

블루민의 적조생물 제거와 성장저해능

곽승국 · 정민경 · 이언기¹ · 조경제^{2*}

(인제대학교 생물학과, ¹(주)비비테크노, ²인제대학교 낙동강환경연구센터)

Removal and Growth Inhibition of Red-tide Organisms by Blue-Min Treatment

Seung-Kuk Kwak, Min Kyung Jung, Eun Ki Lee¹ and Kyung-Je Cho^{2*}

Department of Biology, Inje University, Gimhae 621-749,

¹BB Techno Co., Saengrim-myon Gimhae 621-823 and

²Nakdong River Environmental Research Center, Inje University, Gimhae 621-749, Korea

Blue-Min was initially developed as an adsorbent for harmful gas removal and recently improved to apply to livestock, agriculture and aquaculture as an assistant feed. In the Blue-Min treatment, growth of harmful algae (*Cochlodinium polykrikoides* and the others causing the red-tide in the ocean) were inhibited below 10% in comparison with control and coagulation removal of harmful algae with Blue-Min treatment was more efficient than that of yellow loess treatment. It would be expected that the Blue-Min can be useful for the extirpator against the red-tide organisms and restrain the toxic algal growth around the fish aquaculture using the assistant feed. Recently, its utility has become to be diverse as it was revealed that aquaculture productivity increase by its application and, in addition, that it improve the water quality or sediment conditions in the aquaculture of Chinese White Shrimp. When Blue-Min was treated with the proper dose, the growth inhibition of *Microcystis aeruginosa* and *Isochrysis galbana*, which are typical red-tide organisms in freshwaters and food organisms in aquaculture, respectively, were less than that of marine red-tide organisms, while their growth slightly increased with low concentration treatment. In addition, polyunsaturated fatty acids (PUFA) content of *I. galbana* slightly increase with the Blue-Min treatment. Through our research, the Blue-Min has diverse and complex function against various biological organisms and is proved as a biological activator or depressor.

Key Words: algal growth inhibition, bioactivator, Blue-Min, red-tide depression

서 론

남해안에서 주로 발생하는 적조는 1995년부터 발생규모가 커지고 광역화되어 매년 여름마다 양식장에 직접적 피해를 입히고 있다(이 등 2002a). 해양에서 적조발생 규모와 빈도가 높아지고 유독조류가 발생하는 현상은 수질오염이 점진적으로 증가한 증거이다. 현재까지 국내 연안에서 적조를 일으키는 조류는 40여 종으로 알려져 있으며 매년 크고 작은 피해를 입혀 왔다. 연안 수질의 악화와 적조발생은 국내의 해상가두리 양식 뿐 아니라 육상 수조양식에 직간접 피해를

입혀 왔으며, 치어와 양성어의 생존율 감소, 어류질병의 증가 등 양식어업의 효율을 떨어뜨리고 패류의 성장과 종묘생장을 위협하고 있다(노 등 1994, 국립수산진흥원 1997). 국내에서는 적조가 발생하기까지 적조 예찰 및 감시 시스템을 강화하고 적조 발생시 적조생물을 응급처리하거나 제거하는데 황토(yellow loess)를 널리 사용하여 그 피해를 경감시켜 왔다(이 등 2002b). 적조 발생의 빈도가 높아지면서 그동안 적조 방제에 관한 화학적, 생물학적, 물리적 방법 등 다양한 방법이 개발되어 왔다. 해양오염에 관한 한 오페수의 해양 유입량을 감소시키는 등 근원적 대책이 수립되어야 하지만 적조 발생 시 응급방제처리, 수질오염에 따른 양어장의 피해 경감, 퇴적 저질토양의 개량 등 적조와 해양환경 개선에 대한 다양한 대처 방안이 마련되어야 한다.

*Corresponding author (kjcho@inje.ac.kr)

한편, 내륙의 호수와 하천에서는 고수온기에 *Microcystis* 남조류의 대발생으로 인하여 수질이 악화되고 있다. 담수조류를 제거하는 방법에는 황산동, alum, 석회, 염소화합물 등이 시도되어 왔고 최근에는 황토, 황토 가공제, 다공성 규산 칼륨계 화합물, 초음파 등이 활용되기도 하였다(박 등 2001). 특히 석회는 P의 화학적 제거 뿐 아니라 남조류를 감소시키는 등 호수의 수질관리에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Lam and Prepsa 1997). 국내에서는 *Microcystis* 남조류 발생으로 인한 악영향이 증가하고 있으나 현재까지 효과적인 수단을 갖고 있지 못하고 있다.

블루민(Blue-Min)은 카렌(KA-LEN)이라는 제품으로 1996년 11월에 유해가스 흡착처리액으로 특허를 받아 1997년 2월부터 생산하였다. 이를 가축에 보조사료로 사용할 수 있도록 개량하여 2차 특허제품으로 등록하였고, 초기에는 주로 축산 특히 양돈의 보조사료로 보급되었다. 이후 분뇨에서 발생하는 유해가스, 악취를 제거하는 효과가 있었으며, 면역기능향상, 불포화 지방산 비율의 증가, 체중 증가 등 생리활성 효과가 있는 것이 입증되었다(주식회사 카렌 1997). 블루민은 여타 미생물 보조제와는 성분과 제조방법이 전혀 다른 상품으로서 강력한 생리활성효과를 갖는다. 천연물과 미네랄의 분자 원자가 갖는 양·음이온의 결합과 분리 과정에서 파생되는 일정량의 원적외선 파장력의 차이가 단위세포에 따라 반응력이 다른 점을 응용한 신기술에 의해 제조되었다.

한편, 벼 등 농작물을 대상으로 수차례 포장적용 실험결과 식물의 생육촉진과 내병성이 있는 것으로 나타났다. 농작물에 대한 카렌의 병저항성, 항균활성과 생육촉진의 효과가 있음이 입증되었다(생명공학연구소 1998). 그 이후 작물 뿐 아니라 포도 등 과수재배에도 확대 판매되어 보급량이 증가되고 있다. 카렌은 식물보호제이면서 토양활성 개량제로서 기능도 있는 것으로 농가 보급과정에서 확인되었다. 최근에는 과일의 저온 저장 시 그 기간을 연장시키거나 과일의 신선도를 유지시키는데 효능도 있는 것으로 평가되는 등 그 용도가 점차 확대되고 있다.

