

- 연구노트 -

해조류에 의한 아질산염 소거활성 분석

박 영 범

강원도립대학 식품생명과학과

Determination of Nitrite-scavenging Activity of Seaweed

Yeung-Beom Park

Dept. of Food and Life Science, Gangwon Provincial University, Gangwon 210-804, Korea

Abstract

Nitrite plays an important role in the formation of carcinogenic nitrosamine. In order to effectively inhibit the formation of carcinogenic nitrosamine in food and biological systems, scavenging of residual nitrite is necessary. In screening test of nitrite-scavenging effect of seaweed, the methanol extract from Phaeophyta was more effective than those from Rhodophyta and Chlorophyta. Among the brown algae family, Laminariaceae, *A. cribrosum* (90.4%) and *E. cava* (80.1%), *E. stolonifera* (79.0%) that belong to genus *Ecklonia* showed marked nitrite-scavenging effect at pH 1.2. Furthermore, these algae showed potent reducing power and radical scavenging activity. The nitrite-scavenging effect was correlated with level of reducing power.

Key words: seaweed, nitrite-scavenging effect, reducing power, Laminariaceae

서 론

식육 및 수산제품의 가공시에 첨가되는 아질산염은 *Clostridium botulinum*의 성장 및 독소 생성의 억제, 육색소의 발색 향상, 제품의 풍미 향상 및 저장중의 지방산패를 억제하는 것으로 알려져 있다(1,2).

아질산염은 식품 첨가물로서 뿐만 아니라 타액 등에도 미량 존재하고 있다고 알려져 있으며(3), 야채류와 과일에 상당량 존재하고 있는 질산염도 체내에서 아질산염으로 환원(4)되므로 아질산염은 우리의 식생활 환경과 밀접한 관계가 있다고 하겠다. 한편, 아질산염은 2급 및 3급 아민과 반응하여 발암성 nitrosamine을 생성하는 것으로 보고되고 있다(5,6). 특히, 맥아, 맥주(7) 및 해산 어류(8,9)에는 dimethylamine과 diethylamine이 다른 식품에 비하여 비교적 많이 존재하는데, 이것이 산성조건하에서 아질산염과의 니트로소화반응에 의해 N-nitrosodialkylamine을 형성하는 것으로 알려져 있으며 이들 니트로사민의 대부분이 발암성을 나타내는 물질로 알려져 있다(10).

이와 같이 니트로사민의 전구물질인 아질산염과 아민이 식품내의 상재 성분으로 널리 존재하고 있으므로 식품 성분의 상호 반응으로 식품 자체내에서 생성될 수 있을 뿐만 아니라 이들을 함유하고 있는 음식물을 동시에 섭취했을 때 위내에서 nitrosamine이 생성될 가능성이 매우 높다. 특히

nitrosamine은 인체내 위의 pH영역에서 최적의 생성조건을 가지므로, nitrosamine의 직접적인 생성인자인 아질산염을 분해하는 것이 발암억제에 있어 중요하다고 하겠다. 이와 관련하여 nitrosamine 생성억제에 관한 연구로는 ascorbic acid(11), 식품성분간의 상호반응으로 생성된 melanoidin(12), guaiacol과 resorcinol 등의 phenol류(13) 및 녹차추출물(14) 등에 의해서도 아질산염이 분해되어 nitrosation 반응을 억제한다고 보고되고 있다.

발암성 니트로사민의 생성인자의 하나인 아질산염을 효과적으로 전환시키는 것이 발암성 니트로사민 생성의 억제와 관련된다고 볼 수 있으므로, 본 연구에서는 일상생활에서 널리 섭취하고 있는 식용 및 미식용 해조를 시료로 하여 이들의 아질산염 분해작용을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 해조류는 갈조류인 감태(*Ecklonia cava*), 곱피(*Ecklonia stolonifera*), 구멍쇠미역(*Agarum cribrosum*), 미역(*Undaria pinnatifida*), 다시마(*Laminaria japonica*), 팽쟁이모자반(*Sargassum thunbergii*), 미야베모자반(*Sargassum miyabe*), 지충이(*Sargassum horneri*), 툃(*Hizikia fusiformis*)과 홍조류인 김(*Porphyra tenera*), 참도박(*Pachy-*

meniopsis elliptica), 꼬시래기(*Gracilaria verrucosa*), 마디잘록이(*Lomentaria catenata*) 및 참곱슬이(*Plocamium telfairiae*), 녹조류인 청각(*Codium fragile*), 참갈파래(*Ulva lactuca*)를 실험에 사용하였으며, 이들 중 구멍쇠 미역은 주문진에서, 팽쟁이 모자반과 미야베 모자반은 충무에서 직접 채취하여 실험에 사용하였다. 이외의 해조는 부산 기장 및 송정에서 생산된 해조를 채취 또는 구입(2000년 3~6월)하여 실험에 사용하였다.

