

수생관속식물의 라디칼 소거능과 남세균 생장에 대한 억제활성 비교

권성호 · 나혜련¹ · 정종덕 · 백남인² · 박상규 · 최흥근*

(아주대학교 생명과학과, ¹동북아식물연구소,
²경희대학교 생명공학원 및 식물대사연구센터)

A Comparison of Radical Scavenging Activity and Cyanobacteria Growth Inhibition of Aquatic Vascular Plants. *Kwon, Sung-Ho, Hye Ryun Na¹, Jongduk Jung, Nam-In Baek², Sangkyu Park and Hong-Keun Choi** (Department of Biological Science, Ajou University, Suwon 443-749, Korea; ¹Northeastern Asia Plant Institute, Korea; ²Graduate School of Biotechnology & Institute of Life Science & Resources, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea)

Methanol extracts of aquatic plants were analyzed for allelopathic activities against *Escherichia coli* JM109 and *Microcystis aeruginosa* UTEX2385 which were compared to its 2,2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities. The radical scavenging activities were detected from the extracts of *Persicaria thunbergii*, *Persicaria amphibia*, *Trapa japonica*, *Myriophyllum spicatum*, and *Brasenia schreberi*. Also, the inhibitory activities against cyanobacteria were analyzed according to the order of *B. schreberi*, *T. japonica*, *P. amphibia*, and *M. spicatum*. Most of the extracts from aquatic plants did not show any inhibition against *E. coli* except *B. schreberi*. We found a positive correlation between the antioxidational activities of methanol extract of aquatic plants and the growth inhibitory activities for cyanobacteria in terms of the DPPH radical scavenging activities ($R^2=0.381$, $P<0.0001$). The inhibitory activities of methanol extract against *E. coli* growth was not correlated with the other activities of aquatic plants ($P>0.04$). We suggest from this study that the allelopathic effects of aquatic plants against cyanobacteria could be screened by using the bioassay based on DPPH.

Key words : aquatic vascular plants, cyanobacteria, DPPH, allelopathy, antioxidational activity

서 론

타감작용(allelopathy)은 '식물 상호간의 화학적인 작용에 따라 이로운이나 해로운을 주는 생화학적 관계'라

고 정의된다(Molish, 1937). 동물이나 미생물에서도 이러한 타감작용을 볼 수 있다(Muller, 1966). 이렇게 생물들 상호간의 타감작용에 관계를 하는 물질을 타감물질(allelochemicals)이라고 한다(Whittaker and Feeny, 1971). 이러한 타감물질들은 식물의 이차대사생성물로서 초식동

* Corresponding author: Tel: 031) 219-2618, Fax: 031) 219-1795, E-mail: hkchoi@ajou.ac.kr

물에 대한 방어물질로도 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다(Stamp, 2003).

또한, 식물들은 생태적 환경 조건에 다양한 활성을 나타내는 대사 산물을 생성한다. 그 중 하나가 활성 산소나 라디칼을 소거하는 항산화 물질이다(Gibson *et al.*, 1990; Choi *et al.*, 1993; Gross, 2000; Jung *et al.*, 2007). 이러한 항산화 활성을 측정하기 위하여 유리 라디칼인 DPPH (Di-Phenyl-1-Picryl Hydrazyl)를 이용한 유리 라디칼 소거 활성법이 많이 이용되고 있다(Martin and Ridge, 1999; Jung *et al.*, 2007). 국내외에서 여러 가지 식물에서 추출된 대사물질들에 대한 DPPH 라디칼 소거활성이 보고된 바 있다(Choi *et al.*, 1993; Navarro, 2003; Su *et al.*, 2007). 특히, 해당화(*Rosa rugosa*)와 양지꽃(*Potentilla fragarioides*), 그리고 산복사나무(*Prunus davidiana*)의 메탄올 추출물과 산철쭉(*Rhododendron yedoense* var. *poukhanense*)의 부탄올 층에서 분리된(+)-catechin, isoquercitrin, β -glucogallin, quercetin 족, caffeic acid, rutin, 아스코르빅산 등과 같은 이차대사물질은 항산화 활성이 높은 것으로 보고되고 있다(Choi *et al.*, 1997a, b; Jung *et al.*, 2007).

또한 수생식물의 담수조류에 대한 타감작용으로는 이삭물수세미(*Myriophyllum spicatum*), 붕어마름(*Ceratophyllum demersum*), 쇠털골(*Eleocharis acicularis*), 버들말즘(*Potamogeton oxyphyllus*), 구와말(*Limnophila sessiliflora*), 나사말(*Vallisneria asiatica*), 어항마름(*Cabomba caroliniana*) 등의 조류 생장에 대한 억제 활성이 보고되었다(Nakai *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2005). 이 중에서 이삭물수세미(*M. spicatum*)에서는 페놀 계통 화합물인 플라보노이드와 지방산 등이 조류의 생장을 억제하는 타감물질인 것으로 보고되었다. 이와 더불어 민나자스말(*Najas marina*), 애기마름(*Trapa incisa*), 석창포(*Acorus tatarinowii*), 창포(*A. calamus*), 그리고 갈대(*Phragmites australis*) 등을 이용한 수질정화 및 영양염류의 감소효과 외에도 조류의 증식 억제와 관련된 억제 활성 물질들이 소개된 바 있다(Greca *et al.*, 1989; Körner and Nicklisch, 2002; Gross *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2005; Li and Hu, 2005; Mulderij *et al.*, 2005, 2007; Hilt, 2006; Zhou *et al.*, 2006; Nam *et al.*, 2007, 2008).

