

# 해양심층수로 배양한 해양미세조류 *Tetraselmis* sp. JK-46의 성분 조성 및 생리활성

주동식\*·김광우<sup>1</sup>·조순영<sup>1</sup>  
한중대학교 의식산업학과, <sup>1</sup>강릉대학교 식품과학과

## Physiological Properties of Extracts and the Chemical Composition of *Tetraselmis* sp. JK-46 Cultured with Deep Seawater

Dong-Sik Joo\*, Kwang-Woo Kim<sup>1</sup> and Soon-Yeong Cho<sup>1</sup>

Department of Foodservice Industry, Hanzhong University, Donghae 240-713, Korea  
<sup>1</sup>Department of Food Science, Kangnung National University, Gangneung 210-702, Korea

This study examined *Tetraselmis* sp. JK-46 isolated from seawater from the East Sea. Deep seawater (DSW) had a greater effect on the growth of *Tetraselmis* sp. JK-46 than surface seawater (SSW). The crude protein, lipid, carbohydrate and ash contents of *Tetraselmis* sp. JK-46 cultured with DSW were 27.2, 37.1, 13.2 and 26.3 %, respectively, and these values were similar to the results for samples cultured with SSW. The contents of Mg, Ca, Fe and K in the DSW cultured samples were 7080.3, 1009.6, 251.2, and 2749.7 mg/100 g, respectively. The fatty acid compositions of *Tetraselmis* sp. JK-46 cultured with DSW and SSW were 53.7 and 49.0 % polyunsaturated fatty acids (PUFA) and 25.7 and 30.7 % saturated fatty acids (SFA), respectively. The total amino acid contents of the samples cultured with DSW and SSW were 7392.6 and 6376.0 mg/100 g respectively. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity of *Tetraselmis* sp. JK-46 extracts increased with the concentration of the chloroform and ethyl acetate fractions. The half maximal inhibitory concentrations (IC<sub>50</sub>) of the chloroform and ethyl acetate fractions of DSW and SSW cultured samples were 1.2 and 2.6 mg/mL, and 3.1 and 3.3 mg/mL, respectively. The ethyl acetate fractions of DSW and SSW cultured samples has anticoagulant activity and the activated partial thromboplastin times (APTT) were 93.4 and 89.3 sec., respectively. The chloroform and ethyl acetate fractions showed antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*.

Key words: *Tetraselmis* sp. JK-46, Deep seawater (DSW), Surface seawater (SSW), Physiological properties

### 서 론

미세조류는 당질, 지질, 단백질, 색소, 비타민, 스테로이드 및 기타 의약성분 등과 같은 유용성분뿐만 아니라 수소, 탄화수소, 생화학 연료 등의 다양한 물질들을 생산한다. 최근 국내 외에서는 미세조류의 자원학적 잠재성에 대해 많은 논의와 연구가 진행되고 있으며 생명공학의 새로운 영역으로 인식되고 있다 (Borowitzka, 1997; Kim et al., 2001). 특히, 미세조류의 산업적 이용에 대한 접근이 다양하게 이루어지고 있으며, 대체에너지원, 식품, 건강보조식품, 수산양식용 사료, 의약 원료 물질, 생화학물질 등 그 응용분야가 넓어지고 있다. 식품 및 사료 용도로는 산업적 생산이 이루어지고 있으며, 미세조류 분리 및 물질 탐색, 대량생산 기술 등이 지속적으로 개발된다면 생리활성물질의 산업적 생산도 이루어질 수 있을 것으로 기대된다 (Laurent et al., 2005).

한편, 해양심층수는 태양광이 도달하지 않는 수심 200 m 이상의 깊은 곳에 있는 해수로서, 연중 수온이 2°C 이하의 저온성과 해양식물의 생장에 필수적인 영양염류가 풍부하고 병원

균이 거의 없는 청정성을 특징으로 하는 풍부한 해양자원이다 (Korea ocean reserch lab. 2000; Takahashi, 2001). 이미 일본에서는 해양심층수의 특성을 이용한 수산양식, 식품, 음료수, 의학 및 화장품 등 다양한 분야에서 이용되거나 상품이 개발되어 판매되고 있다. 국내에서도 강원도 동해안 및 울릉도를 중심으로 해양심층수 개발 및 해양심층수의 이용에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 염분을 제거한 미네랄수가 미래의 수자원으로서 역할을 할 것으로 여겨진다 (Kim et al., 2003).

한편, 강원도 동해안은 남서해안과 다른 해양환경으로 인해 구별된 해양생물군이 분포되어 있으며, 이는 해양에 존재하는 미세조류와 이들 미세조류의 생화학적 성장도 차이가 있을 것으로 여겨진다.

따라서 본 연구에서는 강원도 동해안 해양환경으로부터 미세조류를 분리하고, 분리된 미세조류를 해양심층수와 표층수로 배양하면서 해양심층수의 미세조류 배양에의 효과를 확인하였다. 아울러 해양심층수와 표층수로 배양한 미세조류의 성분을 비교하였고, 이들 성분의 생리활성을 비교하여 해양심층수의 미세조류 배양 소재로서의 가능성을 확인하였다.

