

## 한국산 5종 해조류의 항산화효과와 총 폴리페놀 함량과의 관련성

곽충실<sup>1</sup> · 김성애<sup>2</sup> · 이미숙<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 의학연구원 체력과학노화연구소

<sup>2</sup>한남대학교 식품영양학과

## The Correlation of Antioxidative Effects of 5 Korean Common Edible Seaweeds and Total Polyphenol Content

Chung Shil Kwak<sup>1</sup>, Sung Ae Kim<sup>2</sup> and Mee Sook Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Aging and Physical Culture Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-810, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

### Abstract

Antioxidative activities of 5 common edible seaweeds in Korea, three brown algae (seaweed fusiforme, sea mustard, sea tangle), one green algae (sea lettuce) and one red algae (laver), were examined. The antioxidative activities of ethanol extracts from these seaweeds were examined by measuring of inhibition rates against iron-induced linoleate peroxidation, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical generation and MDA-BSA (malondialdehyde-bovine serum albumin) conjugation. Sea lettuce ethanol extract showed the strongest antioxidative activity among them, especially in inhibition against conjugation of lipid peroxide and protein. Second to sea lettuce, laver and sea tangle ethanol extracts showed high DPPH radical scavenging activity and inhibition against MDA-BSA conjugation. However, seaweed fusiforme and sea mustard ethanol extracts did not show antioxidative activities. Sea mustard contained the highest total flavonoids (11.33 mg/g dry wt) and sea lettuce contained the highest total polyphenol (8.97 mg/g dry wt) among these seaweeds. In addition, there was strong positive correlation between the antioxidative activity and total polyphenol content in these seaweeds, suggesting polyphenol compounds may contribute to antioxidative effect of seaweeds. From these data, it is suggested to consume much of seaweeds such as sea lettuce, laver and sea tangle to prevent age-related chronic diseases, and also develop nutraceutical products using polyphenol rich fraction from sea lettuce.

**Key words:** seaweeds, lipid peroxidation, DPPH radical, lipid peroxide-protein conjugation

### 서 론

해조류는 예로부터 아시아 지역에서 널리 섭취해 왔으며, 영양학적으로 열량은 매우 낮으면서 비타민과 무기질, 식이 섬유소가 풍부하고, 육지 식물에는 없는 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유하고 있으며, 채소류와 비교해서 필수 아미노산과 불포화지방산이 많다는 것이 특징이다(1). 최근 천연식물로부터 약리작용이 있는 물질을 찾으려는 관심이 높아지면서 해조류의 생리활성에 대한 기초 연구 뿐만 아니라 유효활성성분을 추출하여 식품 첨가물 또는 의약품으로 개발 이용하고자 하는 노력이 증대되고 있다(2-4).

그러나, 해조류는 그 종류가 무수히 많고, 지역별로 이용하는 식용 해조류 역시 매우 다양하고 상이하기 때문에 각 국가들은 특별히 자국에서 많이 성장하는 해조류에 대한 연구에 집중하고 있다. 우리나라에서 가장 널리 섭취되고 있는

해조류는 김, 미역, 다시마 등이 있는데 이들은 식이섬유를 약 32~75% 함유하고 있으며, 그 중 51~85%가 수용성 식이 섬유이다(5). 해조류의 식이섬유는 사람에게 의해 소화가 거의 되지 않으나 미역, 다시마, 툇과 같은 갈조류에 많이 함유되어 있는 저분자 질소화합물인 laminine은 혈압강하작용이 있으며(6), 황산기를 함유하는 다당류(sulfated polysaccharide)의 일종인 alginic acid와 fucosterol, 녹조류인 파래와 홍조류의 김에 함유되어 있는 betaine은 혈중콜레스테롤 저하효과(7,8)가 있다고 보고되었다. 또한, 갈조류에 많은 fucoidan은 중앙세포의 성장저해효과(9,10)와 항혈액응고효과(11,12)가 있다고 밝혀지기도 하였다. 해조 다당류는 대부분 카르복실기와 황산기를 많이 갖고 있기 때문에 유해 중금속을 비롯한 양이온과 결합하여 배출하는 효과가 있고(8), 장내 유해미생물의 증식을 억제하는 동시에 유익한 균은 증식을 촉진함으로써 정장작용과 변비를 개선하는 효과가 있

\*Corresponding author. E-mail: meesook@hannam.ac.kr  
Phone: 82-42-629-7494, Fax: 82-42-629-7490

으며(13,14), 당내성 증진효과(15,16)와 항산화효과(17-21) 등의 생리활성에 있다고 알려져 있다.

많은 연구자들이 식물들에서 다양한 종류의 항산화물질을 발견하였으며, 토코페롤, 비타민 C, 카로티노이드, 플라보노이드, 폴리페놀 화합물 등이 채소와 과일 등 육상식물에 존재하는 우수한 항산화 물질로 알려져 있다(22). 최근에는 여러 종류의 해조류의 항산화효과에 대한 보고와 함께 이를 산업 및 의학적으로 활용하고자 하는 노력이 진행되고 있다(4,17,20). 아직은 각각의 해조류가 함유하고 있는 항산화물질이 무엇인지 밝혀진 것은 많지 않으나 톳의 fucoxanthine, 모자반의 phlorotannin과  $\omega$ 3 지방산, 황산기를 갖는 다당류 등은 잘 알려진 해조류의 항산화물질이며, 여러 보고에서 폴리페놀 화합물이 많은 분획추출물의 항산화 효과가 컸다고 하였다(17,19,20,23). 국내에는 식용 해조류가 약 50여종에 이르고 있으나 이들 해조류에 대한 항산화효과에 관한 연구는 아직 매우 미흡한 수준이다. 이에, 본 연구에서는 갈조류인 미역(*Undaria pinnatifida*), 다시마(*Laminaria japonica*), 톳(*Hizikia fusiformis*)과 녹조류인 파래(*Enteromorpha*), 홍조류인 김(*Porphyra terera*) 등으로부터 에탄올 추출물을 얻어 항산화효과를 검색하고자 하였으며, 아울러 총 플라보노이드와 총 폴리페놀 함량을 측정하여 그 상관성을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시료의 추출

