

## Cytotoxic and Antioxidant Activities of Abalone (*Haliotis discus hannai*) Extracts

Sun Young Lim\*

Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime and Ocean University, Busan 606-791, Korea

Received February 22, 2014 / Revised June 27, 2014 / Accepted July 15, 2014

The objective of this study was to investigate the fatty acid composition of raw and dried abalone (*Haliotis discus hannai*) and to determine the effect of abalone extracts on cytotoxic activity and antioxidant properties. Dried abalone was extracted with acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH), and the extracts were fractionated using *n*-hexane, 85% aq. methanol (MeOH), butanol (BuOH), and water. Cytotoxic activity against HT-29 cancer cell lines was determined using the 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Antioxidant activity was measured using a fluorescence sensitive dye, 2'-7' dichlorofluorescein-diacetate (DCFH-DA). The fatty acid composition of dried abalone was higher (22:6n-3) than that of raw abalone, and it had a lower percentage of 20:4n-6 than raw abalone. Analysis of cell viability showed that the crude extract treatments and fractions were cytotoxic, suppressing the growth of HT-29 cancer cell lines ( $p < 0.05$ ). The A+M extract showed a higher cytotoxic effect on the growth of HT-29 cells compared to the MeOH extract. Among the fractions, the 85% aq. MeOH fraction showed the strongest cytotoxicity against the growth of HT-29 cells. The highest activity in terms of scavenging reactive oxygen species (ROS) was likewise obtained with the use of 85% aq. MeOH. Our results suggest that the 85% aq. MeOH fraction has a potent inhibitory effect on the proliferation of human cancer cells.

**Key words** : Abalone, cytotoxicity, fatty acid composition, human cancer cell, reactive oxygen species

### 서 론

전복(*Haliotis discus hannai*)은 복조류에 속하는 수산생물로 비타민 B1 및 B2가 많고 칼슘, 인 등의 미네랄과 타우린이 풍부한 해산물로 우리나라에서는 전통적으로 강장과 신장을 보호하며 눈을 맑게 하고 위를 열어주며 해수를 다스리고 피로 회복, 자양강장 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있어 건강식으로 애용되고 있다[10]. 과거에는 전복이 고급 어패류로 인식되어 전복 가격이 비싼 편이라 보편화되지 못한 실정이었다. 그러나 우리나라 남해안은 최고의 청정지역으로서 수온과 파도 등 모든 해양조건이 해상양식에 매우 좋고 특히 완도는 해저 지질이 맥반석 지질로서 전복의 먹이인 미역 및 다시마의 최고 산지로 자연산에 버금가는 양식전복을 대량으로 생산하고 있다. 2006년에 우리나라는 약 2,180톤의 전복을 생산하여 그 중 약 18%에 해당하는 402톤을 일본에 수출하였고 2007년에는 생산량이 급증하여 총 4,547톤을 생산하였다. 그 중에서 완도에서는 전국 생산량의 95%에 해당하는 3,464톤을 생산하였다. 2012년에는 6,564톤의 전복이 생산되고 있으며 주로 활

전복 형태로 거의 일본에 수출되고 있어 우리나라는 중국, 호주에 이어 제3위의 전복 생산 국가이다[12].

오래 전부터 전복에 관한 연구가 이루어지고 있는데 대부분은 전복의 양식기술 및 사료개발[15, 18, 24]에 관한 것이 많고 식품으로서 전복에 관한 연구도 전복을 이용한 가공에 관한 연구로 응용 전복추출물의 최적 제조조건 및 품질특성[22], 전복과 다시마 추출물을 첨가한 김치의 발효 특성[17], 고추장 숙성 전복의 제조와 이화학적 특성에 관한 연구[11], 전복물김치의 발효특성 및 영양성분의 변화[6] 등이 있다. 하지만 전복의 기능성과 성분에 대한 연구는 거의 없는 실정이므로 본 연구에서는 예로부터 보양식으로 섭취되어 왔으나 최근 과잉 생산되고 있는 전복의 소비를 촉진하기 위하여 동결건조기를 이용하여 전복을 건조하고 건조된 전복의 지방산을 분석하였고 세포독성 활성 및 세포 내 활성산소종 생성 억제 효과를 측정하여 전복의 생리활성을 알아보고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 재료