본 연구는 국내에 자생하는 수생관속식물 대사체가 가지는 남세균에 대한 생장억제 활성을 탐색하여 봄으로써 국내 호소에서의 남세균 대발생을 감소시키거나 억제하는 데 이용될 수 있는 우수 자생 수생식물군을 발굴 및 탐색 방안을 마련하기 위하여 수행되었다. 이를 위하여 수생식물의 메탄올 추출물에 의한 DPPH 라디칼 소거

활성을 분석하였으며, 활성물질의 타감작용 효과를 파악하기 위하여 대장균과 남세균을 대상으로 각각 생장 억제 활성을 측정하였다. 그리고 이러한 수생관속식물 추출물의 남세균 생장 억제 활성과 측정이 비교적 용이한 다른 활성물질 간의 상관성을 비교 분석해 봄으로써 타감작용의 메커니즘의 유사성을 확인하고, 남세균에 대한 타감효과를 보다 손쉽게 유추할 수 있는지 비교분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료 채취 및 전처리

본 연구에 사용된 수생식물로는 국내의 호소에서 2006년부터 2008년 사이에 채집된 18과 26종 34종류의 시료가 이용되었다(Table 1). 수생관속식물의 줄기와 잎은 음건조 후에 분말화하여 80% 메탄올에 24시간씩 2번 반복 추출하였다. 추출물의 상층액은 GF/C 여과지로 여과한 후 감압농축기(EYELA, Rotary Evaporator N-1000)를 이용하여 농축을 한 후 60% 메탄올에 용해시켜 음지에서 보관하였다. 추출된 시료는 원심 농축기(EYELA, CYE-2000)로 농축한 후 농축시료의 총 무게를 측정하고, 균주의 생장에 영향을 미치지 않는 농도의 메탄올을 이용하여 균일한 농도(mg mL^{-1})로 희석하여 사용하였다(Sharififar *et al.*, 2007). 각 실험에서 대조구는 이미 항산화성이 검증된 합성 및 천연 항산화제를 사용하였다.

2. 항산화 활성 측정

항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성 방법이 이용되었다. 1 mg의 수생관속식물 농축시료를 총 부피가 1 mL가 되도록 80% methanol에 완전히 녹인 뒤, 0.4 mM DPPH 3.8 mL에 앞서 메탄올에 풀어둔 시료 0.2 mL 씩 첨가하여 80% methanol 만을 넣은 것을 기준으로 하여 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다(Yen *et al.*, 1995). 대조구로 α -tocopherol과 BHT (butylated hydroxyl toluene), BHA (butylated hydroxyl anisole)를 사용하였다. 항산화 활성은 측정된 각각의 흡광도(Sample)를 0.4 mM DPPH 3.8 mL에 80% methanol 0.2 mL를 섞은 시료의 흡광도(Blank)와 아래와 같이 비교하여 라디칼 소거능으로 환산하였다(식 1).

$$\text{Antioxidant-activity (\%)} = \frac{(\text{Blank} - \text{Sample})}{\text{Blank}} * 100$$

(식 1)

Table 1. Species and collection list of examined aquatic vascular plants.

Family name	Scientific name	Abbreviation	Collection site	Collection date
Potamogetonaceae (가래과)	Potamogeton distinctus A. Benn. (가래)	PDT	Won-chun aqueduct. Lee-ui dong, Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Sep. 19 2006
	Potamogeton malaianus Miq. (데가래)	PML	Eo-ui swamp.	Aug. 08 2006
	Potamogeton crispus L. (말즘)	PCR	Do-am creek. Gye-ra ri. Do-am myun. Kang-jin gun. Junranamdo. South Korea.	Jun. 28 2006
	Potamogeton maackianus A. Benn. (세우가래)	PMA1	Ji-Gok Reservoir. Dae-yo ri. Ji-gok myun. Seo-san. South Korea.	Jun. 22 2006
		PMA2	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea.	Jun. 28 2006
		PMA3	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea	Jul. 12 2006
		PMA4	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea	Jul. 25 2006
	Potamogeton pusillus L. (실말)	PPS	Do-gok swamp.	Aug. 08 2006
	Potamogeton octandrus Poir. (에기가래)	POT	Jang-mok Reservoir. Jang-mok ri. Jang-mok myun. Geoje. South Korea.	Jun. 29 2006
Haloragaceae (개미탈과)	Myriophyllum spicatum L. (이삭물수세미)	MSP1	Ji-Gok Reservoir. Dae-yo ri. Ji-gok myun. Seo-san. South Korea.	Jun. 22 2006
		MSP2	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea	Jun. 28 2006
		MSP3	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea	Jul. 12 2006
		MSP4	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea	Jul. 25 2006
Commelinaceae (탑의장풀과)	Aneilema keisak Hassk. (사마귀풀)	AKS	Won-chun aqueduct. Lee-ui dong, Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Sep. 19 2006
Lythraceae (부처꽃과)	Trapa japonica Flerow (마름)	TJP	Won-chun aqueduct. Lee-ui dong, Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Jun. 22 2006
Polygonaceae (마디풀과)	Polygonum thunbergii H. Gross (고마리)	PTB	Yu-sangdae Reservoir. Buk-an myun. Youngchun. South Korea.	Sep. 19 2006
	Persicaria amphibia (L.) Gray (물여뀌)	PAP	Ji-Gok Reservoir. Dae-yo ri. Ji-gok myun. Seo-san. South Korea.	Sep. 14 2006
Pontederiaceae (물옥잠과)	Monochoria korsakowi Regel & Maak (물옥잠)	MKS	Ajou univ pond. Ajou university. Won-chun dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Sep. 19 2006
Gramineae (벼과)	Phragmites japonica Steud. (달뿌리풀)	PJP	Hawak mt. Ha-wak ri. Buk myun. Ga-pyung gun. Kyung-gi do. South Korea.	Sep. 24 2006

Table 1. Continued.

