한국식품영양과학회지 DOI: 10.3746/jkfn.2011.40.5.712

## 감마선 조사가 미역귀 조다당의 추출수율 및 미백활성 변화에 미치는 영향

김다미 $^1 \cdot$  김경희 $^1 \cdot$  성낙윤 $^2 \cdot$  정필문 $^2 \cdot$  김정수 $^2 \cdot$  김재경 $^2 \cdot$  김재훈 $^2 \cdot$  최종일 $^2 \cdot$  송범석 $^2 \cdot$  이주운 $^2 \cdot$  김진규 $^2 \cdot$  육홍선 $^{1\dagger}$ 

<sup>1</sup>충남대학교 식품영양학과 <sup>2</sup>하국원자력연구원 정읍방사선과학연구소

# Effects of Gamma Irradiation on the Extraction Yield and Whitening Activity of Polysaccharides from *Undaria pinnatifida* Sporophyll

Da-Mi Kim<sup>1</sup>, Kyoung-Hee Kim<sup>1</sup>, Nak-Yun Sung<sup>2</sup>, Pil-Moon Jung<sup>2</sup>, Jeong-Soo Kim<sup>2</sup>, Jae-Kyung Kim<sup>2</sup>, Jae-Hun Kim<sup>2</sup>, Jong-il Choi<sup>2</sup>, Beom-Seok Song<sup>2</sup>, Ju-Woon Lee<sup>2</sup>, Jin-Kyu Kim<sup>2</sup>, and Hong-Sun Yook<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea <sup>2</sup>Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeonbuk 580-185, Korea

#### Abstract

We investigated changes in the extraction yield and whitening activity of polysaccharides from *Undaria pinna-tifida* sporophyll due to gamma irradiation. *U. pinnatifida* sporophyll was gamma-irradiated at doses of 10, 30, 50, 70, and 100 kGy, then extracted with hot water and precipitated with ethanol to extract polysaccharides. Crude polysaccharide yields increased with an increase in irradiation dosage, but tyrosinase inhibition activity did not change. Melanin synthesis did not significantly differ between B16BL6 cells treated with irradiated and non-irradiated samples. In conclusion, gamma irradiation increased the crude polysaccharide extraction yield but did not change the whitening activity of *U. pinnatifida* sporophyll. This implies that gamma irradiation can be used to increase yields in the cosmetic industry, thus increasing profits.

Key words: Undaria pinnatifida sporophyll, gamma irradiation, crude polysaccharide, extraction yield, whitening activity

## 서 론

Melanin은 생물체에 널리 분포되어 있는 색소로 인체에서는 표피층에 있는 melanocyte에서 합성된다. Melanin의생합성 과정에 작용하는 주요 효소가 tyrosinase이다(1). Tyrosinase는 polyphenol oxidase의 일종으로 구리를 함유한 효소로써 색소 세포에서 tyrosine을 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)으로 변환시키고, 다시 dopaquinone, dopachrome으로의 변환과정을 거쳐 melanin의 생성을 유도한다(2,3).

최근 천연물에서 tyrosinase 억제 활성을 갖는 화합물을 개발하기 위한 노력이 많이 이루어지고 있다. Melanin 합성을 억제하는 대표적인 물질로는 누룩곰팡이로부터 분리된 kojic acid(4), hydroquinone(5), oxyresveratrol(6) 그리고 p-hydroxybenzyl alcohol(7)이 있으며, 천연물로는 상백괴, 닥나무, 감초 등의 식물 추출물이 널리 알려져 있다(8).

해조류에서 추출한 수용성 다당류는 식물성 다당류로서

항염, 항바이러스, 항암 치료제 등의 의약품으로 다양하게 이용되어 왔으며, 최근에는 항노화, 보습제 등의 화장품 원료로도 응용되어 이용되고 있다(8-11). 대표적인 식용 해조류인 다시마의 추출물을 이용한 미백 실험에서는 다당류인 fucoidan과 열수추출물에서 높은 미백활성을 유지하는 것으로 관찰되어, 천연 미백제 및 항염증제로서의 개발 가능성이 매우 큰 것으로 사료된다(12).