본 실험에 사용된 전복은 참전복(*Haliotis discus hannai*)으로 2013년 7-8월에 완도에서 생산된 것으로 길이는 평균 7 cm인 양식전복을 사용하였다. 전복은 내장을 제거하고 육질 깨끗이 세척한 후 동결건조기(Freeze drying DC400, Yamato Sci. Co. Ltd, Tokyo, Japan)를 이용하여 건조시켰다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-4750

E-mail : sylim@kmou.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### 추출 및 분획

건조된 전복은 실험 사용 전까지  $-75^{\circ}\text{C}$ 의 deep freezer (NF-400SF, NIHON FREEZER, Tokyo, Japan)에 냉동 보관하였다가 acetone:methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 건조 전복이 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은  $40^{\circ}\text{C}$  수욕상에서 rotary vacuum evaporator (N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하여 acetone/methylene chloride 추출물(A+M)을 얻었다. A+M 용매로 추출되지 않은 성분을 methanol (MeOH)로 추출하고 남은 잔사물에 A+M와 동량의 MeOH로 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 MeOH 분획물을 얻었다. 두 용매로부터 최대 수득한 추출물을 혼합하여 다시 용매극성에 따라 순차적으로 분획하여 *n*-Hexane, 85% aqueous MeOH (85% aq. MeOH), *n*-butanol (*n*-BuOH) 및 water 분획물을 얻었다. 실험에는 각각의 추출물들을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 세포배지로 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

### 지질 및 지방산 추출

지질추출은 Folch 등[5]의 방법을 변형하여 실시하였으며 간단히 요약하면 다음과 같다. 전복은 5% butyl hydroxy toluene (BHT) 함유 methanol로 균질화하였다. 균질물을 1 ml 취한 후 chloroform 2 ml와 0.2 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.4 ml를 넣고 교반하여  $4^{\circ}\text{C}$ , 195.2 g에서 3분간 원심분리(Combi-514R, Hanil Sci. Industrial, Incheon, Korea) 후 지질층을 얻었다. 이와 같은 방법을 한번 더 진행한 뒤 질소가스를 이용하여 지질층의 유기용매를 완전히 날린 다음 지질을 얻었다. Morrison과 Smith의 방법[19]에 따라 추출된 지질에 methylation용 시약인 14% boron trifluoride ( $\text{BF}_3$ ) methanol 1 ml와 *n*-hexane 0.4 ml를 가한 후 1시간 동안  $100^{\circ}\text{C}$ 에서 가열하였다. 1시간 후 실온까지 충분히 냉각시킨 다음 *n*-hexane 2 ml와 증류수 2 ml를 가한 후 다시  $4^{\circ}\text{C}$ , 195.2 g에서 3분간 원심분리 후 상등액을 얻었다. 이 상등액을 질소가스를 이용하여 유기용매를 날린 후 얻은 지방산은 지방산 분석 전까지  $-75^{\circ}\text{C}$  deep freezer에 보관하였다.

### Gas chromatography를 이용한 지방산 분석

시료에서 분리된 지방산을 1  $\mu\text{l}$  취하여 지방산 분석용 gas chromatography (CP-3380, Varian, Santa Clara, USA)에 주입하여 지방산을 분석하였다[21]. 지방산 분석에 사용한 표준용액은 미국 NU-CHEK-PREP사(Elysian, USA)의 462 standard였으며, 이용된 column은 silica capillary column (CP-7856, 60 m  $\times$  0.32 mm inner diameter  $\times$  0.10  $\mu\text{m}$  film thickness) (Varian, Santa Clara, USA)이다. 기기의 분석조건은 injector  $250^{\circ}\text{C}$ , detector (FID)  $250^{\circ}\text{C}$ , oven (initial  $130^{\circ}\text{C}$ , 분당증가율은  $175^{\circ}\text{C}$ 까지  $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $210^{\circ}\text{C}$ 까지  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $245^{\circ}\text{C}$ 까지  $30^{\circ}\text{C}/$