Family name	Scientific name	Abbreviation	Collection site	Collection date
Typhaceae (부들과)	<i>Typha angustifolia</i> L. (에기부들)	TAG	Ajou univ pond. Ajou university. Won-chun dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	May 06 2006
	<i>Typha latifolia</i> L. (큰잎부들)	TLT	Ajou univ pond. Ajou university. Won-chun dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Sep. 19 2006
Ceratophyllaceae (봉어마름과)	<i>Ceratophyllum demersum</i> L. var. <i>quadrispinum</i> Makino (오성봉어마름)	CDQ1	Ji-Gok Reservoir. Dae-yo ri. Ji-gok myun. Seo-san. South Korea.	Jun. 22 2006
		CDQ2	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea	Jul. 25 2006
Cabombaceae (어항마름과)	<i>Brasenia schreberi</i> J.F. Gmel (순채)	BSC	Hong-kwang elementary school. Mo-san dong. Jechun. South Korea.	Aug. 28 2006
Papaveraceae (양귀비과)	<i>Chelidonium majus</i> L. var. <i>asiaticum</i> (Hara) Owhi (에기똥풀)	CMA	Ajou univ pond. Ajou university. Won-chun dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	May 06 2006
Menyanthaceae (조름나물과)	<i>Nymphoides indica</i> (L.) Kuntze (어리연꽃)	NID	Won-chun Reservoir. Lee-ui dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Sep. 19 2006
Hydrocharitaceae (자라풀과)	<i>Hydrilla verticillata</i> (L. f.) Royle (검정말)	HVT1	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea.	Jul. 12 2006
		HVT2	Seung-won1 Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea.	Jul. 25 2006
	<i>Najas graminea</i> Delile (나자스말)	NGR	ds	Sep. 19 2006
Pedaliaceae (참깨과)	<i>Trapella sinensis</i> Oliv. (세수염마름)	TSE	Yun-San bridge. Jang-Houng ri. Jang-Houng gun. Junranamdo. South Korea.	Oct. 24 2006
Alismataceae (택사과)	<i>Sagittaria sagittifolia</i> L. subsp. <i>leucopelata</i> (Miq.) Hartog (뱃풀)	SSL	Won-chun aqueduct. Lee-ui dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Sep. 19 2006
Lentibulariaceae (통말과)	<i>Utricularia tenuicaulis</i> Miki (참통말)	UTN	Won-chun aqueduct. Lee-ui dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Sep. 19 2006
Scrophulariaceae (현삼과)	<i>Limnophila sessiliflora</i> (Vahl) Blume (구와말)	LSS	Se-wol fishing place. Won-pyung ri. Sa-buk myun. Cheonchun. South Korea.	Sep. 01 2006
Sparganiaceae (흑삼릉과)	<i>Sparganium erectum</i> L. (흑삼릉)	SER	Seung-won Reservoir. Seung-won ri. An-myun eup. Tae-an gun. Chungchungnamdo. South Korea.	Jun. 22 2006
*Nelumbonaceae (연과)	<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertner (연꽃)	NNC	Baek-suk Reservoir. Hyun-je ridge. Ho-sung dong. Duk-jin gu. Jun-ju. South Korea.	Jul. 28 2007
*Lemnaceae (개구리말과)	<i>Spirodela polyrhiza</i> (L.) Schleid (개구리말)	SPL	Dong-gin River. Gim-je. South Korea.	Jun. 28 2007
*Araceae (칭남성과)	<i>Pistia stratiotes</i> L. (물상추)	PST	Ajou univ pond. Ajou university. Won-chun dong. Young-tong gu. Suwon. South Korea.	Nov. 19 2007

*Species and collection list of additionally examined plants for Microcystis. aeruginosa growth test

3. 대장균의 생장 측정

대장균 (*Escherichia coli* JM109)의 생장 곡선을 확인하기 위하여 고체 LB배지에 대장균을 접종시켜 37°C에서 12시간 배양한 후, 다시 30 mL 액체 LB배지의 배양기에 균주를 접종한 다음, 37°C에서 12시간 배양(150 rpm)시켰다. 이후 50 mL 액체 LB배지에 3 mg의 수생관속식물 농축시료를 60% 메탄올 0.1 mL에 녹인 것을 섞어 준 뒤, 앞서 배양한 균주 300 µL을 넣고 37°C 배양기에서 배양시키면서 1시간 단위로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Miller, 1972). 측정된 결과를 시간대 별로 정리하여 생장 억제 활성을 비교하였다. 대조구는 α -tocopherol를 사용하였다.

4. 남세균의 생장 측정

남세균 (*Miscrocystis aeruginosa* UTEX 2385)을 90 mL의 L16 액체 배지 ($\times 12 \text{ NaNO}_3$)에 배양하였다. 엽록소-a 농도가 $0.500 \sim 0.600 \mu\text{g mL}^{-1}$ 정도 일때의 남세균 (*M. aeruginosa*)을 10 mL (10% v/v) 배양액에 접종한 후, 1 mg의 수생관속식물 농축시료를 넣어주었다 (Lindström, 1983). 생장조건은 25°C, 150 rpm, 2,000 lux 이상, Light/Dark=16/8, 공기순환 조건으로 유지하였다. 억제 활성 측정은 생장상에서 배양하면서 1~2일 간격으로 시료를 채취하여 600~800 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로 α -tocopherol를 사용하였다. 측정된 파장대의 흡광도 (O.D.; optical density)로부터 엽록소-a의 양을 비

례적으로 추정하고 (식 2; Eaton *et al.*, 2005), 이를 다시 생장률로 환산하였다 (식 3).

$$\text{chlorophyll-}a \approx 11.85 * \text{A.D.}664 - 1.54 * \text{A.D.}647 - 0.08 * \text{A.D.}630 \quad (\text{식 } 2)$$

$$* \text{A.D.}664 = \text{O.D.}664 - \text{O.D.}750$$

$$\text{A.D.}647 = \text{O.D.}647 - \text{O.D.}750$$

$$\text{A.D.}630 = \text{O.D.}630 - \text{O.D.}750$$

$$g = [\text{Ln}(C_t) - \text{Ln}(C_0)] / t \quad (\text{식 } 3)$$

*g: 시간에 따른 성장정도

C_0 and C_t : 처음과 t일 이후의 엽록소-a양

5. 활성 자료 분석

DPPH의 라디칼 소거 활성과 대장균 생장억제 활성, 남세균 생장억제 활성 자료를 백분율 (%)로 산출한 후, 각각의 활성 값을 선형회귀분석 (linear regression analysis)을 이용하여 상관성을 비교 분석하였다 (Mathwork Inc., 2007).

