

C-1

해조류 추출물로부터 가시파래 (*Enteromorpha prolifera*)의 부착 저해물질 탐색

권은희 · 최재석 · 홍성렬 · 홍용기
부경대학교 생물공학과

서론

Marine algae는 주된 fouling organism으로 전세계에 널리 분포되어 있고, 경제적 손실을 가져온다. 특히나 container ships와 large tanker에서 자라는 algae는 마찰력의 증가로 인한 speed 감소와 연료비의 증가와 같은 문제점을 가진다. 그래서 현재 antifouling paint로 TBT 화합물을 사용하고 있지만, 이것은 해양생물에 나쁜 영향을 미치는 것으로 나타나 TBT 화합물 사용에 대해 제한하고 있다. 따라서 본 연구에서는 해조류 추출물을 이용하여 무독성 천연 방오물질의 탐색을 목적으로 우선 선박이나 양식장 그물등에 많이 부착 성장하는 가시파래를 대상으로하여 이의 antifouling 효과를 나타내는 물질을 찾고자 한다.

재료 및 방법

1. 해조류 채집; 우리나라 연안 조간대에 흔히 분포하는 27종의 해조류를 채취하여 담수로 깨끗이 씻어 실온에서 완전히 건조시킨 다음 분쇄하여 사용한다.
2. 가시파래; 양식산 가시파래를 시장에서 구입하여 사용한다.
3. 해조류 추출물; MeOH 추출물은 MeOH 1ml 당 해조류 분말 0.02g을 넣고 실온에서 하루동안 추출한 다음, 상층액만 모아 37°C에서 MeOH을 증발시킨다. 추출물 40mg당 MeOH 1ml을 넣어 녹인 다음 0.22 μ syringe filtering 한다. Water 추출물은 MeOH 추출을 하고난 다음, 같은 방법으로 물추출을 한다.
4. spore release; 가시파래를 멸균해수로 여러번 세척한 다음 30초 동안 2회 sonication 시킨 후 물기를 제거한다. 파래를 멸균해수에 넣고 4000lux, 20°C 배양기에 넣어 포자방출을 유도한다.
5. 포자 settlement에 해조류 추출물의 영향; 방출된 포자를 PES배지에 현탁시키고 추출물을 각각 5 μ l 넣어 총 1ml이 되도록 한다. Slide glass (1×2.5 cm)를 세워서 넣고 암기로 3일 혹은 6시간동안 20°C에서 배양한 다음, glass (1×0.5 cm)에 부착한 포자를 count한다.
6. Zygote 형성에 해조류 추출물의 영향; 방출된 포자를 96 well plate에 PES배지를 넣고 추출물을 각각 1 μ l 넣어 총 200 μ l가 되도록 한다. 7일동안 15°C, 2500lux (12L:12D)에서 배양한 다음, zygote를 count한다.
7. 포자발아에 해조류 추출물의 영향; 방출된 포자를 96 well plate에 PES배지를 넣고 추출물을 각각 1 μ l 넣어 총 200 μ l가 되도록 한다. 7일동안 15°C, 2500lux (12L:12D)에서 배

양한 다음, 발아한 포자를 count한다.

8. 가시파래 조직의 성장률; 가시파래를 5mm씩 잘라 24 well plate에 1well당 5개체를 접종하여 PES배지 1ml당 각 추출물 5 μ l씩 넣어 18 $^{\circ}$ C, 2000lux (12L:12D)에서 7일동안 배양한후 그 길이를 측정하여 성장률을 비교한다.

9. MeOH 추출물의 농도별 포자 부착율; 방출된 포자를 멸균해수에 현탁시켜 넓패 (*Ishige foliacea*) 및 켈생이모자반 (*Sargassum horneri*) 추출물을 각 농도별로 5 μ l씩 넣어 20 $^{\circ}$ C에서 6시간 배양한후 농도별로 포자 부착율을 측정한다.

10. 추출물질 분리; 유효물질의 분리는 식물 조직으로부터의 유효물질 extracting method에 의하여 추출물질을 분리하고, 40mg/ml MeOH의 농도로 만들어 3 μ l씩을 포자가 현탁되어 있는 멸균해수에 넣고 glass를 넣은다음 암기로 20 $^{\circ}$ C에서 6시간 배양한다음 포자 부착율을 측정한다.

결과 및 요약

1. 27종의 해조류 추출물의 영향을 살펴본 결과 넓패 (*Ishige foliacea*), 켈생이모자 (*Sargassum horneri*)의 MeOH 추출물이 가시파래의 포자부착, zygote 형성, 포자발아, 엽조직성장 등에 대하여 전반적으로 antifouling 효과를 나타내는 것으로 나타났다.

2. 넓패 (*Ishige foliacea*), 켈생이모자반 (*Sargassum horneri*) MeOH 추출물의 농도별 가래 포자 settlement에 대한 영향을 비교한 결과 넓패는 10mg/ml, 켈생이모자반은 40mg/ml의 농도에서 최대 포자 부착을 억제하였다.

3. 켈생이모자반의 MeOH추출물을 extracting method에 의하여 유효 추출물질을 분리하고 포자 settlement를 측정한 결과, antifouling의 주 작용 물질이 alkaloid 물질일 것으로 사료된다.

참고문헌

- R. L. Fletcher. 1989. A Bioassay Technique Using the Marine Fouling Alg *Enteromorpha*. *International Biodeterioration* 25: 407-422.
- Hyun-Woung Shin. 1998. Antifouling Action of Zosteric Acid and Copper on spores of *Ulva fasciata* Delile. *Algae* 13(2): 271-274