min), carrier gas는 헬륨을 사용하였다. 지방산 분석은 표준용액의 retention time과 비교하여 정성하였고, 내부표준물질 (22:3n-3, methyl ester)을 이용하여 총지방산을 정량하였으며 개개의 지방산들은 전체 peak area의 퍼센트로 산출하였다.

### 세포배양

한국세포주은행(Seoul, Korea)으로부터 인체 결장암세포 (HT-29)와 인체 섬유육종세포(HT-1080)를 분양 받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. HT-29 및 HT-1080 세포는 100 unit/ml의 penicillin-streptomycin (GIBCO, Gaithersburg, MD, USA)과 10% FBS (Hyclone, Logan, UT, USA)가 함유된 RPMI 1640 (GIBCO)을 사용하여  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  incubator (MCO-15AC, SANYO Electric Biomedical Co., Tokyo, Japan)에서 배양하면서 배양 중인 세포를 일주일에 2번 새로운 배지로 바꿔주었다. 일주일 후 Phosphate Buffered Saline (PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (GIBCO)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 cell culture flask에 10 ml씩 일정한 수로 분할하여 주입하고, 6-7일마다 계대배양 하면서 실험에 사용하였다.

### MTT assay

배양된 암세포는 96-well cell culture plate에  $5 \times 10^4$  cells/ml이 되도록 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하여  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  incubator에서 24시간 배양한 후 배지는 제거한 뒤 각 시료를 배지로 희석하여 각 well 당 100  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하고, 대조군에는 시료대신 PBS를 100  $\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 이 plate를 다시  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 후 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay [4]를 위하여 MTT 시약 5 mg을 PBS 1 ml로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 배지 9 ml와 희석하여 100  $\mu\text{l}$ 를 첨가하고 3-4시간동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후 각 well에 형성된 결정이 호트리지지 않도록 주의하면서 반응 후 남은 MTT가 처리된 배지를 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하여 5-10분간 반응시켜 microplate reader (VICTOR3, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 세포의 생존수와 비례한다.

### 세포 내 활성산소종(Reactive oxygen species) 측정

세포 내 활성산소종은 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) assay로 측정하였다[13]. DCFH-DA (Sigma, USA)는 세포 내 활성산소종과 반응하여 형광물질(dichlorofluorescein, DCF)을 만들어 내는 것으로 이 시약을 세포 속에

넣어 발생하는 형광을 측정함으로써 세포 내의 활성산소종을 측정할 수 있다. 세포를 96 well cell culture plate에 분주한 후 24시간 배양하고, PBS로 씻은 후 20 μM DCFH-DA을 각 well에 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 20분간 pre-incubation하였다. 각 well에 시료를 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 1시간 배양한 후, DCFH-DA을 없애고 세포는 다시 PBS로 씻은 후 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 시간별로 DCF fluorescence를 excitation 488 nm, emission 530 nm에서 microplate reader로 측정하였다. 대조군들(blank군과 control군)은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리를 하고, blank군은 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 대신 PBS를 처리하여 측정하였다.

