

이온성 액체 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride계 화합물의 담수조류에 대한 살조활성 특징

황현진¹, 김재덕, 최정섭, 김영운, 김진석*

Algicidal Characteristics of 1-Alkyl-3-Methylimidazolium Chloride Ionic Liquids to Several Fresh-water Algae

Hyun Jin Hwang¹, Jae Deog Kim, Jung Sup Choi
Young Wun Kim and Jin-Seog Kim*

ABSTRACT This study was conducted to know that if ionic liquids can be applicable as control agents of harmful algae in water-ecosystem and to find out problems caused by ionic liquid application. Firstly, the differential selectivity of various fresh-water algal species to several 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids was investigated. There was a distinct differential response between alkyl chain lengths from butyl to dodecyl and towards the algal organisms : Generally algicidal activity was increased with increase of chain length and among the algae used in this study, *Stephanodiscus hantzschii* f. *tenuis*, *Oscillatoria tenuis* and *Spirulina pratensis* were most sensitive to 1-dodecyl-3-methylimidazolium chloride (MAIC12), next was *Microcystis aeruginosa*, and the others were relatively less sensitive to the chemical. The selectivity degree was about ten to twenty times based on the EC₈₀ (Effective concentration required for 80% growth inhibition). Secondly, an activity persistence of ionic liquids was investigated in natural mimic condition (using water bottle containing soil-sediments under the greenhouse condition). At the application of 1.0 µg mL⁻¹ of 1-octyl-3-methylimidazolium chloride (MAIC8), the algal growth did not occur at all until 6 days after treatment(DAT) and observed a only little growth at 9 DAT. But the algae grew rapidly after 9 DAT. So at 20 DAT, total chlorophylls was 264.4 µg L⁻¹ and the growth was inhibited by 58.2% compared to untreated. On the other hand, MAIC12 also had a similar persistence pattern to MAIC8, showing nearly 5 times more activity than MAIC8. At 20 days after 0.2 µg mL⁻¹ application of MAIC12, that is, total chlorophylls was 251.2 µg L⁻¹ and the growth

¹ 한국화학연구원 산업바이오화학연구센터, 305-600 대전광역시 유성구 신성로 19 유성우체국 사서함 107(Chemical Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea).

* 연락저자(Corresponding author) : Phone) +82-42-860-7026, Fax) +82-42-861-4913, E-mail) jskim@kricr.re.kr

(Received August 30, 2010; Examined September 6, 2010; Accepted September 13, 2010)

was inhibited by 55.2% compared to untreated. In summary, 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids is likely to be applicable for selective control of harmful algae as potent compounds having long lasting activity. However, the difficulty of degradation seems to be a limiting factor in an eco-friendly application of the compounds.

Key words: algicidal activity; 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid; fresh-water algae; selectivity.

서 언

인구 증가 및 급격한 경제성장으로 인해 대두되기 시작한 환경문제는 그 정도가 점점 심각해져 이제는 사회 전반적인 차원에서 구체적인 대책을 강구해야 할 상황이다. 일례로서 대기오염 문제를 유발시키는 휘발성 유기화합물 또는 수생태계에 심각한 영향을 미칠 수 있는 유기화합물 등의 사용에 대한 기준이 더욱 엄격해지고 있기 때문에 이를 대체하기 위한 새로운 화합물의 개발과 더불어 화합물의 합리적 사용기술에 관한 연구개발이 필요한 상태이다. 이를 위한 방안의 하나로서 연구계 및 산업계에서는 휘발성 유기화합물을 대체할 차세대 청정용매로서의 이온성 액체(Ionic Liquid)에 관한 연구 개발이 현재 활발히 진행되고 있다.

이온성 액체는 양이온과 음이온의 이온결합으로 이루어진 이온성 염 화합물로서 낮은 증기압과 높은 열적 안정성을 가지고 있고, 또한 사용자의 목적에 맞게 다양한 물리화학적 특성을 갖는 이온성 액체의 합성이 가능한 특징을 가진다(Olivier-Bourbigou 등 2010; Pham 등 2010). 이러한 특성으로 인하여 이온성 액체는 다양한 유기 화학 반응의 청정 용매 및 촉매로서 이용될 수 있을 뿐만 아니라 연료전지 및 태양전지의 전해질, 윤활유, 열매체, 물질 추출 및 분리매체, 고분자 중합 분야 등의 광범위한 응용성을 가지고 있어(Olivier-Bourbigou 등 2010; Pham 등 2010) 향후 시장성이 매우 높을 것으로 전망되고 있다. 따라서 이들 화합물이 많이 사용되면 직·간접적으로 환경에 노출되어 영향을 미칠 것이기 때문에 환경위해 가능성을 점검할 필요성이 있고(Zhao 등 2007), 아울

러 환경영향이 적은 화합물이라면 이들의 용도를 확대하는 연구도 진행할 필요가 있을 것이다.