김, 미역, 다시마, 톳과 파래는 모두 건조된 상태로 대전 중앙시장에서 한국산으로 구입하여 동결건조기로(Vacuum freeze dryer, Biotron, Korea) 건조시켜 곱게 분쇄한 후 밀봉하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동보관하면서 시료로 사용하였다. 시료의 에탄올 추출물을 얻기 위하여 건조시료 일정량에 20배의 95% 에탄올(Ducksan, Korea)을 가하여 실온에서 stirring 하면서 24시간 동안 2회 반복 추출하여 Whatman 여과지(No. 6)로 여과한 후 여과액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)로 감압 농축하여 냉동보관하였다가 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여 지질과산화억제활성, DPPH 라디칼 소거활성실험을 위한 시료로 사용하였다. 또, 지질과산화물과 단백질의 결합을 억제하는 활성 실험을 위하여 동일한 방법으로 건조시료를 80% 에탄올로 추출한 다음 여과하여 농축시켰다.

### 시약

MDA-BSA 결합억제실험을 위하여 사용한 Dowex 50WX8-200 resin은 Supelco(USA), Centricon(YM-10)은 Amicon(USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한, linoleic acid,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl),  $\alpha$ -tocopherol, bovine serum albumin, Folin-ciocalteu reagent, rutin, tannic acid 등 그 밖의 시약들은 Sigma Chem-

ical Co.(USA)로부터 구입하였다.

### 지질과산화 억제효과 측정

Antonella 등(24)과 Gotteried와 Dunkley(25)의 방법에 따라  $\text{Fe}^{2+}$ 에 의해 유도된 linoleate의 과산화에 대한 억제효과를 TBA(thiobarbituric acid)로 발색시켜 측정하였다. 먼저 0.5 mL의 linoleic acid와 0.25 mL의 tween 60을 섞은 후 50 mL의 증류수를 가하고, 1 N KOH로 중화시킨 다음 0.05 M potassium phosphate buffer 110 mL에 부유시켜서 10 mM의 linoleic acid 용액을 만들었다. DMSO에 녹인 에탄올 추출시료를 농도별로 희석하여 20  $\mu\text{L}$ 와 10 mM linoleic acid 용액 10 mL을 섞은 후  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 교반기(KMC-S489S, Vision Scientific, Korea)에서 반응시켰다. 여기에 0.05 M  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  20  $\mu\text{L}$ 를 넣고  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 교반하여 과산화를 유발시킨 후 800  $\mu\text{L}$ 를 취하고 400  $\mu\text{L}$ 의 TBA reagent를 첨가한 다음 boiling water bath에서 15분간 가열한 후 냉각시켰다. 생성된 지질과산화물을 560  $\mu\text{L}$ 의 n-butanol로 용해시켜 3000 rpm에서 20분간 원심분리 후 상층액을 취하여 ELISA reader(SpectraMAX 340pc, Molecular devices, USA)를 이용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 positive control로  $\alpha$ -tocopherol을 사용하였다.

### DPPH 라디칼 소거 효과 측정

시료의 DPPH 라디칼 소거효과는 DPPH에 대한 환원력으로 측정하였다(26). 에탄올추출시료를 DMSO에 녹여 농도별로 희석하여 시료 10  $\mu\text{L}$ 와 에탄올에 녹인 200  $\mu\text{M}$  DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 190  $\mu\text{L}$ 를 섞은 후,  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 반응시킨 다음 ELISA reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한 후, 대조군에 비하여 감소된 흡광도로부터 라디칼 소거율을 계산하였다. 이 때 positive control로  $\alpha$ -tocopherol을 사용하였다.

### 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

Park(27)의 방법에 따라 malondialdehyde(MDA)와 bovine serum albumin(BSA, Sigma)의 상호결합 반응을 시료들이 억제하는 효과를 비교하였다. 0.1 M PBS에 녹인 BSA 용액(2 mg/mL) 100  $\mu\text{L}$ , MDA 용액(20 mM) 100  $\mu\text{L}$ 에 추출시료를 여러 농도로 혼합한 후 0.1 M PBS로 전체 부피를 1 mL로 맞추었다. 혼합액을  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 반응시킨 다음, 혼합액 500  $\mu\text{L}$ 를 취하여 centricon(Centricon YM-10, Amicon)에 넣고,  $1,400 \times g$ 에서 2시간 동안 원심분리하여 MDA-BSA 결합물을 분리한 후, 여분의 염을 제거하기 위하여 증류수 700  $\mu\text{L}$ 를 넣고 다시  $1,400 \times g$ 에서 2시간 동안 원심분리하였다. 증류수로 3회 반복 세척한 후 시료를 0.1 M PBS에 녹여 Bradford 방법(28)으로 단백질을 정량한 다음, 12% acrylamide gel에서 동일한 단백질량을 loading하여 전기영동(SDS-PAGE)한 후 Coomassie 염색을 시행하여 MDA-BSA 결합물의 band를 densitometer(BIO-1D Image Analysis, Vilber Lourmat, Germany)로 정량함으로써 시료

처리에 의한 지질과산화물과 단백질의 결합억제율을 계산하였다. MDA는 Gomez-Sanchez(29)의 방법에 따라 실험실에서 직접 제조하여 사용하였다.

**항산화효과의 상대적인 점수화**

3가지 방법을 통한 시료들의 항산화 효과를 서로 간에 비교하기 쉽도록 본 실험에서 처리한 농도 범위 내에서의 최고 저해율을 토대로 다음과 같이 점수화하였다. 0: <10%, +1: 10~25%, +2: 25~50%, +3: 50~75%, +4: ≥75%.