**통계분석**

실험결과는 Mean ± SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었고 분석된 실험데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험자료로부터 ANOVA를 실시하여 95% 수준에서 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**전복의 지방산 조성**

생전복과 동결 건조된 전복의 지방산 조성을 비교하여 건조 전후 전복의 영양성분 차이를 비교해 보았다. Table 1은 지방산 조성을 나타낸 것으로 총 포화지방산(saturated fatty acids,

Table 1. Several fatty acid compositions (% area) of raw and dried abalone

	Raw abalone	Dried abalone
14:0	6.04±0.82	7.56±0.08
16:0	26.71±3.61	29.68±0.78*
18:0	7.46±0.40	6.12±0.19
20:0	3.84±0.57	3.76±0.02
Total SFA	44.35±3.62	47.42±0.97*
16:1n-7	1.16±1.01	1.42±0.01
18:1n-9	8.33±0.96	8.63±0.12
18:1n-7	8.13±2.67	9.39±0.13
20:1n-9	1.39±0.94	1.46±0.01
Total MUFA	25.70±1.68	24.19±0.26
18:2n-6	1.27±1.14	1.48±0.03
20:4n-6	11.69±0.26	8.25±0.114*
20:5n-3	6.68±0.09	6.25±0.03
22:4n-6	2.08±0.50	2.66±0.00
22:5n-3	6.10±0.48	5.65±0.03
22:6n-3	1.80±0.17	2.04±0.17
Total PUFA	30.27±2.00	26.91±2.00*

SFA, saturated fatty acids; MUFA, Monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; \**p*<0.05, significant between raw and dried abalone.

SFA)과 총 고도불포화지방산(polyunsaturated fatty acids, PUFA)의 함량에는 유의적 차이가 있었고 총 단일불포화지방산(monounsaturated fatty acids, MUFA)의 함량에는 생전복과 건조 전복에는 유의적 차이가 없었다. SFA 내에서는 16:0의 함량이 건조 전복에서 높았고 PUFA 내에서는 건조 전복 경우 낮은 함량의 20:4n-6와 높은 함량의 22:6n-3를 나타내었다. Bae 등[1]은 일본산 및 국내산 전복의 중금속 함량을 측정한 결과 일본산 및 국내산 전복의 수은, 납 및 카드뮴 함량은 한국식품 안전수치 미만으로 안전한 것으로 나타났다고 보고하였다. 또한 이들은 생산국에 따른 전복의 일반성분과 지방산 및 아미노산 함량을 비교한 결과 일본산 전복은 높은 함량의 조단백질과 낮은 함량의 회분은 나타내었다고 보고하였다. 지방산 조성의 경우 국내산 전복은 20:0, 22:1n-9 및 22:6n-3 함량이 높았고 아미노산 조성의 경우 일본산 전복이 유용 아미노산을 많이 함유하고 있다고 보고하였다. 본 연구에서도 일본산 전복과 비교했을 때 이상의 지방산들의 함량이 높았다. Li 등[16]은 한국에서 생산되는 전복의 영양성분을 비교한 결과 지역간의 전복의 일반성분과 미네랄 함량은 다소 차이가 있는 것으로 나타났으며 수은이 낮은 지역일수록 지방함량이 약간 높았다고 보고하였다. 또한 전복육의 지방산 조성은 불포화지방산이 약 41%로 포화지방산 약 31%에 비하여 높았으며 전복육보다 전복내장이 높은 결과를 보였다고 보고하였다.

**전복 추출물 및 분획물의 세포독성 효과**

MTT assay를 행하여 동결 건조시킨 전복 추출물 및 분획물의 HT-29 암세포에 대한 세포독성 효과를 살펴보았다. DMSO에 의한 독성은 값이 거의 변화하지 않았으므로 DMSO에 의한 독성은 세포의 생존율에 아무런 영향을 미치지 않았다. Fig. 1는 전복의 A+M 및 MeOH 추출물을 인체 결장암세포(HT-29)에 농도별로 처리했을 때 세포독성을 나타낸 것이다. 전복 A+M 추출물을 0.05 및 0.1 mg/ml 첨가농도로 처리했을 때 24%의 세포독성을 나타내었다(*p*<0.05). MeOH 추출물의 경우 A+M 추출물과 비교했을 때 세포독성 효과가 낮았다. 한편,

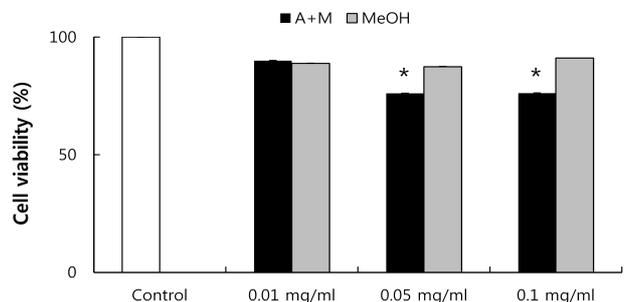


Fig. 1. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from abalone on the cell viability of HT-29 human colon cancer cells. \**p*<0.05, significant between the control and each extract.