한편 물환경 관리에 있어서 수생식물 관리는 큰 의의를 가지게 된다. 왜냐하면 수생식물은 종류, 서식정도 및 생육 양상에 따라 수질 오염을 예방 및 저감시키거나 오히려 수질오염을 일으키는 주범이 될 수 있다. 즉, 조류(algae)를 포함한 식물은 적당히 존재할 때 영양분 및 중금속 제거 등의 효과를 가진다(Munoz와 Guieysse 2006; Wu 등 2010). 그러나 일부 미세조류는 부영양화된 곳에서의 대량 발생으로 인해 많은 문제를 일으키는데(박 등 2009; Duke 등 2002; Haider 등 2003), 특히 우리나라에서는 여름철에 대량발생하며 독소를 분비한다고 알려진 *Anabaena*속, *Microcystis*속, *Oscillatoria*속 등의 남조류(blue-green algae)와 겨울철부터 이른 봄 사이에 대량 발생하는 *Stephanodiscus*속이 문제가 된다. 따라서 수생태계에서의 수생식물 관리는 수생식물을 적당한 밀도로 유지하도록 하되, 유해조류(harmful algae)와 같은 식물종을 선택적으로 용이하게 제거할 수 있는 방안이 강구되어야 할 것이다(최 등 2009; 황 등 2009; Duke 등 2002).

지금까지 이온성 액체를 가지고 수행한 생물연구는 환경독성 측면에서 여러 생물에 미치는 생리활성 특징을 조사한 것이었다(Pham 등 2010). 그런데 본 연구에서는 몇 가지 이온성 액체를 가지고 수생태계에서의 유해조류 방제제로서의 사용 가능성 및 활용시 예상되는 문제점 등을 알아보기 위하여 몇 가지 담수조류(유해조류 포함)를 대상으로 이들의 생육에 미치는 이온성 액체의 선택적 영향을 검토해 보고자 실시하였다.

Table 1. Ionic liquids used in this study.

Chemical name	Abbreviation
1-Butyl-3-methylimidazolium chloride (C4)	MAIC4
1-Octyl-3-methylimidazolium chloride (C8)	MAIC8
1-Dodecyl-3-methylimidazolium chloride (C12)	MAIC12

재료 및 방법

공시화합물

1-Alkyl-3-methylimidazolium chloride계 화합물을 실험실에서 합성하였으며 alkyl 그룹의 탄소수가 4, 8, 12개인 화합물(순도 98% 이상)을 사용하였다(표 1).

식물재료

살조활성 검정을 위해 공시된 조류종은 표 2와 같다. 녹조류 5종과 남조류 4종은 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받아 Allen's medium(Allen 1968), 온도 25℃, 광주기 14시간, 광도 50 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 조건에서 100rpm으로 흔들면서 계대배양하였고, 규조류 1종은 한국해양미세조류은행(부경대)으로부터 분양받아 diatom medium(Beakes 등 1988), 온도 20℃, 광주기 12시간, 광도 50 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 조건에서 정치배양한 것을 사용하였다(표 2).

여러 담수조류종에 대한 화합물의 살조활성

녹조류 및 남조류에 대한 살조활성 검정은 아래와 같이 실시하였다. 즉, 시험약제 처리시 녹조류 및 남조류 초기농도는 microplate reader를 이용하여 A670nm = 0.05-0.08 내외로 조정하였으며, Allen's 배지로 조제한 시험용액 10mL를 100mL 유리 배양병에 분주한 후, 시험 용액 100 μL 를 각각 조류 배양액에 투여하였다. 시험 약제 모두는 수용성이기 때문에 해당배지를 이용하여 만든 stock solution을 사용하였다. 시험 약제가 투여된 조류 배양액은 25℃, 14시간 광주기, 광도 40-60 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 조건에서 배양하고 약제처리 후 6일째에 670nm 파장에서 optical density 또는 엽록소 함량을 측정하여 조류의 성장정도를 조사하였다. *Chlorella vulgaris* (Cv), *Scenedesmus* spp (Ss), *Microcystis aeruginosa*(Ma)에 대한 약제처리 효과는 사전에 설정해 둔 흡광도-건물중 상관식(Kim 등 2006)을 통해 무처리에 대한 건물중 억제정도(%)로 나타내었지만 *Botryococcus braunii* (Bb), *Chlamydomonas* spp(Cs), *Spirulina pratensis*(Sp),

Table 2. Fresh-water algae used in this study.

Group	Scientific name (Abbreviation)
Green algae	<i>Botryococcus braunii</i> UTEX 572 (Bb 2)
	<i>Botryococcus braunii</i> UTEX 2441 (Bb 3)
	<i>Chlamydomonas</i> spp. (Cs)
	<i>Chlorella vulgaris</i> UTEX 265 (Cv)
	<i>Scenedesmus</i> spp. (Ss)
Blue-green algae	<i>Anabaena affinis</i> Lem (Af)
	<i>Microcystis aeruginosa</i> UTEX 2388 (Ma)
	<i>Oscillatoria tenuis</i> UTEX1566 (Ot)
	<i>Spirulina platensis</i> (Sp)
Diatom	<i>Stephanodiscus hantzschii</i> f. <i>tenuis</i> KMCC FB-51 (Sht)