블루민은 종래 카렌 제품을 해양환경개선제로 개량시킨 상품으로서 현재까지 나타난 생리활성 기능으로 볼 때 해양환경 개선, 즉 적조생물의 퇴치, 해양 저질토양의 개량, 양식장의 수질오염을 예방하고 어류의 항균성을 높여 생산성을 증가시킬 것으로 예상된다. 수질 및 저질개선제로서의 활용 가능성은 간이테스트 시험에서 1차 확인하였으며 이를 규명하여 상품의 용도를 확대하려 하였다(한국과학재단 2001).

본 연구는 환경친화적이고 안전한 해산물을 생산 할 수 있는 성장촉진제를 개발하려는 추세에 맞추어 이미 개발되어 양돈 및 농산물 재배에서 효과가 검증된 본 제품을 양식장에 적용함으로써 제품의 용도를 확대하는 근거 자료를 마련하는데 목적이 있다. 더불어, 생리활성물질인 "블루민" 상품

을 해양오염으로 파생되는 문제 - 적조생물 방제와 성장억제, 양어장의 적조피해경감, 양어장 보조사료화, 해양 저질토의 오염 개량개선 - 등 문제에 그 효과를 검증하고 새로운 용도를 개발하고 보급을 확대하여 상품화 근거자료를 마련하고자 하였다. 본 연구에서는 주로 적조생물의 제거능과 성장저해 정도를 검증하고, 먹이생물의 지방산 조성 등에 미치는 영향을 측정하였다.

재료와 방법

분석시료와 조류의 배양

실험에 사용된 해양적조생물은 *Cochlodinium polykrikoides* 외 7종(*Alexandrium catenella*, *Gymnodinium sanguineum*, *Gyrodinium impudicum*, *Prorocentrum minimum*, *Scrippsiella trochoidea*, *Heterosigma akashiwo*, *Pseudonitzschia pungens*), 담수조류 *Microcystis aeruginosa* 1종, 먹이생물 *Isochrysis galbana*로서 총 10종류였다. 적조생물과 *I. galbana*는 f/2배지(Guillard and Ryther 1962), *M. aeruginosa*는 MA 배지(Ichimura 1978)에서 각각 배양하였고, 적조생물과 *I. galbana*는 $130-150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, *M. aeruginosa*는 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 광조건에서 14L:10D 광주기로 배양하였으며 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 온도를 유지하였다.

해양적조생물과 담수조류는 micromanipulator(Narishige Co.)와 capillary glass tube를 이용하여 조류의 단세포를 분리하여 배지에서 각각 35일과 7일 동안 배양하였다. 특히, *M. aeruginosa*를 배양하면 점액질과 군체가 없어지고 단세포로 되었다.

한편, 먹이생물에 대한 블루민의 효과를 검증하기 위하여 *Isochrysis galbana*를 실내 배양했다. 5l 아르킬 원통 배양기에 약 4l를 배양시켰으며 접종농도는 $1.5-2.0 \times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{ml}^{-1}$ 였으며 5-8일 후에는 정체기에 도달하였다. 정체기 초기에 시료를 수확하였다. *I. galbana*는 한국해양미세류은행(KMCC)에서 KMCC H-2 strain(source는 DE-5 starin)을 분양받아 배양하였다. 먹이생물(*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Monochrysis* sp., *Nannochloropsis oculata*, *Phaeodactylum tricorutum*)의 대량 배양은 국립수산진흥원 산하 남해수산배양장과 민간 종묘장에서 먹이생물을 공급받았다. 남해배양장에서는 0.5톤 이하 수조에서는 Conway 배지를 사용하였으며, 그 이상 배양 수조에서는 농업용 비료를 사용하였다. 민간 종묘장에서 먹이생물의 배지는 전량 비료를 사용하였다. 농업용 비료는 배양액 톤당 요소 60g 복합비료 20g을 투여하였다.

블루민의 조류 제거능

블루민의 적조생물 제거율을 측정하기 위하여 500 ml 용기

에 *C. polykrikoides* 1,800 cells·mL⁻¹ 밀도로 넣은 후 블루민(액체)을 50, 100, 200, 400, 800, 1,600, 3,200배 희석 되도록 원액을 첨가하였다. 일정시간 간격으로 시료를 취하여 세포를 계수하였다.

한편, 서낙동강에서 *Microcystis* 남조류가 대발생한 시기에(2001년 8월 26일) 하류지역의 녹산에서 조류를 채취하여 200 µm mesh net로 여과하여 5 l 비이커에 넣었다. 블루민, 제강슬래그(slag), 황토(yellow loess), 수처리제(CaO, Ca(OH)₂, Mg(OH)₂, 응집제(PAC, polyacrylamide)와 황산(H₂SO₄)을 첨가한(블루민과 황산은 500-5,000 mg·l⁻¹ 농도, 다른 처리제는 1,000 mg·l⁻¹) 후 180 rpm 급속으로 5분, 40 rpm 완속으로 10분 동안 각각 교반하였다. 상등액을 시간대별로 채취하여 형광(Turner AU-10)을 측정하여 조류제거율을 측정하였다.

적조생물(해양 및 담수)의 성장에 미치는 영향

블루민이 적조생물의 성장에 미치는 영향을 측정하기 위하여 블루민의 1,000배 희석 배양액(f/2배지 100 ml)에 *C. polykrikoides*를 접종하고 성장을 관찰하였다. 블루민 원액의 500, 1,000, 2,000, 4,000, 8,000, 16,000배 희석액과 대조구를 각각 준비하였다. 2일 간격으로 적조생물의 세포를 계수하였다. 한편 *Alexandrium catenella* 등 7종 적조생물의 성장에 대한 블루민의 영향을 측정하기 위하여 블루민 1,000배 희석액에서 각각 배양하였다. 담수조류 *M. aeruginosa*의 배양 시 블루민을 처리하여 블루민이 담수조류의 성장에 미치는 영향을 조사하였다.