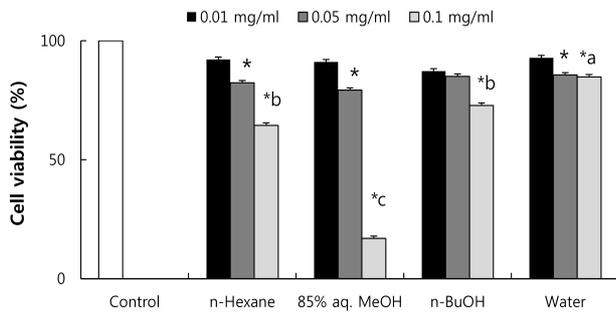


Fig. 2. Effect of solvent fractions from abalone extracts on the cell viability of HT-29 human colon cancer cells. Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  using Turkey's test. \* $p < 0.05$ , significant between the control and each extract; *n*-Hexane, *n*-hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, water fraction.

건조 전복의 각 분획물을 농도별로 HT-29 암세포에 처리하였을 때, 농도의존적으로 세포독성을 나타내었으며, 특히 85% aq. MeOH 분획물에 의한 세포독성활성이 가장 높았다(Fig. 2). 85% aq. MeOH 분획물의 경우 0.1 mg/ml 농도에서 83%의 높은 세포독성 효과를 나타내었으며 분획물들 중 유의적으로 세포독성 활성이 높았다( $p < 0.05$ ). *n*-Hexane 및 *n*-BuOH 분획물들의 경우, 같은 첨가농도에서 각각 36% 및 27%의 세포독성을 나타내었다. 따라서 전복의 85% aq. MeOH 분획물은 암세포에 세포독성을 가진 생리활성 물질을 함유하고 있는 것으로 사료된다. 전복의 기능성에 관한 연구는 거의 보고되지 못하고 있는 실정이며 그 희소성으로 인하여 가공식품 관련 기술도 거의 없으나 저장성이 확보되고 한방약제로 활용하고자 가장 기본적인 가공방법인 마른전복으로 가공하는 방법이 이용되고 있다. 하지만 전복의 효능과 기능성이 일부 고대문헌에 알려져 있고 이런 사실을 뒷받침할 만한 과학적 근거와 자료는 절대적으로 부족한 실정이다. Uchida 등[23]은 전복물 추출물로부터 얻어진 당단백질 분획물(22% 탄수화물과 44% 단백질로 구성)은 종양 증식을 크게 억제시켰다고 보고하

였다. 최근 Lee 등[14]은 전복 내장 추출물에 의한 유방암 종양 증식 및 전이 억제효과를 검토한 결과 전복 내장 추출물은 cyclooxygenase-2 (COX-2)의 발현을 억제시키고 CD8+ T 세포의 증식과 세포독성을 증진시켜 결과적으로 유방암 종양 생성과 폐로의 전이를 저해시켰다고 보고하였다.