시료추출물의 조제

본 실험에 사용한 해조류는 건조중량 2배량의 메탄올을 첨가하여 24시간동안 2회 반복하여 얻은 메탄올 추출물을 회전 진공농축기로 농축하여 메탄올 추출물을 조제하였다.

아질산염 소거활성

시료의 아질산염 소거작용은 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 소정 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2) 완충용액과 0.2 M citric acid(pH 3.0, 4.2, 6.0)를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 각각 조정한다 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이렇게 한 다음 37°C에서 1시간 반응시켜 얻은 반응용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 Griess시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1비로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.5 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 대조구는 Griess시약 대신 증류수를 0.5 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 백분율로 나타내었다.

환원력 측정

환원력 측정은 소정농도의 시료 1 mL에 0.2 M phosphate 완충용액(pH 6.6) 2.5 mL 및 1% potassium ferricyanide 2.5 mL를 가해 50°C에서 incubation시켰다. 여기에 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 가하고 3000 rpm에서 원심분리시킨 상층액 2.5 mL에 증류수 2.5 mL 및 0.1% FeCl₃ 0.5 mL를 가한 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이들 반응용액의 환원력은 흡광도치가 클수록 뛰어남을 의미한다.

Radical 소거활성

해조의 radical소거능은 α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH)의 수소공여능을 측정하여 나타내었다. 즉, 해조 메탄올 추출물 1 mg 함유용액에 0.3 mM의 DPPH 3.0 mL를 가하고 vortex에서 10초간 혼화하고 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 516 nm에서 흡광도로 측정하고 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 백분율로써 나타내었다.

결과 및 고찰

해조류의 아질산염 분해작용 검색

Table 1에는 갈조류인 감태, 곰피, 미역, 다시마, 구멍쇠미역, 지층이, 미야베 모자반, 팽쟁이 모자반 및 툯, 홍조류의 참감, 참도박, 꼬시래기, 마디잘록이 및 참곱슬이, 녹조류의 청각 및 참갈파래의 메탄올 추출물에 의한 아질산염 분해효과를 나타내었다.

해조류 메탄올 추출물에 의한 아질산염 분해작용은 대체로 갈조류의 경우가 뛰어난 효과를 나타내었으나, 녹조류 및 홍조류는 갈조류에 비해 아질산염 분해효과는 극히 미약하였다. 갈조류 중에서는 특히 다시마과에 속하는 곰피, 감

Table 1. Effect of pH on nitrite-scavenging effects of methanol-solubles obtained from seaweed

Seaweed		Nitrite-scavenging ratio, % ¹⁾			
Division	Species	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.0	pH 6.0
Phaeophyta	<i>Ecklonia cava</i>	90.4	64.0	7.7	5.1
	<i>Ecklonia stolonifera</i>	80.1	54.1	0.1	- ²⁾
	<i>Agarum cribrosum</i>	79.0	72.8	5.3	3.2
	<i>Undaria pinnatifida</i>	11.6	2.1	-	-
	<i>Lominaria japonica</i>	10.5	-	-	-
	<i>Sargassum thunbergii</i>	30.6	22.8	-	-
	<i>Sargassum miyabei</i>	13.7	5.5	-	-
	<i>Sargassum horneri</i>	12.4	-	-	-
	<i>Hizikia fusiformis</i>	21.5	15.7	-	-
	Rhodophyta	<i>Porphyra tenera</i>	-	-	-
<i>Pachymeniopsis elliptica</i>		5.4	-	-	-
<i>Gracilaria verrucosa</i>		5.5	2.7	-	-
<i>Lomentaria catenata</i>		-	-	-	-
<i>Plocamium telfairiae</i>		6.0	0.6	-	-
Chlorophyta	<i>Codium fragile</i>	10.1	-	-	-
	<i>Ulva lactuca</i>	4.5	-	-	-

¹⁾Nitrite-scavenging effect was determined by incubation of 1 mg of each seaweed extract at 37°C for 1 hr.

²⁾No activity.