\*Corresponding author: dsjoo777@hanzhong.ac.kr

## 재료 및 방법

### 재료

동해안 지역 (울진, 삼척, 동해, 강릉, 속초 등)의 수심 5, 15, 20 및 25 m의 해수를 채수하여 미세조류를 분리하는데 사용하였다. 총 85개의 해수 시료로부터 해양미세조류 1종 (*Tetraselmis* sp. JK-46)을 분리하여 본 실험에 사용하였다. 분리된 미세조류의 배양에 사용된 해양심층수는 (주)울릉미네랄 (수심: 650 m)에서 공급받아 사용하였으며, 표층수는 강릉지역 해안에서 채수하여 사용하였다. 생리활성물질 추출에 이용한 *Tetraselmis* sp. JK-46 배양 조제는 진공동결건조기 (FreeZone plus-6 Cascade Freeze Dry system, Labconco, USA)로 건조하여 -40°C에 보관하면서 사용하였다.

### 배지 및 배양 방법

*Tetraselmis* sp. JK-46의 배양은 f/2배지 (Guillard, 1975)를 기본 배양 배지로 사용하였으며, 해수는 해양심층수와 표층수를 각각 사용하였다. 미세조류의 배양은 실린더 배양기 (Ø9 cm×L90 cm)을 이용하였고, 배양시 별도로 탄소를 공급하지 않고 공기량 (30 L/min)을 조절하였고, 배양온도 및 빛 강도는 각각 25±2°C, 7,000 lux의 조건에서 배양하였다.

### pH 측정

pH 측정은 배지에 미세조류를 접종한 시점부터 매 24시간마다 pH meter (Mettler Toledo, SevenEasy pH, Switzerland)로 측정하였다.

### 조체량 측정

조체량 측정은 배지에 미세조류를 접종한 시점부터 매 24시간마다 5 mL의 시료를 취하여 microfilter paper (Ø 0.45 µm)로 여과한 후, 0.85 % 생리식염수 10 mL로 수세한 다음 2시간 건조 (100°C)한 후에 30분 방냉하여 무게를 측정하였다. 조체의 성장은 초기 조체 무게에 대한 측정 시점의 조체 무게비의 대수  $[\ln(x/x_0)]$ 로 나타내어 초기 조체 농도에 대한 경시적 변화를 측정하였다.

### 일반성분 분석

일반성분은 AOAC법 (1995)에 따라 수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet법, 회분은 건식회화법으로 측정하였으며, 조단백질은 semimicro Kjeldahl법으로 질소를 정량한 후 질소계수 (6.25)를 이용하여 계산하였다.

### 무기질 정량분석

Ca, Mg, K, Al, Fe, Mn, Zn, Cu 등 무기질 분석은 동결건조 시료 약 0.5~1.0 g 취하여 진한 질산 12 mL를 가한 후 microwave로 1시간동안 분해하고 냉각시킨 후, 3차 증류수로 50 mL fill-up하여 ICP-OES (PerkinElmer precisely optical Emission spectrometer, Optima 5300 DV USA)로 분석하였다.

### 지방산 조성분석

지방산 조성분석은 직접 전환 에스테르법 (Dionisi et al.,

1993)을 이용하여 측정하였다. 즉, 동결건조한 미세조류 0.5 g에 MeOH : Chloroform : HCl (10:1:1) 혼합 용매 6 mL를 첨가하여 추출과 동시에 80°C에서 1시간 가열하여 메틸화하였다. 냉각한 다음 1 mL의 증류수를 첨가한 후 추출 용매 (hexane : Chloroform = 4:1) 2 mL를 첨가하여 메틸화 성분을 추출하였다. 추출된 지용성 획분을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 탈수시켜 GC (HP 6890 series, GC system USA)로 분석하였다.

### 아미노산 조성분석

미세조류의 총아미노산 분석은 동결건조한 시료 50 mg을 glass tube에 넣고 6 N HCl을 5 mL 첨가한 후 110°C에서 22시간 동안 가수분해하였다. 이 분해물을 감압건조한 후 0.02 N HCl로 용해한 다음 마이크로필터(Ø0.2 µm)로 여과하여 아미노산 자동분석기 (L-8800, High speed amino acid analyzer, Hitachi, Japan)로 분석하였다.

### 생리활성물질의 추출 및 물질 분획

조체로부터 물질 추출은 chloroform과 methanol을 1:1 혼합 용매를 사용하였다. 추출은 조체 5~10 g을 막자 사발에 넣고 sea sand를 10 g 정도 가하고 마쇄한 후 추출 용매를 1000 mL 가하여 1차 추출한 다음 여과하고, 고형분은 다시 막자사발에 넣고 충분히 마쇄한 후 동일 용매 100 mL를 가하여 2차 추출하였고, 동일하게 3차 추출까지 행하였다. 추출 시료는 진공농축기로 감압농축한 다음 10 mL 추출 용매로 녹여 겔크로마토그래피용 시료로 사용하였다. 분획은 유리칼럼 (Ø5 cm×50 cm)에 chloroform으로 aging 시켜놓은 silica gel (100-200 mesh, 75~150 µm)을 40 cm 정도 충전한 후 안정화시킨 다음 추출용매에 녹여놓은 10 mL를 모두 흡착시켰다. 흡착시킨 후 hexane, chloroform, ethyl acetate 및 methanol의 순서로 각 용매 가용 획분을 분획하였다.

