

## 수산 미이용자원 중에 존재하는 항산화 물질의 검색

조순영 · 유병진 · 장미화 · 이수정\* · 성낙주\* · 이응호\*\*

강릉대학교 식품과학과, \*경상대학교 식품영양학과, \*\*부산수산대학교 식품공학과

### Screening for the Antioxidants in Unused Marine Resources by the Polarographic Method

Soon-Yeong Cho, Byeong-Jin You, Mi-Hwa Chang, Soo-Jung Lee\*,  
Nak-Ju Sung\* and Eung-Ho Lee\*\*

Department of Food Science, Kangnung National University

\*Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University

\*\*Department of Food Science and Technology, The National Fisheries University of Pusan

#### Abstract

To detect naturally occurring antioxidative components from unused marine resources, the screening test for the antioxidants containing in starfish, ascidian skin, cuttlefish ink, echinoid skin, *Sargassum horneri*, *Agarum cribrosum*, *Odonthalia corymbifera* and *Desmarestia ligulata* was carried out. The ether, acetone and methanol fractions successively extracted from *Odonthalia corymbifera* were very effective on prevention of the nonenzymatic lipid oxidation and their IC<sub>50</sub> (a concentration to inhibit 50% of control lipid oxidation rate) were 30, 100 and 200 µg/mL, respectively. The water and methanol extracts obtained from cuttlefish ink also revealed strong antioxidant effect and their IC<sub>50</sub> were 390, 100 µg/mL, respectively.

Key words: unused marine resources, natural antioxidants, cuttlefish ink, lipid oxidation.

#### 서 론

식품의 가공·저장 및 유통 중에 자연적으로 발생하는 지방산화는 식품의 색택 및 맛에 나쁜 영향을 미칠 뿐만 아니라 지방산화 생성물을 섭취할 경우 설사 및 성장 억제 등이 일어난다고 보고<sup>(1-3)</sup>하고 있어 지방산화를 억제할 수 있는 합성 항산화제가 사용되어 왔다. 그러나 최근 많이 사용되고 있는 페놀계 합성항산화제인 butylated hydroxy anisole(BHA)과 butylated hydroxy toluene(BHT)은 50 mg/kg/day 이상을 섭취할 경우 생체효소 및 지방의 변화로 병, 암이 유발된다고 보고<sup>(4,5)</sup>하고 있는 등 합성항산화제는 거의 모두 인체독성을 가진다고 보고되어 있어, 대부분 사용규제를 받고 있다. 이러한 점을 고려하여 볼 때, 이상적인 항산화제란 항산화효과가 요구되는 여러가지 광범위한 제품이나 분야에서의 첨가효과와 아울러 무독성 및 안전성이 확실히 입증될 수 있어야 한다. 그러므로 강력하면서도 인체에 해가되지 않는 천연 항산화제의 개발에 관한 연구가 매우 절실한 실정이다.

최근 식물성분 중에 함유된 생리활성성분에 관한 연구가 활발히 진행됨에 따라 유지의 자동산화방지와 노화억제라는 측면에서도 연구되어오고 있는데, 천연 항산화제로서 가장 많이 연구된 분야로서 각종 향신료의 정유성분을 추출하여 항산화 효과를 시험한 보고<sup>(6,7)</sup>가 있다. Burton<sup>(8)</sup>은 carotenoid가 peroxy radical과 반응함으로써 유지산패를 억제한다고 하였고, Igarashi 등<sup>(9)</sup>은 색소물질로 알려진 anthocyanin의 경우도 항산화 작용에 관계한다고 하였다. 또한 Ramarathnam 등<sup>(10,11)</sup>은 왕겨의 메탄올 추출물 중 flavonoid 물질이 강한 항산화성을 낸다고 보고하였으며, 인삼에서도 항산화 효과가 있다는 보고<sup>(12,13)</sup>가 있고, 일반적으로 유지를 많이 함유한 식물 종자에는 항산화 물질이 함유되어 있다고 보고<sup>(14-16)</sup>되어 있다. 해조류에서 천연 항산화 물질을 분리 연구한 보고로는, 일본의 경우 Kaneda와 Ando<sup>(17)</sup>에 의해 일본 해안에 생육하는 21종의 해조류 중 김 등에서 항산화력을 가진 phospholipids가 분리 보고되었고, Fujimoto와 Kaneda<sup>(18)</sup>는 36종의 해조류 중 홍조류인 빨간 김동이과의 *Rhodomela*속과 *Polysiphonia*속에서 천연 항산화물질을 분리 보고한 바 있다. 그러나 우리나라에서는 박 등<sup>(19)</sup>이 동해안 연안에서 생육하는 톳, 다시마, 비역, 구멍쇠미역 등 12종의 해조류를 채취하여 항산화성물질을 분리, 동정하여 보고한 것 이외에는 해조류에 관한 연구보고는

Corresponding author: Soon-Yeong Cho, Department of Food Science, Kangnung National University, San-1, Jibyen-dong, Kangnung 210-702, Korea

거의 없는 실정이다.

