분획

물이 그람 양성균에 대한 항균활성 및 항진균활성이 있음을 보고하였다. 본 연구에 사용된 추출용매인 80% MeOH의 다양한 극성의 물질에 대한 추출력을 고려해 볼 때, *C. officinalis*의 80% MeOH추출물에서 나타난 *Staphylococcus* sp.에 대한 항균활성에는 hydrocarbon 계열 물질들의 항균활성도 작용하였을 것으로 예상된다. 그람 음성균인 *E. tarda*와 *V. anguillarum*에 대한 항균활성을 나타낸 *S. thunbergii*의 경우, 지금까지 추출물 수준 또는 단일물질인 함황다당류, fucoidan의 항바이러스 및 항암작용이나 몇몇 quinoic acid류의 항산화활성 등이 보고 되어 있으나, 항균활성에 관한 보고는 없다 (Seo *et al.*, 2004; Zhuang *et al.*, 1995). 근래에, 같은 *Sargassum*속 갈조류인 *S. tortile*로부터 분리된 acyclic diterpene alcohol 계열물질인 crinitol이 그람양성균에 대한 항균활성을 갖는 것으로 보고되었는데 (Kubo *et al.*, 1992), 생성되는 2차대사산물의 chemical taxonomy상의 유사성을 고려할 때, *S. thunbergii*에도 이와 유사한 계열의 물질들이 함유되어 있을 것으로 예상된다.

본 연구에서 항균활성이 검색된 30종의 해조류 중 가장 우수한 항균활성을 나타낸 *P. morrowii*는 지금까지 그 생리활성이나 활성성분에 관한 연구가 거의 이루어져 있지 않은 해조류로서, Kurihara *et al.* (1999)이 alpha-glucosidase에 대한 저해활성을 갖는 2종의 bromophenol계열 화합물을 분리·보고한 경우를 제외하고는 거의 전무하다. 본 연구에서는 *P. morrowii*에 대한 활성지향적인 분획을 수행하여 활성분획물인 90% MeOH 분획물을 확보하여 이 분획물의 항균활성의 특성을 알아보고자 하였다. 먼저, 우수한 항균활성을 나타낸 균주인 *E. tarda*의 증식패턴에 대한 활성분획물의 영향을 관찰하고 동시에 MIC를 측정하였다. 그 결과, 2 및 1 mg/ml의 농도에서는 배양 후 초기 3시간 만에 50% 이상의 세균증식억제효과를 나타내었고, 이후 같은 정도의 세균증식억제효과를 지속적으로 유지하는 것으로 나타났다. 또한,

p-INT를 이용하여 90% MeOH 분획물의 *E. tarda*에 대한 MIC는 1 mg/ml로 결정되었는데, 이는 Lim *et al.* (2000)이 보고한 바 있는 *Symphycladia latiuscula* (참보라색우무)의 MeOH추출물이 그람 음성균인 *Proteus vulgaris*와 *Vibrio anguillarum*에 대해 나타낸 MIC인 1.25 mg/ml과 유사한 수준이다. *S. latiuscula*는 *Polysiphonia morrowii*와 같은 Rhodomelaceae (빨간검둥이과) 해조류로서, 수종의 bromophenol계 화합물이 분리·보고 되어있다 (Choi *et al.*, 2000; Lim *et al.*, 2000). Rhodomelaceae과 해조류로부터 분리된 몇몇 bromophenol계 화합물들의 생리활성은 매우 다양하게 나타났는데, 지금까지 nitrite 소거활성, alpha-glucosidase 및 aldose reductase 저해활성, 항산화활성, feeding-deterrent, 항염증활성 및 항균활성 등이 보고되어 있다 (Wang *et al.*, 2005). 본 연구에서 밝혀진 *P. morrowii*의 항균활성 분획물인 90% MeOH분획물도 할로겐 함유 phenol계 화합물을 major 성분으로 갖는 것으로 나타났는데, 이 성분들도 bromophenol 계열 화합물일 가능성이 큰 것으로 추정된다. 또한 이 90% MeOH 분획물의 항균활성이 강산인 pH 2.0부터 강염기인 pH 11.0까지의 다양한 pH 조건에서도 항균활성에 유의적인 차이가 나타나지 않은 것으로 보아 항균활성을 나타내는 물질이 bromophenol계 화합물과 같은 낮은 분자량을 갖고 화학구조적 안정성이 높은 물질일 것으로 추정할 수 있었다. 따라서, 본 활성분획물 또는 활성성분을 세균성 질병의 제어를 위하여 어체에 경구 투여할 경우에도 항균활성의 큰 변동 없이 효과를 기대할 수 있는 장점으로 작용할 것으로 사료된다.

