

아귀 추출물의 항산화 및 항유전독성 활성

이석희¹ · 신진화¹ · 구명오¹ · 정은실¹ · 전경임² · 박은주² · 박해룡¹ · 이승철^{1*}

¹경남대학교 식품생명학과

²경남대학교 식품영양학과

Antioxidant and Antigenotoxic Activities of Extracts from Anglerfish

Suck-Hee Lee¹, Jin-Hwa Shin¹, Myoung-O Koo¹, Eun-Sil Jung¹, Geong-Im Jeon²,
Eunju Park², Hae-Ryong Park¹, and Seung-Cheol Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science and Biotechnology, and

²Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

Abstract

Antioxidant activities of extracts from anglerfish (*Lophiius litulon*) were evaluated. Each part of fresh (skin, flesh, stomach, and liver) or dried (skin and flesh) anglerfish was extracted by four different solvents (methanol, ethanol, acetone, and distilled water). Antioxidant activities of the extracts were determined by radical scavenging activity (RSA) and reducing power (RP). Relatively higher RSA and RP were found in methanol and water extract of fresh anglerfish liver. Antigenotoxic effect of the extracts, which was measured by Comet assay, was shown in most of the extracts except methanol, acetone and distilled water extracts of fresh stomach sample. These results indicated that antioxidant and antigenotoxic properties of extracts from angler fish were variable depending on parts, solvent, and/or physicochemical state. The appropriate extraction process could provide some valuable bioactive materials from anglerfish.

Key words: antioxidant, antigenotoxic, anglerfish, *Lophiius litulon*

서 론

산소는 생명 유지에 절대적으로 필요한 원소이지만 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되면 생체에 치명적인 영향을 미친다. 즉, 이들 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 유전자(DNA) 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 산화반응을 유발하여 면역체계를 파괴함으로써 노화 및 각종 질병을 일으키는 것으로 밝혀졌다(1,2). 활성산소는 정상적인 세포 대사과정에서도 일부 생성되고 있으며 체내에서는 각종 항산화효소와 항산화물질로 이를 제어하고 있다(3). 그러나 현대 생활에서는 각종 환경 요인에 의하여 과량의 활성산소가 생성되어 인체 내의 항산화물질은 부족한 상태이며, 이로 인해 각종 질병과 노화가 유발된다.

항산화물질은 식품산업, 의약품산업, 화장품산업 등 다양한 분야에서 이용될 수 있기 때문에 국가 경제 산업 측면에서 매우 큰 파급 효과를 기대할 수 있다(4). 특히 지금까지 알려진 항산화제가 약한 활성, 독성 및 사용상의 한계로 인하여 의약 활성물질로 사용하는 데에 있어서 많은 문제점을 내포하고 있다. 따라서 천연으로부터 보다 안전하고 강한 활성을

지닌 신규 천연 항산화제의 개발이 요구된다.

해양생물은 육상생물에 없는 특유의 대사과정과 독특한 환경으로 인하여 다양한 신규 생리활성물질의 탐색 가능성을 가지고 있다. 또한, 육상생물은 이미 많은 연구가 진행되었으나 해양생물은 아직 제한된 연구로 인하여 미지의 천연 물질의 개발에 대한 기대가 높게 평가되고 있다(5).

한편, 아귀류(*Lophiiformes* sp.)에는 12과 60속 약 315종이 포함되며(6), 전 세계 대부분의 바다에 분포한다(7-9). 아귀류의 특징은 등지느러미의 제1가시가 먹이를 달고 있는 듯한 유인돌기로 변했다는 점인데, 이로 인해 영문명은 anglerfish, 즉 낚시하는 물고기라 불린다(10). 우리나라에서도 주로 대륙붕에서 대륙붕사면의 상부 홀포래 바다에 서식하며(11), 찜과 찌개 등의 요리 소재로 널리 이용되고 있다. 특히, 경남 마산에서는 반 건조한 아귀와 콩나물, 미더덕 등의 부재료와 함께 조리한 아귀찜이 널리 식용되고 있다. 따라서 본 연구에서는 해양생물 중에서 우리나라에서 널리 식용으로 이용되고 있으나 아직 생리기능적인 측면으로 연구가 미흡한 아귀를 대상으로 항산화활성과 항유전독성을 조사하였다.

*Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 아귀는 우리나라 남해안에서 가장 많이 아귀류인 황아귀(*Lophius litulon*)이었으며, 경남 마산시 어시장에서 2006년 11월에 생 아귀와 마른 아귀를 구입하여 사용하였다. 항산화력 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), Histopaque 1077, low melting agarose, normal melting agarose, NaCl, Na₂EDTA, Tris(hydroxymethyl)aminomethane, ethidium bromide는 Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 추출에 사용된 유기용매 및 시약 염화철, potassium ferricyanide, dimethyl sulfoxide(DMSO), trichloroacetic acid 등은 Duksan Pure Chemical Co.(Ansan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. Fetal bovine serum(PBS)은 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며, 그 외 연구에 사용된 모든 시약은 주로 특급 및 일급 시약을 사용하였다.

시료의 추출

구입한 아귀의 이물질을 제거하고, 물로 깨끗이 여러 번 씻어 물기를 제거한 후 생 아귀는 껍질, 살, 위, 간 부분으로, 마른 아귀는 껍질과 살 부분으로 분리하여, 분쇄기(Mixer MC 811C, Novita Co., Korea)를 이용하여 분쇄하여 사용하였다. 분쇄한 시료 100 g에 1 L의 용매(메탄올, 에탄올, 아세트, 물)를 각각 첨가하여 진탕배양기(HB-201S, Hanbaik Co., Korea)(25°C, 100 rpm)에서 24시간 동안 추출한 후, 각각의 추출 시료는 여과지(Whatman No.1)로 여과한 후 회전 진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 37°C에서 농축하였다. 각 농축물은 최종농도 50 mg/mL로 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹인 후, 적정 농도로 조정하여 분석에서 시료로 사용하였다.

수분함량 측정

생 아귀와 마른 아귀의 각 부위의 수분함량을 상압가열건조법(12)으로 측정하였다.

라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Lee 등의 방법(13)에 준하여 미더덕 추출물 0.1 mL에 4.1×10^{-5} M의 DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 25분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 전자 공여능으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}} \right) \times 100$$

환원력의 측정

환원력은 Oyaizu의 방법(14)에 따라 측정하였으며, 항산화 물질에 대한 철 이온의 환원력을 측정한 것이다. 즉, 1

mL의 인산염 완충 용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL의 아귀 추출물과 1%(w/v) potassium ferricyanide 용액 1 mL를 가하고 이 혼합물을 50°C, 20분간 반응을 시킨 후, 10%(w/v) trichloroacetic acid 용액 1 mL를 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 $13,400 \times g$ 에서 원심분리하여 얻은 상정액 1 mL과 증류수 1 mL를 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL를 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈액 내 백혈구 세포 분리

건강한 성인남성 2명으로부터 채혈한 신선한 전혈 5 mL를 Histopaque 1077를 이용해 백혈구만을 분리해낸 후, 본 실험에 사용하였다.

시료의 처리 및 산화적 스트레스 유발

각 시료를 50 µg/mL의 농도로 미리 분리해 놓은 백혈구에 처리하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 백혈구를 PBS로 세척한 후 인위적으로 산화적 스트레스를 유발하기 위하여 200 µM의 H₂O₂를 백혈구에 처리하여 4°C에 5분간 반응시킨 다음 다시 PBS로 세척하였다. Positive control을 위해 각 시료 대신 용매인 DMSO를 처리한 후 200 µM H₂O₂를 처리하였고, negative control인 용매(DMSO) 처리 세포에는 H₂O₂를 처리하지 않았다.

DNA손상 측정(Comet assay)

