

35종 해조류 추출물의 병원성 세균 및 *Candida* sp. 진균에 대한 항균 활성 평가

김미선 · 권경진 · 이민진 · 안선미 · 손호용*
안동대학교 식품영양학과

Received : March 14, 2012 / Revised : April 9, 2012 / Accepted : April 17, 2012

Evaluation of the Antimicrobial Activities of 35 Seaweed Extracts against Pathogenic Bacteria and *Candida* sp.. Kim, Mi-Sun, Kyung-Jin Kwon, Min-Jin Lee, Seon-Mi Ahn, and Ho-Yong Sohn*. Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea – In the course of this study aimed at the development of functional food ingredients from seaweeds, the *in vitro* antimicrobial activities of methanol extracts prepared from 35 different seaweeds (17 phaeophyta, 11 rhodophyta and 7 chlorophyta) were determined against food-borne diseases and pathogenic microorganisms including multi-drug resistant (MDR) *Pseudomonas* sp. and *Candida* sp. Based on disc-diffusion assays at 500 g/disc concentration of the methanol extracts, *Ishige okamurai*, *I. foliacea*, *Sargassum confusum*, and *S. yamade* exhibited strong antibacterial activities in a broad-spectrum, except against *Pseudomonas aeruginosa*. In addition to the latter four seaweeds, *Ecklonia stolonifera*, *E. cava* and *Eisenia bicyclis* also demonstrated antifungal activity against *C. albicans*. Among these 8 selected seaweeds, *I. okamurai*, *I. foliacea*, and *S. yamade* exhibited strong hemolytic activity (55-93%) at 500 g/ml against human RBC. Organic solvent sequential fractions using hexane, ethylacetate and butanol, and water residues were prepared from the 8 selected seaweeds and their anti-*Candida* sp. activities were further determined. The ethylacetate and butanol fraction of *I. okamurai*, and the hexane fraction of *I. foliacea* demonstrated antifungal activity against MDR-pathogenic *Candida* sp. Although the solvent fractions had no activity against MDR-*Pseudomonas* sp., our results suggest that seaweeds, especially *Ishige okamurai*, *I. foliacea*, *S. confusum*, and *S. yamade* could be developed as broad-spectrum antimicrobial ingredients.

Keywords: Seaweeds, antimicrobial activity, multi-drug resistance, pathogenic *candida* sp, *ishige okamurai*, *ishige foliacea*

서 론

인류는 건강한 삶과 식량 확보를 위해 미생물에 의한 인체감염 및 식품오염에 끊임없이 대항해 왔다. 실제 생명공학과 정밀화학의 발전으로 인해 다양한 의약품, 식품용, 농업용 화학 항균제가 개발되어 현대사회 산업 전문분야에 광범위하게 이용되고 있다. 그러나 미생물들은 고빈도 사용 항균제에 대해 스스로 내성을 획득하고, 나아가 유사구조의 항균제들에 대해 교차내성을 나타내므로[11, 25], 신규 항균제 개발은 지속적으로 이루어져야만 한다. 또한 지구온난화에 따라 미생물성 식중독 및 병원미생물 감염 위험성이 증대되고 있으며, 식품원재료의 대량재배, 유통 및 저장시스템에서의 미생물 제어 어려움을 고려할 때 식품에 직접 이용 가능

한 항균제 개발이 필수적이며, 따라서 안전성이 확보된 천연물 유래의 항균제 개발이 절실한 상태이다[26-28].

현재까지 개발된 대부분의 생물소재 유래 항균제는 토양 방선균, 식물 및 곤충을 포함한 육상생물 기원이었으나[15, 26-28], 최근에는 해양 생물자원에서부터 신규 항균제를 개발하려는 시도가 활발히 진행되고 있다[2, 13, 18-21]. 이는 지구 표면적의 70%를 차지하는 해양에는 지구 생물 종의 80% 이상의 다양한 생물종이 서식하고 있으며, 다양한 해양 생물들은 육상생물과는 전혀 다른 생활환경으로 인해 특이한 생리활성물질을 보유하고 있기 때문이다[4, 16]. 따라서 광범위한 해양생물자원의 유용 생리활성평가에 따른 생물소재 개발연구가 지속적으로 필요하며, 특히 한국의 경우 세계 4위의 생산량을 가지는 해조류[4]에 대한 보다 적극적인 생리활성 연구 및 산업적 이용 연구가 필요하다.