먹이생물의 영양가 분석

국내에서 어류 및 패류 먹이로 이용되는 먹이생물의 영양가를 파악하기 위하여 *I. galbana* 이외 4종의 먹이생물(*Chaetoceros calcitrans*, *Monochrysis* sp., *Nannochloropsis oculata*, *Phaeodactylum tricornerutum*)을 분석하였다. 총지질(total fatty acid, TFA) 정량은 Bligh and Dyer(1959) 방법에 따랐다. 배양한 시료는 원심분리(4°C, 2000 rpm, 10 min)하여 조체만 모은 pellet 상태로 추출전까지 액체질소에서 보관하였다. Pellet에 3차 증류수를 가하고 원심분리하여(4°C, 4000 rpm, 10 min or 5000 rpm, 5 min) 염분을 제거하였는데 이를 2-3회 반복하였다. 염분을 제거한 pellet에 3차 증류수를 적당량(4-10 ml) 넣고 잘 혼합시킨 후 100°C에서 5분간 끓였다. 시료를 방냉한 후 methanol 10 ml을 넣고, ultrasonicator로 30초간 3-4회 반복하여 세포를 분쇄시켰다. 여기에 chloroform을 5 ml씩 2회 넣고 완전히 혼합시킨 후, 1% NaCl 4 ml을 넣고 혼합시켰다. 이것을 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 chloroform층과 수층을 분리시키고 chloroform층만 수거하였다. 시료의 건중량은 GF/C로 여과한 여과지를 70°C에서 3일

간 건조시켜 측정하였다.

GC(HP 6890, HP-INNOWax 30m × 0.25 mm × 0.25 m 칼럼)로 지방산을 분석하였다. Chloroform층을 N₂ gas로 휘발시킨 후, BF₃ methanol 500 µl와 heptadecanoic acid(C17:0) 50 µl를 가하여 70°C에서 5분간 반응시킨 후 실온에서 냉각시켰다. Hexane 4 ml을 넣고 혼합시킨 후, 3차 증류수 5 ml을 가하였다. 두 층으로 분리되도록 안정화시킨 후 hexane층을 수거했다. 여기에 무수황산나트륨(Na₂SO₄) 0.8g을 넣어 혼합시킨 뒤 수분을 제거하기 위하여 30분간 방치하였다. Hexane층만 수거하여 N₂ gas로 휘발시키고, 여기에 hexane 100 µl를 가하여 녹였다. 1 µl를 gas chromatography(HP 6890)에 injection하여 지방산을 분석하였으며 지방산의 동정은 GC mass와 표준지방산 methyl ester mixture(Sigma 189-19)를 이용하여 식별하였다.

결 과

해양 적조생물과 담수조류 제거율

블루민을 *Cochlodinium polykrikoides* 배양액에 첨가하였을 때 800배 희석액보다 높은 농도에서는 황색 침전물을 형성하였으나 1,600 및 3,200배 희석액에서는 수중에 옅은 황색 막을 만들었다. 블루민 50배 희석액에서는 세포 모양이 심하게 변형되고 운동력이 없어서 침전물에는 세포가 고밀도로 묻혀져 있었다. 그러나 침전물이 없는 곳에서는 세포를 관찰할 수 없었다. 200배 희석액에서는 침전물이 다소 적었고 움직이는 세포도 관찰할 수 있었다.

블루민을 적조생물에 처리하였을 때 처리 농도별 *C. polykrikoides* 제거율은 Fig. 1과 같다. 50배 및 100배 희석액에서 5분 후 제거율은 각각 75% 및 87%였으며 400배에서는 49%였다. 1,600배, 3,200배 희석액에서는 블루민을 처리하지 않은 대조구와 비슷하였다. 800배 희석처리시 60분 후에 적조생물을 98% 이상 제거하였으나, 1,600배 희석액 이상에서는 적조생물 제거효율이 15% 이하였다.

블루민을 멸균해수에 희석하였다. 멸균해수의 pH는 9.0이었으나 블루민 800, 200 및 50배 희석액에서 pH는 각각 7.1, 6.3 및 3.8이었다. 블루민의 효과를 황토와 비교하기 위하여 황토에 의한 적조생물의 제거율을 측정하였다. 해수 1 l에 대하여 10 g 비율로 황토를 입자 크기 별로 처리하였다. 직경 0.5 mm 이상 황토 입자의 적조제거효과는 50% 이하였으나 120 µm 이하 입자에서는 78%까지 제거되었다. 블루민과 황토의 효과를 단순 비교하면 블루민이 황토보다 적조제거효과가 매우 신속하게 나타났고 그 효율도 높았다.

담수 녹조를 일으키는 *Microcystis* 남조류의 제거율을 측정 한 결과 블루민 200 및 1,000 배 희석액에서는 대조구와 비교하여 각각 87% 및 64% 감소하였다. 입자 크기 120 µm 이상

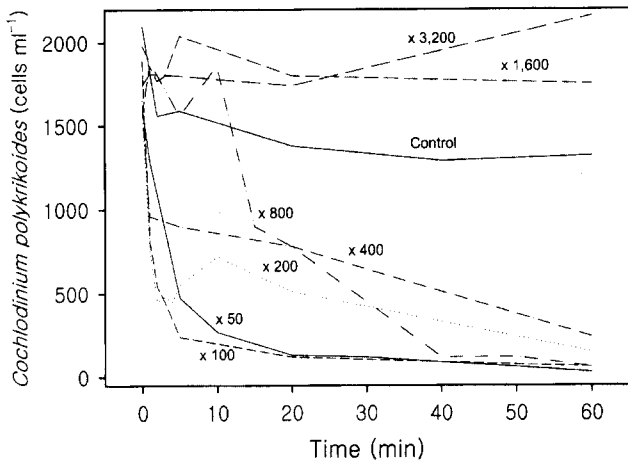


Fig. 1. Removal of cultured *Cochlodinium polykrikoides* according to the different treatment concentration (one control and seven dilution rate) of Blue-Min.