Comet assay를 위해 반응을 끝낸 백혈구를 75 µL의 0.5% low melting agarose gel(LMA)과 섞은 후, 1.0% normal melting agarose(NMA)가 precoating된 normal slide 위로 cell suspension과 LMA의 현탁액이 골고루 분산되게 한 후 cover glass로 덮어 4°C 냉장고에 보관하였다. Gel이 굳으면 cover glass를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 µL로 한겹 더 덮었다. 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer(2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM tris)에 사용 직전에 1% Triton X-100을 섞은 후 slide를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지시켜 DNA의 double strand를 풀어주었다. Lysis가 끝난 slide를 electrophoresis tank에 배열하고 전기영동 4°C의 차가운 buffer(300 mM NaOH, 10 mM Na₂EDTA, pH>13)를 채워 40분 동안 unwinding 시켜 DNA의 alkali labile sites가 드러나게 한 후 25 V/300±3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 빛에 의해 DNA가 부가적으로 손상되는 것을 방지하기 위해 위의 과정은 전기영동 tank를 어두운 천으로 덮은 채 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 0.4 M Tris 완충용액(pH 7.4)에 10분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 slide를 건조시켰다. 20 µL/mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 염색하여 cover glass로 덮은 뒤 형광현미경(Leica, Germany) 상에서 관찰하였다. CCD camera(Nikon, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 image는 Komet 5.0 comet image analyzing system(Kinetic Imaging, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하

였다. 백혈구의 hydrogen peroxide에 의한 DNA 손상 및 미터덕 추출물에 의한 손상억제 정도는 핵으로부터 이동해서 꼬리 부분으로 떨어져 나간 꼬리 부분내 DNA %함량(% Tail DNA)을 측정하여 나타내었다. 각각의 처리구에서 2개의 slide를 만들어 각각 100개 세포의 DNA 손상 정도를 측정하고 각 처리구는 최소 3회 반복 실험하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 이루어졌으며, 그 평균값은 SAS software를 사용하여 General Linear Model의 방법에 따라 처리하였다(15). 모든 처리값의 차이는 신뢰 수준 95%(p<0.05)로 비교하여 분석되었다. 항유전독성효과는 SPSS-PC+ 통계 package를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치±표준오차(SE)를 구하고 각 물질의 DNA 손상 억제 정도를 비교하기 위해 one-way 분산분석(ANOVA)을 시행하여 F 값을 구하고 Duncan's multiple range test를 이용하여 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다. 통계적 유의성은 5% 수준에서 평가하였다.

결과 및 고찰

수분함량 및 용매에 따른 추출 수율

본 연구에 이용된 생 아귀는 껍질, 살, 위, 간 부분으로, 마른 아귀는 껍질과 살 부분으로 분리하여 상압가열건조법(12)으로 수분함량을 측정하였다. 모두 3회 반복을 실시하여 평균값을 Table 1에 나타내었다. 생 아귀의 껍질, 살, 위 부분은 모두 85% 이상의 수분을 함유하였으나, 간은 53.5%이었다. 마른 아귀의 경우 껍질 부위가 생것의 경우보다 21.2%가 낮은 66.7%이었고, 살 부위는 생것의 경우보다 7.9% 낮은 77.7%이었다. 경남 마산 지방에서는 건조한 아귀를 이용한 아귀찜이 매우 널리 이용되고 있는데, 본 연구에 사용한 마른 아귀는 마산 지방의 아귀찜에 이용되는 것으로써 주로 껍질 부위의 수분이 많이 제거되었고, 살 부위는 비교적 수분이 많이 제거되지 않았음을 알 수 있었다.

부위별 추출용매에 따른 아귀의 추출수율을 측정하여 Table 2에 나타내었다. 마른 것의 껍질과 살 부위는 생 것에

Table 1. The moisture content of parts from anglerfish (*Lophius litulon*) (%)

	Moisture content
Fresh fish	
Skin	87.9±3.15
Flesh	85.6±0.32
Stomach	90.2±0.29
Liver	53.5±2.76
Dried fish	
Skin	66.7±3.53
Flesh	77.7±1.62

All measurements were done in triplicate, and the values are average of three replications.

Table 2. Extraction yield from anglerfish (*Lophius litulon*) depending on solvents (g)

		MeOH	EtOH	Acetone	D.W	Total	
Fresh fish	Skin	Weight ¹⁾ % ²⁾	0.87 21	2.62 63	0.42 10	0.25 6	4.16 100
	Flesh	Weight %	1.99 19	1.81 17	0.94 9	5.81 55	10.55 100
	Stomach	Weight %	1.24 14	5.13 59	0.84 9	1.49 18	8.70 100
	Liver	Weight %	1.45 14	2.75 26	4.56 43	1.63 17	10.39 100
Dried fish	Skin	Weight %	2.43 18	1.82 14	2.07 15	6.76 53	13.08 100
	Flesh	Weight %	2.66 24	1.82 16	1.27 11	5.35 49	11.10 100

¹⁾Weight (g) of extract from 100 g of ground anglerfish (*Lophius litulon*).