**총 플라보노이드와 폴리페놀 함량 측정**

플라보노이드와 폴리페놀 함량을 측정하기 위하여 동결 건조한 건조료 1 g에 50 mL의 75% 에탄올을 가하고 18시간 동안 교반하여 추출한 후 Whatman paper로 여과하고, 75% 에탄올로 50 mL까지 맞춘 후 즉시 측정하였다. 총 flavonoid 함량 측정은 Davis법을 변형한 방법(30)에 따라 에탄올 추출 검액 400 µL에 90% diethylene glycol 4 mL을 첨가하고, 다시 1 N NaOH를 40 µL을 넣고 37°C 수조에서 1시간 동안 incubation한 후 spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin을 사용하였다. 총 polyphenol 함량은 Singleton 등의 방법(31)에 따라 75% 에탄올 추출 검액 400 µL에 50 µL의 Folin-ciocalteau, 100 µL의 sodium carbonate(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 포화용액을 넣고 실온에 1시간 방치한 후 spectrophotometer(Ultrospec 2100, Amersham, UK)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 tannic acid를 사용하였다.

**통계처리**

모든 분석치는 3~4회 측정한 값으로부터 평균값±SE로 나타내었으며, 각각의 저해율과 식품 내 총 플라보노이드 및 폴리페놀 함량은 SAS를 이용하여 ANOVA test를 수행한 결과 유의하게 식품 간에 차이가 있는 경우 Duncan's test로 grouping 하였다. 또한, 해조류의 항산화효과와 플라보노이드 및 폴리페놀함량과의 상관성을 알아보기 위하여 각 실험에서의 처리농도 범위 내에서 최고의 저해율과 플라보노이드 및 폴리페놀 함량과의 상관관계를 Pearson's correlation test로 분석하여 상관계수를 구하였다.

**결 과**

**항산화효과**

**지질과산화 억제효과** : Fe<sup>2+</sup>에 의해 linoleate의 과산화를 유도하는 과정에서 해조류의 에탄올추출물과 α-tocopherol의 농도별 지질과산화 억제율은 Table 1 및 Fig. 1과 같으며, 이를 간략하게 점수화한 표는 Table 4와 같다. 각 식품으로부터 얻은 에탄올추출 시료와 α-tocopherol을 10, 30, 100, 300, 1000 µg/mL 농도로 처리하였을 때 파래(SL)의 효과가 가장 우수하였다(p<0.0001). 파래는 처리농도가 증가할수록 지질과산화억제효과가 증가하여 100 µg/mL와

**Table 1. Inhibition rate of ethanol extracts from seaweeds against lipid peroxidation (%)**

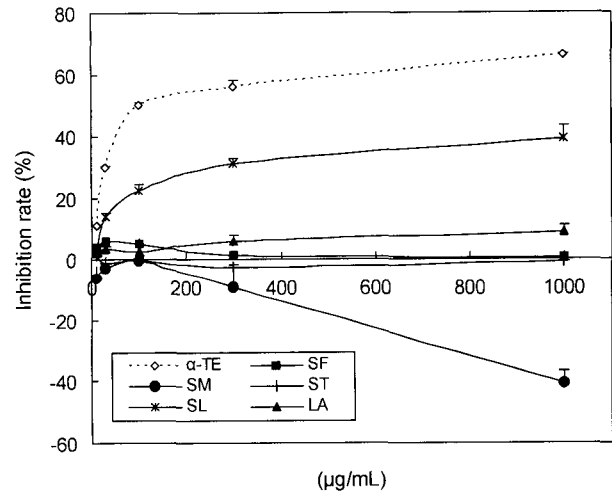
Sample <sup>1)</sup>	Treatment concentration (µg/mL)		
	100	300	1000
α-TE	50.15±0.79 <sup>2)</sup>	56.07±1.96	66.21±0.29
SF	5.35±1.64 <sup>b3)</sup>	1.46±0.74 <sup>c</sup>	1.02±0.34 <sup>c</sup>
SM	-0.47±1.33 <sup>b</sup>	-9.25±5.06 <sup>d</sup>	-40.61±3.60 <sup>d</sup>
ST	-0.24±1.92 <sup>b</sup>	-1.27±0.12 <sup>cd</sup>	-0.91±0.66 <sup>c</sup>
SL	22.36±2.12 <sup>a</sup>	31.29±1.70 <sup>a</sup>	39.42±4.08 <sup>a</sup>
LA	2.63±2.11 <sup>b</sup>	6.18±1.94 <sup>b</sup>	9.11±1.98 <sup>b</sup>

Inhibition rate (%) = (A<sub>control</sub> - A<sub>sample</sub>) / (A<sub>control</sub>) × 100.

<sup>1)</sup> α-TE: α-tocopherol, SF: seaweed fusiforme, SM: sea mustard, ST: sea tangle, SL: sea lettuce, LA: laver.

<sup>2)</sup> Values are mean ± SE.

<sup>3)</sup> Means with the different letters of superscript are significantly different within each column at p<0.0001 by Duncan's multiple range test.



**Fig. 1. Inhibition activity of Korean seaweed ethanol extracts on Fe<sup>2+</sup>-induced linoleate peroxidation.**

α-TE: α-tocopherol, SF: seaweed fusiforme, SM: sea mustard, ST: sea tangle, SL: sea lettuce, LA: laver.

It is plotted on the based of the average±SE from 3 times of repeats.

1000 µg/mL 농도에서 각각 22.36%와 39.42%의 억제율을 보여 같은 농도에서 각각 50.15%와 66.21%의 억제율을 나타낸 α-tocopherol의 약 50% 정도의 지질과산화 억제활성을 나타내었다(Table 1). 그 밖의 해조류들은 지질과산화 억제 효과가 매우 약하였으며, 미역(SM)은 지질과산화를 오히려 촉진시키는 결과를 보였다(Fig. 1).

