

## 소라에서 분리한 *Vibrio*균으로 제조한 다시마 Single Cell Detritus(SCD)의 품질특성

방상진 · 신일식 · 김상무<sup>†</sup>

강릉대학교 해양생명공학부

### Quality Characteristics of Sea Tangle Single Cell Detritus (SCD) Manufactured by *Vibrio* sp. Isolated from *Batillus cornutus*

Sang Jin Bang, Il Shik Shin and Sang Moo Kim<sup>†</sup>

Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, Gangwon 210-702, Korea

#### Abstract

Obtaining powder form of seaweed is essential for the use of seaweed as a food additive. The deterioration of seaweed caused by high temperatures during homogenization and powder processing is a serious problem and limits the use of seaweed as a food or pharmaceutical ingredient. Furthermore, many powder particles are not fluidized very well because of the interaction between particles. In order to solve this problem, sea tangle was hydrolyzed to a level of single cell detritus (SCD) by *Vibrio* sp., isolated from *Batillus cornutus*, with strong hydrolytic activity. The crude protein and amino acid contents of sea tangle SCD were higher than those of the powder, whereas the reverse was true for ash content. Sea tangle powder contained more mineral than its SCD, whereas total amino acid content was 5 times more in SCD than in powder. The anticancer activities of sea tangle SCD and powder were 31.20 and 29.07%, respectively, with no significant difference ( $p < 0.05$ ), but about 15% higher than that of the control. The ACE inhibitory activity of the sea tangle powder, 39.31%, was higher than the 26.07% of the SCD. The antithrombin activity of the sea tangle powder, 55.3 seconds, was higher than the 34.5 seconds of the SCD. Moreover, there was no antioxidative and ischemic activities in both the sea tangle powder and SCD.

**Key words:** quality characteristics, sea tangle, single cell detritus (SCD), *Vibrio* sp.

#### 서 론

최근 경제발전으로 인해 국민소득과 식생활 수준이 향상됨에 따라 질병의 양상도 감염성 질병에서 만성퇴행성 질환으로 바뀌고 뇌혈관 및 호흡기계 질환, 암, 고혈압, 동맥경화, 당뇨병으로 인한 사망률이 증가하고 있으며 성인병의 비율이 점차 늘어나고 있는 실정이다. 이에 따라 최근 비만방지 및 성인병 치료에 효과가 있다는 각종 다이어트 식품, 건강식품, 기능성 식품들이 개발되고 있으며 해조류의 식이섬유도 그 중 하나로 주목받고 있다(1).

다시마는 BHA나 BHT에 필적할만한 항산화 능력이 있고(2), 항암활성과 고혈압 억제 효과가 있다고 보고된 바 있다(3). 특히 해조류의 fucoidan은 heparin과 같은 혈액응고 활성 및 항암활성이 있다는 보고가 있으며(4), 갈조류는 알긴산이 풍부하여 콜레스테롤 배출작용, 카드몐과 같은 중금속 및 방사선물질의 체내흡수 억제와 배출작용이 있으며 고혈압에 효과적인 laminine 등을 함유한 식이섬유의 공급원

이며(1), 그 중 다시마는 칼슘, 인, 철, 마그네슘 등의 무기질이 풍부할 뿐만 아니라 정미성분도 풍부하여 예로부터 국수나 우동 등의 면류와 각종 국물을 우려내는 조미재료로 이용되고 있다(5). 최근에는 다시마가 가지고 있는 여러 가지 효능을 이용하여 다시마를 식품에 첨가하거나 제품화하는 연구가 활발히 진행되고 있는데 스낵 및 케이크, 다시마젤리, 다시마차, 조미다시마 등 다양한 다시마 제품이 만들어지고 있다(6).

그러나 다시마를 식품첨가제로 이용하기 위해서는 분말로 만드는 것이 필수적이나 분쇄 등의 기계적인 방법에 의한 분말화는 온도상승 및 조직파괴 등을 초래한다. 이런 온도상승 및 조직파괴 등은 해조류 생리활성 성분의 열화를 가져올 수 있는데 열화가 일어나면 식품에 변성을 일으켜 식품 본연의 맛이나 영양성분 등이 변하게 된다. 또한 수십~수백  $\mu\text{m}$ 의 다시마 분말입자는 입자 상호간의 응집으로 인하여 유동성이 좋지 않은 단점이 있다. 특히 분말의 형상은 물 등의 분산상태에 있어서 개체차가 크며, 이것이 식품의 품질에

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: smkim@kangnung.ac.kr  
Phone: 82-33-640-2343. Fax: 82-33-640-2340

직접 영향을 미친다. 그러므로 분말의 형상이나 입자의 크기를 조정하면 식품소재로서의 새로운 특성이 나타나며, 수  $\mu\text{m}$ 의 미립자는 다른 식재와 융합하기 쉬우며 성형이나 농도 조정도 쉽기 때문에 유아식 또는 다른 식품첨가제(빵, 국수, 연제품)로 응용폭이 증가할 수 있다. 기계적 파괴에 의한 다시마 분말화의 단점을 극복하기 위하여 미생물을 이용한 생물학적인 방법에 의한 미립자화가 가장 타당한 방법으로 알려져 있는데, 해조류를 가수분해하는 미생물로 *Alginomonas alginica*(7), *Vibrio* sp.(8-10), *Pseudomonas* sp.(11,12), *Klebsiella aerogenes*(13,14) 등을 이용한 연구가 보고되고 있다. 그러나 같은 종류의 미생물이라도 채취장소, 시기, 숙주 등에 따라 분해활성은 큰 차이가 나는 것이 미생물의 특징이다.