Anabaena affinis(Af)에 대한 약제처리 효과는 흡광도의 무처리 대비 억제정도(%)로서 나타내었다. 그러나 *Oscillatoria tenuis*(Ot)의 경우에는 세포가 뭉쳐 자라기 때문에 배양액의 흡광도 측정이 곤란하여 흡광도 대신에 배양조류로부터 엽록소를 추출하여 그 함량을 통해 생육정도를 분석하였다. 즉, 조류 배양액을 여과지(GF/F filter, 직경 47mm)에 거른 다음 이를 에탄올 용매에 넣어 엽록소를 추출하고 분광광도계(Beckman Coulter DU[®] 800 spectrophotometer)로 648.5, 664.6, 750nm 파장에서 흡광도를 측정 후 정량식을 통해 엽록소 a 함량을 구한 다음(Nusch 1980; Shin과 Im 2000), 대조군에 대한 엽록소 함량 감소정도를 구하여 약제처리 효과를 나타내었다.

한편 규조류에 대한 살조활성 검정은 다음과 같았다. Stock 배양 중인 Sht 조류(약 6.2×10^5 cell mL⁻¹) 30mL를 970mL의 diatom medium에 희석하여 조류 적정 초기농도로(약 17,500개 mL⁻¹) 맞추었다. 이를 50mL 유리관병에 10mL씩 공급한 다음, 사전에 조제해 둔 시험약제의 stock solution을 투여하고 온도 20°C, 광주기 12시간, 광도 50μmolm⁻² s⁻¹ 조건에서 정치배양하였다. 약제처리 이후 7일째 배양액 200μL를 취하여 heamacytometer를 이용하여 광학현미경하에서 배양액 mL당 세포수를 조사하였다. 약제처리 효과는 무처리 대비 세포수 감소정도(%)로 나타내었다.

이온성 액체의 살조활성 지속성

이온성액체가 수중에 처리되었을 때 그의 활성이 얼마나 지속되는지를 알아보기 위하여 자연상태를 모사한 조건(온실조건의 퇴적물 존재)에서 간이실험을 수행하였다.

유리재질의 5L 수조에 대청호 상류 지역(충북 옥천군 추소리)에서 수집된 퇴적물 0.2L(약 350g)를 넣고 사전에 2일 이상 탈기시킨 수돗물을 채워 최종 4L가 되도록 하였다. 부유된 흙탕물이 어느 정도 가라앉을 때까지 실내 약광조건에 두었다가 온실의 가열베드 위로 옮겼다. 수조의 수온은 밤 20°C/낮 30°C 내외로 유지되었다. 온실로 옮긴 후 3일째에 수조당 Allen's medium 40mL, 영양염 stock 4mL, 대청담 상류에서 채취한 조류 농축액 0.5mL(*Microcystis aeruginosa*

가 우점하여 존재)를 첨가한 후 시험약제를 처리하였다. 시험약제는 모두 수용성이었기 때문에 1,000배액으로 조제한 다음 수조당 4mL 처리하였다. 약제처리 후 3일째에 다시 영양염 stock 4mL를 추가하였다. 영양염 stock 조제는 0.5L 증류수에 NaNO₃ 75g과 K₂HPO₄ 1.95g을 넣어서 만들었다.

시험약제처리 후 일정기간마다 20mL 배양용액을 취하여 GF/F에 여과한 다음, 여과지에 남은 조류세포를 대상으로 엽록소 함량 분석을 통해 조류발생 및 성장정도를 조사하였다. 즉, 여과를 통해 모아진 조류를 5mL 에탄올에 넣고 60°C에 20분동안 엽록소를 추출, 실온/암조건에 하룻밤동안 둔 다음 위에 기술한 방법으로 엽록소 함량을 조사하였다. 필요한 경우 광학현미경 관찰을 통해 배양액내 발생 조류의 종류를 간이 조사하였다.

결 과

이온성 액체에 대한 담수조류의 차등 반응

공시한 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride계 이온성 액체를 대상으로 여러 가지 담수조류의 생육 억제활성에 미치는 차등 효과를 조사하였다. 화합물의 alkyl group 탄소수에 따라 활성이 달리 나타났는데, butyl < octyl < dodecyl 순으로 탄소수 길이가 길수록 살조활성이 증가되는 경향으로서(표 3, 4, 5) 다른 연구자들의 결과(Kulacki와 Lamberti 2007; Latala 등 2009a; Latala 등 2009b; Pham 등 2008; Stolte 등 2007)와 일치하였다.

조류종 분류군간의 반응성 차이를 검토한 결과, 분화합물에 대한 생육억제활성이 상대적으로 낮게 나타나는 종들이 규조류와 남조류에 비해 녹조류 중에서 많은 경향이었다(표 3, 4, 5). MAIC12가 처리된 경우를 볼 것 같으면, 녹조류 중에서는 Ss가 보다 민감하였으며 상대적으로 Cv가 둔감하였다. 공시된 녹조류 종간의 반응차이는 그다지 높지 않아 0.4~0.8μg mL⁻¹ 농도범위에서 80% 이상의 생육억제활성이 나타났다. MAIC12가 처리된 남조류의 경우는 녹조류와는 달리 종간 반응차이가 보다 뚜렷하였다. 가장

Table 3. Effects of imidazolium based ionic liquids on the growth inhibition of five species of fresh-water green algae.