그러므로, 본 연구는 수산가공폐기물 및 미이용 해조류로부터 강력한 천연생리활성물질의 개발 가능성을 모색하기 위하여, 오징어먹집, 불가사리, 성게껍질, 우렁쉥이껍질 등의 수산미이용동물과 구멍쇠미역, 산말, 모자반, 참빗풀 등의 식용·비식용 해조류를 시험재료로 하여 우선 천연 항산화제 존재 여부의 검색을 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 검색용 시료의 조제

시험 재료로는 별불가사리(starfish), 우렁쉥이 껍질(ascidian skin), 오징어먹집(cuttlefish ink), 성게 껍질(echinoid skin) 등 비식용 수산폐기물과 팽생이모자반(*Sargassum horneri*), 구멍쇠미역(*Agarum cribrosum*), 참빗풀(*Odonthalia corymbifera*), 산말(*Desmarestia ligulata*) 등의 식용·비식용 해조류를 사용하였다.

별불가사리와 팽생이모자반, 구멍쇠미역, 참빗풀 및 산말 등의 해조류는 주문진 근해 소돌 굴양식장에서 채취하였으며, 우렁쉥이 껍질은 주문진 우렁쉥이 양식장에서 채취한 것으로 식용부위를 제외한 껍질 부위를 사용하였다. 또 오징어 먹집은 주문진 소재 오징어가공장에서 수거하였으며, 성게 껍질은 경남 충무 소재의 성게양식장에서 채취 후 껍질 부위만 수거하여 사용하였다.

채취된 각 시료는 수세하여 이물질 제거 후 진공동결건조기(F T S system Inc. U.S.A.)에서 건조시킨 뒤 20 mesh 이하가 되도록 마쇄하여 냉동실(-20°C)에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 생리활성물질의 용매추출

각 시료별 생리활성물질 추출은 5°C의 저온실에서 전보(20)와 같이 실시하였다. 즉, 미리 진공동결건조해둔 시료 100g을 증류수 2,000 ml로 24시간 교반추출한 후 원심분리(7,000 rpm, 4°C, 15 min)하여 추출액과 잔사를 얻었다. 이 추출액은 진공동결건조시켜 water fraction으로 하였으며 잔사에 대해서는 diethyl ether, acetone, methanol의 순으로 추출하여 ether fraction, acetone fraction, methanol fraction을 얻어 회전식 진공증발기(Heidolph, 독일)로 농축시켜 Dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma Chem. Co., U.S.A.)에 용해시킨 후 냉장고에 보관하면서 검색용 시료로 사용하였다.

### 추출수율 측정

추출수율의 측정은 추출에 사용한 시료의 건물에 대한 추출물의 총 soluble solid 함량의 백분비로 표시하였다.

### 비효소적 산화억제 효과 검사

항산화성 검정은 oxygen electrode와 oxygen monitor (Yellow Spring Instrument Co., Yellow Spring, U.S.A.)

가 부착되어있는 밀폐된 용기내에서 polarographic method(21)에 의해 측정하였다. 즉, 0.2 M Potassium phosphate 완충액(pH 7.0) 2 mL에 2% FeSO<sub>4</sub> 용액 30 μL를 가하고 시료추출액을 넣지 않거나(control) 넣거나 하여 물로써 부피를 일정하게 맞춘 후 magnetic stirring 반응시키면서 용존산소수준이 일정해지는 지점에서 기질로서 594 μM이 되도록 linoleic acid(LA) 10 μl를 주입시켜 용존산소 변화를 추적하여 control구의 초기최대기율기와 시료추출액 첨가구의 초기최대기율기의 차에 대한 control구의 초기최대기율기로서 산화억제율(Inhibition ratio, IR, %)을 구하여 산화억제율이 50%로 되는 시료 추출액의 농도(IC<sub>50</sub>, μg/mL)를 구하였다. 이때 밀폐된 용기내의 총부피는 3 ml로 일정하게 하였다.