황토 처리구에서 형광값은 대조구와 비교하여 도리어 증가하였으나 120 μm 이하 입자 크기의 황토를 처리하였을 때 형광값은 대조구와 비슷하였다. 그러나 CaO , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 및 PAC를 처리하였을 때 *Microcystis* 생물량은 대조구에 비교하여 크게 감소하였고 제거효과는 $\text{Mg}(\text{OH})_2 < \text{CaO} < \text{Ca}(\text{OH})_2 < \text{PAC}$ 의 순이었다. 황산을 담수조류 제거제로 간주하고 처리하였을 때 500 및 1,000배 희석액에서 형광은 각각 7.5, 4.3 및 2.7로서 대조구(8.2)에 비하여 감소하였다.

녹조 제거제를 처리하였을 때 담수의 pH를 보면 대조구는 8.9, 슬래그와 황토 처리구에서는 각각 8.7-9.3 및 7.2-8.1 범위로서 대조구와 큰 차이가 없었으나 블루민 200, 1,000 및 2,000배 희석액에서 pH는 각각 6.1, 6.9 및 8.3이었다. CaO 처리하였을 때 pH 평균값이 11.2, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 는 11.8, $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 는 10.1로 크게 증가한 반면 PAC를 처리하였을 때 pH 평균값이 5.5이었다.

해양 적조생물 및 담수조류의 성장 억제효과

C. polykrikoides 배양구에 블루민을 농도별로 처리하여 26일 동안 배양하였을 때 블루민 무처리 대조구와 대비시킨 적조생물의 생장은 Fig. 2와 같다. 500배 희석액에서는 접종 2일 후 세포가 모두 사멸하였으며, 1,000배에서는 생장이 0.21이었고 최대 세포밀도는 대조구의 8%에 불과하였다. 그러나 2,000배 희석액에서 최종 세포밀도는 대조구의 56%에 달하였으며, 8,000배 이상 희석액에서는 대조구와 큰 차이가 발견되지 않았다. 그러나 8,000배 또는 16,000배 희석액에서도 *C. polykrikoides*의 성장을 억제시키는 효과는 나타났다. 본 실험에서는 블루민의 희석배율을 2배씩 증가시켜 처리하였는데 1,000배 이하 희석액에서는 적조생물 억제효과가 현저했

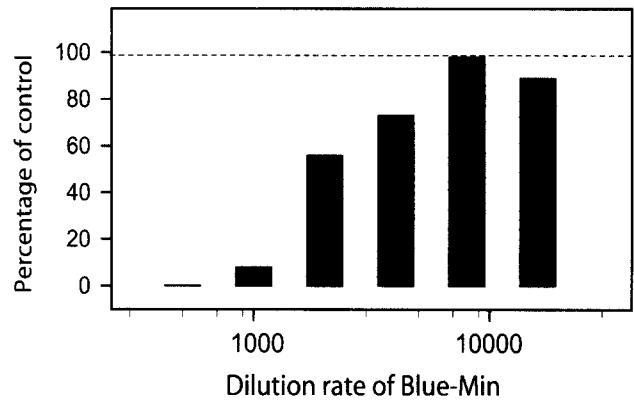


Fig. 2. Relative growth of *Cochlodinium polykrikoides* treated with Blue-Min dilution.

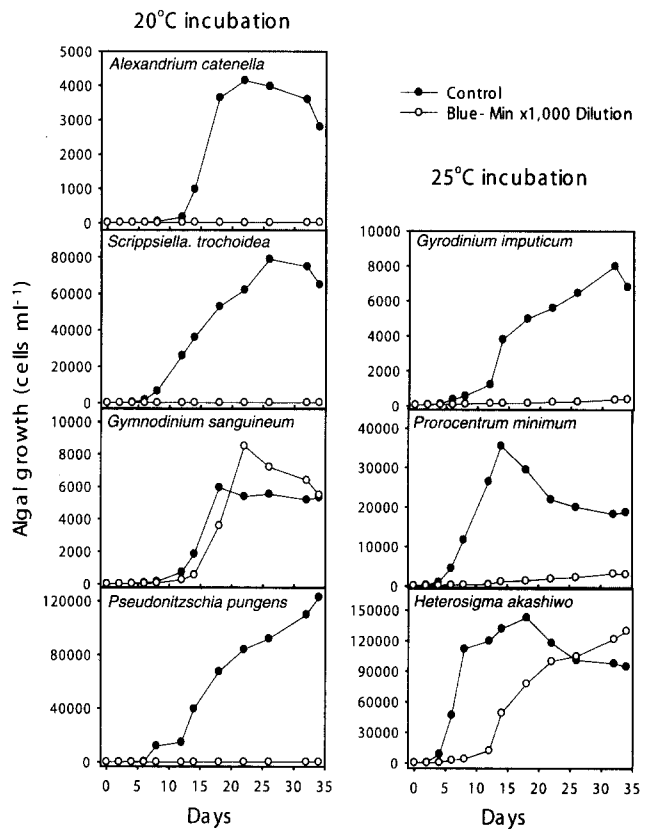


Fig. 3. Growth curves of seven cultured red-tide organisms under 1,000-fold dilution treatment and no treatment (control) of Blue-Min.

으나, 2,000배 희석액에서는 그 효과가 1,000배와 비교하였을 때 크게 감소하였다.