Ionic liquids ¹⁾	Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Growth inhibition (%) of green algae growth ²⁾				
		Cv	Cs	Bb 2	Bb 3	Ss
MAIC4	0.0125	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	-9.1± 3.7	-	-
	0.1	-	-	-4.0±13.6	-	-
	0.2	1.4±13.9	12.8±10.6	5.2± 5.1	14.2± 9.5	-0.4±7.7
	0.4	-6.9± 3.7	23.7± 3.7	28.0± 7.4	21.3±11.6	7.9±3.7
	0.8	-0.9± 6.5	56.6± 3.0	39.9± 4.8	22.0± 8.1	11.9±8.5
	1.6	5.8± 8.9	60.5± 3.8	40.2±10.2	22.8± 9.8	31.8±8.8
	3.2	10.0± 7.1	64.8± 7.6	54.7± 9.4	36.0± 6.3	70.0±0.6
	6.4	24.6± 5.9	69.5± 6.7	-	45.5± 9.4	88.0±0.6
MAIC8	0.0125	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	13.6± 3.0	-	-
	0.1	-	-	26.2± 1.3	-	-
	0.2	1.9± 5.3	17.9± 8.0	36.7± 5.9	13.8± 0.8	50.7±1.5
	0.4	3.2± 4.9	31.3±10.2	49.7± 4.9	28.8± 3.6	71.1±0.8
	0.8	17.8± 6.6	92.4± 5.8	87.9± 3.6	51.9± 9.7	98.9±0.4
	1.6	21.9± 6.5	88.6± 4.9	92.2± 1.9	61.6± 3.3	98.7±0.4
	3.2	45.9± 6.3	86.4± 5.1	99.1± 3.0	89.2±12.2	98.8±0.2
	6.4	79.4± 1.9	87.8± 5.5	-	100.6± 0.3	99.2±0.5
MAIC12	0.0125	-	-	-	-	-
	0.025	-	-	-	-	-
	0.05	-	-	17.4± 2.5	-	-
	0.1	-	-	39.2± 3.2	-	-
	0.2	23.8± 2.3	26.1± 2.8	46.7± 5.2	58.4± 0.6	59.8±6.1
	0.4	58.1± 6.8	45.8± 4.6	78.9± 3.5	72.6± 1.1	89.4±2.1
	0.8	86.5± 5.9	101.4± 0.9	98.4±10.0	101.8± 0.8	98.7±0.2
	1.6	97.0± 2.4	103.0± 0.3	96.0± 0.5	101.8± 1.1	99.3±0.1
	3.2	101.0± 0.5	103.0± 0.3	97.9± 1.7	101.3± 0.6	99.5±0.3
	6.4	101.1± 0.2	103.0± 0.1	-	101.5± 0.4	99.8±0.1

¹⁾MAIC4 : 1-butyl-3-methylimidazolium chloride, MAIC8 : 1-octyl-3-methylimidazolium chloride, MAIC12 : 1-dodecyl-3-methylimidazolium chloride.

²⁾Cv : *Chlorella vulgaris* UTEX 265, Cs : *Chlamydomonas* spp., Bb 2 : *Botryococcus braunii* UTEX 572, Bb 3 : *Botryococcus braunii* UTEX 2441, Ss : *Scenedesmus* spp.

민감한 반응을 보인 종은 Ot로서 0.0125g mL⁻¹에서 77%의 생육억제가 있었다. 가장 둔감한 반응을 보인 종은 Af로서 1.6, 3.2g mL⁻¹에서 각각 45, 100%의 생육억제 반응을 나타내었다. Sp와 Ma는 이들 사이의 반응성을 보였으며 Sp가 Ma 보다 민감한 반응을 보였다. MAIC12가 처리된 규조류 Sht의 경우, 반응성이 민감하여 0.01g mL⁻¹의 낮은 농도에서도 86.7%의

생육억제가 있었다. 전체적으로 보았을 때 Sht, Ot, Sp가 MAIC12에 보다 민감한 생육억제 반응을 보였으며 그 다음은 Ma이었고, 나머지 조류 종은 상대적으로 보다 낮은 민감성을 나타내었다. 따라서 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride계 이온성 액체에 대한 조류종의 반응은 종특이적이며 분류군간의 특정 경향은 없는 것으로 보였다. 그 원인 분석에

Table 4. Effects of imidazolium based ionic liquids on the growth inhibition of four species of fresh-water blue-green algae.