**DPPH 라디칼 소거 기능**

해조류로부터 얻은 에탄올 추출물과 α-tocopherol에 의한 DPPH 라디칼 소거율을 30, 60, 300, 1000, 2500 µg/mL 농도에서 측정한 결과는 Table 2 및 Fig. 2와 같으며, 점수화한 표는 Table 4와 같다. Positive control로 사용한 α-tocopherol은 300 µg/mL와 2500 µg/mL 처리시 각각 90.51%와 91.09%의 높은 DPPH 라디칼 소거율을 보였으며, 5가지

Table 2. DPPH radical scavenging rate of ethanol extracts from seaweeds (%)

Sample <sup>1)</sup>	Treatment concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	300	1000	2500
$\alpha$ -TE	90.51 $\pm$ 0.19 <sup>2)</sup>	90.68 $\pm$ 0.14	91.09 $\pm$ 0.17
SF	7.51 $\pm$ 0.27 <sup>b3)</sup>	9.47 $\pm$ 0.77 <sup>c</sup>	1.83 $\pm$ 1.70 <sup>c</sup>
SM	1.02 $\pm$ 0.26 <sup>c</sup>	1.43 $\pm$ 0.69 <sup>d</sup>	0.45 $\pm$ 0.22 <sup>c</sup>
ST	5.74 $\pm$ 0.98 <sup>b</sup>	16.61 $\pm$ 1.14 <sup>b</sup>	26.80 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>
SL	26.04 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	35.95 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>	19.42 $\pm$ 1.34 <sup>b</sup>
LA	6.52 $\pm$ 0.63 <sup>b</sup>	15.48 $\pm$ 1.44 <sup>b</sup>	26.45 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Samples are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean  $\pm$  SE.

<sup>3)</sup>Means with the different letters of superscript are significantly different within each column at  $p < 0.0001$  by Duncan's multiple range test.

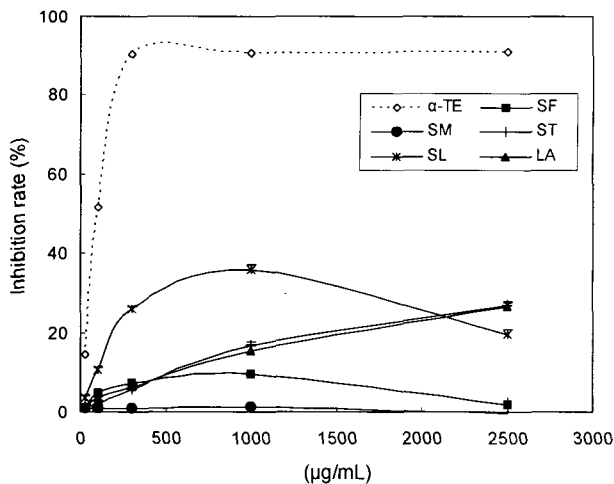


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of Korean seaweed ethanol extracts.

Samples are the same as in Table 1.

It is plotted on the based of the average  $\pm$  SE from 3 times of repeats.

시료 중 1000  $\mu\text{g/mL}$  처리 농도까지는 파래(SL)가 가장 우수한( $p < 0.0001$ ) 효과를 보였으나(35.95%), 2500  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 오히려 효과가 감소하여(19.42%) 다시마(ST, 26.80%)와 김(LA, 26.45%)의 효과가 더 높았다(Table 2). 툫(SF)과 미역(SM)의 DPPH 라디칼 소거효과는 지질과산화억제 효과와 마찬가지로 매우 미약한 것으로 나타났다(Table 4). 툫과 미역은 투여 농도 범위 내에서 최고의 DPPH 소거율이 각각 9.5%와 1.4% 밖에 되지 않았다(Table 2).

#### 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

본 연구에서는 *in vitro* 상태에서 해조류가 체내에서 생성된 지질과산화물이 단백질과 결합하는 반응을 억제할 수 있는지 알아보려고 0.2  $\mu\text{mole}$ 의 MDA와 0.2 mg의 BSA에 각각의 에탄올 추출시료를 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 100 mg/mL 농도로 첨가하여 반응시켰을 때 MDA와 BSA의 결합 정도에 대한 저해율로 표시한 결과는 Table 3 및 Fig. 3과 같다. 반응물을 전기영동한 결과 파래(SL), 김(LA), 다시마(ST)

Table 3. Inhibition rate of ethanol extracts from seaweeds against conjugation of malondialdehyde and bovine serum albumin (%)

Sample <sup>1)</sup>	Treatment concentration (mg/mL)		
	10	40	100
SF	5.36 $\pm$ 0.68 <sup>2)c3)</sup>	8.21 $\pm$ 0.84 <sup>c</sup>	12.27 $\pm$ 0.77 <sup>d</sup>
SM	2.24 $\pm$ 0.60 <sup>c</sup>	4.41 $\pm$ 0.79 <sup>c</sup>	14.80 $\pm$ 0.34 <sup>d</sup>
ST	25.47 $\pm$ 1.05 <sup>a</sup>	38.99 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	52.09 $\pm$ 1.60 <sup>c</sup>
SL	22.73 $\pm$ 1.43 <sup>a</sup>	41.81 $\pm$ 0.82 <sup>b</sup>	71.39 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>
LA	19.35 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>	48.05 $\pm$ 1.56 <sup>a</sup>	55.37 $\pm$ 0.80 <sup>b</sup>

Inhibition rate (%) = (Area of band b - Area of band, sample treated) / Area of band b (shown in Fig. 3A)  $\times$  100.

<sup>1)</sup>Samples are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean  $\pm$  SE.

<sup>3)</sup>Means with the different letters of superscript are significantly different within each column at  $p < 0.0001$  by Duncan's multiple range test.