블루민 1,000배 희석액에서 적조생물 7종의 성장을 측정 한 결과는 Fig. 3과 같다. *Alexandrium catenella*, *Scrippsiella trochoidea*, *Gyrodinium impudicum*, *Prorocentrum minimum* 외편모조류 4종과 *Pseudonitzschia pungens* 규조는 블루민의 성장 억제효과가 뚜렷하였고 성장곡선이 유사하였다. 그러나 블루민 처리구에서 외편모조류 *Gymnodinium sanguineum*의 최

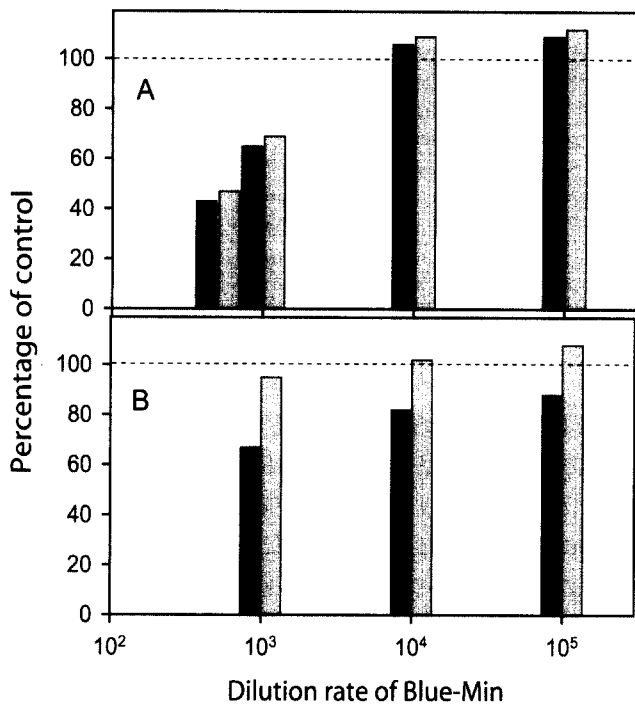


Fig. 4. Relative growth of *Microcystis aeruginosa* (A) and *Isochrysis galbana* (B). Black bars: without pH adjustment after Blue-Min treatment, gray bars: pH adjustment after Blue-Min treatment.

종 생장은 대조구와 비교하여 증가하였고, 라피도조류인 *Heterosigma akashiwo*는 배양초기에는 억제되었으나 후기에는 증가곡선을 그렸다. *G. sanguineum*도 배양 초기에 약간의 억제효과가 있어 두 종의 블루민에 대한 반응에 유사한 점이 있었다. *G. sanguineum*과 *H. akashiwo*는 억제율로 본 결과, 블루민 1,000배 희석액에서 *A. catenella* 등 5종의 생장은 블루민을 처리하지 않은 대조구와 비교하면 0.3-4.6%에 불과했다. 그러나 *G. sanguineum*의 생장은 대조구에 비하여 157% 촉진되었고, *H. akashiwo*는 대조구에 비하여 55%로서 억제가 미미하였으나 Fig. 3에서 보는 바와 같이 배양 후반부에는 블루민 희석액에서 생장이 다소 증가하였다.

한편, 블루민의 담수조류 *M. aeruginosa*의 생장에 미치는 영향은 Fig. 4와 같다. MA 배지에 블루민 500배 (pH 7.4), 1,000배, 10,000배 및 100,000배 (pH 8.5) 희석한 실험구와 0.1 N NaOH 용액을 사용하여 배지의 초기 pH 8.6으로 조정된 실험구로 구별하여 측정하였다. pH를 조정된 10,000배와 100,000배 희석 처리구에서는 각각 9%와 12%가 생장이 증가한 반면 500배 희석구에서는 52%, 1,000배에서는 31% 감소하였다. pH를 조정하지 않은 500배 및 1,000배 희석구에서는 *Microcystis*의 생장은 대조구 대비 각각 57% 및 35% 감소한 반면 10,000배 및 100,000배 희석구에서는 각각 6%와 9% 증가하였다. pH 비조정구가 조정구보다 생장이 다소 감소하

였으나 그 차이는 4-5% 범위로 미미하였다.

먹이생물 성장과 지방산에 미치는 영향

블루민 희석액에 *Isochrysis galbana* $1.45-1.87 \times 10^6$ cells·mL⁻¹을 접종하여 9일 동안 배양한 결과 최종 농도는 $8.97-9.12 \times 10^6$ cells·mL⁻¹로서 초기농도의 4.9-6.0배였다. 대조구, 블루민의 1,000배, 10,000배, 100,000배 희석액에서 *I. galbana*의 성장율(μ_{max})은 각각 1.05, 1.09, 1.11, 1.14로서 블루민 희석배율이 낮을수록 성장율이 다소 감소하였다. 대조구에 대한 1,000배, 10,000배, 100,000배 블루민 희석액에서 세포 농도의 비율은 각각 67%, 82%, 88%였다(Fig. 4). 블루민 처리 후 무처리 대조구와 pH를 같게 조정하였을 때 처리구의 *I. galbana* 세포농도는 대조구의 95%, 102%, 108%였다. 따라서 블루민 첨가 후 pH를 조정했을 때 생장이 증가하였다.

4종 먹이생물의 지방산을 분석한 결과, 먹이생물의 종류에 따라 지방산 조성이 크게 달랐으며 같은 종이라 하더라도 지방산의 함량에 다소 차이가 있었다(Table 1). 불포화지방산(PUFA)의 함량이 가장 많은 먹이생물은 *Nannochloropsis oculata*와 *I. galbana*였다. *N. oculata*의 PUFA 함량은 약 55%였고, *I. galbana*는 35-38% 범위였다.

부르민을 처리하였을 때 대조구와 비교하여 C18:4 octadecatetraenoic acid, C18:2(n-6) linoleic acid, C20:1과 같은 불포화지방산 함량이 다소 증가하고 C14:0 myristic acid 포화지방산은 감소하였다. *I. galbana*의 지방산을 분석한 결과 PUFA인 20:5n-3 eicosapentaenoic acid(EPA)는 검출되지 않았으며, 22:6n-3 decosahexaenoic acid(DHA)의 함량은 미량이었다. 결과적으로 부르민을 처리하였을 때 PUFA의 함량은 대조구 24.6%에 대하여 3% 내의 차이를 보였고, 총지질의 함량도 미처리구의 0.32%에 비하여 0.05% 내 오차로서 증가가 미미하였다. 그러나 *C. polykrikoides* 배양에서는 블루민 처리구가 대조구보다 PUFA 함량이 증가하였다.