²⁾Percent of total extracts.

비해 수율이 높았으며, 생 것은 살, 간, 위 그리고 껍질 부위 순으로 수율이 좋았다. 용매에 따라 회수되는 비율은 생 것의 껍질 부위와 위 부위는 에탄올이 약 60%정도로 높았으며, 생 것의 간 부위는 아세톤이 43% 정도, 그리고 생 것의 살 부위와 마른 것의 껍질과 살 부위는 약 50% 정도로 물을 이용하였을 때 높은 수율을 나타내었다. 가장 많이 추출된 조건은 마른 아귀 껍질 분쇄물 100 g으로부터 물을 이용하여 추출하였을 때 6.76 g의 추출물이 얻어진 경우이었다.

라디칼 소거능

어떤 물질의 항산화력을 측정하는 방법은 대상 활성 산소 측에 따라 다양하다. 본 실험에서는 대표적인 활성 산소측인 라디칼에 대한 소거능으로 항산화력을 측정하였다. 보라빛을 나타내는 DPPH는 분자 내에 안정한 라디칼을 함유하지만, 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 노란빛을 띄게 된다. 이때의 DPPH의 거동은 ·OH와 유사하며(16), 반응의 정도는 항산화제의 수소 공여능에 의존한다. 이런 DPPH 라디칼을 이용하여 일정량의 시료 용액과의 반응에 의하여 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 흡광도로 측정하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법으로 이용할 수 있다. 부위별과 추출용매에 따른 아귀 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Table 3에 나타내었다. 모든 아귀 추출물 시료에서 추출물 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능은 증가하였으며, 생 아귀의 껍질, 살, 및 위 부분과 말린 아귀의 껍질, 살에서는 모두 아세톤 추출물에서 가장 높은 활성을 보였다. 한편, 생 아귀의 간부위에서는 메탄올 추출물과 물 추출물에서 높은 활성을 보였고, 에탄올과 아세톤 추출물에서도 비교적 높은 활성을 보였다. 우리나라에서 보고된 아귀의 성분표에는 100 g당 레티놀이 49 µg 존재하며, 비타민 B1, 비타민 B2, 나이아신이 각각 0.05, 0.07, 1.3 mg 함유되어 있다고 보고되었다(17). 한편, 아귀의 간의 경우에

Table 3. Effect of solvent on DPPH radical scavenging of extracts from anglerfish (*Lophius litulon*)

	Conc. (mg/mL)	RSA (%)				SEM ¹⁾
		MeOH	EtOH	Acetone	D.W	
Fresh fish	1	2.41 ^{cy}	3.58 ^{cy}	8.26 ^{cx}	2.19 ^{cy}	0.10
	20	29.82 ^{by}	30.84 ^{by}	72.66 ^{bx}	29.97 ^{by}	0.19
	40	53.14 ^{az}	50.80 ^{az}	94.81 ^{ax}	64.40 ^{ay}	0.39
	SEM ¹⁾	0.44	0.68	1.08	0.73	
Fresh fish	1	4.67 ^{cx}	2.92 ^{cy}	4.02 ^{cx}	2.19 ^{cy}	0.34
	20	32.45 ^{by}	32.52 ^{by}	43.12 ^{bx}	27.77 ^{bz}	0.22
	40	47.22 ^{ay}	55.26 ^{ay}	71.19 ^{ax}	47.22 ^{ay}	0.06
	SEM ¹⁾	4.02	0.29	0.58	0.30	
Fresh fish	1	1.24 ^{cy}	1.31 ^{cy}	5.84 ^{cx}	2.12 ^{cy}	0.23
	20	31.43 ^{by}	30.55 ^{by}	65.86 ^{bx}	31.57 ^{by}	0.20
	40	56.28 ^{ay}	55.32 ^{ay}	87.42 ^{ax}	54.16 ^{ay}	0.15
	SEM ¹⁾	0.19	0.52	1.27	2.43	
Fresh fish	1	13.37 ^{cy}	7.38 ^{cy}	11.84 ^{cx}	20.90 ^{by}	0.10
	20	93.20 ^{bx}	51.90 ^{bw}	56.06 ^{bz}	90.49 ^{ay}	0.15
	40	96.56 ^{ax}	83.11 ^{ay}	79.09 ^{az}	93.78 ^{ax}	0.44
	SEM ¹⁾	0.43	0.48	0.47	0.05	
Dried fish	1	1.68 ^{cz}	2.57 ^{by}	6.87 ^{cx}	-1.16 ^{cw}	0.32
	20	12.79 ^{bz}	16.72 ^{by}	51.90 ^{bx}	13.80 ^{bz}	1.26
	40	18.20 ^{aw}	39.53 ^{ay}	80.33 ^{ax}	26.46 ^{az}	0.58
	SEM ¹⁾	0.26	4.80	0.43	1.44	
Dried fish	1	4.97 ^{cy}	4.60 ^{cy}	7.01 ^{cx}	0.87 ^{cz}	0.35
	20	42.76 ^{by}	43.85 ^{by}	56.50 ^{bx}	24.92 ^{bz}	0.14
	40	71.85 ^{ay}	70.68 ^{ay}	92.54 ^{ax}	32.67 ^{az}	0.18
	SEM ¹⁾	0.44	0.55	1.12	0.39	

