

외톨개모자반 (*Myagropsis myagroides*) 물 추출물의 면역 활성 및 이화학적 특성에 미치는 감마선 조사의 영향

이청조·송유진·김꽃봉우리·정지연·곽지희·최문경·김민지·김동현
선우찬·박진규¹·김재훈¹·최종일¹·이주운¹·변명우²·안동현*

부경대학교 식품공학과 / 식품연구소,

¹한국원자력연구원 방사선과학연구소, ²우송대학교 식품생물과학과

Effect of Gamma Irradiation on Immune Activity and Physicochemical Properties of *Myagropsis myagroides* Water Extract

Chung-Jo Lee, Eu-Jin Song, Koth-Bong-Woo-Ri Kim, Ji-Yeon Jung,
Ji-Hee Kwak, Moon-Kyung Choi, Min-Ji Kim, Dong-Hyun Kim,
Chan Sunwoo, Jin-Gyu Park¹, Jae-Hun Kim¹, Jong-Il Choi¹,
Ju-Woon Lee¹, Myung-Woo Byun² and Dong-Hyun Ahn*

Department of Food Science & Technology / Institute of Food Science,

Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic

Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

²School of Food Science & Technology / Institute of Food Science,
Woosong University, Daejeon 300-718, Korea

This study examined the effect of gamma irradiation (3-20 kGy) on the immune activity and physicochemical properties of *Myagropsis myagroides* (MM) water extracts. MM powder and water extracts were subjected to gamma irradiation at 3, 7, and 20 kGy. The effects of gamma-irradiated MM water extracts on splenocyte proliferation and cytokine IFN- γ and IL-2 secretion were evaluated. The gamma-irradiated MM water extracts resulted in decreased splenocyte proliferation without cytotoxicity. The IFN- γ and IL-2 secretion increased by gamma-irradiated MM water extracts with increasing irradiation dose. For MM powder, the yield and total phenolic compounds (TPC) of water extracts were increased slightly after gamma irradiation. In MM water extracts, the TPC was higher at a dose of 20 kGy, while gamma irradiation decreased the viscosity, pH, and color of the MM extracts. In conclusion, gamma irradiation improved the immunomodulatory activity of MM water extracts, overcoming its potential weakness when applied in the food industry.

Key words: *Myagropsis myagroides* water extracts, Immune activity, Physicochemical properties, Gamma irradiation

서 론

급속한 의학의 발전과 경제성장의 영향으로 인간의 평균수명이 증가하고 있는 반면 서구화된 식생활과 스트레스의 증가로 인해 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증 및 비만 등의 성인병의 발생이 급증하고 있다. 따라서 최근에는 식품이 가지는 기존의 영양적 역할 외에 질병의 예방 및 건강 증진 등 3차 기능이 강조된 기능성식품의 요구가 증대되고 있는 추세이다 (Cho et al., 2005). 이에 천연물로부터 항균, 항산화 및 면역력 강화 등 다양한 생리조절 작용을 밝히려는 노력이 여러 각도에서 이루어지고 있으며, 특히 생약 및 식용식물을 대상으로 유효성분을 탐색하려는 시도가 활발히 진행되고 있다.

한편, 해양생물은 육상생물과는 다른 대사계나 생체 방어

계를 가지는 것으로 보고되고 있다 (Konig et al., 1994). 이로 인해 해양생물로부터 유용물질의 개발가능성이 높아지면서 새로운 기능성 물질을 탐색하고 이를 식품 및 의약품 신소재로 이용하고자하는 연구가 활발히 이루어지고 있다 (Park et al., 2006). 그 중 해조류는 지방과 단백질의 함량이 낮고 탄수화물 함량이 높으며, 다량의 무기질과 비타민을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 또한 다당류의 함량이 높아 체내의 중금속을 흡착시켜 배출 시키는 효과 (Kim et al., 2000), 높은 페놀 함량과 유리라디칼 소거능을 통한 항산화 효과 (Seo and Woo, 2003)와 항균 효과 (Lee et al., 2000)가 보고되고 있다. 특히 갈조류는 laminaran, fucoidan 및 alginic acid과 같은 다당류뿐만 아니라 fucoxanthin, phloroglucinol, eckstolonol, eckol, phlorofucofuroeckol A 및 dieckol phlorotanin 등 다양한 생리활성 물질이 함유되어 있어 면역증진 (Ha et al., 2008), 알레르기

*Corresponding author: dhahn@pknu.ac.kr

억제 (Li et al., 2008), 항염증 (Heo et al., 2010), 항암 (Jung et al., 2001), 항혈액응고 (Cho et al., 1990) 및 혈중 콜레스테롤 감소 효과 (Hong et al., 1998) 등 다양한 생리활성을 가지는 천연자원으로 그 중요성이 증대되고 있다.

본 연구에 사용한 외톨개 모자반은 모자반목 모자반과에 속하는 갈조류로 우리나라 남해안과 일본의 전 연안에 서식하고 있으며 주로 사료로 이용되고 있다. 지금까지 외톨개 모자반에 대한 연구로는 항균 (Lee et al., 2010), 항고혈압활성 (Cha et al., 2006), 간손상보호 (Wong et al., 2004), 항혈액응고 효과 (Athukorala et al., 2007) 등이 보고되고 있을 뿐 외톨개 모자반의 생리활성을 실질적으로 식품산업에 적용할 수 있는 응용분야에 대한 연구는 아직 미비한 상태이다.