갈조류 곤포과에 속하는 미역의 뿌리 부분인 미역귀 (*Undaria pinnatifida* sporophyll)는 식용으로는 많이 쓰이지 않으나 항균, 항암 등의 기능성식품으로서의 개발 가능성이 높은 물질로 밝혀지고 있다(13). Fucoidan과 같은 해조다당류의 미백활성에 관한 연구가 많이 이루어지고 있는데 (14-16) 특히 미역귀에는 미백활성을 나타내는 fucoidan이 6.65%로 2.71%인 다시마에 비해 3배 정도 높다는 연구가보고되어있다(16).

한편 감마선 조사는 식품 소재의 부패방지, 제품의 안전성 및 보존성 향상의 효과가 보고되어 현재 널리 이용되고 있으 며(17), 이온화 방사선의 물리적인 특성을 이용하여 기능성 소재의 생리활성 개선 및 추출률 증가 등의 다양한 연구들이 보고되어진다(18,19). 특히, 꼬시레기, 우뭇가사리 및 감태 등의 해조류에서 한천 또는 알긴산과 같은 해조 다당류의 추출 수율이 방사선 조사에 의해 증가되었다고 보고되었다(20). 이러한 다양한 연구에도 불구하고 해조류에 대한 방사선의 영향 평가 연구는 아직까지도 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 해조류에 대한 방사선의 영향 평가에 관하여 알아보기 위하여 방사선 조사된 미역귀로부터 조다당을 추출하여 추출수율을 측정하였고, 추출된 조다당의 미백효과에 관하여 평가하였다.

## 재료 및 방법

#### 재료

본 실험에 사용된 미역귀는 부산광역시 기장읍에서 구입 하여 조다당 추출에 사용하였다.

## 조다당 추출 및 감마선 조사

조다당의 추출은 미역귀 10 g(건조중량)에 3차 증류수 100 mL를 가하여 감마선 조사(10, 30, 50, 70, 100 kGy) 후 2시간 동안 100℃에서 환류 추출하였고, 여과(Wattman, No.4)하여 70% 에탄올로 4°C에서 12시간 동안 교반하면서 조다당을 추출하였다. 추출용액을 원심분리(10,000 rpm, 10 min)하여 조다당을 분리하였고 이를 동결건조 하여 본 실험 에 사용하였다. 감마선의 조사는 한국원자력연구원 방사선 과학연구소(Jeongeup, Korea) 내 선원 11.1 PBq, <sup>60</sup>Co 감마 선 조사시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온(22±1℃)에서 시간당 10 kGy의 선량률로 각각 10, 30, 50, 70, 100 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량의 확인은 alanine dosimeter(5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. 비조사구인 0 kGy 는 동일한 온도효과를 얻기 위하여 감마선 조사시설 외부에 보관하였고, 조사 직후 조사 처리구와 함께 4℃ 냉장고에 저장하였다.

## 세포주 및 세포 배양

Melanin 생성량을 측정하기 위해 본 실험에는 한국세포 주은행에서 분양받은 B16BL6 melanoma 세포주를 사용하 였다. B16BL6 melanoma 세포는 10% fetal bovine serum (FBS)과 penicillin, streptomysin(100 unit/mL, 100 μg/mL) 을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM) 으로 37°C로 유지되는 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다.

#### Mushroom tyrosinase inhibition assay

Tyrosinase 저해능은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 dopachrome을 비색법을 이용하여 측정하였다(21). Sigma 사(St. Louis, MO, USA)에서 구입한 효소액(mushroom

tyrosinase, 100 unit/mL)을 0.2 mL, 기질로서 L-DOPA (dihydroxyphenylalanine) 0.4 mL, 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 0.2 mL의 혼합액에 시료 0.2 mL을 첨가한 후 37°C에서 15분간 반응시켜 475 nm에서 측정하고 dopachrome의 변화를 저해능으로 환산하였다. Tyrosinase 저해능은 다음의 환산식에 의하여 계산되었다.

저해능(%)=
$$\left(1-\frac{A-B}{C-D}\right)\times100$$

A: 효소액을 첨가한 시료 처리구

B: 효소액을 첨가하지 않은 시료 처리구

C: 효소액 첨가 후 시료 대신 증류수를 첨가한 흡광도

D: 효소액과 시료 대신 증류수를 첨가한 흡광도

#### 세포생존율(cell viability) 평가

B16BL6 melanoma cell을 96 well plate에 배지  $2.4 \times 10^3$  cell/well 농도로 분주한 후  $37^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 4시간 동안 배양하면서 세포가 plate에 완전히 부착된 다음 0, 10, 30, 50, 70, 100 kGy 선량으로 방사선 조사된 미역귀로부터 추출된 조다당을 125, 250, 500, 1,000 μg/mL로 처리한후 72시간 동안 배양하였다. 세포생존율은 72시간 이후 각 well에 EZ-Cytox(Daeillab Service, Seoul, Korea)를 10 μL씩 첨가하고,  $37^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 세포내 melanin 생성 억제 효과