결 과

1. DPPH 라디칼 소거 활성

이식물수세미 (*Myriophyllum spicatum*)의 4개 군 모두 40% 이상 (2개 군은 90% 이상)의 라디칼 소거 활성으로 보였으며, 마디풀과 식물들과 마름 (*Trapa japonica*)은 모

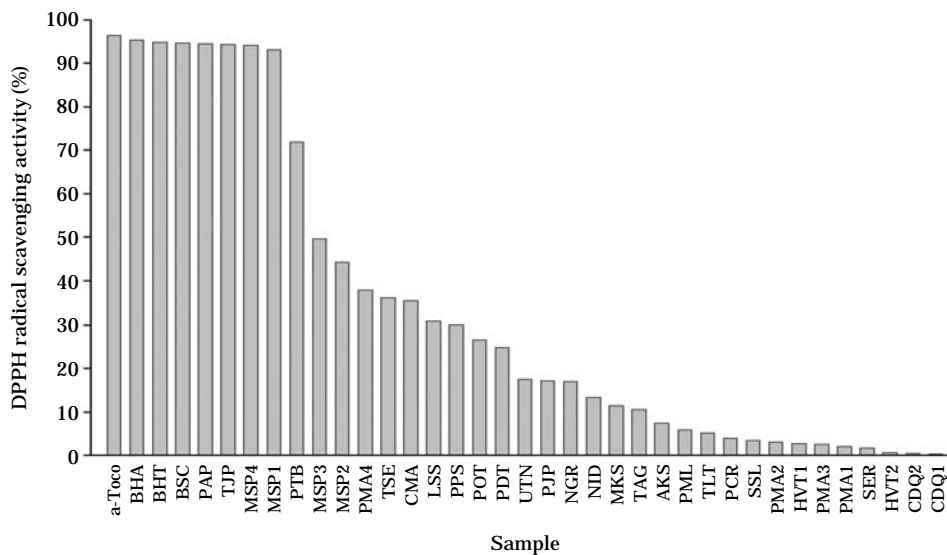


Fig. 1. 2,2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity of the methanol extracts from aquatic vascular plants; blank=0, abbreviation is defined for sample list, a-Toco= α -tocopherol.

두 70%가 이상의 높은 활성도를 보였다. 특히 순채 (*Brasenia schreberi*)는 94.7%로서 대조구로 사용된 항산화제인 BHT나 BHA의 활성도에 근접하는 소거 활성을 보였다. 반면 가래과에 속한 대부분의 식물들은 10%에 미치지 못하는 활성도를 보였으며 오성봉어마름 (*Ceratophyllum demersum* var. *quadrispinum*)과 검정말 (*Hydrilla verticillata*)은 3%에도 미치지 못하는 극히 낮은 활성도

Table 2. Growth inhibition activity of *Microcystis aeruginosa* UTEX 2385 cultured in media with the methanol extracts of aquatic vascular plants. Abbreviation is defined for sample list. a-Toco=α-tocopherol.

Sample	Relative growth rate against <i>M. aeruginosa</i> UTEX 2385					
	4 days	6 days	8 days	10 days	12 days	14 days
Blank	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
a-Toco	1.176	1.088	1.193	0.965	0.903	0.845
PDT	1.176	0.764	0.540	0.435	0.360	0.332
PML	0.853	0.940	1.255	1.248	1.543	1.914
PCR	1.909	1.217	0.959	0.806	0.697	0.776
PMA1	1.856	1.176	1.062	0.829	0.761	0.647
PMA2	1.353	0.925	0.766	0.593	0.492	0.460
PMA3	1.704	1.040	1.641	0.937	0.771	0.753
PMA4	1.557	1.204	1.029	0.944	0.771	0.754
PPS	1.557	0.750	0.653	0.642	0.531	0.497
POT	1.175	0.939	0.713	0.606	0.531	0.497
MSP1	0.853	0.588	0.531	0.441	0.400	0.471
MSP2	1.028	0.750	0.582	0.435	0.434	0.465
MSP3	0.822	0.587	0.520	0.434	0.389	0.428
MSP4	0.881	0.588	0.530	0.435	0.463	0.461
NGR	1.853	1.365	1.070	0.765	0.708	0.625
AKS	1.852	1.702	1.244	0.959	0.760	0.711
PTB	1.028	0.764	0.583	0.517	0.537	0.562
PAP	0.881	0.513	0.488	0.276	0.297	0.278
TJP	0.703	0.338	0.235	0.193	0.229	0.273
MKS	2.939	2.759	2.213	1.614	1.406	1.311
PJP	1.879	1.792	1.540	1.165	1.034	0.963
TAG	2.031	2.156	1.795	1.172	0.863	0.808
TLT	1.732	1.615	1.305	1.083	0.897	0.872
CDQ1	1.231	1.217	1.010	0.883	0.732	0.717
CDQ2	1.529	1.541	1.428	1.207	1.103	1.059
BSC	0.528	0.250	0.235	0.200	0.268	0.214
CMA	1.531	1.115	1.133	1.013	0.937	0.941
NID	1.353	1.013	0.948	0.724	0.697	0.652
HVT1	1.557	1.177	1.193	1.000	0.932	0.904
HVT2	1.204	0.926	0.888	0.683	0.595	0.583
TSE	1.730	1.087	0.887	0.717	0.491	0.492
SSL	1.966	1.189	1.010	0.765	0.663	0.648
UTN	1.762	1.366	1.132	0.965	0.835	0.776
LSS	0.852	0.689	0.662	0.524	0.474	0.475
SER	1.354	1.190	1.193	0.924	0.766	0.712
NNC	1.500	1.277	0.938	0.800	0.594	0.551
SPL	1.381	1.040	0.836	0.641	0.571	0.571
PST	1.057	1.027	0.897	0.890	0.806	0.850

를 보였다 (Fig. 1).