식품산업에 있어 감마선 조사기술은 기존의 열처리나 화학약품 처리보다 식품 본래의 품질적인 특성을 저하시키지 않으면서, 기술적으로 안전하게 식품을 장기 보존할 수 있는 방법으로 전 세계적으로 그 사용이 증가하고 있다 (Kim et al., 2010). 최근에는 대두 (Variyar et al., 2004), 로즈마리 (Prez et al., 2007), 감초 뿌리 (Khattak and Simpson, 2010) 등 다양한 천연물에 감마선을 조사하여 기능성 물질 추출 수율 (Huang et al., 2007), 항산화 (Khatak et al., 2008), 항균 (Khattak and Simpson, 2010) 및 면역 증진 효과 (Kim et al., 2009) 등 생리활성 변화에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있다. 이외에도 천연물이 가지는 고유의 진한색상을 밝고 투명하게 하여 천연물의 가공특성을 향상시키기 위한 연구가 보고 (Jeon et al., 2003)됨에 따라 감마선 조사기술의 이용범위가 더욱 확대되는 추세이며 앞으로도 식품 및 의약품 산업 등 여러 분야에 효과적으로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 외톨개 모자반 물 추출물의 산업적 이용 가능성을 검토하기 위해 외톨개 모자반 물 추출물에 3-20 kGy의 감마선 조사를 실시하여 감마선 조사에 따른 면역 조절능 변화와 이화학적 특성변화를 알아보았다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 외톨개 모자반 (*Myagropsis myagroides*)은 5월경에 부산 기장에서 채취한 것으로 깨끗이 수세하고 동결 건조한 후, 이를 잘게 분쇄하고 진공 포장하여 -20°C에서 저장하며 실험에 사용하였다.

실험동물

생후 6주령의 암컷, BALB/c 마우스를 오리엔트바이오 (Orient Co., Seongnam, Korea)로부터 구입하여 온도 20±2°C, 습도 50±10%, 12시간 명암주기가 유지되는 동물실에서 1주일간 예비사육한 후 실험에 사용하였다.

외톨개 모자반 물 추출물의 조제

외톨개 모자반 분말에 10배량의 증류수를 가한 후, 교반기 (H-0802, Dongwon science co., Busan, Korea)로 실온에서 24시간 동안 교반하여 추출하였다. 이를 원심분리기 (UNION 32R,

Hanil Co., Incheon, Korea)를 이용하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하고 잔사는 동일한 방법으로 10배의 물을 가해 2회 반복 추출하였다. 3회 반복하여 추출한 상층액은 여과지 (Advantec 5A, Advantec MFS, Inc., Irvine, CA, USA)로 여과하여 Rotary evaporator (RE200, Yamato Co., Tokyo, Japan)로 농축한 뒤 30°C에서 건조시켜 -20°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

감마선 조사

한국원자력연구원 방사선과학연구소 (Jeongeup)에 있는 감마선 조사시설 (IR-79, MDS Nordion International Ltd., Ontario, Canada)에서 선원 11.1 PBq, Co-60을 실온에서 시간당 일정 선량률로 5 mg/mL 농도의 추출물 또는 분말에 각각 3, 7 및 20 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 조사하였다. 감마선 조사한 시료는 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

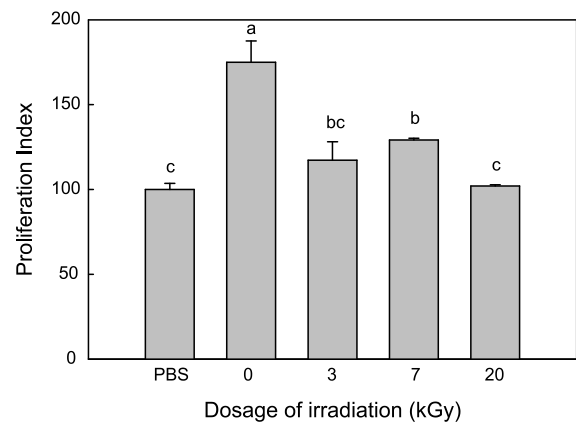


Fig. 1. Changes in the proliferation of mice splenocytes in the presence of irradiated *Myagropsis myagroides* water extracts. The different letters (a-c) indicate significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

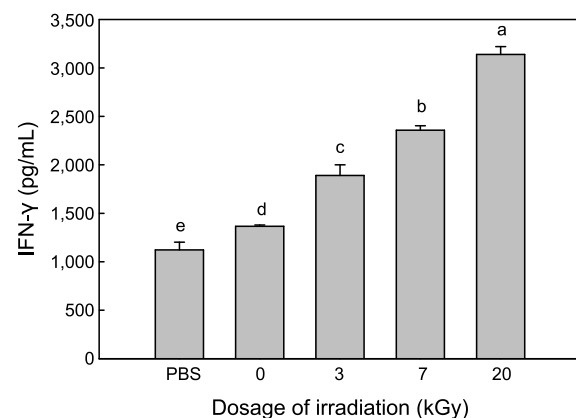


Fig. 2. Changes in IFN- γ secretion in supernatant of cultured splenocytes in the presence of irradiated *Myagropsis myagroides* water extracts. The different letters (a-e) indicate significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