6 well plate에 5×10<sup>4</sup> cell/well로 B16BL6 세포를 접종하 고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 4시간 동안 배양한 뒤 세포 가 plate에 완전히 부착된 것을 확인한 후 0. 10. 30. 50. 70. 100 kGv로 방사선 조사된 미역귀로부터 추출한 조다당을 1,000 μg/mL로 처리하였다. 그 후 B16BL6 melanoma 세포 의 세포내 melanin의 과생성을 유도하기 위하여 100 nM의 a-melanocyte stimulating hormone(a-MSH) 처리하고 72 시간 후 원심분리 하여 cell pellet을 모은 뒤 1% Triton X-100(Sigma)을 함유한 10 mM phosphate buffer(pH 6.8)를 100 μL 가하고 5분간 교반한 후 원심분리 하여 melanin 정량 에 사용하였다. 분리된 pellet을 1 N NaOH 100 μL와 증류수 200 μL를 가하고 60°C에서 1시간 반응하여 완전히 녹인 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Melanin 표준물질(Sigma)로부터 얻은 검량선을 이용하여 각 well에서 생성된 melanin 양을 산출하였다. Melanin 생성량은 표준물질 대비 ug/mL로 표기하였다(12).

#### 통계처리

이상의 실험에서 얻어진 결과는 SPSS Statistics 18.0 Network Version(on release 18.0.1 of PASW Statistics)을 이용하여 one way ANOVA test로 분석하였으며 유의적 차이가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 유의차 검정을 실시하였다.

Table 1. Changes in yields of polysaccharide from irradiated *Undaria pinnatifida* sporophyll

Circuita pinnatiriaa oporopiijii	
Dose (kGy)	Yields (%)
0	$6.12 \pm 0.92^{1) d2)}$
10	$11.13 \pm 0.26^{\circ}$
30	$10.82 \pm 0.37^{c}$
50	$14.13 \pm 0.57^{\mathrm{b}}$
70	$14.16 \pm 0.16^{\mathrm{b}}$
100	$18.91 \pm 0.14^{a}$

<sup>&</sup>lt;sup>1)</sup>Each value in mean  $\pm$  SD (n=3).

## 결과 및 고찰

#### 감마선 조사에 따른 조다당 추출수율

산업적 측면에서 볼 때 천연물의 추출수율 증가는 부가 가치적 측면에서 매우 중요한 요소로 작용한다. 최근 Lee 등(22)의 연구에 의하면 감마선 조사된 녹차 추출물로부터 항산화 활성 증가 및 색도 감소로 인하여 녹차 추출물의 이 용효율이 증가한다고 보고하였다. Kim(23)의 연구에서는 감마선 조사에 의한 폐미역의 추출수율을 평가하였는데, 대 조군에 비하여 50 kGy의 감마선 조사구에서 fucoidan은 2 배, laminarin은 1.26배 수율이 증가함을 보였으며, 감마선 조사에 의한 복귀돌연변이 시험 결과 200 kGy까지는 복귀돌 연변이를 유발하지 않는 것으로 나타났다. World Health Oranization(24) 또한 발암성 생물학 검정 및 다세대 생식 독성 평가를 포함하는 많은 범위의 독성학 연구 결과, 감마 선 조사와 관련된 어떠한 독성을 발견하지 못했다. 본 연구 에서도 방사선 조사된 미역귀로부터 방사선 조사에 따른 조 다당의 추출수율 변화에 관하여 알아보았다. 10, 30, 50, 70 그리고 100 kGy로 감마선 조사된 미역귀 추출물로부터의 조다당 추출수율을 Table 1에 나타내었다. 조사선량별 조다 당의 추출수율을 관찰한 결과, 비조사구의 조다당 추출수율 이 6.12%로 관찰되었고, 조사구(10, 30, 50, 70, 100 kGv)의 경우 각각 11.13, 10.82, 14.13, 14.16 및 18.19%의 수율을 갖는 것으로 관찰되어 조사선량에 의존적으로 조다당의 추출수 율이 증가하는 것으로 관찰되었고, 특히 100 kGy로 조사된 미역귀로부터 추출한 조다당의 경우 추출수율이 비조사구 에 비해 약 3배 정도 증가한 것으로 나타나 조사선량과 추출 수율의 높은 상관관계를 반영한다. Harrison과 Were(25)의 연구에 의하면 방사선의 조사는 이온화 에너지에 의한 저분 자로의 분자구조의 변환을 유도하여 저분자화에 의한 추출 수율을 증가시킨다고 보고하여 본 연구의 결과를 뒷받침한다.

