

감마선 및 전자선 조사에 따른 톳 자숙액 에탄올 추출물의 색상 및 생물학적 활성 변화 비교

최종일*, 김현주

The Comparison of Color and Physiological Properties of *Hizikia fusiformis* Cooking Juice Ethanol Extract Irradiated with Gamma Ray and Electron Beam

Jong-il Choi* and Hyun-Joo Kim

접수: 2012년 5월 21일 / 게재승인: 2012년 6월 11일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: This study was carried out to assess the effect of radiation on the changes of *Hizikia fusiformis* cooking juice ethanol extract and to compare the effect of gamma ray and electron beam. On the applying radiation, the dark color of cooking juice became changed with higher brightness and lower redness and yellowness. But, there was no difference between gamma ray radiation and electron beam radiation. 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory activity of cooking juice were shown to be increased by radiation independent on the radiation source types. The reason for the increased biological activities was caused by higher content of total phenolic compounds. The results could be applied to investigate the effect of radiation source on the color and antioxidant activity of biomaterials, and it was thought that irradiation could be an promising method for enhancing the biological activity of biomaterials.

Keywords: Gamma ray, Electron beam, Cooking juice, Radical scavenging activity, Tyrosinase inhibitory activity, Phenolic content

한국원자력연구원 첨단방사선연구소
Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy
Research Institute, 1266 Sinjeong-dong, Jeongseup 580-185, Republic
of Korea
Tel: +82-63-570-3210, Fax: +82-63-570-3149
e-mail: choiji@kaeri.re.kr

1. 서론

삼면이 바다로 둘러싸인 우리나라는 예로부터 다양한 수산물들이 다량으로 소비되어 왔다. 이 중에서 해조류는 미네랄, 비타민, 식이섬유 등이 균형 있게 분포되어 대사 작용 개선 효과가 있으며, 최근에는 해조류의 생리 활성물질에 관한 연구가 성행하여 항균, 항암, 항산화 물질에 관한 연구가 이루어져 기능성식품 및 약품개발 소재로서 주목받고 있다. 특히 톳 (*Hizikia fusiformis*)은 독특한 맛과 함께 칼슘, 비타민 A 및 식이섬유소 함량이 풍부하여 당뇨병, 고혈압 예방, 대장암 및 변비 등에 효과가 좋으며 요오드 성분 함량이 많아 갑상선 암 및 각기병 예방에 효과가 있다고 알려져 있다 [1].

톳, 미역, 참치, 고등어, 굴, 오징어, 문어 및 멸치 등과 같은 수산물의 통조림 및 건제품 가공과정에서는 부산물로서 다량의 자숙액이 발생되며, 이들 자숙액의 대부분은 폐기물로 처리되거나 일부는 저가의 조미료 재료나 식품 중간 소재로 이용되고 있다. 자숙액에는 수산 원료에 포함된 탄수화물, 단백질을 비롯한 기능성 생물 활성 물질이 추출되어 함유되어 있다 [2]. 이러한 폐액은 생물학적 산소 요구량의 증대와 같은 해양 환경에 중요한 영향을 미칠 수 있어 자숙액의 회수 및 이용은 폐기 자원의 이용이라는 측면 뿐 만 아니라 환경 보호의 측면에서도 매우 필요하다 [3].

식품 산업 및 공중 보건에서 최종 산물의 안전한 저장 및 유통을 보장하기 위한 방법으로 방사선 조사기술의 이용이 구체적으로 증가하고 있다. 식품 조사에 이용되는 방사선은 크게 cobalt-60과 cesium-137 등의 방사선동위원소에서 방출

되는 감마선과 전자선 가속기에서 발생하는 전자(베타)선으로 나눌 수 있다. 감마선은 투과력이 강하여 처리물품을 완전 포장 후 bulk나 pallet 형태로 대량 처리 할 수 있는 반면, 전자선은 투과도가 감마선보다 약하지만 고에너지와 고선량에 의해 신속처리와 처리공정이 용이한 특징을 가지고 있다 [4].