는 처리 농도가 높아질수록 MDA와 BSA의 결합으로 인해 생성된 band가 점점 사라져가는 것을 확연히 볼 수 있어 (Fig. 3A) 지질과산화물인 MDA가 단백질인 BSA와 결합하는 것을 억제시키는 성분이 있음을 알 수 있었으며, 결합 밴드를 densitometer로 정량한 결과 100 mg/mL에서 파래(SL)는 71.39%, 김(LA)은 55.37%, 다시마(ST)는 52.09%의 저해율을 보여, 역시 파래의 효과가 가장 우수하였다( $p < 0.0001$ , Table 3). 반면, 툫(SF)과 미역(SM)은 처리농도가 증가함에 따라 MDA-BSA의 결합을 억제시키는 효과가 매우 미약함을 볼 수 있었다(Fig. 3). 툫과 미역 에탄올 추출물을 100 mg/mL로 처리시의 억제율은 각각 12.27%와 14.80%이었다(Table 3).

총 플라보노이드 및 폴리페놀 함량과 항산화효과와의 관계 해조류 시료들의 총 플라보노이드와 폴리페놀 함량은 Table 5와 같다. 총 플라보노이드 함량은 미역(SM)이 11.33 mg/g으로 가장 많았으며( $p < 0.0001$ ), 그 다음이 파래(SL)로 4.65 mg/g이었고, 툫(SF), 다시마(ST), 김(LA)이 각각 2.68 mg/g, 1.95 mg/g, 0.67 mg/g 순이었다. 한편 총 폴리페놀 함량은 파래가 가장 높은 8.97 mg/g이였으며( $p < 0.0001$ ), 김(3.81 mg/g), 미역(2.43 mg/g), 툫(1.44 mg/g), 다시마(1.17 mg/g) 순이었다.

총 플라보노이드와 폴리페놀 함량과 3가지의 항산화 효과 검색 실험에서 각각의 처리 농도 범위 내에서 나타낸 최고의 저해율들과의 상관관계를 구한 결과 총 플라보노이드 함량은 3가지 방법으로 측정된 항산화 활성과 유의한 상관관계가 없었으나, 총 폴리페놀 함량은 지질과산화 억제율( $r = 0.9361$ ,  $p < 0.0001$ ), DPPH 라디칼 소거율( $r = 0.6422$ ,  $p = 0.0098$ ), MDA-BSA conjugation 억제율( $r = 0.6903$ ,  $p = 0.0044$ )과 유의한 양의 상관관계를 나타내었다(Table 6). 아울러, 3가지 방법의 항산화효과 검색 실험들 간에도 유의한 상관관계를 나타내었으며, 특히 DPPH 라디칼 소거율과 MDA-BSA conjugation 억제율과는 매우 높은 양의 상관관계( $r = 0.9902$ ,  $p <$

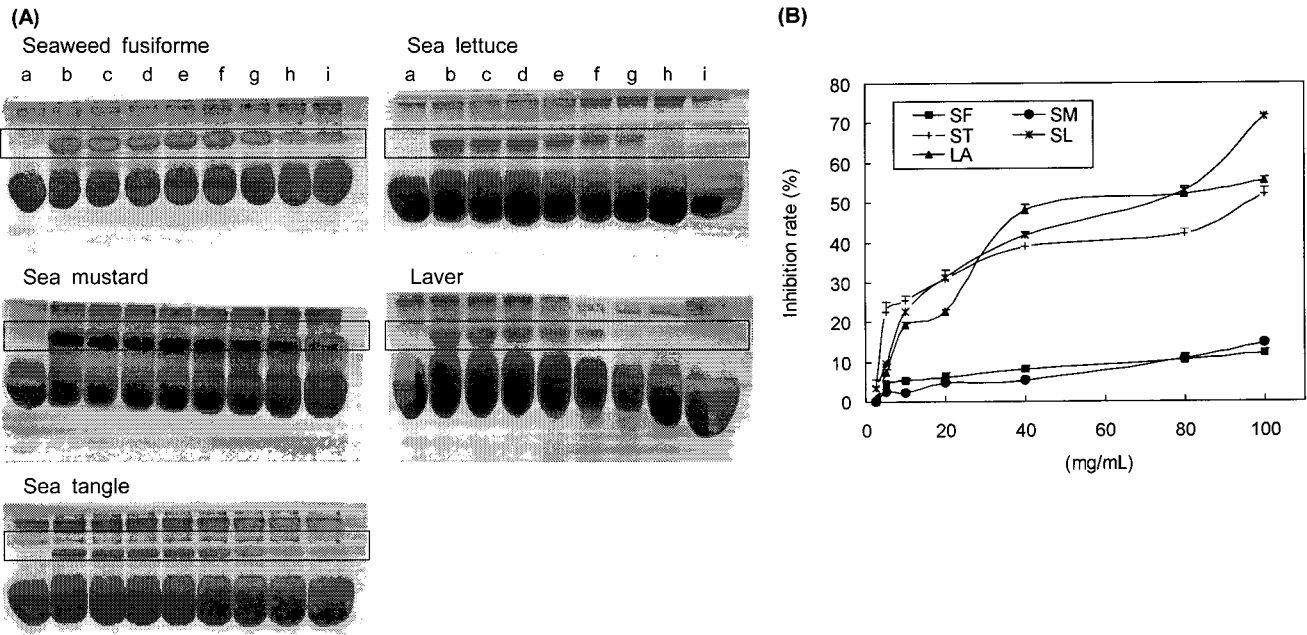


Fig. 3. Inhibition activity of 80% ethanol extracts on conjugation of malondialdehyde with protein.

(A) SDS-PAGE of extracts with MDA and BSA on 12% acrylamide gel.

a: BSA, b: BSA+MDA, c: BSA+MDA+extract 2.5 mg, d: BSA+MDA+extract 5 mg, e: BSA+MDA+extract 10 mg, f: BSA+MDA+extract 20 mg, g: BSA+MDA+extract 40 mg, h: BSA+MDA+extract 80 mg, i: BSA+MDA+extract 100 mg.