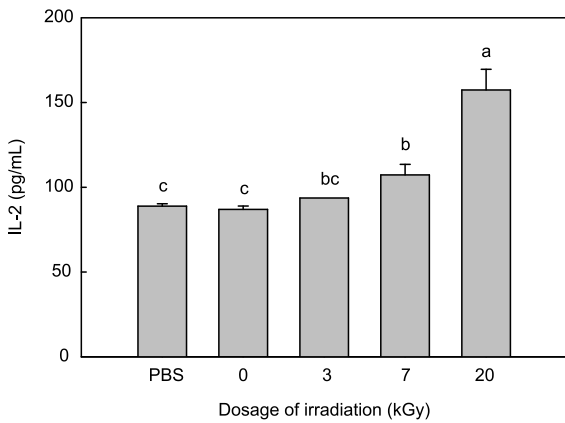


Fig. 3. Changes in IL-2 secretion in supernatant of cultured splenocytes in the presence of irradiated *Myagropsis myagroides* water extracts. The different letters (a-c) indicate significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

색도 측정

1 mg/mL 농도의 외톨개 모자반 물 추출물을 색차계 (JC 801 Color technosystem Co., Japan)를 사용하여 각각의 색도를 L (명도), a (적색도), b (황색도) 값으로 나타내었다. 이 때 사용된 표준백판 값은 $L^* = 93.73$, $a^* = -0.12$, $b^* = 0.11$ 이었다.

UV spectrum 측정

감마선 조사한 0.5 mg/mL 농도의 외톨개 모자반 물 추출물을 UV/visible spectrophotometer로 200-400 nm 범위에서 측정하였다.

pH 측정

감마선 조사한 5 mg/mL 농도의 외톨개 모자반 물 추출물을 pH meter (HM-30V, TOA, Kobe, Japan)를 이용하여 측정하였다.

점도 측정

감마선 처리한 외톨개 모자반 물 추출물의 겔보기 점도는 원추평판형 (Cone and plate) 회전식 점도계 (Brookfield DV-II +viscometer, Middleboro, MA, USA)를 사용하여 측정하였다. 5 mg/mL 농도의 시료 용액 0.5 mL을 주입하고 25°C를 유지하면서 40 cP용 spindle을 이용하여 회전속도를 1.5 rpm에서 6 rpm까지 바꾸어 가면서 측정하였다.

총 페놀화합물 함량 측정

총 페놀화합물 함량은 Folin-denis법 (Swain and Hillis, 1959)을 변형하여 측정하였다. 즉 시료 용액을 0.5 mg/mL 농도로 증류수에 희석하고 Folin-ciocalteu's phenol reagent를 0.5 mL 첨가하여 3분 방치 후 무수 포화탄산나트륨 용액 1 mL을 첨가한 뒤 3분간 방치하였다. 증류수로 전체를 10 mL로 정용하여 상온에서 1시간 방치시킨 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준물질로 하여 표준곡선을 작성하여 총 페놀화합물 함량을 환산하였다.

비장세포의 분리 및 배양

경추탈골로 희생시킨 마우스에서 비장을 무균적으로 적출한 후, tissue grinder로 균질화하여 세포를 유리시켰다. 세포 현탁액을 4°C, 1800 rpm에서 5분간 원심분리한 후 RPC lysis buffer (Tris-buffered ammonium chloride; 0.87% NH₄Cl, pH 7.2)에 10분간 정치시켜 적혈구를 제거하였다. 그 후, 10% FBS (Fetal bovine serum)-RPMI 1640 배지를 첨가하여 2.0×10⁶ cell/mL 농도로 희석하고 희석된 비장세포 현탁액에 0.01 M PBS (Phosphate buffered saline, pH 7.2) 및 감마선 조사한 외톨개 모자반 물 추출물을 100 µg/mL 농도로 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator (MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에 72시간 배양하였다.

비장세포의 IFN-γ 및 IL-2 cytokine 분비량 측정

비장세포 배양 상층액의 IFN-γ와 IL-2 cytokine의 분비량을 ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)법으로 측정하였다. Well (Nunc, Roskilde, Denmark)에 anti-mouse IFN-γ와 IL-2 mAb를 넣고 4°C에서 하룻밤 동안 코팅시켰다. PBST (0.01 M PBS, pH 7.2, 0.05% Tween 20)로 세척하고 10% FBS용액으로 실온에서 1시간 blocking 하고, 배양 상층액을 넣고 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 2 µg/mL의 biotinylated anti-mouse IFN-γ 및 IL-2 mAb streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 같이 넣고 1시간 동안 반응시킨 후, OPD (o-phenylenediamine) 및 H₂O₂를 첨가한 phosphate citrate buffer (pH 5.0)을 넣고 암소에서 30분 발색시켰다. 2 M H₂SO₄를 첨가하여 반응을 정지시키고 microplate reader (model 550, Bio-Rad, Richmond, CA, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

비장세포의 증식능

비장세포 현탁액을 2.0×10⁶ cell/mL 농도로 well plate에 분주한 후, PBS 및 감마선 조사한 외톨개 모자반 물 추출물을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 72 시간 배양하였다. 배양 후, MTT (thiazol blue tetrazolium bromide, 5 mg/mL) 시약을 첨가하여 2시간 재 배양하여 fomazan crystack 형성을 유도하였다. 이를 4°C, 2000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 제거하고 DMSO (dimethyl sulfoxide)를 첨가하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비장세포 증식능은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Proliferation Index (\%)} = \frac{\text{Sample의 흡광도}}{\text{Control의 흡광도}} \times 100$$

통계 처리

모든 실험에 대한 통계처리는 SAS program (Statistical analytical system V8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 one way ANOVA법으로 분산분석을 실시하였으며, 조사 항목들 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정법으로 $P < 0.05$ 수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