최근 톳자속액의 감마선 조사에 따라 짙은 색상의 제거와 항산화능의 증가가 보고되었다 [5]. 따라서 본 논문에서는 톳자속액을 대상으로 감마선과 전자선을 같은 흡수선량으로 조사하였을 때의 색상의 변화와 항산화능, 그리고 tyrosinase 저해능의 비교하여 방사선 선종에 따른 생물 분자의 영향을 비교하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료 및 방사선 조사

본 연구에서 사용한 톳 자속액은 국내 수산업체에서 제공받아 사용하였다. 시료 내의 모래나 껍질과 같은 불순물을 제거하기 위하여 에탄올을 70%로 제조하여 시료와 70%에탄올을 톳 자속액의 경우 1 : 3 비율로 혼합한 후 간헐적으로 흔들어서 추출한 다음 톳 자속액 에탄올 추출물 상태에서 감마선 조사하였다 [5]. 실험에 사용된 용매들은 모두 시약용으로 구매하여 사용하였다.

감마선 조사는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 (Jeongeup, Republic of Korea) 내 선원 11.1 PBq, Co-60 감마선 조사시설 (point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온 (22±1°C)에서 시간당 10 kGy의 선량률로 10 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter (5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구 (IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다.

전자선 조사는 electron-beam accelerator (Model ELV-8, 2.5 MeV, Eb-Tech, Daejeon, Republic of Korea)를 이용하였다. 전자선 조사시 시료 두께에 따라 효과에 차이가 날 수 있으므로, Low density polyethylene bag에 톳 자속액 추출물을 넣어 3 mm 이하의 두께가 되도록 포장한 다음, 가속 전류 5 mA, velocity 10 m/min의 선량률로 총 흡수선량이 10 kGy가 되도록 조사하였다.

비조사구인 0 kGy는 동일한 온도효과를 얻기 위하여 감마선 조사시설 외부에 둔 후, 조사 직후 처리구와 함께 4°C 냉장고에 저장하였다.

2.2. 색도 측정

시료의 색도 변화를 관찰하기 위해 시료 10 mL를 지름 50 mm의 투명 용기에 넣은 후 color/color difference meter (Model CM-3500d, Minolta, Japan)를 이용하여 명도 (lightness, L*), 적색도 (redness, a*) 및 황색도 (yellowness, b*)를 측정하였다. 이 때 표준색은 L*값이 90.5, a*값이 0.4, b*값이 11.0인 calibration plate를 표준으로 사용하였다.

2.3. DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Blois [6]의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 1 mL에 0.2 mM 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) 1 mL을 넣고 교반한 후 30분 동안 실온에 정치한 다음 반응 용액을 분광광도계 (UV-1601PC)를 이용하여 517 nm에서 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음의 계산식에 의하여 계산되었다.

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

2.4. 총 페놀 함량 측정

톳 자속액 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법 [7]을 사용하여 분석하였다. 시료 0.1 mL에 Folin-Ciocalteu's reagent (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 0.2 mL을 첨가하고 23°C에서 1분간 유지시켰다. 그 후 5% Sodium carbonate 3 mL을 가하여 23°C에서 2시간 방치 후 분광광도계 (UV 1600 PC, Shimadzu)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid (Sigma)를 이용하여 검량곡선을 작성한 후 함량 계산에 활용하였다.

2.5. Tyrosinase 저해 활성 측정

Tyrosinase 활성저해 측정 방법은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 dopachrome을 비색법을 이용하여 측정하였다 [8]. Sigma사에서 구입한 mushroom tyrosinase (100 unit/mL)을 0.2 mL, 기질로서 DOPA 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 저해능 환산식은 다음과 같다.

$$\text{저해능(\%)} = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

A: 시료 자체의 흡광도

B: 시료 대신 70% ethanol을 첨가한 흡광도

C: 효소액 대신 증류수를 첨가한 흡광도

2.6. 통계 분석

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS software (version 10, 1970)에서 프로그램된 general linear model procedure를 수행하고 유의적인 차이가 보일 때 평균값 간의 차이를 Duncan의 multiple range test법을 사용하여 평가하였다 ($p < 0.05$).

3. 결과 및 고찰

3.1. 감마선 및 전자선의 색도 영향

감마선 및 전자선 조사된 톳 자속액 에탄올 추출물의 색도를 color/color difference meter를 사용하여 Hunter's color value