Different letters (a-c) within a column are significantly different ($p < 0.05$), $n=3$.

Different letters (w-z) within a row are significantly different ($p < 0.05$), $n=3$.

¹⁾Standard error of the means.

는 100 g 당 레티놀이 7513 μg 이며, 비타민 B1, 비타민 B2, 나이아신이 각각 0.12, 0.32, 1.9 mg 함유되어 있다고 보고되어 있으며, 일본의 성분표에서는 아귀의 간에 100 g 당 일가 포화지방산이 18.44 g, n-3와 n-6의 다가 불포화지방산이 8.47 g 함유되어 있다고 보고되어 있다(18). 레티놀과 불포화 지방산은 항산화능과 직접적인 관계에 있으며, 본 연구에서 아귀의 간 추출물에서 라디칼 소거능이 높음과 일치한다.

환원력

환원력은 항산화력과 밀접한 관계에 있으며, 일반적으로 reduction의 존재와 연관이 있다. 이것은 항산화 물질에 대한 철 이온의 환원력(Fe^{3+} 가 Fe^{2+} 로 변화)을 측정하는 것(19)이다. 다양한 아귀 추출물의 환원력을 Table 4에 나타내었다. 라디칼 소거능의 결과와 같은 경향으로, 모든 아귀 추출물 시료에서 추출물 농도가 증가할수록 환원력이 증가하였으며, 껍질, 살 및 위 부분에서는 아세톤 추출물에서 가장

Table 4. Effect of solvent on reducing power of extracts from anglerfish (*Lophius litulon*)