수율 변화

외톨개 모자반 분말에 3, 7 및 20 kGy로 감마선을 조사한 후, 물로 추출하여 감마선 조사구와 비조사구간에 추출 수율의 변화를 알아보았다. 그 결과 (Table 1), 3, 7 및 20 kGy 감마선 조사구에서 27.3, 27.1 및 28.5%의 추출 수율을 보여 25.0%인 비조사구에 비해 추출 수율이 증가함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 *Antrodia camphorata mycelia*에 2.5-20 kGy로 감마선 조사한 후, 메탄올로 추출하였을 때 15와 20 kGy 감마선 조사구에서 추출 수율이 증가한 Huang et al. (2007)의 연구 결과와 유사하였다. 또한 *Nigella ataiva*에 감마선 조사 시 핵산, 아세톤, 메탄올 및 물 등의 모든 용매에서 추출 수율이 증가한 연구와도 유사한 결과를 보였다 (Khattak et al., 2008). 이는 감마선 조사에 의해 외톨개 모자반 내부에 존재하는 고분자 물질이 저분자 물질로 분해되고, 불용성 성분이 가용성 성분으로 변해 용매에 녹아나오는 물질이 많아졌기 때문으로 사료된다 (Huang et al., 2007).

총 페놀화합물 함량 변화

외톨개 모자반 분말에 감마선을 조사한 후, 물로 추출하여 총 페놀화합물의 함량을 측정된 결과 (Table 1), 3, 7 및 20 kGy 감마선 조사구가 건조물 1 g당 각각 16.98, 13.94 및 15.00 mg의 값을 보여 12.56 mg을 보인 비조사구에 비해 높은 페놀 함량을 보였지만, 조사선량에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. Khatak et al. (2008)은 *Nigella staiva*에 탄수화물이나 고분자 중합체의 일부분으로 존재하고 있던 페놀화합물이 감마선 조사에 의해 결합이 파괴되어 페놀화합물의 함량을 증가시킨다고 보고하여 본 연구와 유사한 경향을 보였다. 반면, Koseki et al. (2002)은 수화된 로즈마리에 10~30 kGy의 감마선을 조사하였을 때 감마선 조사에 의해 생성된 라디칼이 페놀화합물과 반응하거나 페놀화합물이 다른 물질과 재결합하여 페놀함량이 감소하였다고 보고하여, 천연물에 존재하는 페놀화합물의 종류와 구조에 따른 감마선 조사의 감수성 차이에 기인한 것으로 생각된다.

또한 감마선 조사가 추출물의 총 페놀화합물 함량 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 외톨개 모자반 물 추출물에 3, 7 및 20 kGy로 감마선을 조사한 후 총 페놀화합물 함량을 측정하였다. 그 결과 (Table 1), 3과 7 kGy 감마선 조사구의 페놀화합물 함량이 건조물 1 g당 각각 7.24와 7.48 mg으로 7.33 mg인 비조사구와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 반면 페놀함량을 보였다. Harrison and Were (2007)는 두 종류의 20 kGy 조사구의 경우 8.50 mg으로 비조사구에 비해 높은 아몬드 껍질 추출물에 감마선을 조사한 후 총 페놀화합물의 함량을 측정된 결과, 4 또는 12.7 kGy 이상의 감마선 조사에서 총 페놀화합물의 함량이 증가하여 아몬드 종류에 따라 페놀화합물의 함량이 다르며 효능을 나타내는 감마선 조사선량 또한 다르다고 보고하였다. 이를 통해 총 페놀화합물 함량에 대한 감마선 조사의 효능은 천연물의 종류, 시료의 상태, 추출 용매,

추출 과정, 온도, 감마선 조사선량 및 페놀화합물의 종류에 따라 다르게 나타날 것으로 사료된다 (Khattak et al., 2008).

Table 1. Changes in yields and total phenolic compounds of irradiated *Myagropsis myagroides* powder and water extracts

Dose (kGy)	Yield (%)	TPC of powder (mg/g of dry sample)	TPC of extracts (mg/g of dry sample)
0	25.0	12.56±0.23 ^d	7.33±0.17 ^b
3	27.3	16.98±0.13 ^a	7.24±0.04 ^b
7	27.1	13.94±0.57 ^c	7.48±0.12 ^b
20	28.5	15.00±0.13 ^b	8.50±0.17 ^a

TPC: Total phenolic compounds. The different letters (a-c) indicate significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

Table 2. Changes in color of irradiated *Myagropsis myagroides* water extracts

Dose (kGy)	L*	a*	b*
0	75.68±0.00 ^d	0.12±0.01 ^a	14.05±0.00 ^a
3	93.01±0.02 ^c	-0.08±0.05 ^b	10.58±0.04 ^b
7	95.95±0.02 ^b	-0.04±0.01 ^b	8.52±0.00 ^c
20	96.51±0.01 ^a	0.03±0.07 ^b	7.25±0.01 ^d

The different letters (a-d) indicate significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

색도 및 UV spectrum

최근 건강지향적인 소비자의 욕구로 인해 다양한 생리활성을 지니는 천연물을 식품 산업에 적용하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다. 하지만 천연물은 chlorophyll, carotenoid 및 flavonoid 등 다양한 색소성분을 다량 함유하고 있어 식품에 첨가 시 식품자체의 색에 긍정적 또는 부정적인 영향을 미칠 뿐만 아니라 저장 및 가공 중 변색되어 최종제품의 품질을 저하시키는 문제점을 가지고 있다 (Kim et al., 2006; Lim et al., 2007). 따라서 최근에는 천연물의 색택을 밝고 투명하게 변화시키면서 본래의 생리활성을 유지할 수 있는 감마선 조사 기술이 천연물의 가공 특성을 향상시키기 위한 수단으로 주목 받고 있다. 이에 외톨개 모자반 물 추출물에 3~20 kGy의 감마선을 조사한 뒤 색차계를 이용하여 명도 (L값), 적색도 (a값) 및 황색도 (b값)를 측정하였다. 그 결과 (Table 2), 감마선 조사로 인해 외톨개 모자반 물 추출물의 명도가 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 적색도의 경우 3~20 kGy 감마선 조사에 의해 다소 감소하였으나 조사선량에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. 황색도의 경우에는 3, 7 및 20 kGy 감마선 조사구가 각각 10.58, 8.52 및 7.25로 14.05인 비조사구에 비해 낮은 값을 보였으며 조사선량에 비례하여 감소하는 경향을