2. 대장균 (*E. coli*)의 성장 억제

추출물에 대한 타감작용을 분석한 모든 수생식물 중에서 순채 (*Brasenia schreberi*)의 추출물에서 대장균의 성장을 억제하는 활성이 확인되었다. 순채 (*B. schreberi*)의 추출물은 3시간이 지난 후부터 억제 활성을 보여 약 15% 수준의 상대적 억제 활성을 보였다 (Fig. 1).

3. 남세균 (*Microcystis aeruginosa*)의 성장 억제

대부분의 수생식물 추출물을 첨가하고 일정 시간이 경과한 후에 성장 억제 활성을 보였으며, 일부 수생식물 추출물은 억제 활성이 없거나 오히려 촉진시키는 결과를 보였다 (Table 2). 평균적인 억제 활성은 순채 (*B. schreberi*), 마름 (*T. japonica*), 물여뀌 (*P. amphibia*), 이삭물수세미 (*M. spicatum*)의 순으로 성장억제 활성이 높게 나타났으며, 이들 모두 4일째부터는 남세균의 생장이 급속하게 감소하는 패턴을 보였다. 특히 순채의 경우, 6일째부터 70% 이상의 높은 억제 활성을 보일 뿐 아니라 그 효과가 지속적으로 유지되는 결과를 보였다.

4. 성장억제 활성에 대한 상관 분석

선형회귀분석 결과 DPPH의 소거 활성과 대장균 (*E. coli*) 억제 활성 간의 기울기 값은 3.1972로서 약한 양의 상관을 나타냈으며, 유의확률 (p-value, *P*)은 0.05 이하로서 상관성이 없다는 가설은 받아들일 수 없는 것으로 나타났다. 하지만 결정계수 (coefficient of determination, *R*²)

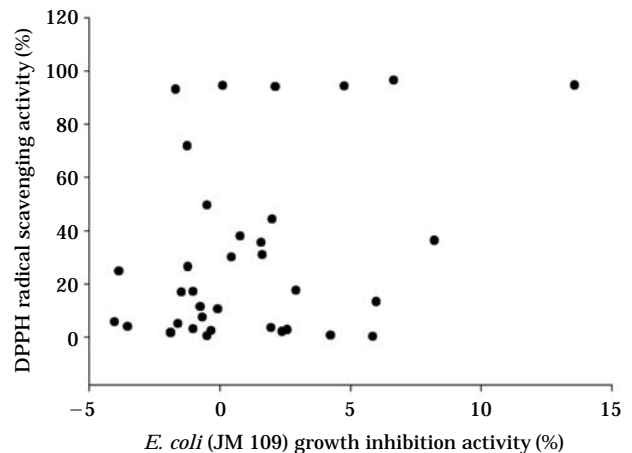


Fig. 2. Linear regression graph between growth inhibition activities for *E. coli* JM 109 and DPPH radical scavenging activity; *R*²=0.121, *P*=0.0406, Gradient value=3.1972.

가 0.121로서 분산의 12.1% 수준으로써 예측이 가능한 수준인 것으로 나타났다 (Fig. 2).

고 찰

담수 생태계에서 생육하는 *Filipendula ulmaria*, *Alchemilla vulgaris*, *Lithospermum officinal*, *Rosmarinus officinalis*, *Nelumbo nucifera*와 같은 식물들은 라디칼 물질에 대한 소거활성이 있는 것으로 잘 알려져 있다 (Choi *et al.*, 1993, 1997a, b; Trouillas *et al.*, 2003). 본 연구결과에서도 고마리 (*P. thunbergii*), 물여뀌 (*P. amphibia*)와 마름 (*T. japonica*), 이삭물수세미 (*M. spicatum*), 순채 (*B. schreberi*) 등의 메탄올 추출물은 라디칼 소거 활성을 가지는 것으로 나타났다 (Fig. 1).

대장균의 생장에 있어서는 순채 (*B. schreberi*)가 의미 있는 억제 활성을 보였을 뿐, 대부분의 다른 수생식물들은 약한 억제 활성을 보이거나 억제 활성이 없었다. 이는 솔잎가래 (*Potamogeton pectinatus*), 넓은잎말 (*Potamogeton perfoliatus*), 줄말 (*Ruppia maritima*)의 메탄올 추출물이 대장균 (*E. coli*)과 같은 그람음성인 균주들의 생장에 큰 영향을 주지 못하는 결과로 생각된다 (Nascimento *et al.*, 2000; Bushmann and Ailstock, 2006).

수생식물 추출물에 의한 남세균 (*M. aeruginosa*)의 성장억제 경향은 크게 두 가지 그룹으로 나뉘 볼 수 있다; 1) 성장기간 동안 지속적인 억제 활성을 보이는 그룹과 2) 특정 시점에서 집중적으로 억제를 보인 이후 지속되는 그룹. 전자에 해당되는 순채 (*B. schreberi*), 마름 (*T. japonica*), 물여뀌 (*P. amphibia*), 이삭물수세미 (*M. spicatum*)에서 억제 활성이 높았다. 마름 (*T. japonica*)이 70% 이상의 억제 활성을 보이는 것으로 확인되었으며, 이삭물수세미 (*M. spicatum*)도 50% 수준의 높은 활성이 확인 되었다 (Nakai *et al.*, 1999; Lim *et al.*, 2000a, b; Körner and Nicklisch, 2002; Nam and Park, 2007). 또한 클로렐라 (*Chlorella pyrenoidosa*)와 아나베나 (*Anabaena flos-aquae*)에 대한 성장억제가 잘 알려진 순채 (*B. schreberi*)는 남세균 (*M. aeruginosa*)에 대하여도 75% 이상의 높은 억제 활성이 추가로 확인 되었으며, 이는 수생식물 중에서 알려진 가장 높은 수치이다 (Elakovich and Wooten, 1987). 반면에 억제 활성이 있는 것으로 알려진 대가래 (*P. malaianus*)와 구와말 (*L. sessiliflora*)은 억제 활성이 없는 것으로 나타났다 (Wu *et al.*, 2007). 붕어마름 (*C. demersum*) 변종인 오성붕어마름 (*C. demersum* var. *quadrspinum*)은 10% 미만의 약한 활성을 보였다 (Nakai *et al.*, 1999; Körner