해조류의 경우 fucoidans와 같은 다당류의 항혈전[22], 항산화[2, 12, 23], 항암[3], nitrite 및 중금속 제거활성[6, 24], 고지혈증 및 고혈압 예방[8, 17], 항당뇨[16], 항돌연변이[14],

*Corresponding author

Tel: +82-54-820-5491, Fax: +82-54-820-7804

E-mail: hysohn@andong.ac.kr

멜라린 생성억제[5, 9], elastase 저해[5] 및 항염증 활성[9] 등 다양한 유용 활성이 보고되어 있으며, 최근에는 해조류의 항균활성에 대한 연구가 증가되고 있다. 현재까지 해조류의 항균활성은 서실, 모로우붉은실, 다시마, 갈파래, 청각, 감태, 곰피, 미역, 패, 넓패, 몽우리청각 등 각각의 해조류를 대상으로 어병세균, 항충치균, 황색포도상구균 및 대장균에 한정하여 보고한 바 있다[2, 7, 10, 13, 14, 21]. 그러나, 다양한 해조류를 대상으로 광범위한 병원성 세균 및 항생제 내성균주에 대한 항균 활성탐색평가는 아직 미미한 상태이다. 본 연구에서는 35종의 해조류 추출물을 이용하여 병원성 세균 및 항생제 내성 *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Candida* sp. 에 대해 *in vitro* 항균 활성을 평가하였으며, 그 결과 패 및 넓패에서 우수한 항세균 활성과 항생제 다제내성 *Candida* sp. 의 제어가능성을 확인하였기에 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료의 조제

본 실험에 사용된 해조류들은 갈조류 17종(불레기말, 쇠미역, 감태, 곰피, 대황, 툫, 넓패, 패, 다시마, 알송이모자반, 모자반, 짝잎모자반, 팽생이모자반, 지층이, 아따다모자반, 고리매 및 미역), 홍조류 11종(돌가시리, 진두발, 도박, 참도박, 개도박, 얼룩도박, 방사무늬김, 작은구슬산호말, 붉은까막살, 마디잘록이 및 코도니) 및 녹조류 7종(매생이, 청각, 잎파래, 납작파래, 구멍갈파래, 잘피 및 포도송이해초)의 35종으로 Table 1에 나타내었다. 이중 코도니는 인도네시아에서, 포도송이해초는 베트남에서 구입하여 사용하였으며, 그 외 33종은 국내 부산, 경남, 전남 등지에서 구입하여 사용하였다[1]. 각각의 해조류 메탄올 추출물은 이미 보고한 바와 동일하게 제조하였다[1]. 즉, 준비된 해조류들은 이물질을 제거하고 수돗물로 세척한 후 실온에서 음건하고 이를 믹서기로 분쇄한 후 건조분말 해조류를 제조하였으며, 건조분말 100 g당 1리터의 메탄올을 가한 후 상온에서 2일 추출하고, 이를 4회 반복한 후 추출액을 모아 50°C에서 감압 농축하여 추출물을 제조하였다. 조제된 추출물은 dimethylsulfoxide(DMSO)를 이용하여 100 mg/mL 농도로 조정하여 항균활성을 평가하였다. 한편 항균 활성이 우수한 패, 넓패, 알송이 모자반, 아따다모자반 감태, 곰피, 대황 및 툫의 8종의 경우, 메탄올 추출물로부터 n-hexane, ethylacetate, butanol을 이용하여 순차적 유기용매 분획물과 이후의 물 잔류물을 조제한 후, 각각의 분획물을 대상으로 항생제 내성 *P. aeruginosa* 및 *Candida* sp.에 대한 항균 활성을 평가하였다.

사용균주

본 실험에 사용한 균주는 그람음성 세균 4종(*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *E. coli* H7:O157, *Salmonella typhimurium*), 그람양성 세균 2종(*Staphylococcus aureus*,

Table 1. The list of seaweeds used in this study.

Scientific name	Korean name
Phaeophyta	
<i>Colpomenia sinuosa</i>	Bulregi-mal
<i>Costaria costata</i>	Saemiyеuk
<i>Ecklonia cava</i>	Gamtae
<i>Ecklonia stolonifera</i>	Gompi
<i>Eisenia bicyclis</i> (Kjellman) Setchell	Daehwang
<i>Hixikia fusiforme</i> Okamura	Tot
<i>Ishige foliacea</i>	Nueppae
<i>Ishige okamurai</i>	Pae
<i>Laminaria japonica</i> Areschong	Dasima
<i>Sargassum confusum</i>	Alsongi-Mojaban
<i>Sargassum fulvellum</i>	Mojaban
<i>Sargassum hemiphyllum</i>	Jakip-Mojaban
<i>Sargassum horneri</i>	Gengsengi-Mojaban
<i>Sargassum thunbergii</i>	Jichungei
<i>Sargassum yamade</i>	Yamada-Mojaban
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	Gorimae
<i>Undaria pinnatifida</i>	Miyеuk
Rhodophyta	
<i>Chondrus ocellatus</i> Holmes	Jindubal
<i>Corallina pilulifera</i>	Jaеungusel-Sanhomal
<i>Gigartina tenella</i> Harvey	Dolgasari
<i>Grateloupia elliptica</i> Holmes	Cham-Dovak
<i>Halymeniopsis dilatata</i>	Eulruk-Dovak
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Kotoni
<i>Lomentaria catenata</i> Harvey	Madi-Jalroki
<i>Pachymeniopsis elliptica</i> Yamada	Dovak
<i>Pachymeniopsis lanceolata</i>	Gae-Dovak
<i>Porphyra yezoensis</i> Ueda	Bansamuni-Kim
<i>Zanardinula cornea</i>	Bulkeun-Gamaksal
Chlorophyta	
<i>Capsosiphon fulvescens</i>	Maesengi
<i>Caulerpa racemosa</i>	Podosongi-Heacho
<i>Codium fragile</i> (Suringar) Hariot	Chungkak
<i>Enteromorpha compressa</i>	Napjak-Parae
<i>Enteromorpha linza</i>	Ip-Parae
<i>Ulva pertusa</i>	Gumunggal-Parae
<i>Zostera marina</i>	Jalpi