#### Tyrosinase 억제 활성

방사선 조사된 미역귀에서 추출된 조다당의 tyrosinase 억제 활성을 cell free system에서 관찰한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. Tyrosinase 억제 효과를 알아보기 위하여 방사 선 조사구 및 비조사구로부터 추출한 조다당의 농도를 1, 5, 10 mg/mL로 각각 조제한 후 enzyme 농도 50 unit/mL에

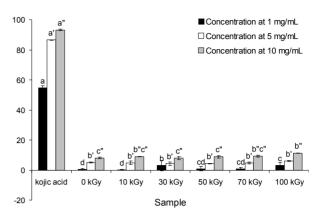


Fig. 1. Tyrosinase inhibition activity of crude polysaccharide extracted from gamma-irradiated (10, 30, 50, 70, 100 kGy) and non-irradiated (0 kGy) *Undaria pinnatifida* sporophyll.  $^{\rm a-d}V$  alues with different letters differ significantly (p<0.05) at the concentration of 1 mg/mL.  $^{\rm a',b'}V$  alues with different letters differ significantly (p<0.05) at the concentration of 5 mg/mL.  $^{\rm a''-c''}V$  alues with different letters differ significantly (p<0.05) at the concentration of 10 mg/mL.

서 mushroom tyrosinase 억제 활성을 측정하였다. 실험 결 과, 대조구에서는 1, 5, 10 mg/mL의 농도 증가에 따라 0.42, 5.11, 8.06%, 100 kGy에서는 1, 5, 10 mg/mL의 농도 증가에 따라 3.20, 5.96, 11.18%로 각각의 sample에서 농도의 증가에 따라 유의적으로 tyrosinase의 활성을 억제시키는 것으로 관 찰되었다. 반면 조사선량이 증가함에 따라 tyrosinase의 활 성을 억제시키는 경향을 보였으나 유의성을 나타내지는 않 았다(Fig. 1). Tyrosinase는 피부 기저층에 있는 melanocyte 의 melanosome에서 tyrosine 혹은 DOPA를 기질로 하여 피 부의 색소 성분인 melanin을 생합성 하는데 있어서 key enzyme으로 작용하는 효소이다(26). 따라서 본 연구에서 미 역귀로부터 추출한 조다당은 tyrosinase의 억제를 통해서 melanin 색소의 세포내 침착을 막아 미백활성을 유지시켜 주는 작용을 할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 방사선의 조사된 미역귀 조다당 추출물은 미백활성이 유지되는 것으 로 관찰되었다. 따라서 방사선 조사 기술은 미백활성을 가지 는 조다당 추출물의 수율을 증가시키는 유용한 방법으로 사 료된다.

## 세포 생존능(cell viability) 및 melanin 생성 억제 효과

감마선 조사한 미역귀로부터 추출한 조다당의 melanin 생성 억제효과에 관하여 알아보기 위하여 우선적으로 B16BL6 melanoma cell의 생존율에 미치는 영향에 관하여 관찰하였다(Table 2). 방사선 비조사 및 조사 과정을 통해서 얻어진 조다당을 125, 250, 500, 1,000 μg/mL의 농도로 세포에 처리한 후 72시간 동안 배양한 결과, 대조군에서의 생존능을 100%로 비교하였을 때 샘플 처리구(0, 10, 30, 50, 70, 100 kGy)에서 유의적인 세포생존율의 변화는 관찰되지 않았다(Table 2). 따라서 melanin 생성 억제 효과 실험에서는 1,000μg/mL의 농도를 사용하여 실험하였다(Fig. 2).

세포내 melanin의 합성은 tyrosinase, tyrosinase related

<sup>&</sup>lt;sup>2)</sup>Values with different letters are significantly different (p<0.05).