$$\text{Inhibition ratio}(\%) = -\frac{\text{CS} - \text{TS}}{\text{CS}} \times 100$$

단, CS : control구의 초기최대기율기  
TS : 시료추출구의 초기최대기율기

## 결과 및 고찰

### 추출용매별 항산화효과 비교

추출용매별 첨가농도에 따른 비효소적 지방산화억제능은 Fig. 1, 2, 3 및 4와 같다. 각 시료 추출용매별 지방산화억제능 검사 결과, 물 추출구의 경우(Fig. 1), 오징어먹집의 주입농도별 지방산화억제율을 보면 166.7 μg/mL 주입시에는 지방산화 억제율이 33.3%이었던 것이 500 μg/mL 주입시에는 58.3%로서 농도가 증가함에 따라 억제율이 급격히 증가하는 경향을 나타내었다. 모자반은

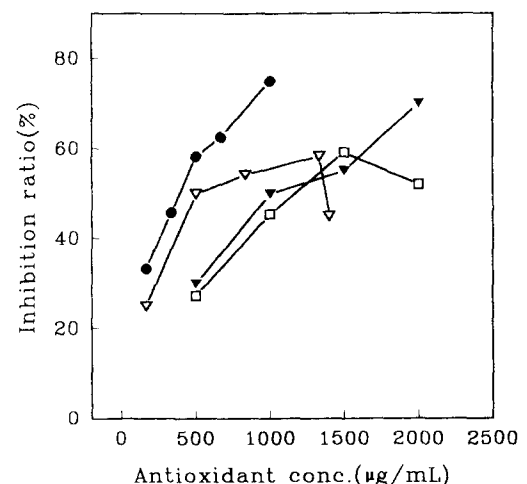
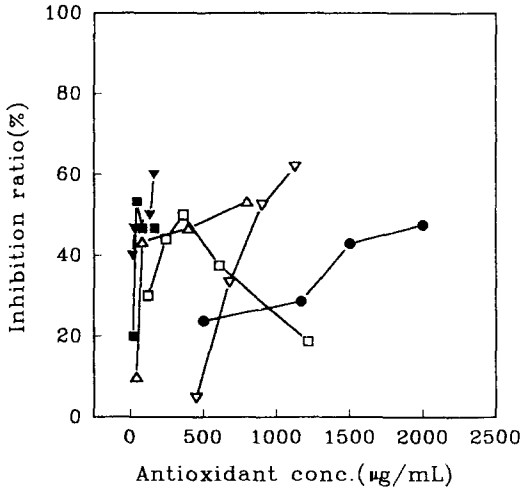


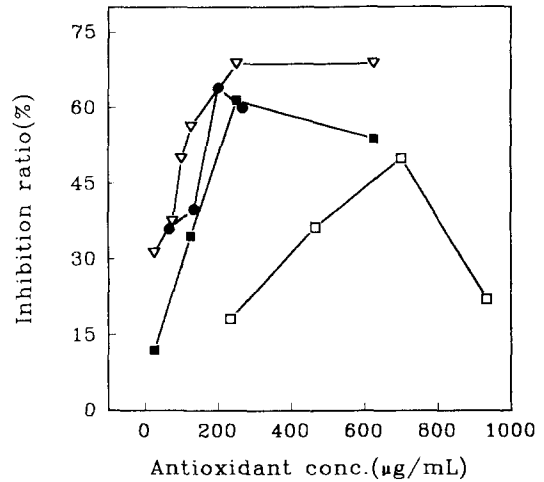
Fig. 1. Inhibitory efficacy of water fractions extracted from unused marine resources on nonenzymatic lipid oxidation

●-●; Cuttlefish ink, ▽-▽; *Sargassum horneri*, ▼-▼; *Odonthalia corymbifera*, □-□; *Desmarestia ligulata*