Listeria monocytogenes) 및 진균 3종(*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger*)을 사용하였다 (Table 2). 그람음성 세균 중 *P. aeruginosa*는 항생제 내성균주를 포함한 7종류, 진균 중 *Candida albicans*는 항생제 내성균주를 포함한 7종류를 사용하였으며, 각각의 미생물들은 한국미생물자원센터(KCTC), 한국농용 미생물보존센터(KACC), 일본 Institute for Fermentation, Osaka (IFO) 및 한국 항생제 내성 균주은행(CCARM: Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes)에서 분양 받아 사용하였다. *P. aeruginosa* CCARM 2010, 2020, 2030, 2200 및 2210 균주는 cefoperazone, gentamicin, norgloxacin, piperacillin,

Table 2. The microorganisms used in this study.

Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> KCTC 1682
	<i>Escherichia coli</i> H7:O157 ATCC 43895
	<i>Salmonella typhimurium</i> KCTC 1926
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KACC 10186
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KACC 10259
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KACC 10260
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCARM 2010
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCARM 2200
Gram positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916
	<i>Listeria monocytogenes</i> KACC 10550
Fungi	<i>Candida albicans</i> KCTC 7270
	<i>Candida albicans</i> KCTC 7965
	<i>Candida albicans</i> KACC 30003
	<i>Candida albicans</i> KACC 30004
	<i>Candida albicans</i> KACC 30062
	<i>Candida albicans</i> CCARM 14020
	<i>Candida albicans</i> CCARM 14021
	<i>Candida krusei</i> CCARM 14017
	<i>Candida gillermordi</i> CCARM 14018
	<i>Candida tropicalis</i> CCARM 14019
	<i>Candida geochares</i> KACC 30061
	<i>Candida saitoana</i> KCTC 41238
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IF0 0233
	<i>Aspergillus niger</i> KCCM 60143

amikacin, aztreoman, ceftazidime, cefotaxime 및 imipenem의 항생제 중에서 적어도 2종 이상의 항생제에 대해 내성을 가지는 다제내성균이며, 사람으로부터 분리된 균주이다. 한편 *C. albicans* CCARM 14020 및 14021, *Candida krusei* CCARM 14017, *Candida gillermordi* CCARM 14018, *Candida tropicalis* CCARM 14019는 amphotericin B, itaconazole, flucytosine 및 fluconazole에 대해 다제내성을 나타내는 균주이다. 이들 임상 분리균주가 상기의 β -lactam계 (ceftazidime, cefotaxime 등), aminoglycoside계 (gentamicin, amikacin 등), 세포막 파괴제(amphotericin B), nucleotide 유사체 (flucytosine) 등의 항생제에 내성을 나타내는 기작에 대해서는 현재까지 알려진 바 없다.

항균 활성 평가

항세균 및 항진균 활성 평가는 기존의 보고한 disc-diffusion방법[26]과 동일하게 이용하였으며, 세균의 경우 Nutrient agar(Difco Co., USA), 진균의 경우 Sabouraud dextrose agar(Difco Co. USA) 배지상에서 다양한 시료 5 μ L를 멸균 disc-paper(Whatman No. 2, 지름 6.5 mm)에 가한 후 세균의 경우 24시간, 진균의 경우 48시간 배양 후, 생육억제환의 크기를 측정하여 평가하였다[26]. 특히 *Aspergillus niger*에 대한 항균 활성은 Potato dextrose broth(Difco Co., USA)를 이용하여 균사체 생육억제 활성을 평가하였다. 대조구로는 항세균제인 ampicillin 및 항진균제

인 miconazole(Sigma Co., USA)를 각각 1 μ g/disc 농도로 사용하였으며, 3회 이상 평가 후 생육억제환 지름의 대표 결과를 mm 단위로 나타내었다[27].

인간 적혈구 용혈 활성 평가

해조류 추출물의 실제적 이용가능성 평가의 일환으로 인간 적혈구(4% v/v)를 이용하여 용혈 활성을 평가하였다[27]. PBS로 3회 수세한 인간 적혈구 100 μ L를 96-well microplate (Greiner Bio-one, flat bottom, Germany)에 가하고 시료용액 100 μ L를 가한 다음 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이후, 반응액을 10분간, 1,500 rpm으로 원심분리(HA-1000-3, Hanil Science Ind. Ltd. Korea)하여 상등액 100 μ L를 새로운 microtiter plate로 옮긴 후 용혈에 따른 헤모글로빈 유출 정도를 microplate reader기(Sunrise-Basic, Tecan, Austria)를 이용하여 414 nm에서 측정하였다. 시료의 용매 대조구로는 DMSO(2%), 실험 대조구로는 triton X-100 (0.1%)을 사용하였다. 용혈활성은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다.