보였다. 이러한 결과는 감마선 조사에 의해 녹차 내 chlorophyll 과 flavonoid계 색소 성분이 파괴되어 명도는 증가하고, 적색도 및 황색도는 감소하였다는 연구결과와 유사하다 (Son et al., 2001). 이로 미루어 볼 때, 갈조류의 하나인 외톨개 모자반에 존재하는 chlorophyll, carotenoid 및 flavonoid 색소가 감마선 조사에 의해 파괴되어 밝은 색을 나타내는 것으로 사료된다.

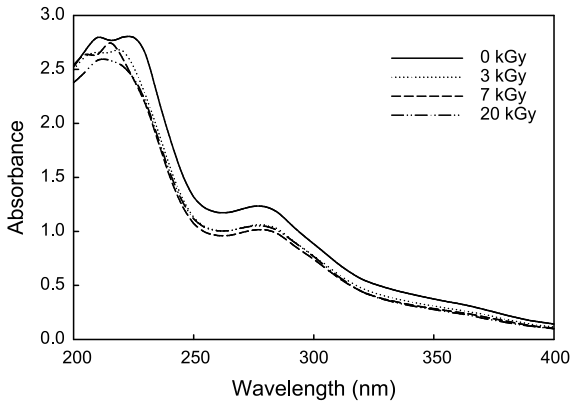


Fig. 4. Changes in UV spectrum of irradiated *Myagropsis myagroides* water extracts.

Table 3. Changes in pH of irradiated *Myagropsis myagroides* water extracts

Dose (kGy)	pH
0	5.10±0.00 ^a
3	4.98±0.00 ^b
7	4.99±0.01 ^b
20	4.87±0.00 ^c

The different letters (a-c) indicate significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

200~400 nm의 파장에서 감마선 조사한 외톨개 모자반 물 추출물의 UV spectrum을 측정하였다. 그 결과 (Fig. 4), 3~20 kGy의 감마선 조사구가 비조사구에 비해 UV peak가 낮게 나타났으며 250~400 nm의 파장에서 큰 변화를 보였다. Ulanski and Rosiak (1992)는 키토산에 감마선을 조사하였을 때 carbonyl 및 carboxyl group이 형성되어 250~280 nm에서 흡수 강도가 증가한다고 보고하였다. 또한 Nagasawa et al. (2000)은 감마선 조사에 의해 alginic acid의 주요 결합이 분해되거나 수소분해 반응에 의해 이중결합이 형성되어 UV peak가 변화한다고 보고하였다. 이로 미루어 볼 때 감마선 조사에 의한 외톨개 모자반 물 추출물의 UV peak 변화는 감마선 조사에 의해 carbonyl 및 carboxyl group 생성, 중합, 가교 및 분해 등에 의해 생긴 것으로 사료된다. 이를 통해 감마선 조사는 외톨개 모자반 물 추출물에 존재하는 색소성분을 파괴할 뿐만 아니라 구조에도 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다.

pH 변화

천연물의 pH는 가공식품 제조 시 품질에 영향을 미치는 중요한 요인으로 효모 및 효소의 활성 (Lim, 2000), 단백질의 용해도 및 추출 수율 (Bae and Rhee, 1998)에 관여한다. 따라서 천연물을 첨가한 가공식품 제조 시에는 천연물의 pH를 고려해야 한다. 감마선 조사한 외톨개 모자반 물 추출물의 pH의 변화를 측정한 결과 (Table 3), 3, 7 및 20 kGy 감마선 조사구의 pH가 각각 4.98, 4.99 및 4.87로 5.10인 비조사구에 비해 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 1-50 kGy 감마선 조사한 hyaluronic acid의 경우 조사선량이 증가함에 따라 pH가 감소했다는 연구결과와 일치하였으며 (Kim et al., 2008), 감마선 조사로 생성된 free radical에 의해 glycoside 결합이 파괴되어 전분의 산도가 증가한 연구 (Sokhey and Chinnaswamy, 1993)와도 유사한 결과를 보였다. 이로 미루어 볼 때 감마선 조사에 의한 외톨개 모자반 물 추출물의 pH 감소는 glycoside 결합 파괴에 의해 carboxyl 그룹이 생성되어 다당류의 산성화를 유도했기 때문으로 사료된다 (Kim et al., 2008).