Ionic liquids ¹⁾	Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Growth inhibition (%) of blue-green algae growth ²⁾			
		Ma	Af	Ot	Sp
MAIC4	0.0125	-	-	0.9±0.63	-
	0.025	-	-	-9.5±0.15	-
	0.05	-	-	3.3±0.42	-
	0.1	24.6± 3.5	-	27.3±0.44	-
	0.2	23.2± 8.3	-	84.5±0.05	-0.9± 7.1
	0.4	24.2± 5.1	-25.8± 6.3	99.3±0.00	26.4±10.0
	0.8	20.8±12.8	-20.5± 4.7	99.2±0.00	60.8± 6.5
	1.6	89.4± 1.3	-17.8± 4.8	98.8±0.01	100.2± 2.5
	3.2	99.5± 0.2	-15.4± 2.8	99.2±0.00	101.2± 2.8
	6.4	-	14.7± 9.9	-	-
	12.5	-	61.9± 2.3	-	-
MAIC8	0.0125	-	-	-0.2±0.13	-
	0.025	-	-	12.2±0.48	-
	0.05	-	-	50.9±0.28	14.1±11.3
	0.1	31.4±10.0	-	83.5±0.04	48.3± 6.4
	0.2	78.5± 4.6	-	97.9±0.01	62.7± 6.0
	0.4	101.6± 0.9	-3.9± 7.0	99.0±0.00	94.6± 5.7
	0.8	101.4± 0.8	-1.9± 9.3	98.8±0.01	102.4± 0.7
	1.6	98.1± 1.3	14.4± 4.2	98.7±0.01	-
	3.2	99.8± 0.7	46.9±11.9	98.7±0.01	-
	6.4	-	54.9± 7.1	-	-
	12.5	-	103.6± 0.4	-	-
MAIC12	0.0125	-	-	77.0±0.08	27.3± 3.5
	0.025	-	-	98.1±0.01	65.4± 6.5
	0.05	-	-	98.8±0.00	93.7± 2.3
	0.1	40.9± 7.1	-	98.7±0.00	101.0± 4.1
	0.2	97.8± 1.4	-	98.9±0.01	-
	0.4	101.6± 1.9	-5.4± 3.4	98.3±0.01	-
	0.8	104.2± 0.1	-6.9± 3.5	98.0±0.00	-
	1.6	104.1± 0.2	45.0± 8.1	99.4±0.00	-
	3.2	104.1± 0.1	104.4± 0.0	99.3±0.01	-
	6.4	-	104.2± 0.1	-	-
	12.5	-	103.7± 1.1	-	-

¹⁾MAIC4 : 1-butyl-3-methylimidazolium chloride, MAIC8 : 1-octyl-3-methylimidazolium chloride, MAIC12 : 1-dodecyl-3-methylimidazolium chloride.

²⁾Ma : *Microcystis aeruginosa* UTEX 2388, Af : *Abaena affinis* Lem, Ot : *Oscillatoria tenuis* UTEX1566, Sp : *Spirulina platensis*.

대해서는 추후 연구가 필요할 것 같다.

이온성 액체의 살조활성 지속성

이온성 액체가 수중에 처리되었을 때 그의 살조활

성이 얼마나 지속되는지를 알아보기 위하여 자연상태와 비슷한 조건(온실조건의 퇴적물 존재)에서 간이 실험을 수행하였다.

MAIC8의 경우 처리농도에 따라 일정한 지속성을

Table 5. Effects of imidazolium chloride-based ionic liquids on the growth inhibition of *Stephanodiscus hantzschii* f. *tenuis* (diatom).

Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Growth inhibition (%) of <i>S. hantzschii</i> f. <i>tenuis</i>		
	MAIC4	MAIC8	MAIC12
0.001	2.5±10.3	3.9±5.3	3.0±4.8
0.0033	3.5± 8.1	27.6±3.0	59.1±3.1
0.01	3.5±12.9	58.1±4.5	86.7±2.6
0.033	39.4± 3.0	93.6±2.3	96.6±2.3
0.1	87.2± 3.1	100±0.0	100±0.0
0.33	97.5± 2.3	100±0.0	100±0.0
1.0	100.0± 0.0	100±0.0	100±0.0

¹⁾MAIC4 : 1-butyl-3-methylimidazolium chloride, MAIC8 : 1-octyl-3-methylimidazolium chloride, MAIC12 : 1-dodecyl-3-methylimidazolium chloride.

보였다. 즉 $25\mu\text{g mL}^{-1}$ 농도에서는 처리후 6일까지 조류생장이 중지되었다가 9일째부터 약간씩 성장하기 시작하여 이후 완만하게 증가하는 경향으로서 20일째에는 엽록소 함량이 $80.1\mu\text{g L}^{-1}$ 로서 무처리 대비 17.6% 성장을 나타냈다. 이에 비해 1.0g mL^{-1} 농도에서는 처리후 6일까지 생장이 중지되었다가 9일째에는 조류가 약간 성장하였으며 이후 생장이 뚜렷하게 증가하는 경향으로서 20일째에는 엽록소 함량이 $264.4\mu\text{g L}^{-1}$ 로서 무처리 대비 58.2% 성장을 나타냈다(그림 1A). MAIC12의 경우는 MAIC8보다 약 5배 높은 활성을 나타내는 경향으로서 처리농도별 지속성 정도는 비슷한 패턴을 보였다. 즉 $5\mu\text{g mL}^{-1}$ 농도에서는 처리 후 12일까지 조류생장이 중지되었다가 이후 약간씩 성장하기 시작하여 매우 완만하게 증가하는 경향으로서 20일째에는 엽록소 함량이 $46.6\mu\text{g L}^{-1}$ 로서 무처리 대비 11.2% 성장만을 나타냈다. 이에 대해 $0.2\mu\text{g mL}^{-1}$ 농도에서는 처리 후 6일까지 생장이 중지되었다가 9일째에는 조류가 약간 성장하였으며 이후 생장이 비교적 뚜렷하게 증가하는 경향으로서 20일째에는 엽록소 함량이 $251.2\mu\text{g L}^{-1}$ 로서 무처리 대비 55.2% 성장을 나타냈다(그림 1B). 따라서 적정 처리농도($1.0\mu\text{g mL}^{-1}$ MAIC8, $0.2\mu\text{g mL}^{-1}$ MAIC12)에서의 약효 반감 일수는 약 20일 정도로 추산되어, 약효 지속성 측면에서는 이온성 액체의 살조효과가 오랫동안 유지된다고 판단될 수 있었으나, 화합물 분해

