

'93-97년 남해안 적조생물, *Cochlodinium polykrikoides*의
지방산과 탄화수소의 특징

강석중*, 최병대¹, 정우건

경상대학교 해양과학대학 양식학과 · 식품과학과¹

1. 서론

1993 및 1995년 두 해에 걸쳐서 통영 근해에서 발생한 이상 적조(*Cochlodinium polykrikoides*)는 양식산업에 막대한 피해를 입혔다. 일반적으로 남해안의 적조는 매년 4-10월에 걸쳐 발생하며 발생정도도 7월이면 최고치에 이르고 며칠간 머무르는 경우가 많다. 그러나, '93년 10월 및 95년에 통영 근해에서 발생한 적조는 예년과는 달리 대단히 넓은 지역에서 장기간에 걸쳐서 발생하였다. 또한 발생원인에 대해서도 관계연구기관과 어민들사이에는 서로 상이한 주장을 하기도 하였다. 이와 같은 이상 현상을 구명하기 위한 일련의 생화학적 연구의 하나로서 처음으로 *C. polykrikoides*의 지방산 및 탄화수소의 조성을 연구하였다. 이어서 '96년과 97년에 동일장소에서 계속적으로 발생한 동일 적조에 대해서도 연도별로 비교 분석하였다.

2. 재료 및 방법

시료는 1993년 10월 통영군 미륵도와 사랑도 사이의 해역에서 적조발생시 수차에 걸쳐 해수 약 500 l 대형 플라스틱통에 채수하여 저속으로(300 rpm)으로 1시간 회전시켜 침전된 시료 약 300g을 채집하였다. 1995, 1996 및 1997년 8월에도 욱지도 부근의 해역에서 93년도와 비슷한 방법으로 시료를 채취하여 시료로 하였다.

총지질의 추출은 Folch(1955)의 방법에 준하여 총지질을 정량하였다. 지질의 class는 Iatroscan TH-10(Iatron Laboratory Inc., Japan)에서 지질조성을 구했으며, Rod-SII(0.9 x 150 mm, 석영봉 규산 코팅)를 사용하였다. 극성지질은 전개용매(chloroform: methanol: distilled water = 65:35:4 v/v)로, 비극성지질은 전개용매(1,2-dichloroethane:chloroform:acetic acid=(46 : 4 : 0.05 v/v)를 이용하여 극성지질과 동일하게 전개하였다.

각 지질의 획분은 규산박층판(TLC plate silica gel 60, precoated 20 cm x 20 cm, layer tickness 0.25 mm MERK)에 TLC sample streaker(Applied Science Laboratories)로 이용하여 분획하였다. 전개용매(Hexane : diethylether : acetic acid=85 : 15 : 1 v/v)를 사용하였다.

Argentation Thin-layer Chromatography(AgNO₃-TLC): 지방산과 탄화수소의 불포화정도를 알기 위하여 Kisel Gel 60G를 질산은에 침적시킨 전개판을 사용하였다. 이 때 사용한 전개 용매는 n-Hexane:Benzene(90:10, V/V)였다.

탄화수소 및 지방산의 hydrogenation을 위해서는 약 10mg의 백금촉매를 사용하였다. 전개판에서 각각 획득한 시료를 methanol용액을 사용하여 수소를 계속적으로 공급하면서 교반하였다. 약 2시간 가까이 수소와 반응시켰으며, 기압은 대기압하에서 반응시켰다.

검화 (Saponification): TLC판에 의한 탄화수소의 획득 뿐만 아니라 필요에 따라서는 검화에 의해서 불검화물로부터 탄화수소 획득을 얻기도 하였다. 총지질을 50% KOH로 검화한 후 불검화물은 ether로 추출하였고, 검화물은 염산으로 분해하여 유리된 지방산을 ether로 추출하여 지방산과 탄화수소를 분리하여 얻었다.

지방산 methyl ester화는 일정량의 지방산 취하여 용제를 완전히 제거한 다음, 약 10배량의 7% BF₃-methanol혼액 및 5% HCl-ethanol혼액을 가하여 95°C에서 30분간 가열하여 지방산 methyl ester유도체를 조제한다.

GLC에 의한 분석: 탄화수소의 조성은 split injection system과 FID를 장착한 Perkin-Elmer 8420 capillary gas chromatograph를 사용하였다. 이 때 사용한 칼럼은 DB-1(60m x 0.25mm i.d., 0.25micron)flexible, fused-silica capillary column (polymethylsiloxane phase, chemically crossed-linked, and surface bonded; J and W Scientific, Inc., Folson, California, USA)이다.

분석조건은 Column온도는 최초 15분간은 45°C에서 유지하다가 280°C(13°C/min)에서 50분간 유지하였다. Injector온도 280°C, detector 온도 280°C 그리고 carrier gas는 He (20 pound, psig), 수소와 공기는 13과 21 psig로 유지하였다.

탄화수소의 분석은 동일조건에서 분석한 표준품의 ECL과 비교하여 동정하였으며, 원유 및 디젤유를 사용하기도 하였다.

Gas-Liquid Chromatography/Mass Spectrometry(GC/MS): 적조생물내의 탄화수소의 동정(분자량) 및 mass spectrum은 Finnigan MAT 700 Ion Trap Detector(ITD)형 Gas-Liquid Chromatography/Mass spectrometry를 사용하였다. Finnigan MAT 700 Ion Trap은 IBM computer에 의해서 운영되는 spectrum library를 참조하였다. 장착한 칼럼은 GLC와 동일한 칼럼을 사용하였으며, 분석조건은 45°C(16분간 유지)-280°C(30분간 유지). He은 10 psig로 유지하였다.

3. 결 과

4개년도의 적조생물 지방산 조성에서는 모두 C16:0가 29.0~29.4%외에 기능성 지방산인 EPA 및 DHA가 각각 14.2~14.7%, 19.4~23.4%의 범위였고, 오메가-3고도 불포화의 조성은 33.0-49.0% 범위로 아주 높은 범위를 나타내는 것이 특징였다.

해양플랑크톤의 규조류에서는 볼 수 없는 특수한 고도불포화 지방산인 C18:5n-3도 2.5~3.0%나 함유되어 있었다.

93년 및 95년의 시료에는 탄소수 20이상 이중결합 4개 이상의 미동정 지방산(?)이 나타났으나, 96년 및 97년의 시료에는 나타나지 않았다.

탄화수소 조성에서는 총 48개의 peak가 검출되었고, 이 중 32개의 peak를 동정하였다. 96년 및 97년의 적조생물의 탄화수소 조성은 전형적인 생물유래(biogenic type)의 특징을 나타냈으나, 93년과 95년의 적조생물 탄화수소 조성은 다음과 같은 특징을 나타냈다.

- 1) 생체유래의 탄화수소인 squalene, squalane 및 고도불포화탄화수소인 heneicosahexene(21:6) 이 각각 1.49, 1.69 및 5.67%로 아주 낮은 비율을 나타냈다.
- 2) 이 적조생물은 독특한 알칸계 탄화수소를 다량 함유하고 있었는데, 탄소수는 C13~38에 이르는 장쇄탄화수소가 대부분을 차지하였다.
- 3) pristane/17:0의 비가 아주 낮다.
- 4) pristane과 17:0의 조성비가 아주 낮다.
- 5) CPI(Carbon Preference Index)값은 0.91였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 최근 '93-'97년에 걸쳐서 발생한 남해안의 적조생물 중에서 1993과 1995년의 적조생물은 석유물질에 의하여 오염되었다.