따라서, 본 연구에서는 다시마를 식품(국수, 빵, 수산연제품 등)첨가제로 이용하기 위하여 다시마 분해능이 강한 세균을 소라에서 분리하여 다시마를 미립자인 SCD형태로 제조하여 다시마 SCD가 가지는 여러 가지 성분 및 품질특성을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험의 원료로 사용한 건 다시마(*Laminaria japonica*)는 강릉 수산시장에서 2002년 3월에 구입하였다. 다시마는 구입 후 즉시 냉동고에 보관하였으며 실험 전에 수돗물로 3회 세척하여 염분을 제거한 후, 두시간동안 증류수에 보관하여 실험에 사용하였다.

### 해양세균의 분리

다시마를 SCD로 분해하는 해양세균을 분리하기 위하여 해수, 다시마(*Laminaria japonica*), 미역(*Undaria pinnatifida*), 성게(*Anthocidaris crassispina*), 불가사리(*Acanthaster planci*), 소라(*Batillus cornutus*)를 강릉 주문진 해안에서 채취하여 실험에 사용하였다.

해수의 경우 0.22  $\mu\text{m}$  membrane filter(Whatman Co., Brentford, England)를 사용하여 세균을 포집한 후, marine broth(Difco, BD Diagnostic Systems, Spark, MD, USA)에서 20°C, 48시간 증균배양하였다. 증균배양액 한 백금이를 Marine agar(Difco, BD Diagnostic Systems, Spark, MD, USA) 평판에 도말하고 20°C에서 48시간 배양한 후 독립 colony를 분리하였다. 미역, 다시마는 조체 20 g을 멸균해수 180 mL와 혼합하여 stomacher 400(Seward Co., London, England)으로 230 rpm에서 1분동안 균질화한 후, marine agar 평판에 도말하여 20°C에서 3일간 배양한 후 독립 colony를 분리하였다. 성게, 불가사리, 소라는 시료 20 g을 NaCl 3%의 멸균식염수 180 mL와 혼합하여 stomacher로 230 rpm에서 1분 동안 균질화한 후, marine agar 평판에 도

말하여 20°C에서 3일간 배양한 후 독립 colony를 분리하였다. 분리한 colony는 다시 동일한 평판배지에서 streak culture하여 독립 colony를 확인하고 marine broth에서 전배양하여 본 실험에 사용하였다.

### SCD 분해균주 및 동정

다시마를 SCD로 분해하는 해양세균을 찾기 위하여 해수, 해조류, 해양동물(성게, 불가사리, 고둥, 소라, 전복)에서 총 61개 균의 해양세균을 분리하였으며, 그 중 소라(*Batillus cornutus*)의 내장에서 분리한 균주를 동정하였다. 이 균주를 동정하기 위하여 marine agar에서 20°C, 48시간 배양한 후 gram stain, motility, catalase, oxidase 등을 측정하였으며 그 외의 생화학적 특성검사는 미생물 동정기(BIO-MERIEUX Co., Montalieu Veroieu, France)로 측정하였다.

### SCD 생성균주 *Vibrio* sp.의 전배양

다시마를 미립자 SCD 형태로 분해하는 *Vibrio* sp.를 증류수 1 L당 NaCl 23 g, KCl 0.7 g,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  10.6 g,  $\text{CaCl}_2$  1.1 g,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  3.9 g,  $\text{NaHCO}_3$  0.2 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.01 g, pH 7.0으로 제조한 인공해수에 beef extract 0.3%, yeast extract 0.5%가 함유된 배지 200 mL에 접종하고 20°C에서 전배양하여 실험에 사용하였다.

### SCD의 제조

전배양한 *Vibrio* sp. 20 mL를 2×3 cm 크기로 잘게 자른 1 kg의 다시마와 2 L Marine broth(Difco Lab, Sparks, MD, USA)배지에 함께 넣어 3 L 용량의 발효조(BioTron, Bucheon, Korea)를 사용하여 pH 7, 20°C 및 150 rpm에서 15일간 배양하였다. 이 배양액을 3회 원심분리(3,860×g, 10 min)하여 배지를 제거한 다음 10  $\mu\text{m}$ 의 체(sieve)에 여과하여 10  $\mu\text{m}$  크기 이하의 다시마 입자를 모아 동결건조하여 분말형태의 SCD를 제조하였다. 대조구는 다시마 조체를 mixer로 분쇄한 분말을 사용하였다.

### SCD와 다시마분말의 수용성 추출물 제조

다시마 SCD의 생리활성을 측정하기 위하여 SCD와 대조구 10 g을 시료의 100배에 해당하는 20°C의 증류수에 첨가하여 2시간동안 20°C에서 교반한 후 여과하여 ACE 저해활성, 항혈전, 암세포 증식억제 실험용 수용성 추출물을 제조하였다.

### 일반성분 분석

다시마 SCD의 일반성분은 AOAC법(15)에 따라 수분함량은 105°C에서 상압건조법, 조지방은 Soxhlet추출법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조회분은 550°C에서 건식회화법으로 분석하였으며 탄수화물 함량은 고형분의 총량에서 회분, 조단백질 그리고 조지방의 함량을 뺀 값으로 나타내었고 모든 측정은 3회 반복하여 평균치를 취하였다.