점도 변화

다시마, 미역 및 모자반과 같은 갈조류는 갈조엽체 세포벽에 alginic acid, cellulose 및 fucan 등 다양한 다당류가 함유되어 있다 (Haug et al., 1966). 이러한 다당류는 다양한 기능성을 가지고 있으나 농도가 증가함에 따라 필요 이상의 높은 점성을 가져 식품적용에 있어 그 사용이 제한되고 있다 (Kim et al., 2002). 최근 이러한 단점을 보완하기 위해 미생물 유래 효소를 이용한 저분자 방법 (Joo et al., 1999)과 유기산을 처리하는 방법 (Joo and Cho, 2003) 및 초음파 처리를 통한 저분자화 방법 (Kim et al., 1999) 등이 이용되고 있지만 효소 확보의 어려움, 제품의 불균일성 및 고비용으로 인해 대량생산의 어려움을 가지고 있다. 반면 감마선 조사는 조사 시 형성된 free radical에 의해 다당류 분자 중합체를 이루는 결합을 끊어 저분자화 시키는 방법으로 대량생산이 가능한 효율적인 방법으로 보고되고 있다 (Naotsugu et al., 2000). 이에 본 연구에서는 3~20 kGy 감마선을 외톨개 모자반 물 추출물에 조사하여 조사선량에 따른 점도변화를 측정하였다. 그 결과 (Fig. 5), 외톨개 모자반 물 추출물은 5.42 cP의 값을 나타냈으나, 3, 7 및 20 kGy 조사구에서는 각각 2.97, 2.66 및 2.45 cP의 값으로 조사선량에 비례하여 점도가 감소하였으며, 특히 20 kGy 감마선 조사구는 비조사구에 비해 50% 이상 감소한 값을 보였다. 이는 옥수수, 고구마 및 감자 전분에 1.5~6 kGy 감마선 조사 시 조사선량이 증가함에 따라 점도가 감소한 An et al. (2004)의 연구 결과와 유사하였으며, 알긴산 및 카라기난 수용액에 감마선 조사 시 조사선량에 따라 유의적으로 점도가 감소한 Song et al. (2007)의 연구결과와도 일치하였다. 이처럼 감마선 조사에 의한 물 추출물의 점도 감소는 감마선 조사에 의해 생성된 free radical이 다당류 분자의 glycosidic bond를 파괴하여 분자의 크기를 감소시키기 때문인 것으로 사료된다 (Lee, 2005). 따라서 감마선 조사를 통한 외톨개 모자반 물 추출물의

점도 감소는 식품 제조에 천연물의 이용도를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

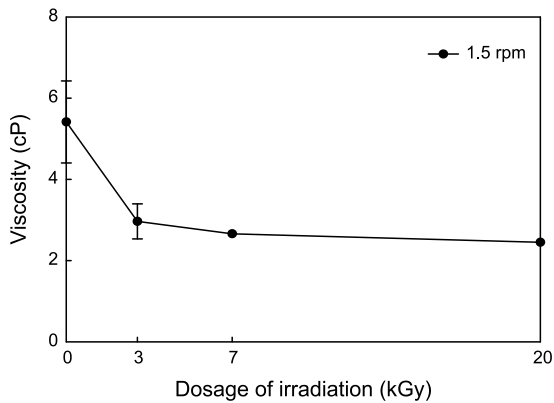


Fig. 5. Changes in viscosity of irradiated *Myagropsis myagroides* water extracts.

비장세포의 IFN- γ 및 IL-2 cytokine 분비량 변화

IFN- γ 는 미생물의 병원균 침입에 대하여 숙주를 방어할 수 있는 세포활성 물질이며, IL-2는 항원 및 mitogen과 결합하여 B세포, NK세포 및 대식세포의 증식을 조절하는 인자로 세포 매개 면역반응에서 중요한 역할을 한다 (Abbas and Lichtman, 2003). 또한 IFN- γ 및 IL-2는 help T1 cell (Th1)에서 분비되는 전구염증성 cytokine으로 면역작용의 지표로 알려져 있다 (Ryu et al., 2006). 따라서 감마선 조사한 외톨개모자반 물 추출물의 면역 조절능 변화를 알아보기 위해, 비장세포 배양액에서 IFN- γ 와 IL-2 cytokine의 분비량을 측정하였다. IFN- γ 분비량 측정 결과 (Fig. 2), 3, 7 및 20 kGy 감마선 조사구의 IFN- γ 분비량이 각각 1890, 2357 및 3139 pg/mL로 1366 pg/mL인 비조사구에 비해 높은 값을 보였고, 또한 조사선량의 증가에 따라 분비량도 증가하는 경향을 나타냈다. IL-2 cytokine 분비량 (Fig. 3) 또한 감마선 조사선량에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 특히 20 kGy 감마선 조사구에서 IL-2 분비량이 157 pg/mL로 가장 높은 분비량을 나타내었다. 해조류의 추출물에는 fucoidan, laminaran 및 carrageenan 같은 다당류가 함유되어 있어 면역체계에 영향을 준다고 알려져 있다 (Jung et al., 2002). Kim 등 (2009)의 연구 결과에 의하면 감마선 조사에 의해 β -glucan의 β -1,3 및 1,6 결합이 파괴되어 분자의 크기가 감소되었으며, Lehmann and Kunze (2000)는 1-30 kDa의 저분자 β -glucan이 100 kDa 이상의 고분자 β -glucan보다 면역 활성이 뛰어나다고 보고하였다. 또한 Ha et al. (2008)은 톳 유래 저분자 푸코이단이 고분자의 시판 푸코이단에 비해 B 및 T 세포의 cytokine 분비능을 증가시켰다고 보고하였다. 이로 미루어 볼 때, 갈조류인 외톨개모자반 물 추출물에는 fucoidan, laminaran 등의 다당류가 함유되어 있으며, 다당류가 감마선 조사에 의해 저분자화 됨으로써 IFN- γ 및 IL-2 cytokine 분비량을 더욱 효과적으로 증가시켜 Th1-type의 면역반응을 활성화 시키는 것으로 사료된다.