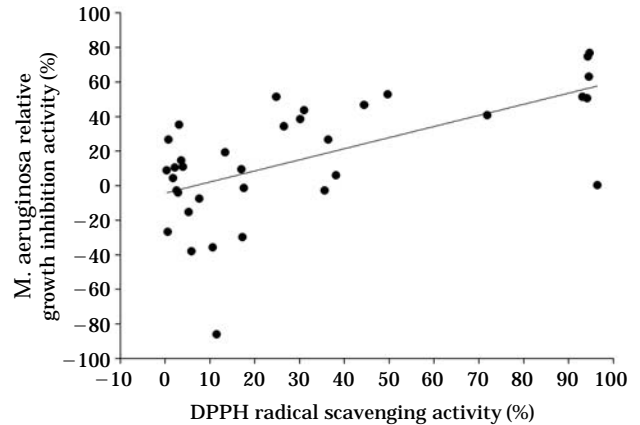


Fig. 3. Linear regression graph between DPPH radical scavenging activity and growth inhibition activity for *M. aeruginosa* UTEX 2385; $R^2=0.381$, $P<0.0001$, Gradient value=0.6426.

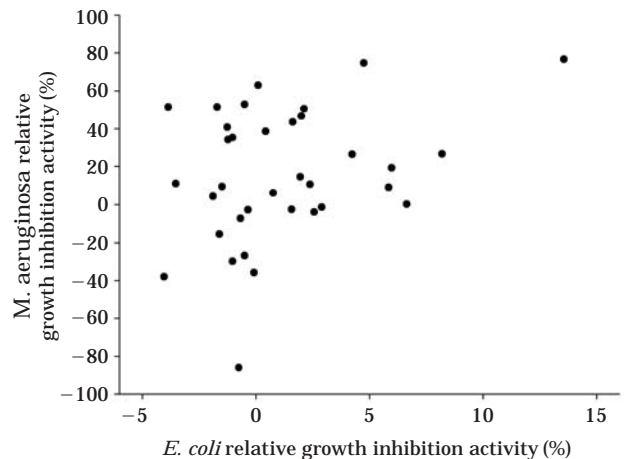


Fig. 4. Linear regression graph between growth inhibition activity for *E. coli* JM 109 and *M. aeruginosa* UTEX 2385; $R^2=0.098$, $P=0.0676$, Gradient value=2.9908.

and Nicklisch, 2002).

이전 연구에서 페놀 계통 화합물의 자동 산화와 같은 라디칼 생성이 남세균류의 성장을 저해할 수 있음이 제기된 바 있다 (Nakai *et al.*, 2001). 이는 라디칼이 소거되거나 제거되지 못할 경우 남세균류의 억제 효과가 낮아질 수 있음을 시사한다. 그러나 본 실험 결과에 대한 선형회귀분석은 식물 추출물이 라디칼을 소거하는 것과 남세균 성장을 억제 하는 기작은 서로 상관성이 없는 것으로 나타났다 (Fig. 3).

한편, 향신료인 파슬리 (*Petroselinum crispum*)와 고수 (*Coriandrum sativum*)의 추출물은 항산화 활성과 대장

균 생장억제를 보인다(Wong and Kitts, 2006; Yeo *et al.*, 2006). 합성 항산화제인 BHA 역시 항균 활성이 보고된 바 있으며, 허브 식물들도 양의 상관성을 보이는 것으로 밝혀진 바 있다(Basile *et al.*, 2005; Shan *et al.*, 2007). 본 연구 결과에서도 선형회귀분석 결과 DPPH 소거 활성과 대장균(*E. coli*) 억제 활성 간에 상호 연관성은 다소 부족했으나 약하게나마 양의 상관성을 보였다(Fig. 2). 또한 남세균(*M. aeruginosa*) 생장억제 활성과 대장균의 생장억제 활성 간의 선형회귀분석에 따른 기울기 값은 2.9908 으로서 약한 양의 상관이 나타났다(Fig. 4).

위에 논의된 바와 같이 수생식물의 추출물은 다양한 생물학적 활성을 나타낸다. 다만 추출용매의 차이나 식물체 부위에 따른 활성차이 측정 방법 등에 따라 상이한 활성 차이가 나타날 수 있다(Kumer and Gopal, 1999; Alves *et al.*, 2000; Alzoreky and Nakahara, 2003; Navarro *et al.*, 2003; Wong and Kitts, 2006; Jung *et al.*, 2008). 또한 식물의 생육환경이나 계절적 차이, 경쟁 생물 종의 여부와 같은 환경적인 차이로 인해서 활성 물질 생성의 차이가 발생할 수 있으므로 식물체 추출물의 활성 여부에 대한 설명에 있어서도 조심해야 되는 부분이 있다(Gross, 2000, 2007; Hilt (nee Körner), 2006; Nam and Park, 2007; Nam *et al.*, 2008). 그리고 본 연구에서 밝혀진 바와 같이 순채와 같이 여러 가지 활성을 나타내는 수생식물에 대하여는 보다 정밀하고 자세한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 남세균에 대한 생물학적 배양실험의 경우 이를 정량적으로 간소화 할 수 있는 방법도 고안되어야 할 것으로 보인다.