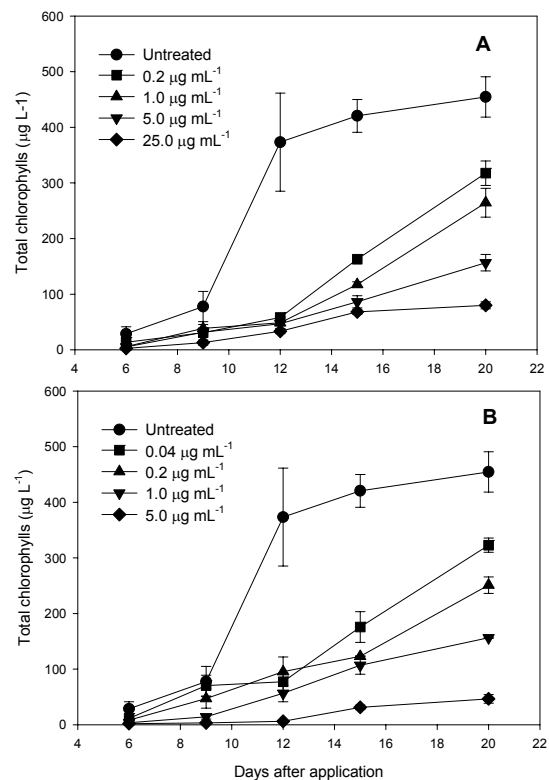


Fig. 1. Persistence of algicidal activities of 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids in greenhouse test.
A : 1-octyl-3-methylimidazolium chloride.
B : 1-dodecyl-3-methylimidazolium chloride.

측면에서 볼 때는 상대적으로 난분해성 특성을 보인다고 판단된다.

이온성 액체처리 이후 조류 생육이 어느 정도 회복된 시점에서의 조류발생양상을 알아보기 위하여 현미경 관찰을 실시하였다(데이터 미제시). 무처리구에서는 매우 작은 크기의 녹조만이 다수 성장하고 있었으며 *Scenedesmus* 속의 미세조류가 소수 존재하였다. MAIC12 처리구에서는 사상 남조류, 녹조, 규조 등이 관찰되어 비교적 다양한 종들이 회복되고 있음을 알 수 있었다. 보다 구체적인 종 분류와 성장특성은 차후 세밀한 연구가 필요할 것 같다.

고 찰

산업경제의 활성화를 지속시키면서 수생태계를 양호한 상태로 보호한다는 것은 매우 어려운 과제이다. 왜냐하면 환경오염과 산업발전은 대부분 서로 상반된 영향을 주기 때문이다. 그러나 적절한 전략과 기술을 찾아 이를 극복해야 한다. 이러한 차원에서 볼 때, 물환경 분야에서 경제 사회적으로 많은 문제를 야기시켜 왔던 유해조류 대발생 억제를 위한 방법도 새로운 방안이 필요할 것 같다. 즉 과거에는 모든 조류의 발생을 무조건 차단하거나 비선택적으로 사멸시키는 개념의 기술이 시도되었지만 앞으로는 유해조류를 선택적으로 제거하거나 기타 조류의 성장정도를 보다 정밀하게 제어할 수 있는 기술의 적용이 필요하다(최 등 2009; 황 등 2009; Duke 등 2002). 이를 위해서는 무엇보다 유해조류에 선택적으로 반응하는 물질의 탐색과 합리적 처리기술 등에 대한 연구가 진행되어야 한다. 본 연구에서 검토된 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride계 이온성 액체는 처리 농도를 통해 담수조류 생육을 선택적으로 조절할 수 있음을 확인하였다(표 3, 4, 5). 즉, 공시된 조류종 전체를 보았을 때, Sht, Ot, Sp가 MAIC12에 민감한 생육억제 반응을 보이며 그 다음은 Ma이었고, 나머지 조류 종은 상대적으로 보다 둔감한 반응성을 나타내었다. 그 차이 정도를 80% 억제에 필요한 약제처리 농도로 기준하여 검토해 보았을 때 대략 10-20배 정도의 선택성을 보였다. 따라서 필요한 경우 본 이온성 액체의 농도를 적절히 조정하여 처리하면 우리나라

에서 문제되는 Sht, Ot, Ma 등을 선택적으로 방제할 수 있는 방법을 확립할 수 있을 것 같았다. 그리고 향후 조류바이오매스(algal biomass)가 산업적으로 많이 활용될 전망이다(Schenk 등 2008) 이 경우, 유용 미세조류를 open system에서 배양하고자 할 때 우연히 혼입된 유해조류를 방제하는 데에도 활용될 수 있을 것이다. 이 때 이들 화합물이 원활히 사용되려면 선결조건으로서 처리화합물이 보다 환경 친화적이어야 할 것이다.