Table 2. Cell survival (%) in B16BL6 melanoma cell line treated with crude polysaccharide extracted from gamma-irradiated (10, 30, 50, 70, 100 kGy) and non-irradiated (0 kGy) *Undaria pinnatifida* sporophyll

Dose (kGy)	125 μg/mL	250 μg/mL	500 μg/mL	1,000 μg/mL
Kojic acid	$105.93 \pm 9.12^{1)a2)}$	$108.46 \pm 9.94^{a}$	$104.50 \pm 2.62^{a}$	$97.67 \pm 1.77^{\mathrm{a}}$
0	$89.81 \pm 12.96^{\mathrm{b}}$	$83.90 \pm 6.09^{b}$	$83.94 \pm 3.75^{cd}$	$93.75 \pm 4.19^{\mathrm{ab}}$
10	$87.90 \pm 2.32^{\text{b}}$	$90.39 \pm 4.29^{b}$	$96.18 \pm 9.08^{ab}$	$98.65 \pm 3.47^{a}$
30	$106.90 \pm 8.14^{\rm b}$	$102.19 \pm 2.94^{\rm b}$	$97.78 \pm 5.73^{abc}$	$97.51 \pm 5.86^{bc}$
50	$88.76 \pm 8.15^{\mathrm{b}}$	$82.42 \pm 4.64^{\rm b}$	$80.29 \pm 4.70^{\rm d}$	$87.03 \pm 7.31^{\mathrm{bc}}$
70	$86.53 \pm 6.84^{\mathrm{b}}$	$86.12 \pm 7.33^{\text{b}}$	$80.45 \pm 6.44^{d}$	$79.83 \pm 7.33^{\mathrm{bc}}$
100	$86.26 \pm 1.86^{\mathrm{b}}$	$81.69 \pm 4.10^{b}$	$86.66 \pm 5.33^{\text{bcd}}$	$91.74 \pm 3.28^{ab}$

<sup>&</sup>lt;sup>1)</sup>Each value in mean  $\pm$  SD (n=3).

<sup>&</sup>lt;sup>2)</sup>Values with different letters within a same row are significantly different (p<0.05).

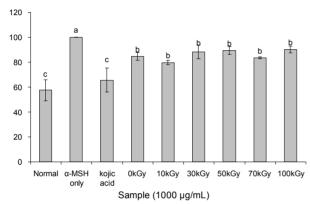


Fig. 2. Inhibitory effect of melanin synthesis by crude polysaccharide extracted from gamma-irradiated (10, 30, 50, 70, 100 kGy) and non-irradiated (0 kGy) *Undaria pinnatifida* sporophyll in B16BL6 melanoma cell treated with  $\alpha$ -MSH.  $\alpha$ -CValues with different letters differ significantly (p<0.05).

protein-1(TRP-1), tyrosinase related protein-2(TRP-2), cyclic adenosine monophosphate(cAMP), adrenocorticotropic hormone(ACTH), forskolin 및 a-melanocyte stimulating hormone(a-MSH) 등의 다양한 인자들에 의해서 조절된다 (27-29). 그중 α-MSH는 뇌하수체 및 피부를 포함한 여러 가지 말초조직에서 분비되는 pleiotropic molecule로써 세포 막 수용체(melanocortin receptor 1, MC1R)와 결합하여 gamma G protein을 활성화시키고, 이차적으로 adenylate cyclase 활성에 의한 cAMP가 증가되고 연속적으로 protein kinase A(PKA), tyrosinase 활성 등을 통하여 melanin 생성 을 촉진시키며 microphthalmia-associated transcription factor(MITF) 단백질의 발현을 증가시켜 tyrosinase 유전자 의 발현을 촉진하는 것으로 알려져 있다(30,31). Park 등(12) 의 연구에 의하면 B16 melanoma 세포에서 다시마 열수추출 물은 melanin 생성에 있어서 1, 10, 100 μg/mL 농도에서 농 도 의존적으로 억제시켰다. 이에 본 연구에서는 B16BL6 melanoma 세포에 α-MSH를 처리하여 melanin의 형성을 촉 진시키는 melanogenesis 과정을 유도한 후 감마선 조사 과 정을 통하여 얻은 미역귀 조다당 추출물의 처리가 melanin 생성과정에 미치는 변화를 관찰하였다. 감마선 조사구 및 비조사구에 대한 melanin 생성 억제 측정 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 무처리군(non-treated group)에 비하여 αMSH 처리군에서 melanin의 농도가 유의적(p<0.05)으로 증가한 것으로 보아 a-MSH에 의한 melanogenesis가 성공적으로 유도되었음을 보여준다. 또한 양성대조구로 사용한 kojic acid 처리 그룹에서 melanin의 생성량이 유의적(p<0.05)으로 감소되는 것으로 관찰되었으며, 미역귀 조다당 추출물을처리한 모든 그룹에서 a-MSH 처리군보다 melanin의 생성량이 유의적으로 감소되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나방사선 조사선량에 따른 melanin 생성량의 변화는 관찰되지않았다. 이러한 결과로 미루어 보아 감마선 조사구는 비조사구와 비슷한 melanin 생성 억제 효과를 나타내는 것으로 사료되며, 수율로 생기는 이득을 고려하였을 때 산업적 측면에서 보다 긍정적인 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