BSA (0.2 mg/100 µL PBS), MDA (2 µmole in 100 µL PBS), sample extract and 0.1 M PBS were mixed in a total vol of 1 mL and incubated.

(B) Inhibition rates calculated by densitometry.

SF: seaweed fusiforme, SM: sea mustard, ST: sea tangle, SL: sea lettuce, LA: laver.

It is plotted with the average±SE of 3 times of repeats.

Table 4. Comparative scores of antioxidative activities among seaweeds<sup>1)</sup>

	Lipid peroxidation inhibiting activity <sup>2)</sup>	DPPH radical scavenging activity <sup>3)</sup>	MDA-BSA conjugation inhibiting activity <sup>4)</sup>
SF	0	0	+1
SM	0	0	+1
ST	0	+2	+3
SL	+2	+2	+3
LA	0	+2	+3

<sup>1)</sup> Scored from 0 to +4, based on the maximum inhibition rate (%) in the range of treatment concentrations: 0, less than 10% inhibition; +1, 10~25% inhibition; +2, 25~50% inhibition; +3, 50~75% inhibition.

<sup>2)</sup> Treated 0~1000 µg/mL.

<sup>3)</sup> Treated 0~2500 µg/mL.

<sup>4)</sup> Treated 0~100 mg/mL.

0.0001)를 나타내었다(Table 6).

### 고 찰

일부 해조류는 항산화물질을 많이 함유하고 있으며, 그 활성 성분이 밝혀진 것도 있다. 미역, 다시마, 툫의 fucoxanthine(32)과 모자반의 phlorotannine(33), 스피루리나의 protean 추출물 등이 대표적인 예이다. Park 등(18)은 우리

Table 5. Total flavonoid and polyphenol contents in seaweeds

Sample <sup>1)</sup>	Flavonoid (mg/dry wt)	Polyphenol (mg/dry wt)
SF	2.68±0.03 <sup>2)c3)</sup>	1.44±0.03 <sup>d</sup>
SM	11.33±0.10 <sup>a</sup>	2.43±0.03 <sup>c</sup>
ST	1.95±0.01 <sup>d</sup>	1.17±0.04 <sup>e</sup>
SL	4.65±0.03 <sup>b</sup>	8.97±0.07 <sup>a</sup>
LA	0.67±0.02 <sup>e</sup>	3.81±0.01 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Samples are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup> Values are mean±SE from three times of measurements.

<sup>3)</sup> Means with the different letters of superscript are significantly different within each column at p<0.0001 by Duncan's multiple range test.

나라에서 생육하는 12종의 해조류를 순차적으로 분획 추출하여 항산화효과를 측정된 결과 메탄올 추출분획이 DPPH 라디칼 소거활성이 매우 높았으며, 김, 미역, 다시마, 파래의 순으로 효과가 좋았으며 툫과 우뭇가사리 등 다른 시료들은 효과가 없었다고 하였으며, Han 등(34)도 미역과 다시마의 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거율이 거의 비슷하였다고 하였다. 그러나, 본 연구에서는 이들 보고와 달리 DPPH 라디칼 소거를 비롯하여 다른 2가지 방법을 통한 항산화효과에서 다시마가 미역에 비하여 훨씬 우수한 효과를 나타내었으며, 특히 녹조류인 파래의 항산화효과가 가장 우수하였

**Table 6. Correlation coefficients among total flavonoid, polyphenol content and inhibition rates against lipid peroxidation, DPPH radical production and MDA-BSA conjugation**

	Polyphenol content	Linoleate <sup>1)</sup>	DPPH <sup>2)</sup>	MDA-BSA <sup>3)</sup>
Flavonoid content	0.0375 (0.8944) <sup>4)</sup>	-0.1021 (0.7173)	-0.5035 (0.0557)	-0.4634 (0.0819)
Polyphenol content		0.9361*** ( $<0.0001$ )	0.6422** (0.0098)	0.6903** (0.0044)
Linoleate			0.6413** (0.0100)	0.6629** (0.0071)
DPPH				0.9902*** ( $<0.0001$ )

<sup>1)</sup>Linoleate peroxidation inhibition rate (%).

<sup>2)</sup>DPPH radical scavenging rate (%).

<sup>3)</sup>MDA-BSA conjugation inhibition rate (%).

<sup>4)</sup>p-value tested by Pearson correlation at \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001.

고, 그 다음이 김과 다시마이었으며, 톳과 미역은 항산화효과가 거의 없었다. 본 실험에서는 한국인들이 비교적 많이 섭취하고 있는 해조류를 선정하다 보니, 녹조류와 홍조류를 각각 1가지씩만 선정 검색하게 되었고, 따라서 이 결과만으로 녹조류가 홍조류나 갈조류에 비하여 항산화효과가 더 우수하다고 단정지을 수는 없으며, 갈조류에 속하는 톳, 미역, 다시마의 결과를 보면 동일한 종류에 속한 조류더라도 항산화효과의 정도는 크게 차이를 알 수 있었다. 그리고, 파래와 톳의 경우 DPPH 라디칼 소거능이 투여 농도 증가에 따라 지속적으로 증가하지 않고 증가하다가 감소한 이유는 시료가 단일 물질이 아닌 에탄올 추출물로서 다양한 물질들의 혼합물이기 때문으로 아마도 최적의 효과를 나타내는 혼합 농도비율이 존재할 것으로 생각된다.