(%) hemolysis

$$= [(Abs. S - Abs. C)/(Abs. T - Abs. C)] \times 100.$$

Abs. S: 시료 첨가구의 흡광도, Abs. C: DMSO 첨가구의 흡광도, Abs. T: triton X-100 첨가구의 흡광도

결과 및 고찰

35종 해조류의 메탄올 추출물을 조제하여 이들의 항균활성을 평가한 결과는 Table 3에 나타내었다. 대조구로 사용된 항세균제 ampicillin은 1 μ g/disc 농도에서 *P. aeruginosa*, *E. coli* H7:O157을 제외한 세균에 대해 우수한 생육억제효과를 나타내었으며, 항진균제 miconazole은 동일농도에서 *S. cerevisiae*, *C. albicans* 및 *A. niger*에 대해 양호한 항진균 활성을 나타내었다. 조제된 해조류 추출물들은 500 μ g/disc 농도에서 다양한 병원성 및 식품부패균에 대해 각기 다른 항균 스펙트럼을 나타내었다. 먼저 *P. aeruginosa*에 대해 항세균활성을 나타내는 해조류는 없었다. *E. coli*에 대해서는 넓패, 패, 다시마, 알송이모자반, 모자반, 짝잎모자반, 아마다모자반, 매생이 및 납작파래가 우수한 항균활성을 나타내었고, 이 중 패에서 생육억제환이 19.1 mm로 가장 크게 나타났다. 한편 *E. coli* H7:O157에 대해서는 툯, 넓패, 패, 알송이모자반, 모자반, 짝잎모자반, 팽생이모자반, 지충이, 포도송이해초, 잎파래 및 구멍갈파래가 항균성을 나타내었고, 그 중 패와 팽생이모자반에서 15.4 mm 이상의 강한 항균활성을 보였다. 그러나 *E. coli*에 대한 항균활성과 일치하지는 않았다. *S. typhimurium*을 대상으로 항균력을 검사한 결과 넓패, 패, 알송이모자반, 도박, 방시무늬김, 납작파래 및 잎파래에서 항균활성을 나타내었고, 잎파래의 경우 매우 강력한 생육억제력(20.3 mm)을 나타내었다. *S. aureus*에 대해서는 툯, 넓패,

Table 3. Antimicrobial and hemolytic activities of 35 different seaweeds extracts.

Seaweeds	Growth inhibition zone (mm)									Hemolytic activity against hRBC (%) ⁴	
	Gram negative				Gram positive		Fungi				
	PA ¹	EC	EC 0157	ST	SA	LM	CA	SC	AN		
Phaeophyta											
<i>Colpomenia sinuosa</i>	- ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0±1.3
<i>Costaria costata</i>	-	-	-	-	-	8.0	-	-	-	-	3.0±2.9
<i>Ecklonia cava</i>	-	-	-	-	-	9.0	7.0	-	-	-	8.6±1.8
<i>Ecklonia stolonifera</i>	-	-	-	-	-	9.0	7.0	-	-	-	5.3±0.1
<i>Eisenia bicyclis</i> (Kjellman) Setchell	-	-	-	-	-	9.0	7.0	-	-	-	4.1±0.9
<i>Hixikia fusiforme</i> Okamura	-	-	11.7	-	12.6	9.5	7.5	-	-	-	9.1±1.4
<i>Ishige foliacea</i>	-	13.8	13.8	14.3	12.9	13.0	7.0	8.0	-	-	93.0±0.3
<i>Ishige okamurai</i>	-	19.1	15.4	16.3	14.0	11.0	7.5	8.0	-	-	92.6±0.1
<i>Laminaria japonica</i> Areschong	-	11.1	-	-	-	10.1	-	-	-	-	3.7±4.4
<i>Sargassum confusum</i>	-	12.5	13.1	10.9	10.6	-	7.5	-	-	-	0.2±0.7
<i>Sargassum fulvellum</i>	-	10.1	15	-	11.7	-	-	-	-	-	5.7±5.4
<i>Sargassum hemiphylum</i>	-	16.6	14.8	-	16.3	-	-	-	-	-	1.2±1.8
<i>Sargassum horneri</i>	-	-	15.5	-	10.3	-	-	-	-	-	1.7±1.9
<i>Sargassum thunbergii</i>	-	-	12.9	-	12.7	10.1	-	-	-	-	0.5±0.8
<i>Sargassum yamade</i>	-	15.6	-	-	13.9	13.0	7.0	-	-	-	55.9±5.1
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	-	-	-	-	-	9.5	-	-	-	-	9.5±0.2
<i>Undaria pinnatifida</i>	-	-	-	-	-	7.5	-	-	-	-	4.7±1.8
Rhodophyta											
<i>Chondrus ocellatus</i> Holmes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5±1.8
<i>Corallina pilulifera</i>	-	-	-	-	-	8.0	-	-	-	-	0.9±0.6
<i>Gigartina tenella</i> Harvey	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8±0.9
<i>Grateloupia elliptica</i> Holmes	-	-	-	-	-	8.0	-	-	-	-	0.7±0.4
<i>Halymeniopsis dilatata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6±0.1
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9±0.9
<i>Lomentaria catenata</i> Harvey	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3±0.9
<i>Pachymeniopsis elliptica</i> Yamada	-	-	-	9.0	-	-	-	-	-	-	0.3±0.2
<i>Pachymeniopsis lanceolata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3±0.5
<i>Porphyra yezoensis</i> Ueda	-	-	-	9.0	-	-	-	-	-	-	0.9±0.4
<i>Zanardinula cornea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9±0.9
Chlorophyta											
<i>Capsosiphon fulvescens</i>	-	9.8	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1±0.2
<i>Caulerpa racemosa</i>	-	-	12.7	-	-	12.5	-	-	-	-	20.3±0.1
<i>Codium fragile</i> (Suringar) Hariot	-	-	-	-	-	9.0	-	-	-	-	1.1±0.2
<i>Enteromorpha compressa</i>	-	9.2	13.3	10.1	-	10.0	-	-	-	-	28.8±3.8
<i>Enteromorpha linza</i>	-	-	17.4	20.3	-	10.0	-	-	-	-	3.7±7.2
<i>Ulva pertusa</i>	-	-	-	-	-	9.0	-	-	-	-	3.7±4.3
<i>Zostera marina</i>	-	-	-	-	-	-	--	-	-	-	0.4±0.9
Positive control											
Ampicillin (1 µg/disc)	-	11.0	-	10.0	21.0	19.0	-	-	-	-	ND ³
Miconazole (1 µg/disc)	-	-	-	-	-	-	18.0	22.0	9.5	-	ND