**전복 추출물 및 분획물의 세포 내 활성산소종 생성 억제효과**

일반적으로 활성산소종은 superoxide를 비롯하여 hydrogen peroxide, hydroxyl radical, 알킬 과산화물 등을 포함하고 구조적으로 하나의 부대 전자를 가지므로 반응성이 매우 크고 불안정한 화합물을 말한다[2]. 따라서 본 연구에서는 전복 추출물 및 분획물을 인체 섬유육종세포(HT-1080)에 처리했을 때 세포 내 활성산소종 생성 저해 효과에 대해 살펴보았다. Fig. 3은 전복 A+M 및 MeOH 추출물들에 의한 활성산소종 생성 억제효과를 나타낸 것으로 A+M 추출물을 농도별로 처리했을 때 측정시간 120분 동안 500  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리한 control군 비해 세포 내 활성산소종을 억제시켰다. 그러나 MeOH 추출물은 0.01 mg/ml 낮은 농도에서는 억제효과가 없었다. Fig. 4는 전복 분획물들에 의한 활성산소종 생성 억제효과를 나타낸 것으로 분획물들 간 큰 차이는 없으나 85% aq. MeOH 분획물에 의한 생성 억제효과가 다소 높아 36%의 활성산소종 억제 효과를 나타내었다. Kim 등[8]은 전복육질과 내장의 추출방법에 따른 추출물의 항산화 효과를 연구한 결과 아질산염 소거활성으로 평가한 항산화 효과는 90% 에탄올 추출물의 경우 전복 육질과 내장은 농도증가에 따라 직선적인 증가경향을 나타내었고 육질에 비해 내장에 의한 소거활성 효과가 높았다고 보고하였다. 또한 수용성 추출물의 항산화 효과는 농도 증가에 따라 증가된 수준을 나타내었으나 육질과 내장에 큰 차이는 보이지 않았다고 보고하였다. Zhu 등[25]은 전복 내장으로부터 분리한 수용성 황 함유 다당류를 분리하여 항산화 효과를 살펴 본 결과 라디칼 소거활성, 환원력 및 금속 킬레이트 효과가 아주 우수하다고 보고하였다. 따라서 여러 연구들을 참고했을 때 전복의 항산화 및 항암효과는 전복의 주요 먹이

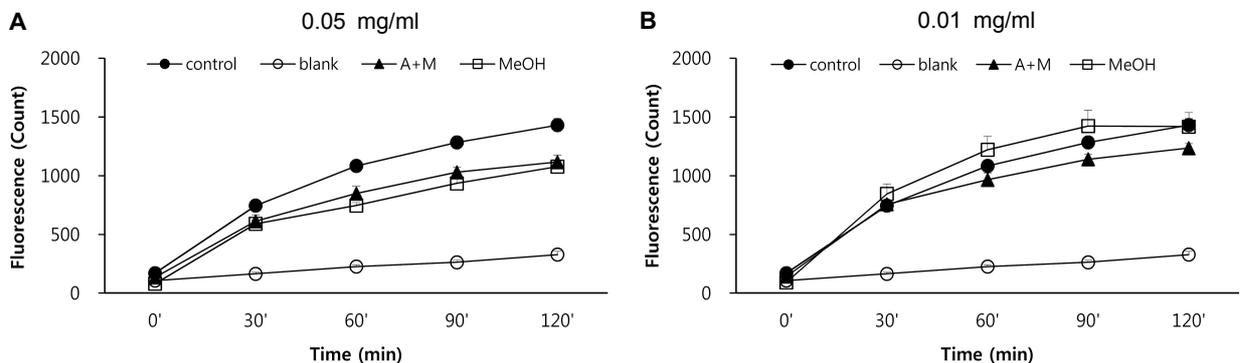


Fig. 3. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts (A, 0.05 ; B, 0.01 mg/ml concentrations) from abalone on the production of reactive oxygen species in HT-1080 human fibrosarcoma cells.