비장세포의 증식능 변화

비장은 혈액으로부터 항원을 수집하여 면역반응을 개시하는 장소이며, B 및 T 림프구의 성숙과 분화가 이루어지는 주요 림프기관으로서 면역반응에 있어 중요한 역할을 한다 (Abbas and Lichtman, 2003). 따라서 감마선 조사한 외톨개모자반 물 추출물이 비장세포 증식에 미치는 영향을 알아보기 위해 비장세포에 감마선 조사한 외톨개모자반 물 추출물을 첨가하여 배양한 후, MTT assay를 실시하였다. 그 결과 (Fig. 1), 3, 7 및 20 kGy 감마선 조사구의 비장세포 증식능이 각각 117, 129 및 102로 175인 비조사구에 비해 낮은 값을 보였으며 감마선 조사선량이 증가할수록 비장세포 자극효과가 감소하는 경향을 보였다. 하지만 PBS 처리구에 비해 다소 높은 값을 보여 세포독성은 없는 것으로 나타났다. 이를 통해 감마선 조사선량에 따른 IFN- γ 와 IL-2 cytokine 분비량의 증가는 비장세포 내 존재하는 B 및 T 림프구의 증식에 의한 것이 아님을 확인하였다. 이러한 결과는 3-100 kGy로 감마선 조사한 λ -carrageenan을 ovalbumin으로 면역한 비장세포에 첨가하여 배양한 결과, 비장세포 증식능이 다소 감소하였다는 Song (2007)의 연구 결과와 일치하였다. 반면 Kim et al. (2009)은 10-50 kGy로 감마선 조사한 β -glucan의 비장세포 증식능을 측정하였을 때 감마선 비조사구와 조사구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다고 보고하였으며, 또한 Kim 등 (2007)은 10 및 100 kGy로 감마선 조사한 오갈피 나무 추출물의 비장세포 증식능이 조사선량에 따라 유의적으로 증가하였다고 상반되는 결과를 보고하였다.

사 사

본 연구는 2010년도 한국원자력연구원 기관 고유사업의 지원을 받아 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Abbs AK and Lichtman AH. 2003. Cells and tissues of the immune system. In: Cellular and molecular immunology 5th. Jason M and Bill S, eds. WB Saunders Company, Philadelphia, U.S.A., 32-33, 264-269.
- An KA, Jo DJ, Kim HK, Kim SK and Kwon JH. 2004. Effect of γ gamma irradiation on wiscosity and physicocheical properties of starches. Korean J Food Sci Technol 36, 547-552.
- Athukorala Y, Lee KW, Kim SK and Jeon YS. 2007. Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju island in Korea. Biores Technol 98, 1711-1716.
- Bae SH and Rhee C. 1998. Influences of extraction pH on the functionality of soybean protein isolate. Korean J Food Sci Technol 3, 557-561.
- Cha SH, Ahn GN, Heo SJ, Kim KN and Lee KW. 2006.

- Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35, 307-314.
- Cho KJ, Lee YS and Ryn BH. 1990. Antitumor effects and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull Korean Fish Soc* 23, 345-352.
- Cho YJ, Toon SJ, Kim JH and Chun SS. 2005. Biological activity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34, 446-450.
- Ha JH, Kwon MC, Han JG, Jin L, Jeng HS, Choi GP, Park UY, You SG and Lee HY. 2008. Enhancement of immunomodulatory activities of low molecular weight fucoida isolated from *Hizikia fusiforme*. *Korean J Food Sci Technol* 40, 545-550.
- Harrison K and Were LM. 2007. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. *Food Chem* 102, 932-937.
- Haug A, Lasem B and Smidsrod O. 1966. Study of the constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis. *Acta Chem Scand* 20, 183-190.
- Hong YK, Park IS, Jung YH, Song SH and Hong SY. 1998. Effect of the seaweed *Porphyra yezoensis* extract on triton WR-1339 induced hypercholesterolemia in Mouse. *Bull Korean Fish Soc* 31, 508-515.
- Huang SJ and Mau JL. 2007. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Anrtdia camphorata* with various dose of γ -irradiation. *Food Chem* 105, 1702-1710.
- Jeon TW, Park JH, Shin MG, Kim KH and Byun MW. 2003. Effects of gamma-irradiation on biological activities and color changes of extracts of *Shcizandrae fructus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32, 137-142.
- Joo DS, Cho SY, Lee EH and Yang ST. 1999. Preparation of carrageenan oligosaccharide using carrageenase from pseudomonas alcaligenes JCL-43 and its functional properties. *Korean J Life Sci* 9, 423-429
- Joo DS and Cho SY. 2003. Preparation of hydrolysates from carrageenan with organic acid. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32, 42-46
- Jung BM, Ahn CB, Kang SJ, Park JH and Chung DH. 2001. Effects of *Hizikia fusiforme* extracts on lipid metabolism and liver antioxidative enzyme activities in triton-induced hyperlipidemic rats. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 30, 1184-1189.
- Jung KJ, Jung BM and Kim SB. 2002. Effect of Pophyran isolated from laver, *Porphyra yezoensis* on liver lipid peroxidation in hyperlipidemic rats and on immunological functions on mice. *Korean J Food Sci Technol* 34, 325-329.
- Khattak KF, Simpson TJ and Ihasnullah. 2008. Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella staiva* seed. *Food Chem* 110, 967-972.
- Khattak KF and Simpson TJ. 2010. Effect of gamma irradiation on the antimicrobial and free radical scavenging activities of *Glycyrrhiza glabra* root. *Radiat Phys Chem* 19, 507-512.
- Kim HW, Cho SI, Kim GY, Jeon BG, Cho YL and Jeong HW. 2007. Effects of extracts from *Acanthopanax sessiliflorus* SEEM following gamma-ray irradiation on solid tumor and immune cells in mice. *Korean J Orient Physiol Pathol* 21, 736-740.
- Kim JH, Sung NY, Byun EH, Kwon SK, Song BS, Choi JI, Yoon YH, Kim JK, Byun MW and Lee JW. 2009. Effects of γ -irradiation on immunological activities of β -glucan. *Food Sci Biotechnol* 18, 1305-1309.
- Kim JK, Srinivasan P, Kim JH, Choi JI, Park HJ, Byun MW and Lee JW. 2008. Structural and antioxidant properties of gamma irradiated hyaluronic acid. *Food Chem* 109, 763-770.
- Kim KS, Lee MH and Cho SH. 2002. Radical degradation of sodium alginate. *J Chitin Chitosan* 7, 8-13.
- Kim YY, Lee KW, Kim GB and Cho YJ. 2000. Studies on physicochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea thangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. *J Kor Fish Soc* 33, 393-398.
- Kim SJ, Kweon DH and Lee JH. 2006. Investigation of anti-oxidative activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Korean J Food Sci Technol* 38, 584-588.
- Kim SM, Park SM, Choi HM and Lee KT. 1999. Optimal processing parameters of low molecular weight carrageenan by ultrasound. *J Kor Fish Soc* 32, 495-500
- Konig GM, Wright AD, Sticher O, Angerhofer CK and Pezzuto JM. 1994. Biological activities of selected marine natural products. *Planta Med* 60, 532-537.
- Koseki PM, Villavicencio AL, Brito MS, Nahme LC, Senastiao KI and Rela PR. 2002. Effects of irradiation in medicinal and eatavle herbs. *Radiat Phys Chem* 63, 681-684.
- Lee HS, Suh JH and Suh KH. 2000. Preparation of antibacterial agent from 269-274.seaweed extract and