(L, a, b)를 측정하여 Table 1에 나타내었다. 색도 측정 결과 톳 자숙액에서는 10 kGy 선량의 방사선 조사에 따라 명도 (L)는 증가하였고, 적색도 (a)와 황색도 (b)는 감소함을 확인하였다. 하지만, 감마선 및 전자선의 선중에 따른 차이는 크게 없지만, 색도 수치상으로 전자선에 조사된 실험구에서 적색도 (a)와 황색도 (b) 값이 각각 1.64과 23.07로 감마선 조사구의 1.98과 24.14보다 색이 더 열게 나타나는 것이 확인되었다. Jo 등 [9]의 연구에 의하면 감마선 조사가 녹차 추출물의 DPPH 라디칼 소거능과 tyrosinase 저해 활성에 영향을 미치지 않고 녹차 추출물의 색상을 변화시킨다고 보고하였다. 방사선 조사에 의하여, 녹차 추출물의 명도는 증가하고, 적색도와 황색도는 감소하여 고유의 짙은 색상이 열어졌다. 이러한 명도의 증가는 방사선 조사에 의한 chlorophyll 구조의 파괴에 기인한다고 보고하였다. Kim 등 [10]의 울금과 강황 추출물에 대한 연구에서도 감마선 조사에 의해 명도를 증가시켰다고 보고하였다. Jeon 등 [11]은 방사선 조사에 의해 carotenoids계 색소의 일종인 fucoxanthin 색소의 파괴에 의해 갈조류 추출물의 적색도 및 황색도가 감소되면서 명도가 높아진다고 보고하였다.

Table 1. The change of Hunter's color values of cooking juice extract after the irradiation of gamma ray and electron beam

	0 kGy	Gamma ray (10 kGy)	Electron beam (10 kGy)
L	57.68 ± 0.11 ^{b1)}	80.98 ± 0.18 ^a	82.42 ± 0.13 ^a
a	13.49 ± 0.09 ^{a2)}	1.98 ± 0.12 ^b	1.64 ± 0.14 ^b
b	43.59 ± 0.12 ^a	24.14 ± 0.22 ^b	23.07 ± 0.25 ^b

¹⁾ Standard errors of the mean (n = 3)

²⁾ Different letters in the same row mean the values are statistically different.

3.2. 항산화 활성 평가

톳 자숙액 70% 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 측정 결과 톳자숙액 에탄올 추출물의 전자공여능은 66.7%로 나타났다 (Fig. 1). 10 kGy 선량의 감마선 및 전자선 조사에 의해 톳 자숙액의 전자공여능은 각각 74.5%와 71.4%로 증가함을 알 수 있었다. 10 kGy의 감마선에 조사된 자숙액의 전자공여능이 전자선으로 조

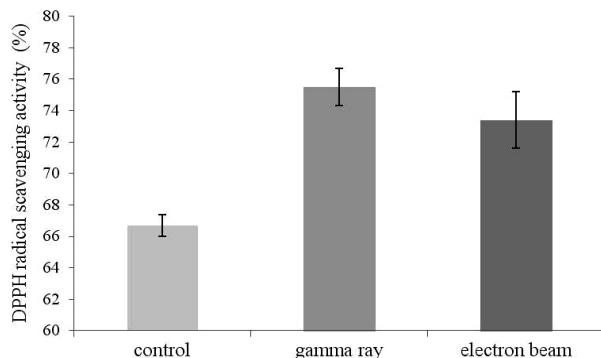


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity (%) of cooking juice extract after gamma ray irradiation and electron beam irradiation at the absorbed dose of 10 kGy.

사된 시료의 전자 공여능보다 높은 평균 값을 나타내었지만, 통계처리 결과 유의적인 차이 ($p > 0.05$)를 보이지 않았다.

Kim 등 [12]에 따르면 감마선 조사에 의해 비파 (*Eriobotrya japonica*) 메탄올 추출물의 환원력이 증가하는 경향을 보였다고 보고하였고, Shon 등 [13]은 민들레 (*dandelion*) 추출물에 감마선을 조사하였을 시 환원력이 증가한다고 보고하였다.

톳 자숙액의 감마선 및 전자선 조사에 따른 DPPH radical 소거능 증가 원인을 규명하기 위하여 총 페놀 함량을 측정하였다. 총 페놀 함량의 측정 결과, 톳 자숙액 추출물의 총 페놀 함량은 107.3 µg/mL로 측정되었으나, 10 kGy 선량의 감마선 조사 후 총 페놀 함량은 127 µg/mL로 증가하였으며, 같은 선량의 전자선 조사에 의해서도 이와 비슷한 총 함량을 가졌다 (Fig. 2). 따라서 감마선 및 전자선 조사에 따른 DPPH radical 소거능의 증가는 총 페놀 함량의 증가에 따른 것으로 사료되며 총 페놀 함량의 증가에 대한 선종의 차이는 없는 것으로 확인되었다. Kim 등 [14]은 Chaga 버섯 추출물이 감마선 조사될 경우, 항산화 활성이 증가되고, 총 페놀 함량 또한 증가한 것을 보고하였다. 이러한 총 페놀 함량의 증가는 감마선 조사에 의하여 glycosidic conjugate로부터 페놀 화합물이 분리되거나, 고분자의 페놀 화합물의 저분자화에 기인한 것으로 보고되었다 [15]. 따라서 톳 자숙액 추출물의 경우에서도, glycosidic conjugated 형태나 거대 분자의 페놀 화합물이 방사선 조사에 의하여 분리되거나 저분자화되어 페놀 함량 측정 과정에서의 추출 수율이 증가된 것으로 사료된다.