#### 요 약

본 연구에서는 해조류에 대한 방사선의 영향 평가에 관하여 알아보기 위하여 감마선 조사된 미역귀로부터 추출된 조다당의 추출수율 및 미백활성에 관하여 관찰하였다. 미백활성은 melanin 합성에 중요하게 작용하는 tyrosinase 억제활성과 melanocyte의 melanin 생성 억제능을 평가하였다. 실험결과, 방사선의 조사는 선량 의존적으로 조다당의 추출수율을 증가시키고, tyrosinase 억제활성 및 α-MSH로 melanin을 과생성 시킨 B16BL6 melanoma 세포내 melanin 생성 억제활성을 유지시켜 주는 것으로 나타났다. 이러한결과로 미루어 보아 감마선의 조사는 미백활성을 갖는 미역귀 조다당을 얻기 위한 효과적인 방법이며, 미백 산업 분야에서도 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 교육과학기술부 원자력연구개발사업 및 한국 원자력연구원 기본사업을 통해 수행되었으며, 그 지원에 감 사드립니다.

#### 문 헌

 Lerner AB, Fitzpatrick TB. 1950. Biochemistry of melanin formation. *Physiol Rev* 30: 91–126.

- 2. Swan GA. 1974. Structure, chemistry, and biosynthesis of the melanins. Fortschr Chem Org Naturst 31: 521–582.
- Korner A, Pawelek J. 1982. Mammalian tyrosinase catalyzes three reactions in the biosynthesis of melanin. Science 217: 1163–1165.
- Lim JT. 1999. Treatment of melasma using kojic acid in a gel containing hydroquinone and glycolic acid. *Dermatol* Surg 25: 282-284.
- Palumbo A, d'Ischia M, Misuraca G, Prota G. 1991.
  Mechanism of inhibition of melanogenesis by hydroquinone. Biochim Biophys Acta 1073: 85–90.
- Shin NH, Ryu SY, Choi EJ, Kang SH, Chang IM, Min KR, Kim Y. 1998. Oxyresveratrol as the potent inhibitor on dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochem Biophys Res Commun* 243: 801–803.
- Liu SJ, Pan IH, Chu IM. 2007. Inhibitory effect of p-hydroxybenzyl alcohol on tyrosinase activity and melanogenesis. *Biol Pharm Bull* 30: 1135–1139.
- 8. Park HY, Lim CW, Kim YK, Yoon HD, Lee KJ. 2006. Immunostimulating and anticancer activities of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 343–348.
- Cumashi A, Ushakova NA, Preobrazhenskaya ME, D'Incecco A, Piccoli A, Totani L, Tinari N, Morozevich GE, Berman AE, Bilan MI, Usov AI, Ustyuzhanina NE, Grachev AA, Sanderson CJ, Kelly M, Rabinovich GA, Iacobelli S, Nifantiev NE. 2007. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. Glycobiology 17: 541-552.
- Angstwurm K, Weber JR, Segert A, Burger W, Weih M, Freyer D, Einhaupl KM, Dirnagl U. 1995. Fucoidin, a polysaccharide inhibiting leukocyte rolling, attenuates inflammatory responses in experimental pneumococcal meningitis in rats. Neurosci Lett 191: 1-4.
- Choi JH, Kim IS, Kim JI, Yoon TH. 1992. Studies on anti-aging action of brown algae (*Undaria pinnatifida*) 2.
  Dose effect of alginic acid as modulator of anti-aging action in liver membranes. *Bull Korean Fish Soc* 25: 181-188.
- Park YJ, Yoon MY, Lim HW, Lee JY, Kim CJ, Sim SS. 2004. Effect of hot-water extracts from *Laminaria japoni-cus* on melanin production in B16 melanoma cells. *J Pharm Soc Korea* 48: 374–378.
- Park SY, Jung YH, Shin MO, Jung BM, Bae SJ. 2005. Effects of antimicrobial and cytotoxicity of *Undaria pinna-tifida* sporophyll fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 765–770.
- 14. Li B, Lu F, Wei X, Zhao R. 2008. Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules* 13: 1671–1695.
- Jung SH, Ku MJ, Moon HJ, Yu BC, Jeon MJ, Lee YH. 2009. Inhibitory effects of fucoidan on melanin synthesis and tyrosinase activity. *Journal of Life Science* 19: 75–80.
- Koo JG, Jo KS, Do JR, Woo SJ. 1995. Isolation and purification of fucoidans from *Laminaria religiosa* and *Undaria pinnatifida* in Korea. *J Korean Fish Soc* 28: 227–236.