### 항산화성 (Radical Scavenging Activity, RSA) 측정

RSA는 Hatano et al. (1988)의 방법을 약간 수정하여 측정하였다. 각 획분별로 농축한 시료를 일정한 농도가 되도록 methanol 2 mL에 녹이고 이를 1.5×10<sup>-4</sup> M 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)/methanol 용액 0.5 mL와 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식으로 RSA값을 계산하였다. 대조구는 시료용액 대신에 2 mL의 methanol을 넣어 시료용액과 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다.

$$RSA (\%) = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

### 항혈액응고활성 (APTT, Activated Partial Thromboplastin Time) 측정

항혈액응고활성은 John (1982)의 방법에 따라 정상인의 정맥혈 4.5 mL를 채취하여 0.5 mL의 sodium citrate (3.8 %)용액과 혼합한 다음 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 혈장 100 µL에 시료액 10 µL를 넣고 교반 후 37

℃ 항온 수조에서 2분간 가온한 후, actin 100  $\mu$ L을 첨가하고 다시 37℃ 항온수조에서 3분간 가온한 다음 3분이 되는 순간 미리 37℃로 가온해둔 0.025 M CaCl<sub>2</sub>용액 100  $\mu$ L를 넣고 스톱워치로 응고 시간 (sec)을 측정하였다.

항균성(paper disk 법) 측정

미세조류로부터 용매추출된 각 획분의 항균 활성은 paper disk법 (Lorian, 1991)으로 측정하였다. 즉, 멸균 petri dish에 nutrient agar를 20 mL씩 부어 평판배지를 만들고 37℃에서 12시간 배양시킨 시험 균액을 면봉을 이용하여 petri dish 상에 도말하여 접종한 후, 20℃에서 2시간 예비 배양시켰다. 다음에 paper disk (8 mm, Advance Toyo, Japan)를 평판위에 올려놓고 그 위에 추출된 시료 25 및 45  $\mu$ L를 멸균 마이크로피펫으로 가한 후 37℃로 조절된 배양기에서 배양하였다. 배양 24~48 시간 경과후 paper disk 주위의 투명환의 생성 여부로 항균성 유무를 판별하였다. 본 실험에 사용한 균주는 *Bacillus subtilis* KCTC1021, *Escherichia coli* KCTC2469, *Staphylococcus aureus* KCTC1621, *Aspergillus niger* KCTC6089, *Candida albicans* KCTC7270 등으로 유전자은행 (KCTC)로부터 분양 받아 사용하였다.

결과 및 고찰

*Tetraselmis* sp. JK-46의 배양에 해양심층수 및 표층해수의 이용에 따른 pH 및 균체량의 변화

분리 미세조류를 해양심층수와 표층해수로 각각 배양하였을 때 배양시간에 따른 pH 및 조체량의 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 해양심층수로 배양한 경우는 배양 6일째까지 계속 증가하여 pH 8.5에 도달한 후 감소하는 경향을 나타내었고, 표층해수로 배양한 시료는 배양 4일째에 pH가 8.7로 최대값에 도달한 후 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 배양시간에 따른 균체량의 변화를 살펴 본 결과, 해양심층수를 사용한 시료의 경우는 배양 8일째까지 지속적으로 성장하여 초기 농도에 대한 균체량의 비가 0.77까지 도달한 후 배양 13일째까지 균체량을 유지하는 결과를 나타내었고, 표층수를 사용한 경우에는 배양 4일째에 초기농도에 대한 균체량의 비가 0.58로 최대에 도달한 한 후 약간씩 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 표층해수에 비해 해양심층수에 많이 함유되어 있는 인산염, 질산염 등의 영양염이 미세조류의 성장에 영향을 미치는 것으로 판단되었다 (Park et al., 2001).

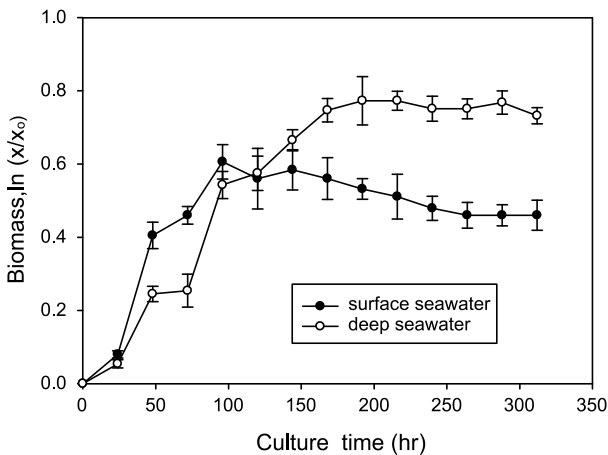
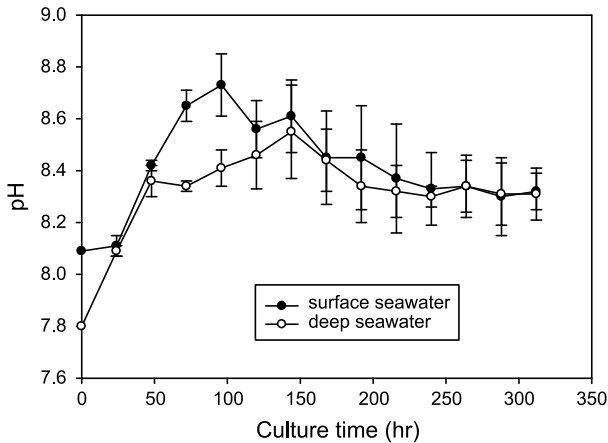