최근, 자연산어류와 양식산어류의 향미의 차이의 원인이 근육조직내의 bromophenol의 양의 차이에 기인하며, 이를 개선하기 위하여 양식어류에 *Sargassum siliquastrum* 추출물을 경구 투여하여 근육조직내의 bromophenol의 양을 높여 주었을 때 향미가 유의적으로 개선되었다는 보고가 있었다 (Ma *et al.*, 2005; Whitfield *et al.*, 2002). 이

는 본 연구결과에서 도출된 바와 같은 해조류의 bromophenol 함유 분획물을 양식어류에 경구 투여할 경우, 세균성 질병의 예방 및 치료 뿐만 아니라 향미개선의 효과도 기대할 수 있음을 시사하며, 이러한 연구를 통하여 해조류의 효용가치도 더욱 높일 수 있을 것으로 판단된다. 이후, *P. morrowii*의 항균활성 분획물인 90% MeOH분획물로부터 활성물질을 분리·정제하여 그 화학구조를 규명하고 항균활성기전을 규명하기 위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 주요 어병세균인 *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 30 종의 해조류 추출물의 항균활성을 검색하였다. 그 결과, *C. officinalis*, *D. simplex*, *G. furcata*, *G. lanceolata* 및 *G. turuturu*의 경우는 그람 양성균인 *Staphylococcus* sp.에 대하여, 그리고 *S. thunbergii* 및 *P. morrowii*는 그람 음성균인 *E. tarda*와 *V. anguillarum*에 대하여 항균활성을 나타냄을 밝혔다. 그 중, 가장 우수한 항균활성을 나타낸 *P. morrowii*의 항균활성분획물인 90% MeOH 분획물은 *E. tarda*의 증식을 매우 효과적으로 저해하며, MIC는 1 mg/ml로 측정되었다. 뿐만 아니라, 다양한 pH 조건하에서도 항균활성이 유지되었으며 분획물의 주요활성 성분은 할로겐 함유 phenol계 화합물일 것으로 추정된다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 마린바이오21사업의 해양바이오프로세스연구단 연구비 지원(과제관리번호 B-2004-16)에 의해 수행되었습니다. 아울러, 해조류 동정에 도움을 주신 황미숙 박사님께 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Ali, M. S., Saleem, M., Yamdagni, R. and Ali, M. A.: Steroid and antibacterial steroidal glycosides from marine green alga *Codium iyengarii* Borgesen. Nat. Prod. Lett., 16: 407-413, 2002.
- Asai, A., Sugawara, T., Ono, H. and Nagao, A.: Biotransformation of fucoxanthinol into amarouchiaxanthin a in mice and HepG2 cells: formation and cytotoxicity of fucoxanthin metabolites. Drug Metab. Dispos., 32: 205-211, 2004.
- Awad, N. E., Selim, M. A., Saleh, M. M. and Matloub A. A.: Seasonal variation of the lipoidal matters and hypolipidaemic activity of the red alga *Corallina officinalis* L. Phytother. Res., 17: 19-25, 2003.
- Bennamara, A., Abourriche, A., Berrada, M., Charrouf, M., Chaib, N., Boudouma, M. and Garneau, F. X.: Methoxybifurcarenone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. Phytochemistry, 52: 37-40, 1999.
- Choi, J. S., Park, H. J., Jung, H. A., Chung, H. Y., Jung J. H. and Choi, W. C.: A cyclohexanonyl bromophenol from the red alga *Symphycladia latiuscula*. J. Nat. Prod., 63: 1705-1706, 2000.
- Enoki, N., Ishida, R., Urano, S., Ochi, M., Tokoyama, T and Matsumoto, T.: New hydrozulenoid diterpenes from the marine alga *Dictyota dichotoma*. Chem. Lett., 1749-1752, 1982.
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W. and Wimmer, H.: Thin-layer chromatography: reagents and detection methods. Vol.1b, pp. 227-231, VCH, Weinheim, Germany, 1994.
- Kubo, I., Himejima, M., Tsujimoto, K., Muroi, H. and Ichikawa, N.: Antibacterial activity of crinitol and its potentiation. J. Nat. Prod., 55: 780-785, 1992.
- Kurata, K. and Amiya, T.: A new bromophenol from red alga *Polysiphonia urcerolata*. Bull. Chem. Soc. Jpn., 53: 2020-2022, 1980a.
- Kurata, K. and Amiya, T.: Bis(2,3,6-tribromo-4,5-dihydroxybenzyl)ether from the red alga, *Symphycladia latiuscula*. Phytochemistry, 19: 141-142, 1980b.
- Kurihara, H., Mitani, T., Kawabata, T. and Takahashi, K.: Inhibitory potencies of bromophenols from rhodomelaceae algae against alpha-glucosidase activity. Fisheries Sci., 65: 300-303, 1999.
- Langfield, R. D., Scarano, F. J., Heitzman, M. E., Kondo, M., Hammond, G. B. and Neto, C. C.: Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. J. Ethnopharmacol., 94: 279-281, 2004.
- Lim, C-W., Lee, J. S. and Cho, Y. J.: Structure and some properties of the antimicrobial compounds in the red alga, *Symphycladia latiuscula*. J. Korean Fish Soc. 33: 280-287, 2000.
- Liu, J. N., Yoshida, Y., Wang, M. Q., Okai, Y. and Yamachita, U.: B cell stimulating activity of seaweed extracts. Int. J. Immunopharmac., 19: 135-142, 1997.
- Ma, W. C. J., Chung, H. Y., Ang, Jr. P. O. and Kim, J-S.: Enhancement of bromophenol level in aquaculture silver seabream (*Sparus sarba*). J. Agric. Food Chem., 53: 2133-2139, 2005.
- Mayer, A. M. S. and Hamann, M. T.: Marine pharmacology in 1999: compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anthelmintic, anti-inflammatory, antiplatelet, antiprotozoal and antiviral activities affecting the cardiovascular, endocrine,

- immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. *Comp. Biochem. Physiol. Part C*, 132: 315-339, 2002.
- Mayer, A. M. S. and Hamann, M. T.: Marine pharmacology in 2000: Marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anthelmintic, anti-inflammatory, antiplatelet, antiprotozoal and antiviral activities affecting the cardiovascular, endocrine, immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. *Mar. Biotechnol.* 6: 37-52, 2004.
- Naviner, M., Berge, J. P., Durand, P. and Le Bris, H.: Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens. *Aquaculture*, 174: 15-24, 1999.
- Park, K-H., Oh, M-J. and Kim, H-Y.: Disinfection effect of chlorine dioxide on pathogenic bacteria from marine fish. *J. Aquacult.*, 16: 118-123, 2003.
- Saeki, Y., Kato, T. and Okuda, K.: Inhibitory effects of funoran on the adherence and colonization of oral bacteria. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 37: 77-92, 1996.
- Seo, Y., Lee, H. J. and Park, K. E.: Peroxynitrite-scavenging constituents from the brown alga *Sargassum thunbergii*. *Biotech. Bioproc. Eng.*, 9: 212-216, 2004.
- Vairappan, C. S., Kawamoto, T., Miwa, H. and Suzuki, M.: Potent antibacterial activity of halogenated compounds against antibiotic-resistant bacteria. *Planta Med.*, 70: 1087-1090, 2004.
- Wang, W., Okada, Y., Shi, H., Wang, Y. and Okuyama T.: Structure and aldose reductase inhibitory effects of bromophenol from the red alga *Symphyclocladia latiuscula*. *J. Nat. Prod.*, 68: 620-622, 2005.
- Whitfield, F. B., Helidoniotis, F. and Smith, D.: Role of feed ingredients in the bromophenols content of cultured prawns. *Food Chem.*, 79: 355-365, 2002.
- Xu, N., Fan, X., Yan, X., Li, X., Niu, R. and Tseng, C. K.: Antibacterial bromophenols from the marine red alga *Rhodomela confervoides*. *Phytochemistry*, 62: 1221-1224, 2003.
- Zhuang, C., Itoh, H. and Mizuno, T.: Antitumor active fucoidan from the brown seaweed, umitoranoo (*Sargassum thunbergii*). *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59: 563-567, 1995.
- 우원식 개정판 천연물화학연구법. 서울대학교 출판부, p.14, 2002.

Manuscript Received : May 19, 2005

Revision Accepted : July 26, 2005

Responsible Editorial Member : Ki-Hong Kim

(Pukyong Univ.)