고 찰

블루민과 적조생물

해양적조생물에 블루민을 처리한 결과 500-1,000배 희석액에서 적조생물을 직접 제거하는 효과가 높았고, 적조생물의 성장도 억제시켰다. 블루민이 입자와 결합하여 침전시키는 응집력이 강하고 pH를 크게 떨어뜨림으로써 적조생물을 효과적으로 제거시키는 것으로 추정된다. 특히 블루민을 처리하였을 때 블루민 동일농도에서 담수보다도 해수의 pH가 더 낮은 특이 현상이 나타났다. 블루민은 강한 산성물질로서 mineral이 주성분이나 일부 식물추출 유기산을 함유하고 있다. 블루민의 응집력은 유기질과 금속이온에서 유래하는 것으로 추정된다.

Table 1. Fatty acid and total fatty acids (TFA) analyses for marine microalgae (food organisms) and *Cochlodinium polykrikoides*. * C1, C2, Algal seed culture for fish food (C1: 50 l, C2: 4ton volume); C3, Fish culture farm

Fatty acids	<i>Isochrysis galbana</i>			<i>Chaetoceros calcitrans</i>		<i>Monochrysis</i> sp.	<i>Nannochlo-</i> <i>ropsis oculata</i>	<i>Phaeodactylum</i> <i>tricornutum</i>	<i>Cochlodinium polykrikoides</i>			
	C1*	C2	C3	C1	C2				Control	5 ppm**	10 ppm	20 ppm
Saturated (%)	34.9	36.2	38.3	45.8	51.3	67.6	29.0	81.2	48.6	44.5	45.3	38.6
Monoenoic (%)	29.9	27.7	24.1	49.1	41.6	23.2	15.8	17.1	24.4	27.8	29.6	31.4
PUFA (%)	35.2	36.1	37.6	5.1	7.3	9.2	55.4	1.6	26.8	27.8	25.2	30.0
TFA(mg dw g-1)	1.64	0.59	1.72	0.27	0.24	0.35	0.62	0.44	0.30	0.32	0.41	0.31

**Blue-Min concentration

반면, 블루민을 고농도로 처리하였을 때에도 담수 녹조 *M. aeruginosa*의 억제 효과는 높지 않았고, 먹이생물 *I. galbana*의 성장 억제도 크지 않았다(Fig. 4). 이는 블루민을 1,000배 희석(1,000 ppm에 해당)하였을 때, *C. polykrikoides* 등 해양 적조생물의 생장이 거의 정지되거나 억제된 전항의 실험 결과와는 대조적이었다. 그러나 적조생물의 성장억제에 있어서 다른 것과는 달리 *G. sanguineum*, *H. akashiwo*는 초기에 블루민에 대하여 성장 억제 효과가 있었으나 곧 회복하여 무처리구 보다 높은 농도를 유지한 결과로 볼 때 블루민이 미세조류의 생장에 미치는 농도는 종에 따라 다른 것으로 추정된다. 블루민을 저농도로 처리하였을 때 생장이 크게 억제되는가 하면 고농도 처리에서도 무처리구와 유사한 생장을 하는 경우가 있기 때문이다. 미세조류의 종류에 따라 블루민이 생장을 저해시키는 정도와 성장저해에 대한 블루민의 최적 농도가 다른 것 같았다. 조류의 세포 크기, 미세조류 세포벽의 성분 또는 그 조성이 종 별로 다르거나 특이성이 있는 점이 원인 중 하나 일 것으로 생각된다.

블루민은 적조생물 등 미세조류의 생장을 억제시키는 동시에 성장활성 효과도 있었다(Fig. 3). 이런 현상은 주로 블루민을 10,000배 이상 희석 처리하여 저농도로 하였을 때 나타났다. 한편, pH의 영향은 *M. aeruginosa*의 생장에는 미미하였으나 *I. galbana*의 생장에는 컸다. 미세조류의 생장에 미치는 블루민의 영향은 종에 따라 변동이 컸고 조류 세포의 특성에 따라 매우 복잡적이었다.

블루민이 *Cochlodinium* 등 적조생물에 대한 억제력이 높기 때문에 직접 또는 간접 투여하는 방법을 생각해 볼 수 있다. 블루민의 면역 기능향상 및 항균성(주식회사 카렌 1997, 생명공학연구소 1998), 저질 개선(한국과학재단 2001) 기능을 고려해 볼 때 양식장의 보조사료제로 사용하면서 양성어의 면역 기능을 높이고, 수질과 저질을 개선시키고 적조를 사전 예방하는 데 장기적인 효과를 기대할 수 있다. 실제 가두리 양식장, 육상 축양장과 새우 양식장 등 남해안의 천해 양식장에서 주로 사료(pellet 형태) 보조제로 장기간 투입한 현장 실험 결과 양식생물의 생장을 현저히 향상시켰다. 현재까지 블루민은 양어 양식장에 보급이 점차 증가하고 있다.

적조발생시 적조생물을 방제하거나 양식장을 보호하기 위하여 현장에서는 주로 황토가 살포되고 있지만 국내에는 적조 발생규모와 피해가 증가함에 따라 많은 적조 처리제가 개발되어 왔다. 황토를 정제가공하거나 소성시킨 것(김 2002a), 적토 또는 소성 적토(이 등 2002b), 소각재 용융슬래그로부터 얻은 제오라이트 분말(zeofloc)(김 등 2002) 등이 적조제거 효과에 대하여 황토와 그 성능이 비교되었다. 화학제로는 활성 산화칼슘제(백 2002), 해수에서 이온교환방식으로 제조된 수산화마그네슘제(이 2002), 해수 전기분해시의 차아염소산나트륨(NaOCl) 생성물을 이용하는 방법(김 2002b), 수용성 이온화 칼슘제(소 2002) 등이 적조생물 처리제로 개발되었다. 생물학적 처리 방법으로는 유독성 적조생물을 치사시키는 살조(殺藻) 세균을 이용하는 방법이 국내 뿐 아니라 미국과 일본 등지에서 시도되고 있으며(이 등 1998, Doucette 2002, Imai 2002), 미생물에서 대량수확 가능한 당지질 형태의 계면활성제(백 등 2001) 등이 개발되기도 하였다. 그 밖에 초음파를 발생시키고 이를 확산 파급시키는 장치를 사용하는 방법(정 2002) 등이 사용되고 있다. 바다에서 발생하는 적조피해 뿐 아니라 하천과 호수에서도 담수조류의 대발생 빈도가 높아져 이에 대한 처리제가 상업적으로 시판되는 제품이 증가하고 있으며 실험실 수준에서 연구가 활발히 이루어지고 있다. 각종 적조처리제는 일차적으로 객관적 효능 검증이 이루어져야 하겠지만 종류에 따른 처리비용과 그 적용범위가 각각 다르기 때문에 용도에 맞게 사용되어야 할 필요가 있다.