Fig. 1. Changes of pH and biomass of *Tetraselmis* sp. JK-46 using surface seawater and deep seawater as culture medium.

Table 1. Proximate compositions of *Tetraselmis* sp. JK-46 using surface seawater and deep seawater as culture medium (% dry weight)

	Surface seawater	Deep seawater
Moisture	2.56±0.09*	2.32±0.04
Crude lipid	35.76±0.11	37.09±0.09
Crude protein	26.30±0.14	27.20±0.10
Carbohydrates	13.20±0.08	12.17±0.05
Ash	22.17±0.10	21.19±0.12

\* Mean±SD, n=3.

*Tetraselmis* sp. JK-46의 성분 조성

일반성분

*Tetraselmis* sp. JK-46를 해양심층수와 표층해수로 각각 배양하여 동결건조한 조체의 일반성분을 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 해양심층수와 표층해수로 배양한 시료의 조단백질 및 회분의 함량은 각각 27.20, 26.30 및 21.19, 22.17%였으며, 해양심층수와 표층해수에 따른 차이는 크지 않은 것으로 확인되었다. 한편, 조지방 및 탄수화물의 함량은 해양심층수를 사용 시료가 각각 37.09, 12.16%였고 표층해수를 사용한 시료는 35.76, 13.20%로 해양심층수로 배양한 시료가 조지방 함량이 약간 높은 값을 나타내었다. Brown and Jeffrey (1992)의 보고에 따르면, 담수산 녹조류인 *Chlorophyceae*와 해수산 녹조류인 *Chlorophyceae* 및 *Prasinophyceae*의 일반성분 함량이 건조중량으로 단백질은 15.2-25.6%, 탄수화물은 10.8-16.7%, 지방은 8.5-18.4% 범위였다고 보고한 바 있다. 본 실험의 *Tetraselmis* sp. JK-46의 탄수화물과 단백질 함량은 비슷한 경향을 나타내었지만 지방 함량이 매우 높은 것이 특징적이었

으며, 성분 함량은 해양심층수와 표층해수를 사용한 두 경우 모두 큰 차이가 없었다.

#### 무기질 함량

해양심층수와 표층해수를 사용하여 배양한 *Tetraselmis* sp. JK-46의 무기질 함량을 분석한 결과 (Table 2), 해양심층수로 배양한 시료의 마그네슘, 칼슘, 철 및 칼륨 함량은 각각 7,080.33, 1,009.60, 251.17, 2,749.67 mg/100 g이었고, 표층해수로 배양한 것은 각각 7,770.00, 1,190.67, 341.07 및 2,557.00 mg/100 g이었다. 그 외에 망간, 구리, 아연 및 알루미늄 등이 소량 함유되어 있었다. 표층해수로 배양한 *Tetraselmis* sp. JK-46이 해양심층수로 배양한 것보다 마그네슘, 칼슘, 철 등의 함량이 높았으며, 칼륨 함량은 해양심층수로 배양한 것이 더 높은 값을 나타냈다. Kim et al. (2001)은 녹조강인 *Nostoc oculata*와 규조강인 *Phaeodactylum tricornutum*의 무기질을 분석한 결과, *N. oculata*는 칼륨, 마그네슘, 칼슘 및 철의 함량이 각각 12,906.86, 1,039.15, 882.57 및 747.20 mg/100 g이었으며, *P. tricornutum*은 칼륨, 마그네슘, 칼슘 및 철의 함량이 각각 11,718.65, 2,003.32, 1,580.84 및 552.58 mg/100 g 이 함유되어 있다고 보고한 바 있다. 그러나 Shimma et al. (1984)은 부착성 미세조류의 무기질 함량 중에서 칼륨, 칼슘, 마그네슘의 함량이 각각 540-730, 450-520, 370-420 mg/100 g으로 보고한 바 있는데, 이들에 비해서는 칼륨, 마그네슘, 칼슘 함량이 높은 것으로 나타났다. 한편, 실험에 사용한 해양심층수 및 표층해수의 무기질 함량은 해양심층수가 Mg 함량이 약간 높은 것이 특징적이었고, 그 외 Na, K, Fe 등의 함량은 비슷하였다. 이는 해양심층수와 표층수의 무기질 함량이 배양 미세조류의 무기질 함량에 영향을 미치는 것은 명확하게 예측할 수 없었다. 다만 유기질소 및 인과 같은 미세조류의 성장과 관련된 성분이 많은 해양심층수가 성장 및 무기질 성분의 차이에 영향을 미치는 것으로 판단되었다.