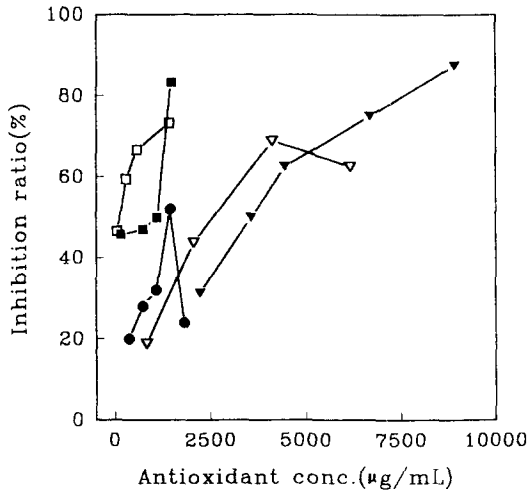
**Fig. 2.** Inhibitory efficacy of ether fractions extracted from unused marine resources on nonenzymatic lipid oxidation

●-●; Starfish, ▽-▽; Ascidian skin, ▼-▼; *Sargassum horneri*, □-□; *Agarum cribrosum*, ■-■; *Odonthalia corymbifera*, △-△; *Desmarestia ligulata*



**Fig. 4.** Inhibitory efficacy of methanol fractions extracted from unused marine resources on nonenzymatic lipid oxidation

●-●; Ascidian skin, ▽-▽; Cuttlefish ink, □-□; *Sargassum horneri*, ■-■; *Odonthalia corymbifera*



**Fig. 3.** Inhibitory efficacy of acetone fractions extracted from unused marine resources on nonenzymatic lipid oxidation

●-●; Starfish, ▽-▽; Echinoid skin, ▼-▼; *Agarum cribrosum*, □-□; *Odonthalia corymbifera*, ■-■; *Desmarestia ligulata*

166.7 µg/mL 첨가시 25%의 지방산화억제율을 보였으며 첨가농도를 500 µg/mL로 증가시켰을 때에는 50%의 억제율을 나타내어 오징어먹죽 다음으로 높은 항산화 효과를 보였다. 산말과 참빗풀에서도 IC<sub>50</sub>(대조산화속도를 50%까지 줄이는데 필요한 시료량)이 각각 1,180 및

1,000 µg/mL로 나타나 비효소적 산화 억제 물질이 존재하는 것으로 생각되었으나, 전 시료 중에서 오징어먹죽의 IC<sub>50</sub>이 390 µg/mL로서 가장 우수한 항산화 효과를 가지는 것으로 나타났다. 에테르 추출구(Fig. 2)에서는 지방산화억제율이 50% 이상 될 때의 농도가 참빗풀에서는 30 µg/mL로 낮게 나타나 산화억제효과가 매우 우수한 것으로 나타났으며, 우렁쟁이 껍질, 구멍쇠미역, 모자반 및 산말에서도 IC<sub>50</sub>이 각각 885, 364, 133 및 600 µg/mL로 나타나 참빗풀을 비롯한 5종의 시료 모두가 IC<sub>50</sub>이 1000 µg/mL 이하로 다른 추출용매에 비하여 낮은 농도의 첨가로도 산화를 억제하는 것으로 나타났다. 그러나 성게껍질과 오징어먹죽의 에테르 추출구에서는 항산화효과가 없었으며, 불가사리는 IC<sub>50</sub>이 2,000 µg/mL로서 다른 시료에 비하여 항산화효과가 낮은 것으로 확인되었다. 아세톤 추출구(Fig. 3)에서는 참빗풀의 IC<sub>50</sub>값이 110 µg/mL로써 1,385, 2,620, 3,563 및 1,100 µg/mL로 나타난 불가사리, 성게껍질, 구멍쇠미역 및 산말 등의 시료에 비하여 높은 산화억제효과를 가지는 것으로 나타났다. 메탄올 추출구(Fig. 4)에서도 우렁쟁이 껍질, 오징어먹죽, 모자반 및 참빗풀의 IC<sub>50</sub>이 각각 162, 100, 700 및 200 µg/mL로 나타나 항산화 효과가 강한 것으로 보였으나, 성게껍질과 구멍쇠미역은 IC<sub>50</sub>이 각각 1,800과 10,000 µg/mL로 산화억제효과가 낮았다. 본 실험에서 시료 추출액의 첨가 농도를 증가시킬수록 산화 억제율이 증가하는 것으로 나타났으나 시료에 따라서는 첨가 농도를 지나치게 증가시키면 산화억제율의 증가폭이 감소하거나 오히려 산화억제율이 감소하는 경향을 보였는데, 이처럼 추출물의 첨가량을 증가시켜도 항산화 효과가

Table 1. Antioxidant effect of several fractions prepared from unused marine resources