	Conc. (mg/mL)	Abs.				SEM ¹⁾
		MeOH	EtOH	Acetone	D.W	
Fresh fish	1	0.073 ^{cy}	0.050 ^{cz}	0.171 ^{cx}	0.084 ^{cy}	0.004
	20	0.807 ^{bx}	0.599 ^{bz}	1.005 ^{bx}	0.254 ^{by}	0.094
	40	1.164 ^{ay}	1.230 ^{ay}	1.472 ^{ax}	0.422 ^{az}	0.040
	SEM ¹⁾	0.024	0.009	0.044	0.009	
Fresh fish	1	0.060 ^{cyx}	0.063 ^{cyx}	0.072 ^{cx}	0.049 ^{cy}	0.003
	20	0.306 ^{bz}	0.340 ^{by}	0.447 ^{bx}	0.146 ^{bw}	0.010
	40	0.550 ^{ay}	0.498 ^{az}	0.744 ^{ax}	0.218 ^{aw}	0.010
	SEM ¹⁾	0.007	0.012	0.009	0.002	
Fresh fish	1	0.081 ^{cy}	0.057 ^{cz}	0.106 ^{cx}	0.044 ^{cw}	0.001
	20	0.430 ^{by}	0.410 ^{by}	0.877 ^{bx}	0.209 ^{bz}	0.014
	40	0.740 ^{ay}	0.631 ^{az}	1.302 ^{ax}	0.354 ^{aw}	0.031
	SEM ¹⁾	0.016	0.017	0.032	0.002	
Fresh fish	1	0.107 ^{cx}	0.101 ^{cx}	0.165 ^{bx}	0.112 ^{cx}	0.168
	20	1.387 ^{bx}	0.850 ^{bz}	1.254 ^{ay}	1.363 ^{bx}	0.021
	40	1.709 ^{ax}	1.190 ^{az}	1.302 ^{ay}	1.741 ^{ax}	0.027
	SEM ¹⁾	0.015	0.313	0.022	0.006	
Dried fish	1	0.054 ^{cy}	0.042 ^{cz}	0.102 ^{cx}	0.054 ^{cy}	0.001
	20	0.244 ^{bz}	0.297 ^{by}	0.694 ^{bx}	0.104 ^{bw}	0.011
	40	0.300 ^{az}	0.538 ^{ay}	1.190 ^{ax}	0.157 ^{aw}	0.014
	SEM ¹⁾	0.004	0.004	0.004	0.020	
Dried fish	1	0.164 ^{cx}	0.063 ^{cz}	0.118 ^{cy}	0.070 ^{cz}	0.008
	20	0.427 ^{by}	0.347 ^{bz}	0.659 ^{bx}	0.162 ^{bw}	0.022
	40	0.681 ^{ay}	0.600 ^{az}	1.110 ^{ax}	0.256 ^{aw}	0.009
	SEM ¹⁾	0.008	0.022	0.017	0.002	

Different letters (a-c) within a column are significantly different ($p < 0.05$), $n=3$.

Different letters (w-z) within a row are significantly different ($p < 0.05$), $n=3$.

¹⁾Standard error of the means.

높은 활성을 보였다. 생 아귀의 간부위에서는 모든 추출물에서 높은 환원력을 보였다. 이는 간에 존재하는 항산화물질이 환원력과 라디칼 소거능에 모두 잘 작용함을 의미한다. 각 추출물의 IC₅₀값을 계산한 결과, DPPH 라디칼 소거능의 경우 생 아귀 간의 물 추출물이 1.52 mg/mL로 가장 낮았고, 환원력은 생 아귀 간의 아세톤 추출물이 1.28 mg/mL로 가장 낮았다(Table 5).

항유전독성효과

항유전독성효과 즉, DNA 손상억제능을 측정하기 위해 많은 연구 방법들이 개발되어 왔는데 Comet assay(single cell gel electrophoresis)는 처음 Ostling과 Johanson(20)에 의해 각각의 세포 수준에서의 DNA의 외가닥 절단(single-strand breaks) 및 alkali에 민감한 AP site를 직접 확인하기 위하여 도입된 micro gel electrophoresis 방법으로 Singh 등(21)에 의해 보다 민감하게 DNA 손상을 감지해 낼 수 있

Table 5. IC₅₀ of solvent on DPPH radical scavenging and reducing power of extracts from anglerfish (*Lophius litulon*) (mg/mL)

		DPPH				Reducing Power ¹⁾			
		MeOH	EtOH	Acetone	D.W	MeOH	EtOH	Acetone	D.W
Fresh fish	Skin	2.86	2.96	1.80	2.48	1.67	1.79	1.41	3.46
	Flesh	2.79	2.75	2.32	3.06	2.79	2.92	2.23	6.29
	Stomach	2.76	2.84	1.91	2.83	2.25	2.47	1.56	3.92
	Liver	1.60	2.04	2.06	1.52	1.29	1.58	1.28	1.30
Dried fish	Skin	5.25	3.03	2.09	4.19	4.44	2.83	1.70	9.67
	Flesh	2.31	2.32	1.96	3.27	2.29	2.61	1.74	5.64

¹⁾Amount required for 0.50 absorbance of reducing power.