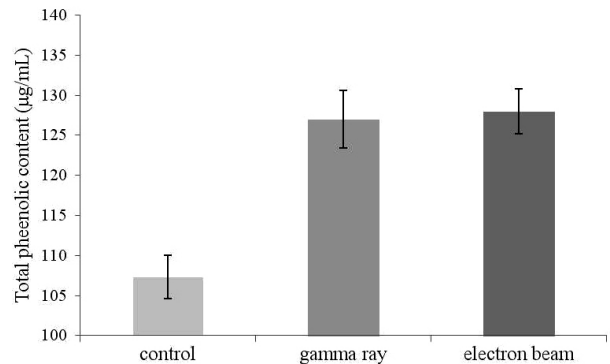


Fig. 2. Total phenol content (µg/mL) of cooking juice extract after gamma ray irradiation and electron beam irradiation at the absorbed dose of 10 kGy.

3.3. Tyrosinase 저해능 활성 평가

Tyrosinase는 피부 기저층에 있는 melanocyte의 melanosome에서 tyrosine 혹은 dopa를 기질로 하여 피부의 색소 성분인 melanin을 생합성 하는데 있어서 key enzyme으로 작용하는 효소이다 [16]. 자숙액 내에 존재하는 tyrosinase 저해 활성 물질은 melanocyte cell의 tyrosinase 효소 활성을 저해하여 melanin 합성을 저해하고, 결과적으로 melanin 합성을 막는다. 톳 자숙액 에탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 Fig. 3에 나타난 바와 같이 65.3%로 나타났으며, 활성은 감마선 또는 전자선 조사에 의해 증가함을 확인 하였다. 10 kGy의 감마선 조사 결과 톳 자숙액의 tyrosinase 저해능은 81.1%로 증가하였다. 같은 선량의 전자선 조사 결과 tyrosinase

저해능은 85.6%로 나타났다. 하지만, 감마선 조사에 따른 증가와 전자선 조사에 따른 증가는 통계적으로 유의한 차이 ($p > 0.05$)를 보이지는 않았다. Byun 등 [17]은 Flavonoids와 같은 페놀 화합물이 tyrosinase 저해 활성에 관련된 물질이라고 보고하였다. 따라서 방사선 조사에 의해 증가된 페놀 화합물의 함량으로 인하여 tyrosinase의 저해능이 증가한 것으로 사료된다.

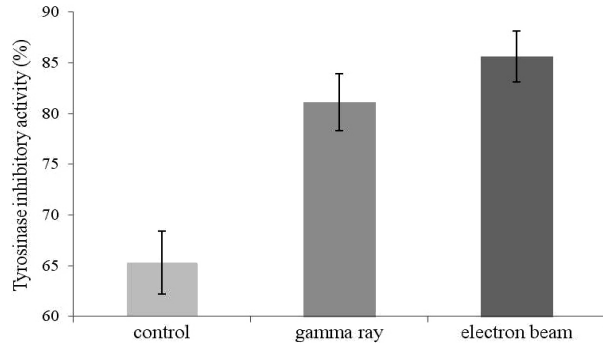


Fig. 3. Tyrosinase inhibitory activity (%) of cooking juice extract after gamma ray irradiation and electron beam irradiation at the absorbed dose of 10 kGy.

4. 결론

본 연구에서는 감마선 및 전자선의 톳 자숙액에 대한 영향을 비교하였다. 감마선이나 전자선과 같은 이온화 방사선은 피 조사체의 구성 성분에 대한 작용에 큰 차이를 나타내지 않는 것으로 보고되어 있으나 [4], 물의 함량이 높고, 활성 성분의 농도가 낮은 자숙액 추출물과 같은 물질에 미치는 영향은 충분히 연구되어야 한다. 감마선 및 전자선 조사 결과 톳 자숙액의 짙은 색상은 밝아지는 것으로 확인하였으며, 선종에 따른 차이는 없는 것으로 확인되었다. 방사선 조사에 의한 톳 자숙액의 기능성 영향을 확인한 결과 DPPH radical 소거능은 방사선 조사에 따라 증가하였으며, 이는 추출된 총 페놀 함량의 증가에 따른 것으로 사료된다. 또한 톳 자숙액이 갖는 미백효과를 측정하기 위하여 tyrosinase 저해능도 방사선 조사에 의하여 증가하였다. 하지만 감마선과 전자선의 선간의 차이는 없는 것으로 확인되었다. 이러한 결과들은 감마선과 전자선의 생물 분자에 대한 영향 연구의 기초 자료로서 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사