	Water		Ether		Acetone		Methanol	
	Yield* <sup>1</sup> (%)	IC <sub>50</sub> * <sup>2</sup> (µg/mL)	Yield (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Yield (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Yield (%)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Starfish	17.7	55,600	2.5	2,000	1.8	1,385	1.1	N.D.
Ascidian skin	8.6	N.D.* <sup>3</sup>	1.8	885	1.2	N.D.	0.2	162
Cuttlefish ink	14.9	390	0.4	N.D.	2.4	N.D.	1.5	100
Echinoid skin	5.9	N.D.	0.5	N.D.	0.4	2,620	0.6	1,800
<i>Agarum cribrosum</i>	22.8	N.D.	1.6	364	6.7	3,563	2.4	10,000
<i>Sargassum horneri</i>	30.0	500	1.6	133	3.6	N.D.	1.4	700
<i>Desmarestia ligulata</i>	25.0	1,180	1.6	600	3.3	1,100	0.3	N.D.
<i>Odonthalia corymbifera</i>	32.0	1,000	1.0	30	2.9	110	1.2	200

\*<sup>1</sup>(Solvent extracted solid weight/freeze dried sample weight)×100

\*<sup>2</sup>IC<sub>50</sub> means the sample concentration to inhibit 50% of control lipid oxidation rate

\*<sup>3</sup>N.D.: not detected.

비례하지 않은 것은 추출물 자체의 특성이거나 용해도가 낮아서 일어나는 현상<sup>(22)</sup>인 것으로 추론된다.

#### 각 시료의 추출구간별 항산화는 비교

8종의 시료를 각 용매별로 순차추출하여 얻은 추출구간별 수율과 대조 리놀산(LA) 산화속도를 50%까지 줄이는 데 필요한 추출액의 농도(이하 IC<sub>50</sub>, µg/mL)는 Table 1에 나타내었다. 시료의 용매추출구간별 수율을 살펴보면, 물 추출구에서는 최소 성계깁질 5.9%에서부터 최대 참빗풀 32%까지 나타나 평균수율 20%로 비교적 높은 수율을 보였으나 에테르, 아세톤 및 메탄올 추출구에서는 평균수율이 각각 1.4, 2.8, 1.1% 정도로 나타나 물 추출구에 비하여 매우 낮은 수율을 나타내었다.

시료별 IC<sub>50</sub>값을 보면(Table 1), 모자반의 경우 물 추출구에서 500 µg/mL, 에테르 추출구 및 메탄올 추출구에서 각각 133, 700 µg/mL로 나타났으며, 참빗풀은 에테르, 아세톤, 메탄올 추출구에서 IC<sub>50</sub>이 각각 30, 110 및 200 µg/mL로 나타나 가장 산화억제효과가 좋았다. 시험대상 미이용 수산동물 중에서는 오징어먹집만이 물 추출구와 메탄올 추출구에서 IC<sub>50</sub>이 각각 390, 100 µg/mL로 나타나 수산동물 보다는 해조류에 항산화 효과가 있는 물질이 많이 존재하는 것으로 보여지며, 에테르와 같은 비극성용매 추출구에 강한 비효소적 산화억제물질이 많이 용출하는 것으로 사료되었다. 박 등<sup>(19)</sup>은 해조류에서 천연 항산화물질을 분리하고자 우리나라 동해안에서 생육하는 해조류 12종에 대해 BHT, BHA 및 tocopherol과의 항산화 효과를 비교해 본 결과 김>BHT 미역>다시마>넙미역>지누아리>서갈, 파래 순으로 활성을 보였으나 해조류 내에 존재하는 색소가 산화를 촉진 혹은 억제하는 기능을 가진다고 생각하여 해조류의 색소를 탈색시킨 후 항산화활성을 측정해본 결과 김>미역>다시마>BHA>파래>Tocopherol>넙미역>BHT 등의 순서로 활성을 보여 탈색 이전의 결과와 약간 상이성을 보였다고 하였는데, 본 연구에서 대상 해조류의

항산화 효과는 이들 해조류 내에 존재하는 색소성분 뿐만 아니라 bromophenol계 물질<sup>(18)</sup> 등도 항산화 작용에 관여하고 있는 것으로 생각되어 보다 순수한 형태의 분리 후 정확한 동정의 시도가 필요하다고 사료된다.