블루민과 먹이생물

먹이생물이란 인공사료나 자연 수계에서 먹이와 구별하기 위한 용어로서 어류를 비롯 갑각류, 패류 등 유용수산생물의 인공 종묘 생산시 이용되는 동·식물플랑크톤을 말한다(노와 정 1995). 국내에서 양식장과 종묘장에서 주로 사용하는 먹이생물은 Table 1과 같다. 양어장에서는 인공사료를 이용하나 종묘 또는 치어 생산에는 배합사료를 사용하기에는 문제점이 많고 양질의 먹이생물이 확보되어야 한다. 특히 종묘 생산과정에서 먹이생물은 대량배양이 용이하고 영양가가 높

아야 하며 소화 흡수가 잘되어야 하는 등의 조건을 갖추어야 한다.

어류, 패류 등 해산생물의 성장에는 먹이생물 중 지방성분이 매우 중요한데 지방은 지질(lipid)과 지방산(fatty acid)으로 구분된다. 먹이생물의 지방 조성은 종묘의 지방조성과 성장에 크게 영향을 미치며 고도불포화지방산은 어류에서는 필수 지방산으로서 그 함량이 먹이생물의 영양가로 평가되고 있다. 블루민을 처리하였을 때 먹이생물의 단백질 함량은 증가하였으나 지방산 함량에는 유의한 차이가 발견되지 않았다.

이상의 실험 결과로 볼 때 블루민을 고농도로 처리하였을 때 먹이생물 *I. galbana*의 생장이 억제되지 않았으며 pH를 조정하였을 경우 도리어 생장이 향상되었다. 이런 결과는 적조생물에 블루민을 처리하였을 때 결과와는 대조적이었다.

*I. galbana*의 지방산 조성은 strain이나 clone에 따라서 변이가 매우 큰 것으로 알려져 있다. Alonso et al.(1992)의 분석결과에 따르면 59개 *I. galbana*의 clone에서 PUFA 함량은 2.6-10.8%(평균 6.6%)였고, 필수 지방산은 2.1-7.9%(평균 4.7%)로서 총 PUFA는 4.5-18.7%(평균 11.3%) 범위였다. 국내에서 *Isochrysis aff. galbana*(CCMP-1324) strain의 지방산 분석결과 EPA와 DHA가 각각 약 8% 및 10% 차지하는 것으로 보고되고 있다(임 등 1999). 그러나 본 실험에 사용한 *I. galbana*의 DE-5 strain은 DHA 또는 EPA 불포화지방산의 함량이 미미하였다.

종합고찰

이상의 결과를 종합하면 블루민은 적조생물을 제거하고 성장을 억제하는 기능이 우수하였다. 그러나 해양 적조생물에 대한 블루민의 반응은 성장을 억제시키는 양성이었으나 생물의 종류에 따라 음성반응이 나타나기도 하였다. 적조퇴치제로 블루민을 직접 살포하는 방식도 유효하지만 양식장의 사료 보조제로 사용함으로써 양식장내 적조발생을 억제하고 양식생물의 생산증가를 가져올 수 있다. 비상시에는 축양장이나 양식장에 100-500배 블루민 회석액을 투여함으로써 적조피해를 줄일 수 있고 어류의 스트레스를 방지할 수 있었다. 그동안 블루민은 가두리 어류 양식장과 대하 새우양식장에 적용하여 좋은 성적을 거두었으며(한국과학재단 2001), 최근 새우양식장에 사료 보조제로 보급이 확대되고 있으며 현장에서 좋은 성과를 거두고 있다. 대하 양식장에서 사료 톤 당 블루민 3l를 투여하고 수질개선제로서는 5-10 ppm 농도로 살포할 것을 권장하고 있다. 현장 투여 결과로 볼 때, 블루민 물질 자체의 금속양이온과 응집력(coagulation), pH, 항균성(antibacterial activity)이 복합적으로 작용하여 궁극적으로 수질개선 효과를 가져오는 것으로 추정된다. 대하 양식은 수질환경 관리가 매우 중요하고 특히

양식장의 자가오염이 가장 심각한 문제이다(해양수산부 2000). 특히 새우양식장에서는 여름 고수온기에 수질이 갑자기 악화될 때에는 수중에 블루민을 직접 투여하여 수질을 개선시켰으며 양식 새우의 질병 발생률을 현저히 감소시켰다. 블루민이 저질에서 영양염 용출을 억제하는 효과도 있기 때문에 새우양식장과 같이 저질퇴적층의 영향이 매우 큰 천해양식장에서 조류발생량을 저감시키고 수질을 유지하는데 적합할 것으로 추정된다.

생명공학연구소(1998)의 선행 연구결과 블루민은 항균성과 병저항성이 높은 것으로 나타났는데 일본 시네마현 수산시험장에서 시험 결과에서도 항균성이 증명되었다. 블루민 1,000배 회석액에서 EMB 배지 대장균군은 블루민을 처리하지 않은 대조구에 비하여 대장균군 수가 1/100로 격감하였으나 같은 조건에서 유산균은 3시간 후 70%이었으나 48시간 후에는 2.5배 증가하였다(한국과학재단 2001). 본 실험 결과 블루민은 *C. polykrikoides* 적조생물의 성장을 억제하고 제거하는 효과가 있었을 뿐 아니라 이미 양돈과 농작물에 대한 항균성과 성장 촉진, 해양저질 개선제로서 기능을 갖는 것으로 밝혀져 그 적용 범위가 매우 넓은 처리제로 입증되었다.