### 무기질 분석

무기질 분석은 식품공전(16)의 습식분해법에 준하여 시험

용액으로 조제한 후 칼슘(Ca), 나트륨(Na), 칼륨(K), 인(P), 철(Fe)과 아연(Zn)의 함량을 분석하였다.

#### 총아미노산 분석

총아미노산은 Choi 등(17)의 방법에 의해 분석하였다. 즉, 다시마 SCD 0.2 g에 6 N HCl 15 mL를 가하여 진공 밀봉한 상태로 110°C에서 22시간 가수분해하였다. 이것을 감압농축하여 HCl을 제거한 후 완전 건조된 상태에서 0.02 N HCl 10 mL를 첨가하여 아미노산 자동 분석기(L-8800, Hitachi, Japan)로 총아미노산을 분석하였다.

#### 항산화활성

DPPH radical에 대한 소거효과 측정은 Blois(18)의 방법을 사용하였다. 즉, methanol로 농도를 조정된 시료 SCD와 다시마 분말의 methanol 추출물 4 mL를 취하여 0.15 mM DPPH 1 mL와 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하여, DPPH radical 소거활성을 구하였다.

#### Angiotensin-I converting enzyme(ACE) 저해활성

Cushman과 Cheung(19)의 방법에 의하여 ACE 저해활성을 측정하였다. 즉, angiotensin-I 전환효소는 토끼의 허파에서 아세톤으로 분리한 정제분말 1 g에 400 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 10 mL를 가한 다음 5°C에서 24시간 교반한 후 원심분리(10,000×g, 30 min)하여 얻은 상정액을 ACE 조효소액으로 사용하였다. 시료 50 µL에 ACE 조효소액 100 µL 및 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 200 µL를 가한 다음 37°C에서 5분간 preincubation하였다. 여기에 기질로써 0.5 mM Hip-His-Leu 50 µL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCl 250 µL를 가하여 반응을 정지하였다. Ethyl acetate 2 mL를 가하여 15초간 교반한 후 3,000×g에서 5분간 원심분리하여 상정액 1 mL를 취하였다. 이 상정액을 완전히 건조시킨 뒤 1 N NaCl 3 mL를 가하여 용해한 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해활성을 구하였다.

$$\text{ACE 저해활성(\%)} = \{(1 - S)/C\} \times 100$$

S: 시료의 흡광도, C: 대조구의 흡광도

#### 항혈전(activated partial thromboplastin time: APTT) 측정

항혈액응고(APTT) 실험은 Casu 등(20)의 방법에 따라 실시하였다. 500 µL sodium citrate에 정상인의 혈액 4.5 mL를 섞은 후 3,000×g에서 10분간 원심분리하여 혈장시료를 만들었다. 항혈액응고 실험은 혈장 100 µL에 시료용액 10 µL를 넣고 교반한 다음 37°C 항온수조에서 1분간 가온하였다. 여기에 100 µL actin을 첨가한 후 다시 37°C의 20 mM CaCl<sub>2</sub> 100 µL를 넣음과 동시에 응고시간을 Sysmex CA-540 (Sysmex Co., Kobe, Japan)으로 측정하였다.

#### 암세포증식 억제 실험(MTT-assay)

**세포주**: 실험에 사용한 세포주는 성장속도가 빠르고 비교적 항암제 감수성이 예민한 위암세포주 SNU-1(서울대학교, Seoul, Korea)를 사용하였다. SNU-1은 55°C에서 30분간 열처리한 fetal bovine serum(FBS)을 10% 첨가한 RPMI-1640(Life Technologies Inc., Grand Island, NY, USA)배지에 1% penicillin-streptomycin과 20 mM HEPES buffer를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 72 hr 동안 배양하였다.

**MTT assay에 의한 암세포독성 측정**: SNU-1에 대한 시료의 세포독성을 측정하기 위하여 Carmichael 등(21)의 방법에 따라 MTT assay를 실시하였다. SNU-1을 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well이 되게 180 µL씩 주입한 다음, 일정 농도(10 mg/mL)의 시료를 well plate에 20 µL를 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 72 hr동안 배양하였으며 대조구는 증류수를 사용하였다. 72 hr 배양 후 인산생리식염수에 5 mg/mL 농도로 제조한 MTT(Sigma, St. Louis, Missouri, USA) 용액을 한 well 당 20 µL씩 넣은 후 각 well 당 DMSO (Dimethyl sulfoxide) 150 µL를 가하여 ELISA reader(Bio-Tek. Instruments Co., Highland Park, USA)로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 성장억제효과의 cytotoxicity=[(대조구의 흡광도-시료처리구의 흡광도)/대조구의 흡광도]×100을 구하여 세포독성 활성을 측정하였다.