Table 2. Mineral compositions of *Tetraselmis* sp. JK-46 using surface seawater and deep seawater as culture medium (mg/100 g)

Minerals	Surface seawater	Deep seawater
Mg	1,770.00	1,080.33
Ca	1,190.67	1,009.60
Mn	14.45	11.77
Fe	341.07	251.17
Cu	3.33	-
Zn	10.75	1.67
Al	8.63	3.27
K	2,557.00	2,749.67

#### 지방산 조성

미세조류의 지방산 조성은 미세조류 종뿐만 아니라 배지 조성, 공기주입속도, 빛강도, 광주기 기간, 온도와 배양시간 등의 배양조건과 관련된 인자에 의존한다고 하였다 (Robles medina

et al., 1998). 해양심층수 및 표층해수로 배양한 *Tetraselmis* sp. JK-46의 지방산 조성 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 해양심층수로 배양한 경우 포화 지방산, 단일불포화 지방산 및 다가불포화 지방산의 함량은 각각 25.65, 20.68 및 53.67 % 였고, 표층해수로 배양한 시료는 각각 30.71, 20.25 및 49.04 %로 다소 차이를 나타내었다. 해양심층수로 배양한 시료의 경우 고도불포화 지방산의 함량이 표층해수로 배양한 시료보다 약 4.6 % 높은 값을 나타내었다. 또한 필수지방산인 linoleic acid (18:2, n-6)와 linolenic acid (18:3, n-3)의 함량과 생리적으로 중요한 다가불포화 지방산 중 EPA (20:5, n-3)와 DHA (22:6, n-3)의 함량은 해양심층수로 배양한 것은 8.04 및 3.66 %였고, 표층해수로 배양한 시료는 9.44 및 0.51%로 해양심층수와 표층해수 시료간에는 약간의 차이를 나타내었다. *Tetraselmis* sp. JK-46은 대량배양과 수확이 간단하고 경제적이며 영양가도 좋아 사료원으로 가장 넓게 이용되는데 미세조류를 사료원

Table 3. Fatty acid compositions of *Tetraselmis* sp. JK-46 using surface seawater and deep seawater as culture medium (Area %)

Fatty acids	Surface seawater	Deep seawater
12:0	1.55	0.19
13:0	-	0.24
14:0	1.82	1.07
15:0	-	-
16:0	24.13	16.51
17:0	0.72	0.80
18:0	1.23	1.23
20:0	0.84	1.25
21:0	-	0.68
22:0	0.42	1.36
23:0	-	1.39
24:0	-	0.93
16:1 (n-7)	5.46	4.44
17:1 (n-7)	-	0.29
18:1 (T)	-	0.56
18:1 (C)	13.13	10.29
20:1 (n-9)	1.66	1.83
22:1 (n-9)	-	1.67
24:1 (n-5)	-	1.60
18:2 (T)	10.40	8.14
18:2 (C)	9.35	6.48
18:3 (n-3)	16.41	13.46
18:3 (n-6)	0.80	1.43
20:2 (n-6)	-	6.01
20:3 (n-6)	0.48	2.31
20:3 (n-3)	-	1.27
20:4 (n-6)	0.87	2.01
20:5 (n-3)	9.44	8.04
22:2 (n-6)	0.78	0.86
22:6 (n-3)	0.51	3.66
Saturated fatty acids (SFA)	30.71	25.65
Monoenoic fatty acids (MUFA)	20.25	20.68
Polyenoic fatty acids (PUFA)	49.04	53.67
Total	100	100

으로서 이용하는데 있어 지방산 조성은 배양 유기물의 생존과 성장에 매우 중요한 역할을 하게 되는 것으로 알려져 있다 (Watanabe et al. 1983). 해양심층수로 배양한 *Tetraselmis* sp. JK-46의 다가불포화 지방산 함량이 표층해수로 배양한 시료에서 더 높게 나타남으로서 해양심층수의 배양 배지 소재로서의 활용이 기대된다.

Table 4. Amino acid compositions of *Tetraselmis* sp. JK-46 using surface seawater and deep seawater as culture medium (A.A mg/100 g)

Amino acids	Surface seawater	Deep seawater
Aspartic acid	603.3 (9.46)	798.7 (10.80)
Threonine	282.8 (4.43)	358.1 (4.84)
Serine	266.1 (4.17)	346.6 (4.69)
Glutamic acid	980.1 (15.37)	1,221.4 (16.52)
Proline	319.4 (5.01)	441.7 (5.98)
Glycine	362.8 (5.69)	459.9 (6.22)
Alanine	471.6 (7.40)	62.8 (0.85)
Valine	403.2 (6.32)	510.0 (6.90)
Methionine	145.4 (2.28)	258.0 (3.49)
Cystine	100.6 (1.58)	18.2 (0.25)
Isoleucine	286.2 (4.49)	356.9 (4.83)
Leucine	513.5 (8.05)	648.4 (8.77)
Tyrosine	222.7 (3.49)	287.4 (3.89)
Phenylalanine	327.2 (5.13)	405.9 (5.49)
Histidine	119.3 (1.87)	149.8 (2.03)
Lysine	355.0 (5.57)	443.0 (5.99)
Arginine	616.7 (9.67)	626.1 (8.47)
Essential acids	3,049.3 (47.81)	3,756.2 (50.81)
Total amino acids	6,376.0 (100)	7,392.6 (100)