결 론

블루민의 적조생물 제거 및 성장억제 효능을 검정한 결과, 블루민 1,000배 회석액에서 *C. polykrikoides* 등 해양 적조생물 8종의 생장은 무처리구와 비교하여 10% 이하로 억제되었으며 적조생물을 응집 제거하는 효율은 황토보다 높았다. 그러나 블루민의 수질개선 및 항균성의 기능을 고려하면 저농도로 천해양식장에 직접 투입하거나 pellet 사료 첨가제 등으로 사용함으로써 간접적이고 장기적인 효과를 기대할 수 있다. 블루민 처리시 담수조류 *M. aeruginosa*와 먹이생물 *I. galbana*의 성장 억제효과는 해양 적조생물 보다는 낮았고, *I. galbana*의 PUFA 증가 효과가 관찰되었다. 블루민은 양돈과 농작물 뿐 아니라 해양 적조생물의 억제 등 해양환경 개선에도 일정한 효과를 가지는 것으로 나타나 광역 처리제로서 기능이 입증되었다.

사 사

본 연구는 1999년 9월부터 2001년 10월까지 한국과학재단과 (주)카렌(연구과제 종료 직후 상호가 (주)비비테크노로 변경)의 산학협동과제 지원을 받아 수행되었습니다(과제번호: 산학협력연구 1999-13500-001-2). 두 기관의 연구비 지원에 대하여 감사드립니다.

참고문헌

- 국립수산진흥원. 1997. 한국 연안의 적조. 최근 적조의 발생원인과 대책. 280 pp.
- 김순호. 2002a. 대동 황토 적조방지제. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.97-101.
- 김창훈, 임준혁, 이재근. 2002. 제오플록(zeofloc)을 이용한 적조미생물의 제거특성. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.29-35.
- 김홍락. 2002b. 해수 전기분해법에 의한 유해성 적조제거기술. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.120-123.
- 노 섭, 고창순, 김 윤, 이영돈, 명정구, 노 균, 김현준, 조재윤. 1994. 해수어류양식의 현안문제. I. 종묘생산분야. 한국양식 6: 21-39.
- 노 섭, 정민민. 1995. 양식정보시리즈. I. 먹이생물. 한국양식 7: 107-110.
- 박명환, 이석준, 윤병대, 오희목. 2001. 규산질 다공체와 미생물 응집제의 녹조제어 효과. 환경생물학회지 19: 129-135.
- 백승학, 이영주, 왕수영, 노재훈, 한경남, 최중기, 김은기. 2001. 미생물생리활성 물질에 의한 적조저해. 적조방지기술에 관한 국가간 심포지움. 국립수산진흥원. pp.18-19
- 백정광. 2002. 적조구제에 관한 당사의 기술과 견해. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.105-109.
- 생명공학연구소. 1998. 카렌골드의 식물병저항성유발 또는 생육촉진효과 검증을 통한 상품화 근거자료보완 및 용도개발. 과학기술부 중소기업 기술지원사업보고서. 23 pp.
- 소성훈. 2002. 이온화 산화칼슘의 적조생물 구제. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.130-132.
- 이삼근, 김학균, 배민현, 이창규, 김숙양, 김창숙, 임월애. 2002a. 한국의 적조예보 및 방제 전략. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.1-28.
- 이상봉. 2002. 세프레마(SEFREMA)에 의한 적조방지기술 및 실용화 사례. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.114-119.
- 이성오, 배현철, 정경훈, 오치정, 신광희. 2002b. 적토(red mud)에 의한 적조방제. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.124-129.
- 이원재, 박영태, 김창훈, 임월애, 박지민, 정성윤, 송병철. 1998. 적조생물 살조세균 탐색 1. 유해 적조생물 *Cochlodinium polykrikoides* 살조세균. 한국수산학회지 31: 767-773.
- 임현정, 박미선, 조지영, 홍용기. 1999. 동결건조한 *Isochrysis aff. galbana*를 이용한 굴 유생사육에 관한 연구. 한국수산학회지 32: 654-658.
- 정기철. 2002. 적조대책 system. 적조방지기술에 관한 국제 심포지움. 국립수산진흥원. pp.110-113.
- 주식회사 카렌. 1997. KA-LEN 자료집(동물용). 26 pp.
- 한국과학재단. 2001. 블루민의 적조생물 퇴치, 저질토양 개량, 어류 먹이생물 및 양성어의 항균성 및 성장촉진 효과검정을 통한 상품의 용도개발. 한국과학재단 산학협력연구 결과보고서. 100 pp.
- 해양수산부. 2000. 새우양식과 질병관리. 국립수산진흥원 서해수산연구소. 127 pp.
- Alonso D.L., Grima E.M., Perez J.A.S., Sanchez J.L.G. and Camacho F.G. 1992. Isolation of clones of *Isochrysis galbana* rich in eicosapentaenoic acid. *Aquaculture* 102: 363-371.
- Bligh E.G. and Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.
- Duocette G.J. 2002. Investigations of algicidal bacteria targeting the red tide dinoflagellate *Karenia brevis* in the Gulf of Mexico, USA. Proceedings of the 3rd international symposium on harmful algal blooms and control. National Fisheries Research and Development Institute. pp. 57-64.
- Guillard R.R.L. and Ryther, J.H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8: 229-239.
- Ichimura T. 1978. Media for blue-green algae. In: Nishizawa K. and Chihara M. (eds), *Methods in algalogical studies*. Kyoritsu, Tokyo. 294 pp.
- Imai I. 2002. Macroalgae harbor numerous algicide bacteria: seaweed beds are possible prevention strategy for harmful algal blooms. Proceedings of the 3rd international symposium on harmful algal blooms and control. National Fisheries Research and Development Institute. pp. 36-44.
- Lam A.K.-Y. and Prepas E.E. 1997. *In situ* evaluation of options for chemical treatment of hepatotoxic cyanobacterial blooms. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 1736-1742.

Received 9 September 2003

Accepted 15 November 2003