Table 6. Effect of solvent on antigenotoxicity of extracts from anglerfish (*Lophius litulon*)

	Conc. 50 µg/mL	Fluorescence in tail (%)				
		MeOH	EtOH	Acetone	D.W	Positive control
Fresh fish	Skin	16.4±5.1 ^{1)a}	15.8±2.2 ^a	13.2±3.8 ^{awx}	13.9±2.1 ^a	32.1±6.7 ^b
	Flesh	13.8±1.6 ^a	16.5±2.9 ^a	13.2±0.4 ^{awx}	13.8±5.1 ^a	
	Stomach	17.7±6.7 ^{ab}	15.1±0.1 ^a	18.1±2.6 ^{abx}	17.5±0.3 ^a	
	Liver	11.6±0.3 ^a	10.8±2.5 ^a	12.9±1.6 ^{awx}	16.1±3.1 ^a	
Dried fish	Skin	11.0±0.8 ^a	16.2±0.4 ^a	17.1±1.5 ^{awx}	12.2±0.9 ^a	
	Flesh	14.5±1.7 ^a	14.8±1.0 ^a	9.6±1.4 ^{aw}	17.5±1.8 ^a	

Different letters (a,b) within a row are significantly different from positive control (32.1±6.7%) (p<0.05), n=3.

Different letters (w-x) within a column are significantly different (p<0.05), n=3.

The fluorescence in tail of untreated negative control was 6.1±1.3%.

¹⁾Values are mean±SE.

는 방법으로 발전되었다. 이 방법은 핵을 가진 어떤 조직에 서도 DNA 손상정도를 측정할 수 있으며 분석 시 소량의 시료만을 필요로 하고 실험과정이 간단하고 시료 채취 후 몇 시간 내에 결과를 얻을 수 있다는 등 많은 장점을 가지고 있다. Comet assay를 이용하여 여러 종류의 발암물질에 의한 DNA 손상과 항유전독성물질과의 관계 등이 쉽게 관찰될 수 있었으며 우리 주변에서 가장 흔하게 발암물질에 노출되어 있는 흡연자의 경우 비흡연자보다 DNA 손상 정도가 유의하게 증가되어 있음이 보고되었다(22).

Comet assay를 이용한 아귀 추출물의 H₂O₂로 유발된 DNA 손상 억제 효과 실험의 결과는 Table 6에 제시하였다. 다양한 아귀 추출물을 50 µg/mL의 농도로 백혈구에 처리한 후 H₂O₂ 200 µM의 농도로 DNA 손상을 유도한 결과 손상된 DNA tail 부분의 DNA 함량을 측정한 % fluorescence in tail이 위의 메탄올, 아세톤 및 물 추출물을 제외하고는 각 부위의 모든 추출물에서 H₂O₂ 처리 양성대조구에 32.1±6.7% 비해 유의적으로 감소하였다. 한편, 추출용매별로 아귀 각 부위의 항유전독성효과를 비교한 결과 메탄올, 에탄올, 물 추출물은 부위에 따른 항유전독성효과 차이가 없었으나, 아세톤 추출물의 경우 마른 살이 위에 비해 DNA 손상 정도가 유의적으로 낮았다. 이상의 결과에서 아귀 각 부위의 메탄올, 에탄올, 아세톤 및 물 추출물은 산화적 스트레스 유발물질인 H₂O₂에 의해 유도되는 DNA 손상을 효과적으로 억제시키고 있음을 알 수 있었다.

요 약

생 아귀와 마른 아귀를 부위별로 구분하여 여러 용매를 이용하여 추출물을 제조한 후 항산화 활성과 항유전독성 활성을 조사하였다. 아귀의 수분함량을 조사한 결과 생 아귀의 껍질, 살, 위 부분은 모두 85% 이상의 수분을 함유하였으나, 간은 53.5%이었다. 마른 아귀의 경우 껍질 부위가 생것의 경우보다 21.2%가 낮은 66.7%이었고, 살 부위는 생것의 경우보다 7.9% 낮은 77.7%이었다. 추출수율은 마른 아귀 껍질 분쇄물 100 g으로부터 물을 이용하여 추출하였을 때 6.76 g의 추출물이 얻어진 경우로 이 조건이 가장 수율이 높았다. 항산화 활성을 1, 20, 40 mg/mL의 농도에서 측정하였을 때 라디칼 소거능, 환원력은 각각 농도에 의존하여 결과값이 향상되었으며, 라디칼 소거능에서는 생 아귀의 껍질, 살 및 위 부분과 마른 아귀의 껍질, 살에서는 모두 아세톤 추출물에서 가장 높은 활성을 보였다. 한편, 생 아귀의 간부위에서는 메탄올 추출물과 물 추출물에서 높은 활성을 보였고, 에탄올과 아세톤 추출물에서도 비교적 높은 활성을 보였다. 환원력에서는 껍질, 살 및 위 부분에서 아세톤 추출물에서 가장 높은 활성을 보였다. 생 아귀의 간부위에서는 모든 추출물에서 높은 환원력을 보였다. 그리고 다양한 아귀 추출물을 50 µg/mL의 농도로 백혈구에 처리한 후 H₂O₂ 200 µM의 농도로 DNA 손상을 유도한 결과 손상된 DNA tail 부분의 DNA 함량을 측정한 % fluorescence in tail이 위의 메탄올,