아미노산 조성

*Tetraselmis* sp. JK-46의 총아미노산 조성을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 해양심층수로 배양한 시료는 총아미노산 함량이 7392.6 mg/100 g이었으며, 맛을 내는 주요 성분인 glutamic acid와 aspartic acid가 각각 1221.4 와 798.7 mg/100 g로 가장 높은 함량을 차지하였다. 표층해수로 배양한 시료는 총아미노산 함량은 6376.0 mg/100 g로 해양심층수로 배양한 시료보다 아미노산 함량이 낮은 것으로 확인되었고, 표층해수로 배양한 것도 glutamic acid와 aspartic acid가 980.1 및 603.9 mg/100 g로 가장 높은 함량을 차지하였다. 또한, 필수 아미노산 함량에서도 해양심층수로 배양한 것이 3756.2 mg/100 g로 전체 아미노산 함량중에서 50.81%로 가장 높은 함량을 차지하였으며, 표층해수로 배양한 시료의 47.81% 보다 3%가량 높은 함량을 나타내었다. Kim et al. (2001)이 보고한 *N. oculata*와 *P. tricornutum*의 glutamic acid와 aspartic acid 함량과 거의 유사하였으며 필수아미노산 함량도 각각 46.31%과 45.51%로 본 연구 결과와 유사하였다.

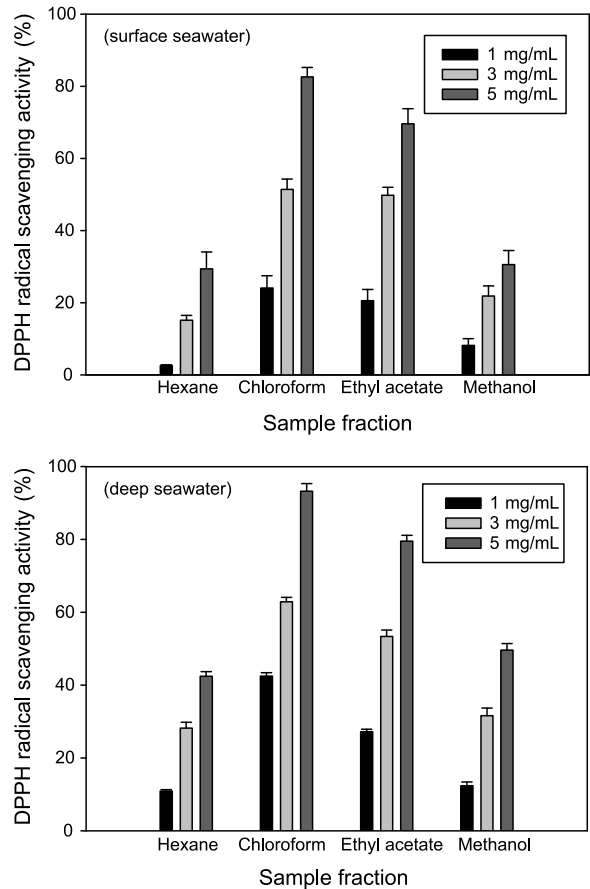


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of each fraction from silica gel chromatography of extracted sample from *Tetraselmis* sp. JK-46 cultured in surface seawater and deep seawater.

*Tetraselmis* sp. JK-46 추출성분의 생리활성

항산화능

배양 미세조류 추출물 및 이 시료로부터 얻어진 각 용매획분의 DPPH 라디칼 소거능을 Fig. 2에 나타내었다. 해양심층수 및 표층해수로 배양한 시료의 용매 추출물의 농도를 3.0 mg/mL로 조절하여 반응시킬 때 각각 48.5 및 39.2 %의 항산화능을 나타내었다. 시료의 농도를 1 mg/mL, 3 mg/mL, 5 mg/mL로 조절하여 각 용매 획분별 항산화능을 실험한 결과, 해양심층수 시료의 경우는 chloroform층에서 농도별 유의성을 가지면서 가장 강한 항산화효과를 나타내었으며, 다음으로 ethyl acetate층이 높은 항산화효과를 보였다. 표층해수로 배양한 시료에서도 경향은 해양심층수로 배양한 시료와 유사하였으나 항산화효과는 낮은 것으로 확인되었다. 농도에 따른 효과가 확실했던 chloroform층과 ethyl acetate층에 대한 IC<sub>50</sub>을 확인한 결과 (Table 5), 해양심층수 및 표층해수로 배양한 chloroform층이 각각 1.2 mg/mL, 2.6 mg/mL이었고, ethyl acetate층은 각각 3.1 mg/mL, 3.3 mg/mL로 해양심층수 시료가 상대적으로 강한 항산화 활성을 나타내었다. 미세조류가 생산

하는 지용성 색소나 polyphenol성 화합물, chlorogenic acid 등과 같은 성분이 항산화 효과와 연관성이 있는 것으로 해석되고 있다 (Choi et al., 2000; Kim et al., 1997).