해조류의 다양한 생리활성은 주로 다당류에 의한 것으로 보고되고 있으나, 녹조류인 파래의 높은 항산화 활성은 부분적이거나 플라보노이드, 폴리페놀 및  $\beta$ -carotene과 chlorophyll 성분 에 의한 것으로 예상된다. 본 실험실에서 분석한 결과 파래의 총 플라보노이드 함량 4.65 mg/g 건조무게로 다른 채소들과 비교하였을 때 우엉(5.08 mg/g 건조무게)이나 붉은고추(4.24 mg/g 건조무게)와 비슷한 수준이었고, 폴리페놀 함량은 8.97 mg/g 건조무게로 풋고추(7.99 mg/g 건조무게)나 브로컬리(9.33 mg/g 건조무게)와 비슷한 정도였다. 파래에서 항산화효과를 나타내는 활성물질이 구체적으로 무엇인지는 알 수 없으나 많은 연구에서 해조류의 추출물로부터 얻은 폴리페놀 성분이 항산화효과를 나타내었다고 하였다. Lim 등(20)은 중국연안에 생육하는 13종의 해조류에서 순차적으로 분획 추출하여 항산화효과를 측정한 결과 항산화효과가 큰 분획에 폴리페놀이 많이 함유되어 있었다고 보고하였고, 본 연구에서도 5종의 식용 해조류 에탄올 추출물의 항산화효과가 총 폴리페놀 함량과 유의한 양의 상관관계를 나타내었다. 특히 지질과산화 억제효과와 매우 높

은 상관성( $r=0.9361$ )을 보임으로써 해조류에 함유되어 있는 폴리페놀 성분이 항산화효과에 많은 기여를 하고 있음을 간접적으로 확인할 수 있었다. 따라서, 국내의 풍부하고 다양한 해조류로부터 폴리페놀 성분을 추출하여 직접적인 항산화효과에 대한 심도 있는 연구가 진행되어야 할 것이며, 천연 항산화제로 개발한다면 식품산업에서 그 활용가치도 매우 크다고 볼 수 있다.

Cahyana 등(35)은 *Eisenia bicyclis*에서 chlorophyll a와 연관된 물질인 pyropheophytin a가  $\alpha$ -tocopherol보다 강한 항산화효과를 보임으로써 해조류의 색소물질이 항산화활성을 갖고 있음을 밝혔다. 이 또한 본 연구에서 녹조류인 파래의 항산화활성이 가장 높았던 결과를 부분적으로 설명할 수 있는 자료가 된다.  $\beta$ -Carotene 역시 광선 및 산소라디칼로부터 세포와 조직을 보호하는 항산화효과 물질로 잘 알려져 있다(36). 바로 갈조류의 주된 항산화 물질인 fucoxanthin도 carotenoid의 일종이다(32). 본 연구에서 시료의  $\beta$ -carotene의 함량은 측정하지 않았으나 식품분석표에 따르면(37) 파래와 미역은 생것을 기준으로 각각 2244  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ , 1398  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 이었으며 다시마는 774  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ , 톳은 756  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 의  $\beta$ -carotene을 함유하고 있어, 토마토 542  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ , 늪은호박 712  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ , 시금치 3640  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 과 비교한다면 이들 해조류들은 모두  $\beta$ -carotene 함량이 매우 높은 편이라고 할 수 있다. 한편, Haung과 Wang(17)은 16종의 해조류에서 diethyl ether추출을 통하여 지용성 성분을 추출한 후 항산화효과와 지방산의 함량을 측정된 결과 항산화효과가 강할수록 불포화지방산함량이 높았다고 하여, 해조류에 함유된 항산화물질과 불포화지방산의 어떤 관련성을 시사하였다.

Kwak 등(38)은 곡류에서 얻은 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 플라보노이드 함량과 양의 상관관계가 있다고 보고하였으나, 본 연구에서 5종 해조류의 DPPH 라디칼 소거능과 플라보노이드 함량은 상관성이 없었다. 또한, 이들 해조류들은 모두 지질과산화를 억제하거나 DPPH 라디칼을 소거하는 효과보다는 이미 생성된 지질과산화물이 단백질과 결합하는 것을 저해하는 효과가 컸으며, 특히 파래, 김, 다시마의 효과는 매우 우수하였기 때문에, 이들 해조류를 많이 섭취하는 것이 노화 및 산화적 스트레스로 인하여 증가된 지질과산화물로 인한 세포 및 조직의 기능적 손상을 예방하여 각종 성인병으로의 진행을 다소나마 지연시키는 데 도움이 될 것으로 기대된다.

## 요 약

한국에서 널리 식용으로 이용되고 있는 미역, 다시마, 톳(갈조류), 파래(녹조류), 김(홍조류)의 항산화효과와 총 플라보노이드와 폴리페놀 함량과의 관련성을 알아보고자 건조상태의 시판 해조류로부터 에탄올 추출시료를 얻은 후  $\text{Fe}^{2+}$ 로 유도된 지질과산화 억제제, DPPH 라디칼 소거물 및 MDA-

BSA 결합 저해율을 측정하는 3가지 방법으로 항산화효과를 검정하였고, 총 플라보노이드와 폴리페놀 함량을 측정하였다. 그 결과, 녹조류인 파래의 항산화효과가 가장 우수하였는데, 특히 지질과산화물이 단백질과 결합하는 반응을 매우 효과적으로 저해하였다. 그 다음 김과 다시마의 항산화효과가 우수하였으며, 미역과 툇은 항산화효과가 거의 없었다. 총 플라보노이드 함량은 미역이 11.63 mg/g 건조무게로 가장 높았고, 총 폴리페놀 함량은 파래가 8.97 mg/g 건조무게로 가장 높았다. 한편, 3가지 방법에 의해 측정된 해조류의 항산화효과 모두가 총 폴리페놀 함량과 유의한 양의 상관관계를 보였으며, 특히 지질과산화억제율과 매우 높은 상관관계를 나타내어( $r=0.9361$ ,  $p<0.0001$ ), 해조류에서의 항산화효과에 폴리페놀 성분이 크게 기여할 가능성을 보였다.