#### 요 약

수산 미이용자원의 순차 용매추출물에 대한 항산화물 존재 여부 검색결과, 모자반의 경우 IC<sub>50</sub>이 물추출구에서 500 µg/mL, 에테르 추출구 및 메탄올 추출구에서 각각 133, 700 µg/mL로 나타났으며, 참빗풀은 에테르, 아세톤, 메탄올 추출구에서 IC<sub>50</sub>이 각각 30, 110 및 200 µg/mL로 나타나 대상 시료중 가장 항산화 효과가 좋았다. 미이용 수산동물 중에서는 오징어먹집만이 물 추출구와 메탄올 추출구에서 IC<sub>50</sub>이 각각 390, 100 µg/mL로 나타날 뿐 큰 항산화효과를 보이는 시료나 추출구간은 없었다. 대상 수산 미이용 동·식물에 있어서 에테르와 같은 비극성 용매 추출구에 강한 항산화 물질이 많이 용출되어 존재해 있는 것으로 나타났다.

#### 감사의 말

본 연구는 한국과학재단의 1991년 특정기초연구과제 연구비 지원(과제번호: 91-0700-14-03-3)으로 수행된 연구결과와 일부로서, 이에 깊이 감사드립니다.

#### 문 헌

1. Kaunitz, H. et al.: Biological effects of the polymeric residues isolated from autoxidized fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **33**, 630(1956)
2. Kaunitz, H., Slanetz, C.A. and Johnson, R.E.: Utilization of food for weight maintenance and growth. *J. Nutr.*, **62**, 551(1957)
3. Matano, K.: Toxicity of oxidized and heated fats. *J.*

- Japan. Oil Chem. Soc.*, 19, 197(1970)
4. Branen, A.L.: Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 59(1975)
  5. Fujimoto, K. and Kaneda, T.: Screening test for anti-oxygenic compounds from marine algae and fractionation from *Eisenia bicyclis* and *Undaria pinnatifida*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 46, 1125(1980)
  6. Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A., Hewedi, F.M. and El-Baroty, G.S.A.: Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidant in aqueous media. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 792(1989)
  7. Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A. and Baroty, G.S.A.: Influence of thyme and clove essential oils in cotten seed oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 800(1989)
  8. Burton, G.W.: Antioxidant action of carotenoids. *J. of Nutrition*, 119, 109(1989)
  9. Igarashi, K., Takanashi, K., Makino, M. and Yasui, T.: Antioxidative activity of major anthocyanin isolated from wild grapes. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 36, 852(1989)
  10. Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S.: Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 2. Identification of isovitexin, A C-glycosyl flavonoid. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 316(1988)
  11. Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S.: Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. *J. Agric. Food Chem.*, 36, 732(1988)
  12. 이근계: 인삼 사포닌과 그 분획물이 유기산의 산화에 미치는 영향에 관한 연구. 상명여대 논문집, 10, 425 (1982)
  13. 김상달, 도재호, 오훈일: 고려 인삼 갈변물질의 항산화 효과. 한국농화학회지, 24, 161(1981)
  14. 福田靖子: コマ種子の抗酸化成分に関する食品化学的研究. 日本食品工業學會誌, 37, 74(1990)
  15. Soliman, M.A., El-Sawy, A.A., Fadel, H.M. and Osman, F.: Effect of antioxidants on the volatiles of roasted sesame seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 33, 523(1985)
  16. 김은희, 김동중: 탈지 콩, 참깨 및 들깨박의 에탄올 추출물의 공기-물 기질에서의 산화억제효과. 한국식품과학회지, 13, 283(1981)
  17. Kaneda, T. and Ando, H.: Component lipids of purple laver and their antioxygenic activity. *Proc. Int. Seaweed Symp.*, 7, 553(1971)
  18. Fujimoto, K. and Kaneda, T.: Separation of antioxidant compounds from marine algae. *Hydrobiologia*, 116(1984)
  19. 박재한, 강규찬, 백상봉, 이윤희, 이규순: 식용 해조류에서 항산화 물질의 분리. 한국식품과학회지, 23(3), 256 (1991)
  20. 조순영, 유병진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이용호: 수산 미이용자원 중에 존재하는 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, 26(3), 261(1994)
  21. 藤本健四郎: 過酸化脂質實驗法. 金田尚志, 植田伸夫編, 醫齒藥出版株式會社, 東京, 43(1983)
  22. 최웅, 신동화, 장영상, 신재익: 식물성 천연 항산화물질의 검색과 그 항산화력 비교. 한국식품과학회지, 24(2), 142(1992)

(1994년 4월 4일 접수)