#### 항혈액응고활성

배양 미세조류 추출물 및 이 시료로부터 얻어진 각 용매획분의 항혈액응고활성을 Fig. 3에 나타내었다. 항산화능 결과와는 달리 해양심층수 및 표층해수로 배양한 시료 대부분이

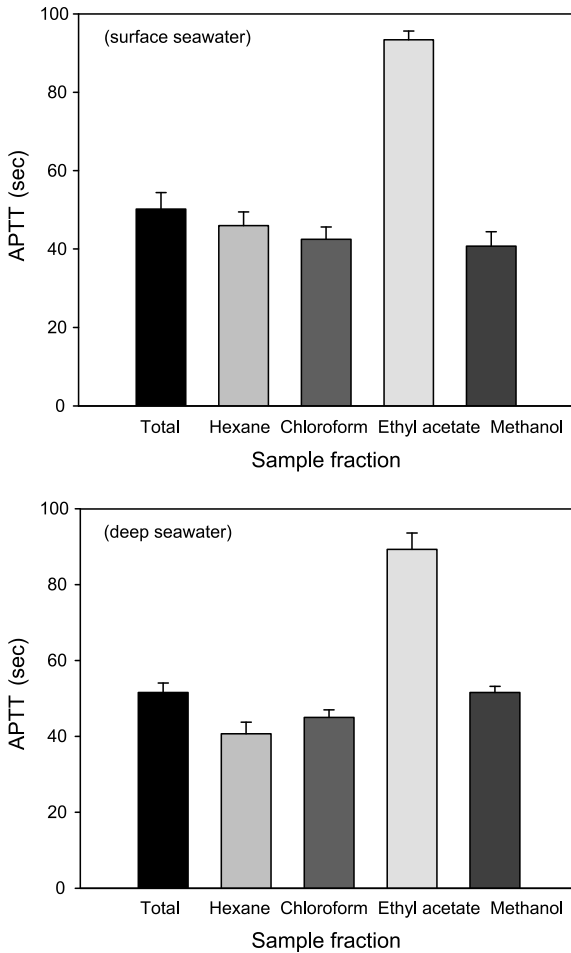


Fig. 3. Anticoagulant activity of each fraction from silica gel chromatography of extracted sample from *Tetraselmis* sp. JK-46 cultured in surface seawater and deep seawater.

Table 5. IC<sub>50</sub> value of DPPH radical scavenging activity of each fraction from silica gel chromatography of extracted sample from *Tetraselmis* sp. JK-46 cultured in surface seawater and deep seawater

Sample fraction	IC <sub>50</sub> value (mg/mL)	
	Surface seawater	Deep seawater
Hexane	-	-
Chloroform	2.6	1.2
Ethyl acetate	3.3	3.1
Methanol	-	-

hexane, chloroform 및 methanol 획분에서는 항혈액응고활성이 미약하였고, ethyl acetate 획분만 APTT가 각각 93.4 sec 및 89.3 sec로 활성을 나타내었다. 미세조류 성분의 항혈액응고활성에 대한 보고는 없지만 미세조류에서 황화합물의 축적이 일어나는데 이러한 성분들이 혈액응고를 지연시키는 효과가 있는 것으로 여겨진다.

Table 6. Antimicrobial activity of each fraction from silica gel chromatography of extracted sample from *Tetraselmis* sp. JK-46 strain cultured in surface seawater

Extraction solvent	Test strain									
	<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>St. aureus</i>		<i>Can. albicans</i>		<i>Asp. niger</i>	
	25 <sup>1)</sup>	45	25	45	25	45	25	45	25	45
Total	-	-	+-	+-	-	-	-	-	-	-
Hexane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHCl <sub>3</sub>	- <sup>2)</sup>	+-	-	+-	-	-	-	+-	-	-
EtOAc	-	-	+-	+-	-	-	-	-	-	-
MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1)</sup>Sample injection volume (μL).

<sup>2)</sup>Diameter of inhibition zone : -, no inhibition; +-, 8~10 mm; +, 10~15 mm; ++, 15~20 mm; +++, more than 20 mm.

#### 항균활성

배양 미세조류 추출물 및 이 시료로부터 얻어진 각 용매획분의 항균활성을 Table 6와 Table 7에 나타내었다. 실험에 사용한 세균은 식품부패와 식중독 유발과 관련된 균을 선정하였고, 효모와 곰팡이 식품 부패와 관련된 균을 활용하였다. 그 결과 해양심층수로 배양한 시료의 경우, chloroform 획분과 ethyl acetate 획분에서 주로 항균 활성을 나타내었다. 세균인 *B. subtilis*, *E. coli*에 항균활성은 물론이고 효모인 *Can. albicans*에 대해 항균활성이 확인되었으며, 표층해수로 배양한 시료에서도 항균효과는 낮았지만 유사한 경향을 나타내었다. 특히 chloroform 획분은 *B. subtilis*에서 강한 항균활성을 나타내었으며, Ethyl acetate 획분은 *Can. albicans*에서도 활성을 나타내었다. 항균활성은 해양심층수로 배양한 시료에서 더 강한 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. Joo et al. (1998)에 의하면 해양 미세조류로부터 강력한 항균 활성 물질들이 발견된다고 보고하고 있다.