Table 2. Reducing powers and free radical scavenging effect¹⁾ of methanol-soluble fractions obtained from seaweed

Seaweed		Reducing power	Free radical scavenging ratio, %
Division	Species		
Phaeophyta	<i>Ecklonia cava</i>	2.719	93.5
	<i>Ecklonia stolonifera</i>	2.667	95.1
	<i>Agarum cribrosum</i>	1.423	87.1
	<i>Undaria pinnatifida</i>	0.337	52.7
	<i>Laminaria japonica</i>	0.219	47.5
	<i>Sargassum thunbergii</i>	1.043	49.2
	<i>Sargassum miyabei</i>	0.708	96.0
	<i>Sargassum horneri</i>	0.311	86.6
	<i>Hizikia fusiformis</i>	1.211	63.7
Rhodophyta	<i>Porphyra tenera</i>	0.210	31.8
	<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	0.065	16.2
	<i>Gracilaria verrucosa</i>	0.476	8.7
	<i>Lomentaria catenata</i>	0.083	12.8
	<i>Plocamium telfairiae</i>	0.198	41.0
Chlorophyta	<i>Codium fragile</i>	0.214	48.7
	<i>Ulva lactuca</i>	0.09	10.0

¹⁾Reducing power and free radical scavenging effect was determined with 1 mg of each seaweed extract.

태 및 구멍쇠미역이 pH 1.2에서 80%/mg이상의 효과를 나타내었으나 미역과 다시마는 10%/mg정도의 낮은 아질산염 분해작용을 나타내었다.

pH 3.0, 4.2, 6.0에서는 전 해조에 걸쳐 아질산염 분해효과가 감소하여 감태, 곰피, 구멍쇠미역을 제외한 전 해조에 있어서 아질산염 분해효과가 극히 미약하거나 효과를 나타내지 않아 각 시료 모두 pH의존성을 나타내었다.

해조류의 환원력 및 radical 소거효과

Table 2에는 각 해조류의 환원력 및 radical 소거작용을 나타내었다. 대체로 아질산염 분해작용이 뛰어난 다시마과의 감태, 곰피, 구멍쇠미역과 모자반과의 켈생이모자반이 환원력 및 radical 소거효과 또한 강하였다. 한편 갈조류 중에서 모자반과의 툯, 미야베모자반 및 미식용의 지층이의 경우 radical 소거효과는 각각 63.7%, 96.0% 및 86.6%로 아주 높아 감태, 곰피와 유사한 효과를 나타내었으나 아질산염 분해작용 및 환원력은 낮아 아질산염 분해효과와 환원력은 서로 관련성이 있는 것으로 나타났다.

아질산염 분해작용이 극히 낮은 녹조류와 홍조류의 경우에는 환원력과 radical 소거효과 또한 극히 미약하였다. Kang 등(15)은 아질산염 분해효과에서 gentistic acid, syringic acid, gallic acid 등과 같은 페놀성화합물이 우수한 분해효과를 나타내었음을 보고하고 있으며 또한 이들 페놀성 화합물이 전자공여능도 우수한 것으로 보고하고 있다. 이와 관련하여 Mirvishi 등(11)과 Kato 등(16)도 ascorbic acid 및 melanoidin에 의한 아질산염 분해작용과 nitrosamine 생성억제능에 관한 보고에서 이들에 의한 아질산염 분해작용과 nitrosmine 생성억제효과는 강한 환원력에 의해 nitrite가 NO 또는 HNO₃로 환원된 것으로 추측하였으며, Ahn 등(17)의 보고에서도 환원력을 소실시킨 Maillard 반응생성물은 nitrosamine 생성억제능이 급격히 저하하는 것으로 보고하

고 있다.

*Ecklonia*속의 갈조류는 dibenzodionin구조를 갖는 phlorotannin형태의 ecklon화합물(18) 및 phloroglucinol(19)과 같은 free hydroxy group를 갖는 페놀성 화합물이 존재하고 있는 바, 이러한 페놀성 화합물이 산성조건하에서 아질산염으로부터 생성되는 nitrosating agent인 N₂O₃, NO⁺를 nitrite oxide로 변화시키며 페놀성 화합물 또한 nitrosating agent에 의해 산화되어 퀴논화합물로 전환될 것으로 추정된다.