적 요

수생식물이 가지고 있는 타감물질과 타감작용을 알아보기 위하여 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능과 대장균(*Escherichia coli*)과 남세균(*Microcystis aeruginosa*)에 대한 생장억제 활성을 분석하였다. 그 결과 고마리(*Persicaria thunbergii*), 물여뀌(*P. amphibia*)와 마름(*Trapa japonica*), 이삭물수세미(*Myriophyllum spicatum*), 순채(*Brasenia schreberi*)가 라디칼 소거 활성을 나타냈으며, 순채, 마름, 물여뀌, 이삭물수세미 등은 남세균에 대한 높은 생장억제 활성을 나타냈다. 반면 순채를 제외한 다른 수생식물의 추출물은 대장균의 생장에 대한 억제 활성이 나타나지 않았다. 수생식물 추출물에 대한 타감작용에 대한 상관 분석 결과, DPPH 라디칼 소거 활성으로 측정된 항산화 활성과 남세균 생장억제 활성간에는 양의 상관

이 있는 것으로 나타났다. 반면에 수생식물 추출물의 대장균에 대한 생장억제는 다른 활성 결과와 상관성이 낮은 것으로 나타났다. 본 연구의 결과를 이용하면 수생식물체의 남세균에 대한 타감작용은 DPPH에 의한 항산화성 검정을 이용하는 간편하고 신속한 검사로 대체 될 수 있을 것으로 보인다.

사 사

본 연구는 한국연구재단의 연구비(No. R01-2006-11096-0)를 지원받아 일부 수행되었으며, 첫 번째 저자인 권성호의 아주대학교 석사 논문의 일부로 작성되었다. 본 연구에서 항산화성 분석에 많은 도움을 준 경희대학교 식물대사연구센터 방명호 박사님과 송명중 박사님께 고마움을 표시한다. 그리고 본 원고의 심사를 맡아 주신 세분의 심사자님들께도 감사드린다.

인 용 문 헌

- Alves, T.M. de A., A.F. Silva, M. Brandão, T.S.M. Grandi, E. de F.A. Smânia, A.S. Júnior and C.L. Zani. 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* **95**(3): 367-373.
- Alzoreky, N.S. and K. Nakahara. 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed on Asia. *International Journal of Food Microbiology* **80**: 223-230.
- Basile, A., L. Ferrara, M.D. Pezzo, G. Mele, S. Sorbo, P. Bassi and D. Montesano. 2005. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. *Journal of Ethnopharmacology* **102**(3): 32-36.
- Bushmann, P.J. and M.S. Ailstock. 2006. Antibacterial compounds in estuarine submersed aquatic plants. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **331**: 41-50.
- Choi, J.-S., J.-H. Lee, H.-J. Park, H.-G. Kim, H.-S. Young and S.I. Mun. 1993. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus davidiana*. *Korean Journal of Pharmacognosy* **24**(4): 299-303.
- Choi, Y.-H., M.-J. Kim, H.-S. Lee, C. Hu and S.-S. Kwak. 1997a. Antioxidants in leaves of *Rosa rugosa*. *Korean Journal of Pharmacognosy* **28**(4): 179-184.
- Choi, Y.-H., M.-J. Kim, H.-S. Lee, B.-S. Yun, C. Hu and S.-S. Kwak. 1997b. Antioxidative compounds in aerial parts