- its antibacterial effect. J Korean Fish Soc 33, 32-37.
- Lee JW. 2005. Use of radiation technology for food industry and safety management. Korean Soc Food Engin 3, 20-44.
- Lee SY. 2010. Identification and mechanisms of action of antimicrobial substance from brown algae. Ph.D. Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Lehmann J and Kunze R. 2000. Water-soluble low-molecular-weight beta-glucans for modulating immunological responses in mammalian system. US Patent 6, 143, 883 (2000)
- Li Y, Lee SH, Le QT, Kim MM and Kim SK. 2008. Anti-allergy effects of phlorotannins on histamine release via binding inhibition between IgE and FcεRI. J Agr Food Chem 56, 12073-12080.
- Lim EJ, Lee YH, Huh CO, Kwon SH, Kim JY and Han YB. 2007. Rheological Properties of Bread Dough Added with *Enteromorpha intestinalis*. Korean J Food Sci Technol 39, 652-657.
- Lim SI. 2000. Purification and characterization of protease produces by *Aspergillus wentrii* isolated from korean traditional meju. Korean J Food Sci Technol 32, 161-167.
- Nagasawa N, Mitomo M, Yoshii F and Kume T. 2000. Radiation-induced degradation of sodium alginate. Polym Degradat Stab 69, 279-285.
- Naotusugu N, Hirishi M, Fumio Y and Tamikazu K. 2000. Radiation-induced degradation of sodium alginate. Polym Degradat Stab 69, 279-285.
- Park HY, Lin CW, Kim YK, Toon HD and Lee KJ. 2006. Immunostimulating and anticancer activities of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens*. J Korean Soc Appl Biol Chem 49, 343-348.
- Prez MB, Caldern NL and Croci CA. 2007. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosemarinus Officinalis* L.). Food Chem 104, 585-597.
- Ryu HS and Kim HS. 2006. Effect of *Sorghum bicolor* L. Moench (sorghum, su-su) water extracts on mouse immune cell activation. Korean J Food Nutr 19, 176-182.
- Seo YW and Yoo JS. 2003. Screening for antioxidizing and trosinase inhibitory activities of the extracts of marine algae from Busan coastal area. Ocean Polar Res 25, 129-132.
- Sokhey AS and Chinnaswamy R. 1993. Chemical and molecular properties of irradiated starch extrudates. Cereal Chem 70, 260-268.
- Son JH, Jo C, Kim MR, Kim JO and Byun MW. 2001. Effect of gamma irradiation on removal of undesirable color from green tea extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr 30, 1305-1308.
- Song EJ, 2007. Effect of γ -irradiation on physical properties and anti-allergic activity of alginate and carrageenan. Ph.M. Thesis, Pukyong National University, Busan, Koera.
- Song EJ, Lee SY, Kim KBWR, Park JK, Kim JH, Lee JW, Byun MW and Ahn DH. 2007. Effect of gamma irradiation on the physical properties of alginic acid and λ -carrageenan. J Korean Soc Food Sci Nutr 36, 902-907.
- Swain T and Hillis WE. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I-The quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric 10, 63-68.
- Ulanski P and Rosiak JM. 1992. Preliminary study on radiation-induced change in chitosan. Radiat Phys Chem 39, 53-57.
- Variyar PS, Limaye A and Sharma A. 2004. Radiation-induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max* Merrill). J Agr Food Chem 52, 3385-3388.
- Wong CK, Ooi VEC and Ang PO. 2004. Hepatoprotective effect of seaweeds methanol extract against carbon tetrachloride-induced poisoning in rats. Hydrobiologia 512, 267-270.

2010년 12월 31일 접수

2011년 2월 10일 수정

2011년 2월 14일 수리