#### 뇌허혈에 의한 신경세포사 억제 효능

**in vivo ischemic model 제작**: 65~75 g 내외의 암컷과 수컷 Mongolian gerbil 120마리를 12개군으로 나누어 실험에 사용하였다. 허혈을 유발시키기 전 24시간동안 절식을 시키며 물만 공급하였다. 이산화질소 66.7%, 산소 33.3%를 혼합한 기체에 isoflurane이 3%가 되도록 전신마취를 실시하였다. 전신마취 후 마취유지는 2.5%에서 실시하며 반드시 누운 자세(supine position)로 한 다음 다리를 테이프로 고정시켰다. 이 때 체온유지(37±0.3°C)를 위해서 바닥에 hot pad를 깔아주며 항문을 통해 체온을 측정할 수 있도록 장치하였다. 목 부분의 털을 제거한 후 피부를 정중절개하여 왼쪽과 오른쪽 온목동맥(common carotid aa.)을 노출시켰으며, 미주신경이 손상되지 않게 주의하며 미주신경을 온목동맥에서 분리하였다. 체온이 37°C가 유지된 상황에서 동맥류를 방지하는 aneurysm clip을 사용하여 양쪽 총목동맥을 폐쇄시키고 혈액이 차단되었는지 ophthalmoscope를 이용해서 확인하였다. 폐쇄 후 5분이 지나면 clip을 제거한 후 다시 혈액이 공급되는지 확인하였다.

**신경세포사 억제효과 확인**: 뇌허혈 유발 30분 전 또는 뇌허혈 유발 30분 후에 다시마분말과 SCD를 경구를 통해 100 mg/kg의 용량으로 투여하였다. 뇌허혈 유발 4일 후에 4% paraformaldehyde로 관류시켜 전신을 고정하였으며, 고정이 끝나면 두개강을 열고 신속히 뇌를 꺼낸 후 후고정을 동일고정액으로 6시간동안 실시하였다. 후고정이 끝난 조직

은 절편 제작시 ice-crystal 형성을 막기 위해서 30% sucrose (in 0.1 M PBS) 용액에서 조직이 가라앉을 때까지 반응시켰다. 반응이 끝난 조직은 30 μm 두께의 조직을 만들어 보존액에 사용시까지 보관하였다. 자른 조직 중 hippocampus가 나타난 조직을 골라 PBS로 3차례 세척 후 slide glass에 얹어 12시간 건조를 한 다음 통상적인 방법에 의해 cresyl violet 염색을 수행하였다. 해마의 CA1영역의 세포수를 image analyzer(Optimas pro 6.5)를 이용하여 계수한 다음 가장 일반적인 부분을 Axiophot microscope(Carl Zeiss, Germany)를 이용하여 사진촬영을 실시하였다.

### 결과 및 고찰

#### SCD 분해균주 동정 및 SCD 제조

소라(*Batillus cornutus*)의 내장에서 분리한 SCD 생성균주의 형태, 생리, 생화학적 특성을 검사한 결과는 Table 1과 같다. 다시마 SCD 생성균주는 Gram negative, 운동성을 가지는 간균으로 포자를 형성하지 않았으며 oxidase와 catalase test 결과 양성반응이었다. 그 외의 생화학적 특성들을 미생물 동정기로 조사한 결과 *Vibrio* sp.인 것으로 동정되었다. Hollohan 등(22)은 갈조류를 부패시키거나 조직을 붕괴시키는 세균들 중에서 *Vibrio* sp.가 가장 지배적이라고 보고하였으며 Uchida와 Nakayama(23)의 보고에서도 다시마 분해능을 가지는 대표적인 해양세균이 *Vibrio* sp.로 밝혀졌으며 본 연구의 결과도 이와 같았다.

**Table 1. Physiological and biochemical characteristics of marine bacteria isolated *Batillus cornutus***

Characteristics	Strain	Characteristics	Strain
Gram stain	-	Lactose	-
Form	rod	Malate	+
Spore	-	Xylose	-
Motility	+	Raffinose	-
Catalase	+	Sorbitol	+
Oxidase	+	Inositol	-
O/F test	O/F	Adonitol	-
Acetate	-	H <sub>2</sub> S	-
Urea	-	Rhamnose	-
Citrate	-	Arabinose	-
Maltose	-	Glucose	+
Tryptophan	-	Mannitol	+

다시마 조체에 소라에서 분리한 *Vibrio* sp. 균주를 넣어 발효조에서 다시마를 분해한 결과 15일 후에는 다시마가 완전히 분해되어 크기 10 μm 이하의 다시마 분해물을 얻을 수 있었다. 다시마 1 kg을 분해한 결과 5 g 정도의 다시마 SCD를 얻을 수 있었으며 그 수율은 0.5%였다. Ando와 Inoue (8,9)는 *Vibrio* sp.가 다시마 건조중량의 10~35% 이상을 차지하는 세포간 점질 다당류인 알긴산을 분해하는 것으로 해조류의 분해 가능성을 제시한 것에 비해 본 연구에서는 *Vibrio* sp.가 15일간 발효조에서 다시마를 완전히 분해하는 것으로 보아 본 연구의 소라의 내장에서 분리한 *Vibrio* sp.가 강력한 다시마 분해능이 있는 것을 알 수 있었다. 또한 SCD는 독성을 갖는 *Vibrio* sp.의 미생물로 분해하였으므로 SCD 자체에 독성이 잔존할 가능성이 크다. 이런 문제를 해결하기 위하여 향후 강산성 전해수(acidic electrolytic water) 등으로 SCD를 처리해 준다면 *Vibrio* sp.를 살균할 수 있으리라 판단된다. 강산성 전해수는 종래의 소독제에 비해 약 20배의 살균력을 가지고 있으며, 5초 이내에 바이러스나 미생물을 살균시키는 것으로 알려져 있다(24).