Table 7. Antimicrobial activity of each fraction from silica gel chromatography of extracted sample from *Tetraselmis* sp. JK-46 strain cultured in deep seawater

Extraction solvent	Test strain									
	<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>St. aureus</i>		<i>Can. albicans</i>		<i>Asp. niger</i>	
	25 <sup>1)</sup>	45	25	45	25	45	25	45	25	45
Total	-	+-	+	+	-	-	-	-	-	-
Hexane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CHCl <sub>3</sub>	+- <sup>2)</sup>	+-	++	++	-	-	-	+-	-	-
EtOAc	-	+-	+	+	-	-	-	+-	-	-
MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1)</sup>Sample injection volume (μL).

<sup>2)</sup>Diameter of inhibition zone : -, no inhibition; +-, 8~10 mm; +, 10~15 mm; ++, 15~20 mm; +++, more than 20 mm.

## 사 사

본 연구는 산업자원부 지정 강릉대학교 RIC (동해안해양생물자원연구센터) 연구과제지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- AOAC. Official Methods of Analysis. 16th ed. 1995. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC., U.S.A., 69-74.
- Borowitzka MA. 1997. Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints. *J Appl Phycol* 9, 393-401.
- Brown MR and Jeffrey SW. 1992. Biochemical composition of microalgae from the green algal classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. 1. Amino acids, sugars and pigments. *J Exp Mar Biol Ecol* 161, 91-113.
- Choi JS, Lee WK, Son BW, Kim DS, Choi HD, Choi JS, Jung JH, Im KS and Choi WC. 2000. Screening on radical scavenging activity of marine microalgae. *Kor J Pharmacogn* 31, 252-255.
- Dionisi F, Golay PA, Elli M and Fay LB. 1993. Stability of cyclopropane and conjugated linoleic acids during fatty acid quantification in lactic acid bacteria. *Lipids* 34, 1107-1115.
- Guillard RRL. 1975. Division rates. In: stein J.R.(ed), *Handbook of phycological methods-culture methods and growth measurements*. Cambridge University Press, Cambridge, U.S.A., 289-311.
- Hatano T, Kagawa H and Okawa T. 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice wet: their relative astringency and radical scavenging effect. *Chem Pharm Bull* 36, 2090-2097.
- John DB. 1982. *Clinical Laboratory Methods*. Ninth Edition. The C.V. Mosby company. St. Louis, U.S.A., 294-296.
- Joo DS and Lee EH. 1998. Searching of antimicrobial active compounds from microalgae. *Kor Soc Life Sci* 8, 173-180.
- Jorian V. 1991. *Antibiotics laboratory medicine*, Williams & Wilkins, Baltimore. U.S.A., 17-105
- Kim SK, Baek HC, Byun HG, Kang OJ and Kim JB. 2001. Biochemical composition and antioxidative activity of marine microalgae. *J Kor Fish Soc* 34, 260-267.
- Kim ML, Jeong JS, Lee MH and Lee GD. 2003. Effects of deep seawater and salt on the quality characteristics of breads. *Kor J Food Pres* 10, 326-332.
- Kim SS, Lee CK, Kang SS, Jung HA and Choi JS. 1997. Chlorogenic acid, an antioxidant principle from the aerial parts of *Artemisia iwayomogi* that acts on DPPH radical. *Arch Pharm Res* 20, 148-154.
- Korea ocean reserch lab. 2000. feasibility study for the multipurpose development of deep ocean water resource. MOMAF Report UCM, 00903-2284.
- Laurent D, Patrick G, Yaron A, Shoshana MA, Philippe B, Kotamballi NCM and Gokare AR. 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality. *Trends Food Sci Technol* 16, 389-406.
- Park EK, Seo MW and Lee CG. 2001. Effect of medium compositions for the growth and the astaxanthin production of *Hamatococcus pluviatis*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 29, 227-233.
- Robles medina A, Molina grima E, Giménez giménez and Ibáñez gonzález MJ. 1998. Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids. *Biotechnol Adv* 16, 517-580.
- Shimma Y, Tanaka H, Huruta Y, Shimma H and Ikeda K. 1984. Protein, carotenoid and mineral contents and fatty acids composition of the sessile algae from Chikuma river. *Bull Jap Soc* 50, 1223-1227.
- Takahashi M. 2001. It knows and the deep sea water. Doseo publication, *Science and technology* 23, 35-37.
- Watanabe T, Kitajima C and Jujita S. 1983. Nutrition value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture* 34, 115-143.

---

2010년 10월 22일 접수  
2010년 11월 22일 수정  
2011년 2월 10일 수리