아세트 및 물 추출물을 제외하고는 각 부위의 모든 추출물에서 H₂O₂ 처리 양성대조구인 32.1±6.7%에 비해 유의적으로 감소하였다. 한편, 추출용매별로 아귀 각 부위의 항유전독성 효과를 비교한 결과 메탄올, 에탄올, 물 추출물은 부위에 따른 항유전독성효과의 차이가 없었으나, 아세트 추출물의 경우 마른 살이 위에 비해 DNA 손상정도가 유의적으로 낮았다. 따라서 이번 연구결과는 생리활성 물질을 탐색함에 있어서 해양생물이 중요한 천연자원이 될 수 있다는 가능성을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 2007학년도 경남대학교 학술논문게재연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

문헌

- Blake D, Winyard PG. 1995. *Immunopharmacology of free radical species*. Academic Prss, San Diego.
- Lopaczynski W, Zeissel SH. 2001. Antioxidant, programmed cell death, and cancer. *Nutr Res* 21: 295-307.
- Cook NC, Samman S. 1996. Flavonoids chemistry, mechanism, cardioprotective effects and dietary source. *Nutr Biochem* 7: 66-76.
- Namiki M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 29: 273-300.
- Park JC. 1996. Screening of marine natural products on inhibitory effect of the formation of lipid peroxidation. *Kor J Pharmacogen* 27: 117-122.
- Chyung MK. 1977. *The fishes of Korea*. Ilji-sa, Seoul. p 727.
- Yamada U, Tagawa M, Kishida S, Honjo K. 1986. *Fishes of the east China sea and the yellow sea*. Okamura O, ed. Seikai Reg Fish Res Lab, Nagasaki, Japan. p 501.
- Tokimura M. 1992. Distribution of primary bottom fishes in the east China sea and the yellow sea during the winter season of 1991. *Seikai Sokou Chosa Kenkyu Kaiho* 3: 15-39.
- Park YC, An DH, Cha BY. 2000. Distributional characteristics of *Lophius litulon* (Jordan) in Korean waters. *J Kor Soc Fish Res* 3: 60-67.
- Masuda H, Amaoka K, Araga C, Uyeno T, Yoshino T. 1992. *The fishes of the Japanese archipelago*. Tokai Univ. Press, Tokyo. p 456.
- Park YC, Cha BY, Cha HK. 1999. Maturation and spawning of the yellow goosefish, *Lophius litulon* (Jordan) in Korean waters. *J Kor Soc Fish Res* 2: 84-91.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington.
- Lee SC, Kim JJ, Kim SJ, Kim SH, Park HR. 2006. Antioxidant and anticancer activities of extracts from *Styela clava* according to the processing method and solvents. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 278-283.
- Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
- SAS Institute. 1995. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Biois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- The Korean Nutrition Information Center. 1998. *Food values*. 1st ed. The Korean Nutrition Society, Seoul, Korea. p 166-169.
- 香川達雄. 2006. 五訂増補食品成分表2006. 女子大學出版部, 東京, 日本. p 146-147.
- Diplock AT. 1997. Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Rad* 27: 511-532.
- Ostling O, Johanson J. 1984. Microgel electrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 123: 291-298.
- Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191.
- Betti C, Davini T, Giannessi L, Loprieno N, Barale R. 1994. Microgel electrophoresis assay (comet assay) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. *Mutat Res* 307: 323-333.

(2007년 8월 3일 접수; 2007년 9월 2일 채택)