The concentrations of seaweed extracts used were 500 µg/disc, respectively. The hemolytic activity against hRBC was expressed as mean±standard deviation (n=3)

¹PA: *Pseudomonas aeruginosa* KACC 10186, EC: *Escherichia coli*, EC0157: *Escherichia coli* H7:O157, ST: *Salmonella typhimurium*, BS: *Bacillus subtilis*, SA: *Staphylococcus aureus*, LM: *Listeria monocytogenes*, CA: *Candida albicans* KCTC 7270, SC: *Saccharomyces cerevisiae*, and AN: *Aspergillus niger*. ²-: No activity, ³ND: Not determined, and ⁴hRBC: human red blood cell.

패, 알송이모자반, 모자반, 짝잎모자반, 팽생이모자반, 지층이, 야마다모자반 추출물에서 항균성을 나타내었고, 그 중 짝잎모자반에서 16.3 mm 이상의 강한 생육억제활성을 보였다. *L. monocytogenes*에 대해서는 쇠미역, 감태, 곰피, 대황, 톳, 넓패, 패, 다시마, 지층이, 야마다모자반, 고리매, 미역, 작은구슬산호말, 참도박, 포도송이해초, 청각, 납작파래, 잎파래 및 구멍갈파래의 19종의 해조류가 7.5 mm 이상의 생육억제환을 나타내는 항균활성을 나타내었다. 전체적으로 패와 넓패가 다양한 세균에 대해 우수한 항균 활성을 나타내었으며, 특히 패의 *S. aureus*에 대한 생육저해 결과 사진은 Fig. 1에 나타내었다.

한편 칸디다증 피부 감염증의 원인균인 *C. albicans*에 대해서는 패, 넓패, 곰피, 대황, 감태, 톳, 알송이모자반 및 야마다모자반에서 항진균 활성이 나타났으나, 그 활성은 생육억제환의 크기가 7.0~7.5 mm 크기로 미약하였다. 제빵 및 양조에 사용되는 *S. cerevisiae*에 대해서는 패와 넓패에서만 항진균활성이 나타났으며, *A. niger*에 대해 항곰팡이 활성을 나타내는 해조류는 없었다. 전반적으로 홍조류보다는 갈조류 및 녹조류 추출물에서 우수한 항균활성이 나타났으며, 특히 넓패 및 패에서 항진균 활성이 나타났었다.

해조류 추출물의 실제적 이용 가능성과 급성독성평가의 일환으로 각각의 추출물을 대상으로 인간 적혈구 용혈활성을 평가하였다. 500 µg/mL 농도에서 20% 이상의 용혈활성을 나타낸 시료는 넓패, 패, 야마다 모자반, 포도송이해초 및 납작파래의 5종이었다(Table 3). 특히 넓패, 패 및 야마다 모자반은 각각 93.01, 92.63 및 55.90%의 높은 용혈활성을 나



Fig. 1. Photography of cell growth inhibition in *Ishige okamurai* against *Staphylococcus aureus*. Symbols; M: methanol extract, H: hexane fraction, EA: ethylacetate fraction, B: butanol fraction, W: water residue of *I. okamurai*, and Amp: ampicillin as a positive control. Concentrations of samples of *I. okamurai* and ampicillin used were 250 µg/disc, and 1 µg/disc, respectively. The sizes of growth inhibition zone of M, H, EA, and ampicillin were 11.0, 14.3, 14.5, and 21.0 mm, respectively.