### 감사의 글

본 연구는 2003년 농림부 농림기술개발연구과제 연구비 및 2002년 서울대 노화 및 세포사멸연구센터에 지원된 한국과학기술재단 우수연구센터육성사업의 지원비 일부로 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

### 문헌

- Jimenez-Escrig A, Goni Cambrodon I. 1999. Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. *Arch Latinoam Nutr* 49: 114-120.
- Mabeau S, Fleurence J. 1993. Seaweed in food products: Biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci Technol* 4: 103-107.
- Funahashi H, Imai T, Mase T, Sekiya M, Yokoi K, Hayashi H, Shibata A, Hayashi T, Nishikawa M, Suda N, Hibi Y, Mizuno Y, Tsukamura K, Hatakawa A, Tanuma S. 2001. Seaweed prevents breast cancer? *Jpn J Cancer Res* 92: 483-487.
- Ruperez P, Ahrazem O, Leal JA. 2002. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *J Agric Food Chem* 50: 840-845.
- Lahaye M. 1991. Marine algae as sources of fibers: Determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some sea vegetables. *J Sci Food Agric* 54: 587-594.
- Girard JP, Marion C, Liutkus M, Boucard M, Rechencq E, Vidal JP, Rossi JC. 1988. Hypotensive constituents of marine algae. 1. Pharmacological studies of laminine. *Planta med* 54: 193-196.
- Jung BM, Ahn CB, Kang SJ, Park JH, Chung DH. 2001. Effects of *Hijikia fusiforme* extracts on lipid metabolism and liver antioxidative enzyme activities in triton-induced hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1184-1189.
- Kim YY, Lee KW, Kim GB, Cho YJ. 2000. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. *J Kor Fish Soc* 33: 393-398.
- Yamamoto L, Nagumo T, Takahashi M, Fujihara M, Suzuki Y, Lizima N. 1981. Antimutagenic effect of seaweeds: III. Antitumor effect of an extract from *Sargassum*. *Jap J Exp Med* 51: 187-189.
- Cho KJ, Lee YS, Ryu BH. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull Korean Fish Soc* 23: 345-352.
- Yoon JA, Yu KW, Jun WJ, Cho HY, Son YS, Yang HC. 2000. Screening of anticoagulant activity in the extracts of edible seaweeds and optimization of extraction condition. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1098-1106.
- Shim YY, An JH, Cho WD, Chun H, Kim KI, Cho HY, Yang HC. 2002. Inhibitory mechanism of blood coagulation and in vivo anticoagulant activities of polysaccharides isolated from *Codium fragile*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 917-923.
- Lee HA, Lee SS, Shin HK. 1994. Effect of dietary fiber source on the composition of intestinal microflora in rats. *Korean J Nutr* 27: 988-995.
- Park EY, Lee SS. 1996. Effect of dietary fiber on the serum lipid level and bowel function in aged rats. *Korean J Nutr* 29: 934-942.
- Kim EH, Vuksan V, Wong E. 1996. The relationship between viscosity of soluble dietary fiber and their hypoglycemic effects. *Kor J Nutr* 29: 615-621.
- Cho YJ, Bang MA. 2004. Effects of dietary seaweeds on blood glucose, lipid and glutathione enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 987-994.
- Haung HL, Wang BG. 2004. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qungdao coastline. *J Agric Food Chem* 52: 4993-4997.
- Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH, Rhee KS. 1991. Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. *Korean J Food Sci Technol* 23: 256-261.
- Yan X, Nagata T, Fan X. 1998. Antioxidative activities in some common seaweeds. *Plant Foods Hum Nutr* 52: 253-262.
- Lim SN, Cheung PCK, Ooi VEC, Ang PO. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J Agric Food Chem* 50: 3862-3866.
- Ko MS, Shin KM, Lee MY. 2002. Effects of *Hijikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 87-91.
- Larson RA. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27: 969-978.
- Zhang Q, Li N, Zhou G, Lu X, Xu Z, Li Z. 2003. In vivo antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacol Res* 48: 151-155.
- Antonella S, Mario S, Maria L, Daniela M, Francesco B, Francesco C. 1995. Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Rad Bio Med* 19: 481-486.
- Gotteried H, Dunkley WL. 1969. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation: Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *J Lipid Res* 10: 555-560.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable radical. *Nature* 26: 1199-1200.
- Park YH. 2000. Effect of polyamine on modification of biomodics by aldehydes. *PhD Dissertation*. Seoul National University.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.

29. Gomez-Sanchez A, Hermonsin I, Mayo I. 1990. Cleavage and oligomerization of malondialdehyde under physiological conditions. *Tetrahedron Letters* 28: 4077-4080.
30. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH. 2002. *Standard Food Analysis*. Jigu-moonwha Sa, Seoul. p 381-382.
31. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152-178.
32. Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 605-607.
33. Yan XJ, Li XC, Zhou CX, Fan X. 1996. Prevention of fish oil rancidity by phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. *J Appl Phycol* 8: 201-203.
34. Han J, Kang S, Choue R, Kim H, Leem K, Chung S, Kim C, Chung J. 2002. Free radical scavenging effect of *Diospyros kaki*, *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida*. *Fito-terapia* 73: 710-712.
35. Cahyana AH, Shuto Y, Kinoshita Y. 1992. Pyropheophytin a as an antioxidative substance from the marine alga. *Biosci Biotechnol Biochem* 56: 1533-1535.
36. Rao AV, Agarwal S. 1999. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases. *Nutr Res* 19: 305-323.
37. Ministry of Health and Welfare. 2000. *Recommended dietary allowances for Koreans*. 7th revision.
38. Kwak CS, Lim SJ, Kim SA, Park SC, Lee MS. 2004. Antioxidative and antimutagenic effects of Korean Buckwheat, Sorghum, Millet and Job's tears. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 921-929.

(2005년 6월 30일 접수; 2005년 8월 5일 채택)