요 약

일상 식생활에서 널리 섭취하고 있는 식용 및 미식용인 16종의 해조류를 사용하여 니트로사민의 직접적인 생성인자인 아질산염 소거작용에 관하여 검토하였다. 그 결과, 갈조류의 경우가 녹조류 및 홍조류에 비해 우수한 분해효과를 나타내었으며 갈조류 중에서도 다시마과의 감태, 곰피, 구멍쇠 미역이 뛰어난 아질산염 분해효과를 나타내었다. 또한 각 시료 모두 pH의존성이 크게 나타나 pH 4.2 및 6.0에서보다 pH 1.2에서 아질산염 분해효과가 뛰어났으며 아질산염 분해효과가 우수할수록 환원력이 높아 아질산염 분해능과 환원력은 밀접한 관련성을 나타내었다.

문 헌

1. Duncan CL, Foster EM. 1968. Effect of sodium chloride and sodium nitrate on germination and out growth of anaerobic spores. *Appl Microbiol* 16: 406-411.
2. Macdougall DB, Mottran DS, Rhodes DN. 1975. Contribution of nitrite and nitrate to the colour and flavor of cured meats. *J Sci Food Agric* 26: 1743-1746.
3. Harada M, Ishiwata H, Nakamura Y, Tanimura A, Ishidate M. 1974. Studies on *in vivo* formation of nitroso compounds nitrite and nitrate contained in human saliva. *J Jpn Soc*

- Food and Nutrition* 15: 206-207.
4. Hayashi N, Watanabe K. 1978. Fate of nitrate and nitrite in saliva and blood of monkey administered orally sodium nitrate solution and microflora of oral cavity of the monkey. *J Food Hyg Soc Japan* 19: 392-400.
 5. Fiddler W, Pensabene JW, Piotrowski EG, Doerr RC, Asserman AEW. 1973. Use of sodium ascorbate or erythrobrute to inhibit formation of N-nitrosodimethylamine in frankfurters. *J Food Sci* 38: 1084-1088.
 6. Yoo LJ, Barbour JF, Libbey LM, Scanlan RA. 1992. Precursors of N-nitrosodimethylamine in malted barley; 1. Determination of dimethylamine. *J Agric Food Chem* 40: 2222-2225.
 7. Slaughter JC, Uvgard ARA. 1991. Volatile amines of malt and beer. *J Inst Brew* 77: 446-450.
 8. Ohshima H, Kawabata T. 1978. Mechanism of the nitrosodimethylamine formation from trimethylamine and trimethylaminoxide. *Bull Japanese Sci Fish Soc* 44: 77-81.
 9. Sung NJ, Yang HC. 1984. Changes in N-nitrosamine of yellow corvenia (*Pseudodociaena manchurica*) during Gulbi processing and storage; 1. Changes in nitrate, nitrite and amines of yellow corvenia during Gulbi processing and storage. *Bull Korean Fish Soc* 17: 344-352.
 10. Brendler SY, Tompa A, Hutter KF, Preussmann R, Pll-Zobel BL. 1992. *In vivo* and *in vitro* genotoxicity of several N-nitrosamines in extrahepatic tissues of the rat. *Carcinogenesis* 13: 245-2441.
 11. Mirvish SS, Wallcave L, Eagen M, Shubik P. 1972. Ascorbate-nitrite reaction; Possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compound. *Science* 177: 65-68.
 12. Kato H, Lee IE, Cheyen NV, Kim SB, Hayase F. 1983. Inhibition of nitrosamine formation by non-dialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
 13. Cooney RV, Ross PD. 1987. N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution; Effects of vanillin and related phenols. *J Agric Food Chem* 35: 789-793.
 14. Yeo SG, Yeum DM, Lee DH, Ahn CW, Kim SB, Park YH. 1994. The nitrite-scavenging effects by component of green tea extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 23: 287-292.
 15. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compound. *J Korean Food Sci Technol* 28: 232-239.
 16. Kato H, Lee IE, Cheyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
 17. Ahn BW, Lee DH, Yeo SG, Kang JH, Do JR, Kim SB, Park YH. 1993. Inhibitory action of natural food components on the formation of carcinogenic nitrosamine. *Bull Korean Fish Soc* 26: 289-295.
 18. Fukuyama Y, Kodama M, Miura I, Kinzyo Z, Kido M, Mori H, Nakayama Y, Takahashi M. 1989. Structure of an antiplasmin inhibitor, Eckol, isolated from the brown alga *Ecklonia kurome* Okamura and inhibitory activities of its derivatives on plasma plasmin inhibitors. *Chem Pharm Bull* 37: 349-353.
 19. Lee JH, Park JC, Choi JS. 1996. The antioxidant activity of *Ecklonia stolonifera*. *Arch Pharm Res* 19: 233-237.

(2005년 1월 5일 접수; 2005년 2월 4일 채택)