타내어 이들 추출물을 식품에 고농도로 사용하는 경우 부작용이 나타날 가능성을 예측할 수 있었다.

일반적으로 항세균 활성보다 항진균 활성을 나타내는 천연물의 선별이 보다 필요하며, 특히 항생제 내성 진균에 대해 항균활성을 나타내는 천연물은 거의 알려져 있지 않기 때문에 *C. albicans*에 대해 항진균활성을 나타내는 8종 해조류는 추가적으로 순차적 유기용매 분획물을 조제하여 다양한 항생제 내성 *C. albicans* 및 *Candida sp.*에 대해 항균력을 평가하였다(Table 4). 대조구로 사용된 miconazole(1 µg/disc)은 다양한 항생제 내성균주에 대해 7.0~28.0 mm의 생육억제환을 나타내었으나, *C. albicans* KCTC 7965, *C. albicans* CCARM 14020 및 CCARM 14021, *C. krusei* CCARM 14017, *C. tropicalis* CCARM 14019에 대해서는 항균활성이 나타나지 않았다. 8종 해조류 추출물 및 이들의 각각의 분획물들은 500 µg/disc 농도에서 생육억제환을 평가한 결과, 강력한 활성을 나타내지는 않았다. 먼저 곰피의 경우 유기용매 분획물에서는 거의 활성이 나타나지 않았고, 물 잔류물에서만 항진균 활성이 나타났다. 이는 곰피의 항진균 활성 성분이 수용성 물질임을 의미하며, 차후 곰피 물 잔류물에 대한 항진균 활성물질 탐색이 필요하다고 판단된다. 대황 및 감태의 경우에는 butanol 분획물에서 일부 활성이 나타났다. 한편 패의 경우, 다양한 분획물에서 항균활성이 나타났으며, 특히 ethylacetate분획 및 butanol 분획은 *C. albicans* 6종, *Candida sp.* 2종 및 *S. cerevisiae* 균주에 대해 항균력을 나타내었다. 반면 넓패의 경우 hexane 분획물에서 항균 활성이 나타났다. 톳의 경우 butanol 분획 및 물 잔류물에서 주로 활성이 나타났으며, 알송이 모자반의 경우 hexane 분획을 제외한 다양한 분획에서 우수한 활성이 나타났다. 마지막으로 야마다 모자반의 경우 butanol 분획 및 물 잔류물에서 항생제 내성균주에 대해 항진균 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 상기의 8종 해조류, 특히 패 및 넓패로부터 *C. albicans* 및 항생제 내성 *Candida sp.*에 대한 신규의 항균제 개발 가능성을 제시하고 있다.

한편 상기 8종 해조류 메탄올 추출물 및 이들의 각각의 분획물을 대상으로 항생제 내성균주를 포함한 다양한 *Paeruginosa* 균주에 대한 항균력을 평가하였으나, 시험균주 모두에서 항균활성이 나타나지 않았다(result not shown). 본 연구결과는 해조류, 특히 패, 넓패, 알송이모자반, 야마다모자반이 다양한 세균 및 항생제 내성진균의 제어에 이용될 수 있는 유용생물자원으로의 가능성을 제시하고 있으며, 향후 각각의 해조류로부터 실제적 이용가능성 검토를 위한 활성 물질의 규명 및 항균기작 연구가 필요하다.

요 약

해양생물 유래의 기능성 물질 개발 연구의 일환으로, 35종 해조류로부터 메탄올 추출물을 조제하여 항생제 내성균

Table 4. Antifungal activity of the sequential organic solvent fractions and water residues of 8 different seaweeds against pathogenic *Candida* species and *Saccharomyces cerevisiae*.

Extract and fractions of seaweeds		Growth inhibition zone (mm)												SC ²
		<i>Candida albicans</i>						<i>Candida</i> sp.						
		1 ¹	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Ecklonia stolonifera	M ³	7.0	- ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.0	-	-
	W	7.0	-	-	8.0	7.0	-	7.0	-	-	-	8.0	7.0	8.0
<i>Eisenia bicyclis</i> (Kjellman) Setchell	M	7.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.0	-	-
	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	7.0	7.0	7.0	7.0	-	-	7.0	-	-	-	-	7.0	7.0
	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.0
Ecklonia cava	M	7.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	∞	-	-	-
	B	-	-	-	-	7.0	-	-	-	-	7.0	-	-	7.0
	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ishige okamurai	M	7.5	-	-	-	7.5	-	-	-	-	-	8.0	-	8.0
	H	8.0	-	-	-	-	7.0	-	-	-	-	-	-	7.0
	EA	7.5	-	8.0	7.0	7.0	-	7.5	-	-	-	7.0	7.0	8.0
	B	8.0	-	-	8.0	8.0	7.0	8.0	-	-	-	8.0	9.0	-
	W	-	-	-	-	-	-	7.0	-	-	-	-	7.0	-
Ishige foliacea	M	7.0	-	7.0	8.0	7.0	-	-	8.0	-	-	8.0	-	8.0
	H	-	-	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	8.0	-	-	7.0	7.0	-
	EA	-	-	-	-	7.0	-	-	-	-	-	-	-	7.0
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.5	-	-
	W	-	-	-	-	-	-	7.5	-	-	-	-	7.0	-
Hixikia fusiforme Okamura	M	7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EA	-	-	7.0	7.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	7.5	-	-	7.0	7.0	-	-	-	-	7.0	-	7.5	7.0
	W	-	-	-	-	7.0	-	-	-	-	7.0	7.5	7.5	7.0
Sargassum confusum	M	7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EA	7.5	-	8.0	-	-	7.5	-	-	-	-	7.5	8.0	7.5
	B	-	-	-	7.0	7.0	7.0	-	-	-	7.5	-	7.5	7.5
	W	-	7.0	-	7.0	7.0	-	7.5	-	-	-	-	-	-
Sargassum yamade	M	7.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	-	-	-	-	7.5	-	-	-	-	-	-	7.5	-
	EA	-	-	7.0	-	-	7.0	-	-	-	-	-	-	-
	B	7.0	-	-	-	7.0	-	-	-	-	-	-	8.5	7.0
	W	-	-	-	-	7.0	7.0	-	-	-	7.0	-	7.5	7.0
Miconazole (1 µg/disc)		20.0	-	20.0	8.0	18.0	-	-	28.0	7.0	11.0	-	-	26.0