#### 다시마 SCD의 특성

다시마분말 및 SCD의 일반성분을 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 다시마 SCD의 조단백질 함량이 19.8%이고 분말의 조단백질 함량은 10.7%로 SCD의 조단백질 함량이 분말보다 9.1% 더 높게 나타났다. 수분이나 조지방, 탄수화물의 함량은 분말시료와 SCD에서 서로 비슷하게 나타났으나 조회분의 경우 분말시료가 16.4%로 SCD의 3.6%보다 12.8% 더 높았다. Kim과 Bae(25)에 의하면 다시마분말의 조단백질 함량은 10.29%, 조지방은 3.42%, 조회분은 18.81%로 나타나 본 실험의 다시마 일반성분 중 조지방의 함량(0.6%)과는 차이가 나지만, 조단백질의 함량(10.7%)과 조회분 함량(16.4%)은 비슷하였다. SCD의 조단백질이 다시마분말에 비해 높게 나타난 것은 SCD 자체가 단백질 함량이 많은 세포 등을 함유한 물질이며 상대적으로 ash의 함량이 적은 물질이기 때문인 것으로 판단된다.

다시마분말 및 SCD의 주요 무기질 함량은 Table 3과 같다. 다시마분말의 무기질 함량은 K>Na>Ca 순이었으며 P, Fe와 Zn은 매우 적은 양을 나타내었다. SCD에서는 무기질의 함량이 분말보다 현저하게 낮았다. 가장 높은 함량의 무

**Table 2. Proximate compositions of raw sea tangle powder and SCD**

Sample	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Carbohydrate	Ash
Sea tangle powder	14.5±0.8	10.7±0.5	0.6±0.1	57.8±0.3	16.4±0.8
SCD	12.5±0.6	19.8±0.8	1.3±0.4	62.8±0.6	3.6±0.8

**Table 3. The mineral contents of sea tangle powder and SCD**

Sample	Ca	Na	K	P	Fe	Zn
Sea tangle powder	2.01±0.005	3.52±0.003	3.55±0.005	0.05±0.006	0.02±0.005	0.01±0.004
SCD	0.41±0.004	0.53±0.003	1.45±0.006	0.01±0.003	0.01±0.002	-

기질은 K이었으나 Ca, Na, P와 Fe는 매우 적은 양을 나타냈다. Ruperez(26)에 의하면 다시마의 무기질 함량은 K의 함량(11.58%)이 가장 많고 Na(3.82%), Ca(1.01%), Mg(0.66%)의 순으로 구성되어 있다고 한다. 이는 본 실험의 무기질 함량 K(3.55%)>Na(3.52%)>Ca(2.01%)과의 순서는 같게 나타났지만 그 함량에서는 다소 차이가 있었다.

다시마의 미립자 SCD와 분말시료의 총아미노산을 Table 4에 나타내었다. SCD의 총아미노산의 함량은 31.0 g/100 g으로 다시마 분말시료의 총아미노산 함량인 6.1 g/100 g보다 높은 수치를 나타내었다. 이것은 SCD의 단백질 함량이 다시마 분말시료보다 더 높게 나타났기 때문으로 여겨진다. 다시마 분말시료 중 aspartic acid와 glutamic acid가 각각 770.8 및 829.8 mg/100 g으로 전체아미노산의 26.2%를 차지하였고 그 밖의 아미노산은 10% 이하의 소량으로 이 두 가지 아미노산이 다시마의 주요 아미노산으로 나타났다. SCD에서도 aspartic acid와 glutamic acid가 각각 3,760.1 및 4,752.8 mg/100 g으로 SCD 전체 아미노산의 27.5%로 나타나 aspartic acid와 glutamic acid가 주요 아미노산임을 알 수 있었다. 다시마 분말시료의 경우 Lee 등(27)이 보고한 다시마의 아미노산 조성과 매우 유사한 값을 나타내었다.

#### 다시마 SCD의 생리활성

다시마분말 및 SCD에서 항산화활성은 모두 1% 미만으로

항산화활성은 없는 것으로 나타났는데(Table 5), 이는 Park 등(2)의 결과와 같았다. Park 등(2)의 연구에서는 70°C의 온도에서 methanol과 같은 유기용매를 사용하여 추출한 분획에서는 다소 높은 항산화효과가 있다고 하였지만 상온의 증류수로 추출한 분획물에서는 1%미만의 값을 나타내었다. 또한 Lee 등(28)은 물과 에탄올로 추출한 분획 모두에서 항산화활성이 1%미만으로 나타났는데 이는 고온이 아닌 실온에서 분획물을 추출한 이유라고 하였다. 활성이 높은 추출물을 얻기 위해서는 효소나 유기용매, 열수추출과 같은 다른 추출방법의 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

