

해양에서 분리한 *Exiguobacterium* sp. SC2-1의

항산화 활성 및 동정

김만철 · 박근태¹ · 허문수*

제주대학교 해양과학대학 해양생물공학과, ¹부산대학교 산학협력단

서론

생체 내에서 산화 스트레스에 의한 free radical(유리기) 생성은 생체막의 구성성분인 불포화지방산을 산화시키고, 이로 인해 생성된 과산화지질의 증가는 여러 조직을 손상시켜 대사장애를 초래함으로써 생체기능이 저하나 노화 및 만성 퇴행성질환들의 유발과 밀접한 인과 관계를 가진 것으로 알려져 있다. 생체 내에서 산화 스트레스에 의한 free radical(유리기) 생성은 생체막의 구성성분인 불포화지방산을 산화시키고, 이로 인해 생성된 과산화지질의 증가는 여러 조직을 손상시켜 대사 장애를 초래함으로써 생체기능의 저하나 노화 및 만성 퇴행성질환들의 유발과 밀접한 인과 관계를 가진 것으로 알려져 있다. 과다하게 생성된 활성 산소를 제거하기 위하여 인체에서는 SOD를 비롯해 비타민 C, E 등의 방어기작들이 작용한다. 항산화물질은 일반적으로 활성산소와 과산화지질의 제거 물질로서, 합성 항산화제인 BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylated hydroxytoluene) 등이 널리 사용되어 왔으나 이 물질들의 안전성이 재검토 되면서 사용 규제가 강화 되고 있다(2). 반면에 천연 항산화제로 이용되고 있는 비타민인 α -tocopherol 및 vitamin C 등은 항산화 효과가 낮고, 가격이 비싼 단점이 있다. 그러므로 항산화능이 우수 하고 인체에 무해하며 가격이 저렴한 천연 항산화제의 개발이 절실히 요구되고 있다. 따라서 천연 항산화 물질에 대한 개발의 필요성이 대두되면서, 최근에는 여러 종류의 육상 식물에서 항산화 물질 연구가 활발히 진행되고 있다. 식물의 연구에 비해 미생물에서는 비교적 연구가 미약하며 효모, 곰팡이, 세균등에서 항산화 물질에 대한 약간의 보고가 있다.

따라서 본 연구는 해양 유래의 미생물을 이용하여 *in vitro* 항산화 실험계를 이용하여 항산화능을 가진 균주를 선별해내고 항산화 물질 생성 최적 조건 및 균주 배양액에서의 항산화 활성을 조사하여 해양 미생물 유래 항산화제로서의 이용 가능성을 조사 하였다.

재료 및 방법

항산화 활성을 나타내는 균주의 분리는 제주 연안 해수를 해양 미생물 분리용 편판배지 MA(Marine agar, Difco)에서 희석한 후 배지에 도말하여 25℃에서 3일간 배양하고, 멸균 filter paper에 묻게 한 후 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical 용액을 균체

및 대사산물이 묻은 filter paper에 분사하여 색 변화로 항산화 활성균주를 1차적으로 분리하였고, 항산화능 측정은 DPPH법(3)을 이용하였으며 균주의 배양은 25℃, 200 rpm에서 진탕 배양하였다. 분리된 균주의 동정은 형태학적, 배양적, 생화학적특성을 조사하였으며, 16s rDNA 염기서열 및 지방산을 분석을 실시하여 최종적으로 균주를 동정하였다. hydroxyl radical(OH) 소거활성은 2-deoxyribose oxidation method방법(5)을 변형하여 측정하였으며 superoxide radical(O₂⁻) 소거활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법(6)에 따라서 측정하였다.

결과

제주 연안의 해수로부터 항산화 생성능이 있는 78개의 균주를 분리한 후, DPPH법에 의하여 전자공여능 소거 활성능이 뛰어난 균주를 선발하였으며, 그 중 항산화능이 가장 우수한 균주를 분리하여 SC2-1이라고 명명하였다. 균주의 형태학적, 배양적, 생화학적특성과 16s rDNA 염기서열 분석과 지방산 분석을 토대로 하여 최종적으로 *Exiguobacterium* sp. SC2-1로 동정하였다. 균주의 hydroxyl radical(OH) 소거활성과 superoxide radical(O₂⁻) 소거활성을 측정한 결과 24시간 배양했을때 각각 73.3%와 35%로 나타났다.

참고문헌

1. Annual report on the cause of death statistics. 2001. National Statistical Office, Republic of Korea.
2. Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydro xyanisol and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52, 59-63.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26, 1199-1204.
4. Cha, J. Y, and Cho, Y. S. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28, 1131-1136.
5. Kawagan, S. 1996. Protocol for control of body functional material in food, pp. 8-15, *Kakuen press center*, Japan.
6. Stefan Marklund and Gudrun Marklund. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 47, 469-474.