이온성 액체는 향후 다양한 종류가 개발되면서 산업현장에서 많이 사용될 전망이다. 따라서 이온성 액체가 환경에 노출될 가능성이 높는데 이렇게 될 경우 독성 차원에서의 수생태계 특히 조류를 비롯한 수생 식물의 식생변화에 어떠한 영향이 미칠지에 대해서도 관심을 갖고 검토되어야 할 것이다(Pham 등 2010). 이온성 액체의 경우 기존 용매에 비해 대기오염에는 영향이 적을지라도 수생태계에는 오히려 독성이 높아지는 바 화합물 합성시 관능기의 변화에 따라 독성이 상당히 달라진다는 연구결과가 많이 보고되고 있다(Cho 등 2008; Kulacki와 Lamberti 2007; Pham 등 2010; Stolte 등 2007; Zhao 등 2007). 본 연구의 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride계 이온성 액체는 alkyl 그룹의 탄소길이에 따라 활성이 달랐는데 C8 이하의 것은 살조활성이 낮은 편이나 C12의 경우는 살조제로 사용되고 있는 diuron, diquat, copper sulfate 등의 물질과 유사하거나 높은 활성을 나타내 조류에 대한 독성정도가 높은 화합물로 여겨졌다(표 1, 2, 3). 이러한 경향은 Latala 등(2009a, 2009b)이 다른 조류 종들을 가지고 실험한 결과와도 유사하였다. 그리고 이들의 살조효과 지속성이 상대적으로 긴 편에 속하였는데 동일 조건에서 본 연구팀이 경험한 결과에 의하면 CuSO_4 1ppm 처리의 경우 10일 정도 지나면 약 50%정도 회복되었고 특히 천연물 살조제의 경우는 화합물에 따라 다르지만 보통 처리후 6-9일 정도이면 상당히 회복되어 잔효지속성이 보다 짧은 특징을 가진다(데이터 미제시). 이는 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride계 이온성 액체가 상대적으로 환경내에서의 분해속도가 늦음을 의미하므로 사용상의 주의가 필요함과 동시에, 보다 분해가 빠른

새로운 구조의 이온성 액체를(Gathergood 등 2006) 개발하는 방향으로의 연구진전이 필요할 것 같다.

요 약

본 연구에서는 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride 계 이온성 액체를 가지고 수생태계에서의 유해조류 방제제로서의 사용 가능성 및 활용시 예상되는 문제점 등을 알아보기 위하여 5종의 녹조류, 4종의 남조류, 1종의 규조류를 대상으로 이들의 생육에 미치는 이온성 액체의 선택적 영향을 검토해 보고자 실시하였다. 이온성 액체의 alkyl group 탄소수에 따라 활성이 달리 나타났는데, butyl < octyl < dodecyl 순으로 탄소수 길이가 길수록 살조활성이 증가되는 경향이였다. 공시된 조류종 전체를 비교해 보았을 때, *Stephanodiscus hantzschii* f. *tenuis*, *Oscillatoria tenuis*, *Spirulina pratensis*가 1-dodecyl-3-methylimidazolium chloride (MAIC12)에 민감한 생육억제 반응을 보이며 그 다음은 *Microcystis aeruginosa*이었고, 나머지 조류 종은 상대적으로 덜 민감하였다. 선택성 정도는 80% 억제농도를 기준으로 검토해 보았을 때 대략 10-20 배 정도였다. 한편 자연상태와 비슷한 조건(온실조건의 퇴적물 존재)에서 이온성 액체가 수중에 처리되었을 때의 살조활성 지속성을 조사하였다. 그 결과 MAIC8 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 농도에서는 처리후 6일까지 생장이 중지되었다가 9일째에는 조류가 약간 발생하였으며 이후 생장이 뚜렷하게 증가하는 경향으로서 20일째에는 엽록소 함량이 264.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ 로서 무처리 대비 58.2% 생장을 나타냈다. MAIC12의 경우는 MAIC8 보다 약 5배 높은 활성을 나타내는 경향으로서 0.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 농도로 처리했을 때 처리후 6일까지 조류발생이 전혀 없었다가 9일째에는 조류가 약간 번식하였으며 이후 생장이 비교적 뚜렷하게 증가하여 20일째에는 엽록소 함량이 251.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ 로서 무처리 대비 55.2% 생장을 나타냈다. 결론적으로 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride 계 이온성 액체는 살조활성 특성 측면에서 볼 때는 우수한 효능, 선택적 살조활성 및 효과 지속성으로 인해 수생태계에서의 유

해조류 선택적 방제제로서 사용될 수 있을 것 같으나, 화합물 분해 측면에서 볼 때는 상대적으로 난분해성 특성을 가져 환경친화적으로 사용하기에는 개선될 필요성이 있는 것 같았다.