혈압상승에는 angiotensin-I converting enzyme(EC 3.4.15.1)이 관여하며(21), 이 효소는 생체 중의 불활성형의 angiotensin-I(decapeptide)의 C 말단의 His-Leu를 분리하여 혈관벽 수축작용을 하는 angiotensin-II(octapeptide)로 전환하며, 또한 혈압강화인자인 bradykinin을 불활성하여 혈압을 상승시킨다. 즉 ACE 저해활성은 기질인 hippuryl-histidyl-leucine(Hip-His-Leu)에 ACE가 작용하는 것을 억제하여 hippuric acid(마노산)의 생성을 막는 것이다. 다시마 분말의 ACE 저해활성은 39.31%이었으며 SCD의 26.07%보다 약 13%정도 더 높아(Table 5), 다시마를 분해한 SCD가 단백질과 총아미노산의 함량이 더 높는데 비해 ACE의 저해활성은 더 낮게 측정되었다. Lee 등(29)은 해조류를 max-azyme과 papain으로 가수분해 시 8시간 후 peptide의 함량이 가장 많았으며 ACE의 활성도 증가한 반면 그 이후에는 활성이 떨어진다고 하였으며, Kim 등(30)도 담수어의 열수추출물 및 효소 가수분해물의 ACE 저해능은 가열이나 효소에 의한 단백질 가수분해 시 생성되는 저분자 peptide의 길이나 구조 및 구성아미노산의 종류나 배열순서 등 복합적인 작용에 의해 나타난다고 보고하였다. 이는 ACE 저해효과를 나타내는 peptide가 가수분해 진행에 따라 다시 분해되어 peptide의 사슬길이나 구조가 달라지기 때문이다. 본 실험에서 다시마 SCD가 다시마분말보다 ACE 저해활성이 더 낮은 이유는 다시마분말에 있는 ACE 저해활성 물질이 SCD 제조과정 중 미생물에 의해 분해되었거나, 다시마 분해과정 중 미생물이 생산하는 대사산물 또는 분해물질 등이 ACE 효소의 활성을 촉진하는 촉진제로 작용하여 나타난 결과로 보여진다. 본 실험에서는 다시마를 single cell 크기로 분해하기 위하여 미생물을 첨가하여 15일간 가수분해하였으며 ACE 저해활성을 나타내는 물질에 대한 정량분석을 수행하지 않았다. 그러므로 다시마 SCD가 다시마분말보다 ACE활성이

**Table 4. Total amino acid profiles of sea tangle powder and SCD** (mg/100 g)

Amino acid	Sea tangle powder	SCD
Asp	770.8 (12.6) <sup>1)</sup>	3,760.1 (12.1)
Thr	324.8 (5.3)	1,526.9 (4.9)
Ser	425.6 (7.0)	1,623.4 (5.2)
Glu	829.8 (13.6)	4,752.8 (15.4)
Gly	445.4 (7.3)	2,025.5 (6.5)
Ala	589.4 (9.6)	3,091.8 (10.0)
Cys	47.6 (0.8)	387.4 (1.2)
Val	217.4 (3.6)	1,149.2 (3.7)
Met	142.7 (2.3)	1,109.9 (3.6)
Ile	138.1 (2.2)	821.9 (2.7)
Leu	493.1 (8.1)	2,278.7 (7.3)
Tyr	70.0 (1.1)	407.3 (1.3)
Phe	365.8 (6.0)	1,632.0 (5.3)
Lys	319.6 (5.2)	2,295.1 (7.4)
His	96.4 (1.6)	639.7 (2.1)
Arg	364.3 (6.0)	1,988.5 (6.4)
Pro	471.0 (7.7)	1,517.0 (4.9)
Total	6,111.8 (100)	31,007.2 (100)

<sup>1)</sup>% to total amino acid concentration.

**Table 5. Biological activities of sea tangle powder and SCD**

Sample	Antioxidative activity (%)	ACE inhibitory activity (%)	Anticoagulant activity (sec)	Anticancer activity (%)
Control	-	-	35.5 <sup>a</sup>	15.33 <sup>a</sup>
Sea tangle powder	0.7 <sup>b1)</sup>	39.31 <sup>b</sup>	55.3 <sup>b</sup>	29.27 <sup>b</sup>
SCD	0.3 <sup>a</sup>	26.07 <sup>a</sup>	34.5 <sup>a</sup>	31.20 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Means in the same column with the different superscript are significantly different (p<0.05).

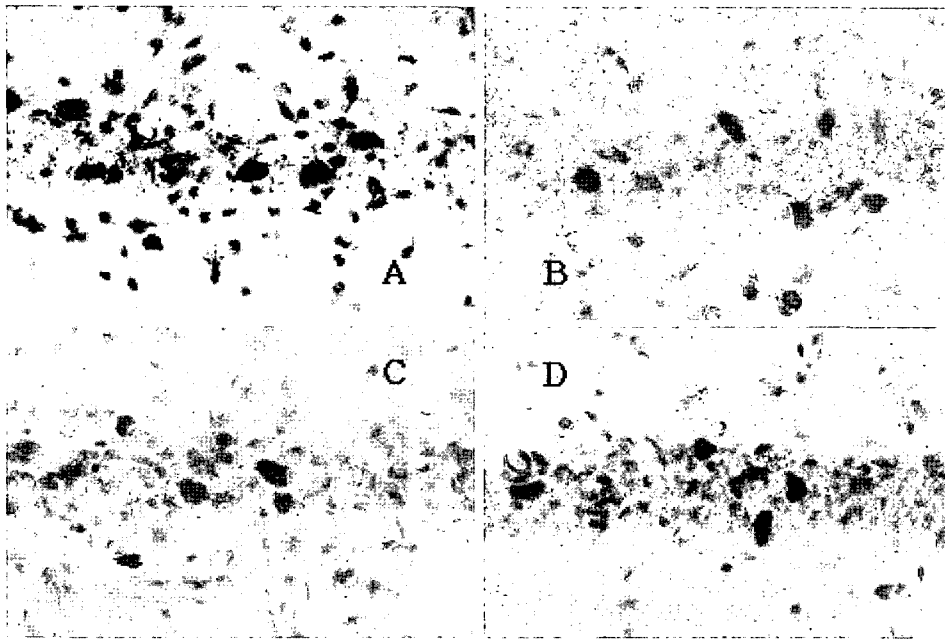


Fig. 1. Microphotographs of hippocampal CA1 region in the sea tangle powder and SCD pretreated group (A: sea tangle powder and C: SCD) and post-treated group (B: sea tangle powder and D: SCD) 4 days after ischemic insult. In all groups, a few pyramidal cells are stained with cresyl violet in the hippocampal CA1 region.