- 17. Byun MW. 1994. Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisotope News* 9: 32–37.
- Byun EH, Kim JH, Sung NY, Choi JI, Lim ST, Kim KH, Yook HS, Byun MW, Lee JW. 2008. Effects of gamma irradiation on the physical and structural properties of βglucan. *Radiat Phys Chem* 77: 781–786.
- 19. Kim JH, Sung NY, Kwon SK, Srinivasan P, Song BS, Choi J, Yoon Y, Kim JK, Byun MW, Kim MR, Lee JW. 2009. γ-Irradiation improves the color and antioxidant properties of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract. *J Med Food* 12: 1343-1347.
- Cho HO, Lee SR. 1974. Effectiveness of gamma irradiation on the extraction of algal polysaccharides. Korean J Food Sci Technol 6: 36–41.
- 21. Flurkey WH. 1991. Identification of tyrosinase in mushrooms by isoelectric focusing. *J Food Sci* 55: 93–95.
- 22. Lee NY, Jo C, Sohn SH, Kim JK, Byun MW. 2006. Effects of gamma irradiation on the biological activity of green tea by product extracts and a comparison with green tea leaf extracts. J Food Sci xt: 2ct-274.
- Kim HJ. 2009. Improvement of extraction process and physiological activities of polysaccharides from low-grade *Undaria pinnatifida* by gamma irradiation. *PhD Dissertation*. Chungnam National University, Daejeon, Korea. p 54-58.
- 24. WHO. 1999. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with dose above 10 kGy. WHO Technical report series. Geneva, Switzerland.
- Harrison K, Were LM. 2007. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. Food Chem 102: 932–937.
- Yang B, Zhao M, Jiang Y. 2008. Optimization of tyrosinase inhibition activity of ultrasonic-extracted polysaccharides from longan fruit pericarp. Food Chem 110: 294–300.
- 27. Busca R, Ballotti R. 2000. Cyclic AMP a key messenger in the regulation of skin pigmentation. *Pigment Cell Res* 13: 60–69.
- Kreiner PW, Gold CJ, Keirns JJ, Brock WA, Bitensky MW. 1973. Hormonal control of melanocytes: MSH-sensitive adenyl cyclase in the Cloudman melanoma. Yale J Biol Med 46: 583-591.
- 29. Tada A, Suzuki I, Im S, Davis MB, Cornelius J, Babcock G, Nordlund JJ, Abdel-Malek JA. 1998. Endothelin-1 is a paracrine growth factor that modulates melanogenesis of human melanocytes and participates in their responses to ultraviolet radiation. *Cell Growth Differ* 9: 575–584.
- 30. Friedmann PS, Wren F, Buffey J, Macneil S. 1990. Alpha-MSH causes a small rise in cAMP but has no effect on basal or ultraviolet-stimulated melanogenesis in human melanocytes. *Br J Dermatol* 123: 145-151.
- 31. Hunt G, Todd C, Cresswell JE, Thody AJ. 1994. Alphamelanocyte stimulating hormone and its analogue Nle4DPhe7 alpha–MSH affect morphology, tyrosinase activity and melanogenesis in cultured human melanocytes. *J Cell Sci* 107: 205–211.

(2011년 1월 5일 접수; 2011년 4월 27일 채택)