The concentrations of seaweed extracts and their fractions used were 500 µg/disc, respectively.
¹1: *C. albicans* KCTC 7270, 2: *C. albicans* KCTC 7965, 3: *C. albicans* KACC 30003, 4: *C. albicans* KACC 30004, 5: *C. albicans* KACC 30062, 6: *C. albicans* CCARM 14020, 7: *C. albicans* CCARM 14021. 8: *C. geochares* KACC 30061, 9: *C. saitoana* KACC 41238, 10: *C. gillermordi* CCARM 14018, 11: *C. krusei* CCARM 14017, and 12: *C. tropicalis* CCARM 14019. ²SC: *Saccharomyces cerevisiae*. ³M: Methanol extract, H: hexane fraction, EA: ethylacetate fraction, B: butanol fraction, and W: water residue, ⁴-: No activity.

주를 포함한 다양한 세균 및 진균에 대한 항균력을 평가하였다. 그 결과, 패, 넓패, 알송이 모자반 및 야마다 모자반에서 광범위한 세균에 대해 우수한 항세균 활성을 확인하였으며, 상기 4종과 함께 곰피, 대황, 감태 및 툫의 8종에서 *Candida albicans* 생육억제력을 확인하였다. 이중 패, 넓패, 야마다모자반 추출물은 500 µg/mL 농도에서 55-93%의 인간적혈구 용혈활성을 나타내었다. 상기 8종 해조류의 메탄올 추출물을 n-hexane, ethylacetate, butanol을 이용하여 순차적 용매 분획물과 물 잔류물을 조제하여 다양한 *Candida* sp.에 대한 항균력을 평가한 결과, 패 및 넓패로부터 *C. albicans* 및 항생제 내성 *Candida* sp.에 대한 신규의 항균제 개발 가능성을 확인하였다. 본 연구 결과는 해조류 특히 패, 넓패, 알송이모자반, 야마다모자반이 다양한 세균 및 항생제 내성진균의 제어를 위한 생물자원으로 개발 가능성을 제시하고 있다.

Acknowledgement

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2009-0072444).