더 낮은 이유에 대하여는 추가적인 실험이 필요하다고 본다.

항혈액응고활성(APTT)측정에서 대조구는 시료를 첨가하지 않은 순수한 혈장(성인남자의 혈액에서 채취)만을 사용한 것이며 다시마 SCD와 대조구의 APTT는 각각 34.5, 35.5초로 거의 차이가 없었다(Table 5). 그러나 다시마분말은 55.3초로 대조구와 SCD에 비해 월등히 높은 수치를 나타내었다. Yoon 등(31)의 보고에 따르면 다시마의 열수 추출물이 1,000 µg/mL의 농도에서 600초가 넘는 높은 항응고활성을 가졌다고 하였다. 이 보고에서 순수 혈장만을 측정할 때 대조구의 응고시간이 평균 32초로 본 실험의 대조구 값과 거의 같은 값을 나타내었다. 하지만 다시마분말의 항응고시간은 55.3초로 Yoon 등(31)의 600초와는 현저히 떨어지는 값을 나타내었다. 이는 Yoon 등(31)의 추출물은 열수로 추출한 것이고 본 실험의 추출물은 상온수로 추출한 것이라 값이 많은 차이를 보이는 것으로 추정된다. SCD는 다시마의 다당류를 분해하는 세균에 의해 분해된 생성물이므로 점성을 띄는 알긴산과 같은 다당류가 다시마분말보다는 매우 적다. 이 점성을 띄는 다당류 때문에 SCD의 항혈액 응고시간이 다시마분말보다 더 낮게 나타난 것으로 추측된다.

다시마분말과 SCD의 항암활성은 각각 29.27%와 31.20%로 차이가 없었지만 대조구에 비해 다시마분말과 SCD의 항암활성이 약 15%이상 더 높은 효과가 나타났다(Table 5). Cui 등(32)은 5%의 다시마분말 첨가 된장에서 A549, HepG2 및 KATOIII의 각각의 균주에 대해 56.4, 87.6 및 89.5%로 각각 나타나 시료 무첨가 된장의 50%, 77%, 79%에 비해 높은 항암활성을 나타낸다고 하였다. Cui 등(32)의 결과에서는 HepG2와 KATOIII의 균주에 대해 다시마분말 첨가 시료

가 대조구에 비해 약 10%정도 더 높은 항암활성이 나타나 다시마분말이 어느 정도 항암활성이 있는 것으로 나타났다. 또한 Kim 등(33)의 연구에서는 다시마 에탄올 추출물이 인체 자궁암세포 Hela cell, 유방암세포 MCF-7 cell, 위암세포 SNU-638에 대한 암세포 성장억제효과가 각각 92, 90, 76%로 본 연구에 비해 높은 활성을 나타내었는데, 이는 본 연구와의 추출조건이 다르기 때문으로 판단된다.

다시마분말과 SCD가 뇌허혈에 의한 신경세포사를 효과적으로 억제할 수 있는지에 대한 여부를 확인하기 위해 뇌허혈에 의한 신경세포사 유발 전 30분 혹은 뇌허혈 유발 30분 후에 경구를 통해 시료를 투여한 다음 뇌허혈 4일 후에 동물을 희생하여 효능을 확인하였다(Fig. 1). 그 결과 다시마분말과 SCD를 투여한 암컷과 수컷, 수술전 투여군과 수술 후 투여군 모두에서 뇌허혈에 의한 신경세포사 억제효과가 전혀 없는 것을 확인할 수 있었다.

### 요 약

해조류를 식품으로 이용하기에는 분말화가 필수적이거나 분쇄 등의 분말화 과정에서의 온도상승은 이들 생리활성성분의 열화를 가져올 수 있으며, 수십~수백 µm의 분말입자는 입자 상호간의 응집으로 인하여 유효성이 좋지 않다. 해조류의 기계적 분쇄의 단점을 해결하기 위하여, 다시마 (*Laminaria japonica*)의 분해능이 강한 *Vibrio* sp.를 소라 (*Batillus cornutus*)에서 찾아 다시마 SCD(Single Cell Detritus)를 제조하였으며 SCD가 가지는 여러 가지 성분 및 생리활성을 분석하였다. 다시마 SCD의 조단백 함량과 총아

미노산의 함량은 다시마분말보다 높았으나 ash의 함량은 낮았다. 다시마 SCD와 분말시료의 항암활성은 각각 31.20과 29.27%로 차이가 없었다( $p < 0.05$ ). ACE 저해효과는 분말시료가 39.31%로 SCD의 26.07%보다 약간 높았다. 항혈액응고 측정결과 다시마분말은 55.3초로 다시마 SCD의 34.5초보다 높았다. 또한 다시마 SCD와 분말은 항산화효과와 뇌허혈에 의한 신경세포사 억제효과는 없는 것으로 나타났다. 비록 다시마 SCD의 생리활성은 분말보다 약간 떨어지나 조단백질, 아미노산 및 지질의 함량이 높기 때문에 빵, 국수 및 수산연제품 등의 첨가제로서 응용할 수 있는 큰 장점이 있다고 판단된다.