인 용 문 헌

- 박명환, 김건희, 이혁희, 김진석, 황순진. 2009. 여러 가지 은나노 물질의 유해 남조 *Microcystis aeruginosa* 생장억제. 한국육수학회지 42(1):75-84.
- 최정섭, 황현진, 서보람, 김재덕, 장현우, 김진석. 2009. 약용식물로부터 살조(殺藻)활성을 갖는 sesquiterpene계 화합물의 분리 및 동정. 한국잡초학회지 29(2):121-130.
- 황현진, 서보람, 김재덕, 장현우, 최정섭, 김진석. 2009. 약용식물유래 sesquiterpene계 화합물의 담수조류 생육억제활성 특성. 한국잡초학회지 29(4): 343-352.
- Allen, M. M. 1968. Simple conditions for the growth of unicellular blue-green algae on plates. Journal of Phycology 4:1-4.
- Beakes, G., H. M. Canter and G. H. M. Jaworski. 1988. Zoospores ultrastructure of *Zygorhizidium affluens* Canter and *Z. planktonicum* Canter, two chytrids parasitizing the diatom *Asterionella formosa* Hassall. Canadian Journal of Botany-Review Canadienne De Botanique 66:1054-1067.
- Cho, C. W., Y. C. Jeon, T. P. T. Pham, K. Vijayaraghavan and Y. S. Yun. 2008. The ecotoxicity of ionic liquids and traditional organic solvents on microalga *Selenastrum capricornutum*. Ecotoxicology and Environmental Safety 71: 166-171.
- Duke, S. O., F. E. Dayan, A. M. Rimando, K. K. Schrader, G. Aliotta, A. Oliva and J. G. Romagni. 2002. Chemicals from nature for weed management. Weed Science 50:138-151.

- Gathergood, N., P. J. Scammells and M. T. Garcia. 2006. Biodegradable ionic liquids Part III. The first readily biodegradable ionic liquids. *Green Chem.* 8:156-160.
- Haider, S., V. Naithani, P. N. Viswanathan and P. Kakkar. 2003. Cyanobacterial toxins : a growing environmental concern. *Chemosphere* 52:1-21.
- Kim, J. S., J. C. Kim, S. Lee, B. H. Lee and K. Y. Cho. 2006. Biological activity of L-2-azetidincarboxylic acid, isolated from *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum*, against several algae. *Aquatic Botany* 85:1-6.
- Kulacki, K. J. and G. A. Lamberti. 2007. Toxicity of imidazolium ionic liquids to fresh-water algae. *Green Chem.* 10:104-110.
- Latala, A., M. Nedzia and P. Stepnowski. 2009a. Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Chlorella vulgaris*, *Oocystis submarina* (green algae) and *Cyclotella meneghiniana*, *Skeletonema marinoi* (diatoms). *Green Chem.* 11:580-588.
- Latala, A., M. Nedzia and P. Stepnowski. 2009b. Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Bacillaria paxillifer* (a microphytobenthic diatom) and *Geitlerinema amphibium* (a microphytobenthic blue green alga). *Green Chem.* 11:1371-1376.
- Munoz, R. and B. Guieysse. 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants : A review. *Water Research* 40:2799-2815.
- Nusch, E. A. 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiol. Beih. (Ergebn. Limnol.)* 14: 14-36.
- Olivier-Bourbigou, H., L. Magna and D. Morvan. 2010. Ionic liquids and catalysis : Recent progress from knowledge to applications. *Applied Catalysis A : General* 373:1-56.
- Pham, T. P. T., C. W. Cho, J. Min and Y. S. Yun. 2008. Alkyl-chain length effects of imidazolium and pyridinium ionic liquids on photosynthetic response of *Pseudokirchneriella subcapitata*. *J. Biosci. Bioengin.* 105(4):425-428.
- Pham, T. P. T., C. W. Cho and Y. S. Yun. 2010. Environmental fate and toxicity of ionic liquids : A review. *Water Research* 44:352-372.
- Schenk P. M., S. R. Thomas-Hall, E. Stephens, U. C. Marx, J. H. Mussgnug, C. Posten, O. Kruse and B. Hankamer. 2008. Second generation biofuels : High-efficiency microalgae for bio-diesel production. *Bioenerg. Res.* 1:20-43.
- Sin, J. G., and C. S. Im. 2000. A study on the water quality simulation in the midstream and downstream of Geum-river. *J. Kor. Water Resources Association* 33(2):145-157.
- Stolte, S., M. Matzke, J. Arning, A. Böschen, W. R. Pitner, U. Welz-Biermann, B. Jastorff and J. Ranke. 2007. Effects of different head groups and functionalized side chains on the aquatic toxicity of ionic liquids. *Green Chem.* 9:1170-1179.
- Wu, G., H. Kang, X. Zhang, H. Shao, L. Chu and C. Ruan. 2010. A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils : Issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. *J. of Hazardous Materials* 174:1-8.
- Zhao, D., Y. Liao and Z. Zhang. 2007. Toxicity of ionic liquids. *Clean* 35(1):42-48.