REFERENCES

- Ahn, S. M., Y. K. Hong, G. S. Kwon, and H. Y. Sohn. 2010. Evaluation of *in vitro* anticoagulation activity of 35 different seaweed extracts. *J. Life Sci.* **20**: 1640-1647.
- Bae, S. J. 2004. Studies on the antioxidative and antimicrobial effects of *Chondria crassicaulis*. *J. Life Sci.* **14**: 411-416.
- Bae, S. J. 2004. Anticarcinogenic effects of *Sargassum fulvellum* fractions on several human cancer cell lines *in vitro*. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**: 480-486.
- Cha, M. H. and Y. K. Kim. 2008. Analysis of consumption values of a seaweed functional food. *Kor. J. Food Culture* **23**: 462-468.
- Cho, E. K. and Y. J. Choi. 2010. Physiological activities of hot water extracts from *Ecklonia cava* Kjellman. *J. Life Sci.* **20**: 1675-1682.
- Choi, I. W., S. U. Kim, D. C. Seo, B. H. Kang, B. K. Sohn, Y. S. Rim, J. S. Heo, and J. S. Cho. 2005. Biosorption of heavy metals biomass of seaweeds, *Laminaria* species, *Ecklonia stolonifera*, *Gelidium amansii*, and *Undaria pinnatifida*. *Kor. J. Environ. Agri.* **24**: 370-378.
- Jin, H. J. and D. H. Jin. 2007. Screening of seaweed extracts for algicidal substances using a photosensitization effect. *J. Kor. Fish Soc.* **40**: 122-127.
- Joo, D. S., J. K. Lee, Y. S. Choi, S. Y. Cho, Y. K. Je, and J. W. Choi. 2003. Effect of sea tangle oligosaccharide drink on serum and hepatic lipids in rats fed a hyperlipidemic diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**: 1364-1369.
- Kang, M. C., J. Y. Lee, R. K. Ko, H. B. Kim, S. H. Hong, and G. O. Kim. 2008. Melanin inhibitory effect and anti-inflammatory effects of *Dietyota coriacea* extracts derived from adjacent sea of the Jeju island. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **23**: 311-316.
- Kang, S. Y., M. J. Oh, and J. A. Shin. 2005. Antimicrobial activity of Korean marine algae against fish pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.* **18**: 147-156.
- Kim, B. J., S. H. Oh, and S. K. Park. 2006. Cross resistance between rifampicin and rofabutin and its relationship with *rpoB* gene mutations in clinically isolated MDR-TB strains. *Tuberc. Respir. Dis.* **60**: 171-179.
- Kim, B. M., J. Y. Jun, Y. B. Park, and I. H. Jeong. 2006. Antioxidative activity of methanolic extracts from seaweeds. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**: 1097-1101.
- Kim, J. H., D. S. Lee, C. W. Lim, H. Y. Park, and J. H. Park. 2002. Antibacterial activity of sea-mustard, *Laminaria japonica* extracts on the cariogenic bacteria, *Streptococcus mutans*. *J. Kor. Fish Soc.* **35**: 191-195.
- Kim, S. A., J. Kim, M. K. Woo, C. S. Kwak, and M. S. Lee. 2005. Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J. Kor. Soc. Food Sci Nutr.* **34**: 451-459.
- Kum, E. J., S. J. Park, B. H. Lee, J. S. Kim, K. H. Son, and H. Y. Sohn. 2006. Antifungal activity of phenanthrene derivatives from aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. *J. Life Sci.* **16**: 647-652.
- Lee, E. H., J. Ham, H. R. Ahn, M. C. Kim, C. Y. Kim, C. H. Pan, B. H. Um, and S. H. Jung. 2009. Inhibitory effects of the compounds isolated from *Sargassum yezoense* on -glucosidase and oxidative stress. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 150-154.
- Lee, H. O., D. S. Kim, J. R. Do, and Y. S. Ko. 1999. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of algae. *J. Kor. Fish Soc.* **32**: 427-431.
- Lee, H. S., J. H. Suh, and K. H. Suh. 2000. Preparation of antibacterial agent from seaweed extract and its antibacterial effect. *J. Kor. Fish. Soc.* **33**: 32-37.
- Lim, C. W. 2000. Structure and some properties of the antimicrobial compounds in the red alga, *Symphylocladia latiuscula*. *J. Kor. Fish Soc.* **33**: 280-287.
- Lim, E. J., K. R. Cho, J. Y. Kim, Y. H. Lee, J. N. Ho, Y. J. Kim, and H. Y. Cho. 2008. The anticoagulant and anticancer activities of *Enteromorpha interstitialis* extracts. *Kor. J. Food Nutr.* **21**: 7-14.
- Lim, J. H., K. S. Jung, J. S. Lee, E. S. Jung, D. K. Kim, Y. S. Kim, Y. W. Kim, and D. H. Park. 2008. The study on antimicrobial and antifungal activity of the wild seaweeds of Jeju island. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **34**: 201-207.
- Nikapitiya, C., M. Zoysa, P. M. Ekanyake, H. J. Park, and J. H. Lee. 2006. Isolation and purification of anticoagulant polysaccharide compound from fermented edible brown seaweed, *Laminaria ochotensis*. *J. Aquaculture* **19**: 33-39.

23. Oh, J. K., Y. O. Shin, H. S. Sohn, and R. M. Seo. 2003. Effect of functional food including seaweeds extracts supplementation on hematological variables and antioxidant system. *Kor. J. Phys. Edu.* **42**: 895-903.
24. Park, Y. B. 2005. Determination of nitrite-scavenging activity of seaweed. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 1293-1296.
25. Park, Y. K., C. H. Park, W. J. Koh, O. J. Kwon, B. J. Kim, Y. H. Kook, S. N. Cho, C. Chang, and G. H. Bai. 2005. Cross resistance of fluoroquinolone drugs on *gyrA* gene mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberc. Respir. Dis.* **59**: 250-256.
26. Ryu, H. Y., S. M. Ahn, J. S. Kim, I. C. Jung, and H. Y. Sohn. 2010. Antimicrobial activity of fruit of *Crataegus pinnatifida* Bunge against multidrug resistant pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* sp. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 77-83.
27. Ryu, H. Y., S. M. Ahn, Y. K. Shin, and H. Y. Sohn. 2010. Antimicrobial and hemolytic activity of oriental medicinal herbs. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 190-197.
28. Sohn, H. Y., E. J. Kum, Y. S. Kwon, G. S. Kwon, I. Jin, H. Y. Kwon, C. S. Kwon, and K. H. Son. 2003. Screening of anti-candidosis agent from medicinal and wild plants. *J. Life Sci.* **5**: 504-617.