### 감사의 글

본 연구는 2002년도 해양수산부 수산특정과제(과제번호 20020128) 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

### 문헌

- Han KH, Choi MS, Ahn CK, Yoon MJ, Song TH. 2002. Soboru bread enriched with dietary fibers extracted from Kombu. *Kor J Soc Food Cookery Sci* 18: 619-624.
- Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH, Rhee KS. 1991. Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. *Kor J Food Sci Technol* 23: 256-261.
- Hiroyuki N, Hideomi A, Koichi A, Kazutosi N. 1990. Anti-tumor activity of marine algae. *Hydrobiologia* 204: 577-584.
- Ferial HB, Mostafai E, Corinne S, Catherine BV. 2000. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. *Thrombosis Research* 100: 453-459.
- Kim JS, Kang KJ. 1998. Effect of laminaria addition on the shelf-life and texture of bread. *Kor J Food Nutr* 11: 556-560.
- Kwon EA, Chang MJ, Kim SH. 2003. Quality characteristics of bread containing *Laminaria* powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 406-412.
- Eller J, Payne WJ. 1960. Studies on bacteria utilization of uronic acid. IV. Alginolytic and mannuronic acid oxidizing isolates. *J Bacteriology* 80: 193-199.
- Ando Y, Inoue K. 1961. Decomposition of alginic acid by microorganisms-IV. On the *Vibrio*-type bacteria, newly isolated from the decaying *Laminaria*. *J Jap Soc Sci Fish* 27: 339-341.
- Ando Y, Inoue K. 1961. Decomposition of alginic acid by microorganisms-V. On the alginase of *Vibrio* sp. SO-20 strain. *J Jap Soc Sci Fish* 27: 342-347.
- Kitamikado M, Tseng CH, Aoki T, Yamaguchi K, Araki T. 1989. Isolation of bacteria capable of producing alginate-degrading enzyme from natural environment. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 709-713.
- Kashiwabara Y, Hiroshi S, Nisizawa K. 1969. Alginatylases of *Pseudomonas*. *J Biochem* 66: 503-512.
- Davidson IW, Sutherland IW, Lawson CJ. 1976. Purification and properties of an alginate lyase from a marine bacterium. *J Biochem* 159: 707-713.
- Boyd J, Turvey JR. 1977. Isolation of poly- $\alpha$ -L-guluronate lyase from *Klebsiella aerogenes*. *Carbohydr Res* 57: 163-171.
- Boyd J, Turvey JR. 1978. Structural studies of alginic acid, using a bacterial poly- $\alpha$ -L-guluronate lyase. *Carbohydr Res* 66: 187-194.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Association of official analytical communities, Washington DC, USA.
- KFDA. 2002. *Food Code*. p 304-311.
- Choi JH, Oh SK, Park KD, Choi YJ, Rhim CH. 1985. Comparative study on amino acid profile of wild and cultured carp, and Israeli carp. *J Kor Fish Soc* 18: 545-549.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1119-1200.
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharm* 20: 1637-1648.
- Casu B, Oreste P, Torri G, Zoppetti G, Choay J, Lormeau JC, Petitou M, Sinay P. 1981. The structure of heparin oligosaccharide fragments with high anti-(factor Xa) activity containing the minimal antithrombin III-binding sequence. Chemical and  $^{13}\text{C}$  nuclear-magnetic-resonance. *J Biochem* 197: 599-609.
- Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942.
- Hollohan BT, Dabinett PE, Gow JA. 1986. Bacterial succession during biodegradation of the kelp *Alaria esculenta* (L.) Greville. *Can J Microbiol* 32: 505-512.
- Uchida M, Nakayama A. 1993. Isolation of *Laminaria*-frond decomposing bacteria from Japanese coastal waters. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59: 1865-1871.
- Jo SY, Joo DS, Kim OS, Choi YS. 2003. Sanitation of seafood processing equipments by the prepared acidic electrolyzed water. *Food Industry and Nutrition* 8: 45-49.
- Kim HS, Bae TJ. 2002. Studies on the hydrolysis of seaweed using microorganisms and its application. *J Kor Fish Soc* 35: 438-444.
- Ruperez P. 2002. Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chem* 79: 23-26.
- Lee JK, Lee SY, Kim WJ. 1994. Effect of removal of viscous materials on physicochemical properties of sea tangle extract. *Kor J Food Sci Technol* 26: 127-132.
- Lee BH, Choi BW, Chun JH, Yu BS. 1996. Extraction of water soluble antioxidants from seaweeds. *J Kor Ind Eng Chem* 7: 1069-1077.
- Lee HO, Kim DS, Do JR, Ko YS. 1999. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of algae. *J Kor Fish Soc* 32: 427-431.
- Kim TJ, Yoon HD, Lee DS, Jang YS, Suh SB, Yeum DM. 1996. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of hot-water extract and enzymatic hydrolysate of fresh water fish. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 871-877.
- 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.
- Cui CB, Lee EY, Lee DS, Ham SS. 2002. Antimutagenic and anticancer effects of ethanol extract from Korean traditional *Doenjang* added sea tangle. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 322-328.
- Kim SA, Kim J, Woo MK, Kwak CS, Lee MS. 2005. Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 451-459.

(2005년 12월 19일 접수; 2006년 4월 3일 채택)