- of *Potentilla fragarioides*. *Korean Journal of Pharmacognosy* **29**(2): 79-85.
- Eaton, A.D., L.S. Clesceri, E.W. Rice and A.E. Greenberg. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th (ed.). 10.18-10.21.
- Elakovich, S.D. and J.W. Wooten. 1987. An examination of the phytotoxicity of the water shield, *Basenia schreberi*. *Journal of Chemical Ecology* **13**(9): 1935-1940.
- Gibson, M.T., I.M. Welch, P.R.F. Barrett and I. Ridge. 1990. Barley straw as an inhibitor of algal growth II: Laboratory studies. *Journal of Applied Phycology* **2**(3): 241-248.
- Greca, M.D., P. Monaco, L. Previtera, G. Aliotta, G. Pinto and A. Pollio. 1989. Allelochemical activity of phenylpropanes from *Acorus calamus*. *Phytochemistry* **28**(9): 2319-2321.
- Gross, E.M. 2000. Seasonal and spatial dynamics of allelochemicals in the submersed macrophyte *Myriophyllum spicatum*. *Verhandlungern der Internationalen Vereinigung fur Limnologie* **27**: 2116-2119.
- Gross, E.M., D. Erhard and E. Iványi. 2003. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *intermedia* (Wolfgang) Casper. *Hydrobiologia* **506-509**(1-3): 583-589.
- Gross, E.M., S. Hilt, P. Lombardo and G. Mulderij. 2007. Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton-state of the art and open question. *Hydrobiologia* **584**: 77-88.
- Hilt, S. 2006. Allelopathic inhibition of epiphytes by submerged macrophytes. *Aquatic Botany* **85**: 252-256.
- Jung, H.A., Y.J. Jung, N.Y. Yoon, D.M. Jeong, H.J. Bae, D.-W. Kim, D.H. Na and J.S. Choi. 2008. Inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* leaves on rat lens aldose reductase, advanced glycation end products formation, and oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology* **46**: 3818-3826.
- Jung, S.J., D.-H. Kim, Y.-H. Hong, J.-H. Lee, H.-N. Song, Y.-D. Rho and N.-I. Baek. 2007. Flavonoids from the flower of *Rhododendron yedoense* var. *Poukhanense* and their antioxidant activity. *Archives of Pharmacal Research* **30**(2): 146-150.
- Körner, S. and A. Nicklisch. 2002. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes. *Journal of Phycology* **38**: 862-871.
- Kumer, S. and K. Gopal. 1999. Screening of plant species for inhibition of bacterial population of raw water. *Journal of Environmental Science and Health* **A34**(4): 975-987.
- Li, F.M. and H.Y. Hu. 2005. Isolation and characterization of a novel antialgal allelochemical from *Phragmites communis*. *Applied and Environmental Microbiology* **71**(11): 6545-6553.
- Lim, B.-J., W.-H. Jheong, M.-S. Byeon and S.-O. Jun. 2000a. Inhibitory effect of *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) growth by in vitro. *Korean Journal of Limnology* **33**(2): 136-144.
- Lim, B.-J., W.-H. Jheong and S.O. Jun. 2000b. Enclosure experiments on the effects of various plant on algae. *Korean Journal of Limnology* **33**(3): 304-310.
- Lindström, K. 1983. Selenium as a growth factor for plankton algae in laboratory experiments and in some Swedish lakes. *Hydrobiologia* **101**: 35-48.
- Martin, D. and I. Ridge. 1999. The relative sensitivity of algae to decomposing barley straw. *Journal of Applied Phycology* **11**(3): 285-291.
- Mathworks Inc. 2007. MATLAB-The language of technical computing. Release 7.4.0 (R2007a). Mathworks Inc. Natick, MA, USA.
- Miller, J. 1972. Experiments in molecular genetics. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor. N.Y.
- Molish, H. 1937. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere Allelopathie. 132pp. *Fisher Jena*. (English edition published in 2001).
- Mulderij, G., W.M. Mooij, A.J.P. Smolders and E. van Donk. 2005. Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides*. *Aquatic Botany* **82**: 284-296.
- Mulderij, G., B. Mau, E. van Donk and E.M. Gross. 2007. Allelopathic activity of *Stratiotes aloides* on phytoplankton-towards identification of allelopathic substance. *Hydrobiologia* **584**: 89-100.
- Muller, C.H. 1966. The role of chemical interaction (allelopathy) in vegetational composition. *Bulletin of Torrey Botanical Club* **93**(5): 332-351.
- Nakai, S., Y. Inoue, M. Hosomi and A. Murakami. 1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. *Water Science* **39**(8): 47-53.
- Nakai, S., Y. Inoue, M. Hosomi and A. Murakami. 2000. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. *Water Research* **34**(11): 3026-3032.
- Nakai, S., Y. Inoue and M. Hosomi. 2001. Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenol. *Water Research* **35**(7): 1855-1859.
- Nakai, S., S. Yamada and M. Hosomi. 2005. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*. *Hydrobiologia* **543**: 71-78.
- Nam, S. and S. Park. 2007. Inhibition of submerged Macrophytes on phytoplankton II. Algal growth experiments with water and plant extracts. *Korean Journal of Limnology* **40**(4): 520-526.

- Nam, S., S. Joo, S. Kim, N.-I. Baek, H.-K. Choi and S. Park. 2008. Induced metabolite changes in *Myriophyllum spicatum* during co-existence experiment with the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Plant Biology* **51**(5): 373-378.
- Nascimento, G.G.F., J. Locatelli, P.C. Freitas and G.L. Silva. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology* **31**: 247-256.
- Navarro, M.C., M.P. Monntilla, M.M. Cabo, M. Galisteo, A. Cáceres, C. Morales and I. Berger. 2003. Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in izabal for infectious diseases. *Phytotherapy Research* **17**: 325-329.
- Newman, J.R. and P.R.F. Barrett. 1993. Control of *Microcystis aeruginosa* by decomposing barley straw. *Journal of Aquatic Plant Management* **31**: 203-206.
- Park, M.-H., B.-H. Kim, M.-S. Han, C.-Y. Ahn, B.-D. Yoon, and H.-M. Oh. 2005. Algicidal effects of Korean oak trees against the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Korean Journal of Limnology* **38**(4): 475-481.
- Shan, B., Y.-Z. Cai, J.D. Brooks and H. Corke. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extract. *International Journal of Food Microbiology* **117**: 112-119.
- Sharififar, F., M.H. Moshafi, S.H. Mansouri, M. Khodashenas and M. Khoshnoodi. 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control* **18**: 800-805.
- Stamp, N. 2003. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *Quaternary Review of Biology* **78**(1): 23-25.
- Su, L., J.-J. Yin, D. Charles, K. Zhou, J. Moore and L. Yu, 2007. Total phenolic contents, chelating capacities. and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, roseip, cinamon and oregano leaf. *Food Chemistry* **100**: 990-997.
- Trouillas, P., C.-A. Calliste, D.-P. Allais, A. Simon, A. Marfak, C. Delage and J.-L. Duroux. 2003. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry* **80**: 399-407.
- Whittaker, R.H. and P.P. Feeny. 1971. Allelochemicals: Chemical interactions between species. *Science* **171**(3973): 757-770.
- Wong, Y.Y.P. and D.D. Kitts. 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry* **97**: 505-515.
- Wu, Z.B., P. Deng, X.H. Wu, S. Luo and Y.N. Gao. 2007. Allelopathic effects of the submerged macrophyte *Potamogeton malaianus* on *Scenedesmus obliquus*. *Hydrobiologia* **592**: 465-474.
- Yen, G.C. and H.Y. Chen. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**: 27-32.
- Yeo, E.-J., K.-T. Kim, Y.S. Han, S.-Y. Nah and H.-D. Paik. 2006. Antimicrobial, anti-inflammatory, and anti-oxidative activities of *Scilla scilloides* (Lindl.) druce root extract. *Food Science and Biotechnology* **15**(4): 639-642.
- Zhou, S., S. Nakai, M. Homomi, Y. Sezaki and M. Tominaga. 2006. Allelopathic growth inhibition of cyanobacteria by reed. *Allelopathy Journal* **18**(2): 277-285.

(Manuscript received 14 July 2011,
Revised 13 March 2012,
Revision accepted 14 March 2012)