본 연구는 한국원자력연구원 기본연구사업 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Arasaki, S. and T. Arasaki (1983) *In vegetables from the sea.*

Japan Publications Inc., Tokyo.

2. Oh, H. S., K. T. Kang, H. S. Kim, J. H. Lee, S. J. Jee, J. H. Ha, J. S. Kim, and M. S. Heu (2007) Food component characteristics of seafood cooking drips. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 595-602.

3. Choi, J. H. J. Kim, N. Y. Sung, E. B. Byun, J. H. Kim, B. S. Chun, D. H. Ahn, K. Y. Cho, M. W. Byun, and J. W. Lee (2008) Changes of the protein contents of seafood cooking drips by gamma irradiation. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 23: 489-493.

4. Byun, M. W., J. H. Seo, J. H. Kim, M. R. Kim, N. S. Oh, and J. W. Lee (2004) The comparison of a conformational alteration of ovalbumin irradiated with radiation of gamma and electron beam. *J. Korean Soc. food Sci. Nutr.* 33: 1169-1174.

5. Choi, J. Y. J. Kim, J. H. Kim, Y. Yoon, B. S. Song, B. S. Chun, D. H. Ahn, J. Y. Lee, and J. W. Lee (2010) Study on the changes in physicochemical properties of seafood cooking drips by gamma ray irradiation. *J. Radiat. Ind.* 4: 53-57.

6. Blois, M. S. (1958) Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.

7. Subramanian, K. N., G. Padmanaban, P. S. Sarma (1965) Folin-ciocalteu reagent for the estimation of siderochromes. *Anal. Biochem.* 12: 106-112.

8. Kubo, I. and I. Kinst-Hori (1999) Tyrosinase inhibitory activity of the olive oil flavor compounds. *J. Agri. Food Chem.* 47: 4574-4578.

9. Jo, C., J. H. Son, and M. W. Byun (2003) Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extracts. *Radiat. Phys. Chem.* 66: 179-184.

10. Kim, J. K., C. Jo, J. H. Hwang, H. J. Park, Y. J. Kim, and M. W. Byun (2006) Color improvement by irradiation of Curcuma aromatica extract for industrial application. *Radiat. Phys. Chem.* 75: 449-452.

11. Jeon, T. W., J. H. Park, M. G. Shin, K. H. Kim, and M. W. Byun (2003) Effects of gamma-irradiation on biological activities and color changes of extracts of *Schizandrae fructus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 137-142.

12. Kim, H. J., C. Jo, T. H. Kim, D. S. Kim, M. Y. Park, and M. W. Byun (2006) Biological evaluation of the methanolic extract of *Eriobotrya japonica* and its irradiation effect. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 684-690.

13. Sohn, S. H., C. Jo, M. J. Oh, C. B. Sohn, and M. W. Byun (2006) Studies on the changes of biological activity and physicochemical characteristics of gamma irradiated dandelion extracts. *Food Eng. Pro.* 10: 40-47.

14. Kim, J. H. N. Y. Sung, S. K. Kwon, P. Srinivasan, B. S. Song, Y. Yoon, J. Choi, J. K. Kim. M. W. Byun, M. R. Kim, and J. W. Lee (2009) r-Irradiation improves the color and antioxidant properties of chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract. *J. Med. Food* 12: 1343-1347.

15. Harrison, K. and L. M. Were (2007) Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. *Food Chem.* 102: 932-937.

16. Yang, B., M. Zhao, and Y. Jiang (2008) Optimization of tyrosinase inhibition activity of ultrasonic-extracted polysaccharides from longan fruit pericarp. *Food Chem.* 110: 294-300.

17. Byun, M. W., C. Jo, T. W. Jeon, and C. H. Hong (2004) Effects of gamma irradiation on color characteristics and biological activities of extracts of *Lonicera japonica* (Japanese honeysuckle) with methanol and acetone. *Lebensm. Wiss. Technol.* 37: 29-33.