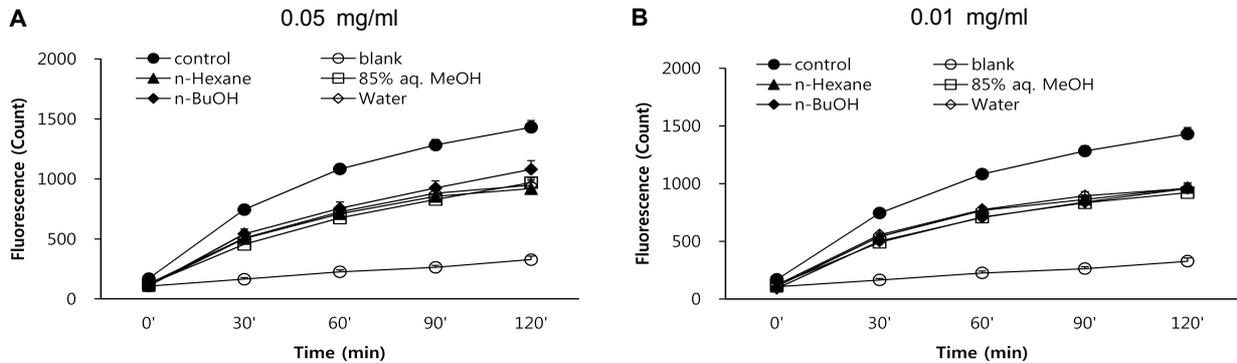


Fig. 4. Effect of solvent fractions (A, 0.05; B, 0.01 mg/ml concentrations) of abalone extracts on the production of reactive oxygen species in HT-1080 human fibrosarcoma cells. *n*-Hexane, *n*-hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, water fraction.

인 해조류에서의 결과와 유사함으로 해조류 중 갈조류의 탄닌계 및 지용성 항산화 물질과 홍조류의 페놀성 화합물 및 인돌계 항산화성 물질들이 상호복합적인 기능적 효과를 나타내는 것으로 설명될 수 있다[3, 7, 9, 20]. 따라서 본 연구 결과로부터 전복의 항산화 및 세포독성 효과는 85% aq. MeOH 분획물들 속에 있는 활성 성분과 관련이 있는 것으로 사료되며 향후 정제하여 규명할 필요가 있다.

### 감사의 글

본 과제(결과물)은 2013년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2013 R1A1A2004694)의 연구결과입니다.

### References

1. Bae, J. H., Yoon, S. H. and Lim, S. Y. 2011. A comparative of heavy metal contents and biochemical characteristics of Japanese (*Haliotis discus*) and Korean abalone (*Haliotis discus hannai*). *Food Sci Biotechnol* **20**, 273-276.
2. Cutler, R. G., Plummer, J., Chowdhury, K. and Heward, C. 2005. Oxidative stress profiling: Part II. Theory, technology, and practice. *Ann N Y Acad Sci* **1055**, 136-158.
3. Collic, S., Fischer, A. M., Tapon-Brethaudiere, J., Boisson, C., Durand, P. and Jozefonvicz, J. 1991. Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. *Thromb Res* **48**, 121-130.
4. Denizot, F. and Lang, R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* **89**, 271-277.
5. Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G. H. 1957. A Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* **226**, 497-509.
6. Jang, M. S., Park, H. Y. and Nam, K. H. 2012. Changes in nutrient composition and fermentation properties of abalone *mul-Kimchi* using dried pollack and licorice stock.

7. Jimenez-Escrig, A. and Goni Cambrodon, I. 1999. Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. *Arch Latinoam Nutr* **49**, 114-120.
8. Kim, H. L., Kang, S. G., Kim, I. C., Kim, S. J., Kim, D. W., Ma, S. J., Gao, T, Li, H., Kim, M. J., Lee, T. H. and Ham, K. S. 2006. *In vitro* anti-hypertensive, antioxidant and anti-coagulant activities of extracts form *Haliotis discus hannai*. *J Korean Soc food Sci Nutr* **35**, 835-840.
9. Kim, H. S. and Kim, G. J. 1998. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J Korean Soc food Sci Nutr* **27**, 718-723.
10. Kim, S. K. and Pallela, R. 2012. Medicinal foods from marine animals: Current status and prospects. *Adv Food Nutr Res* **65**, 1-9.
11. Koh, S., Kim, H. S., Cho, Y. C., Kang, S. G. and Kim, J. M. 2009. Preparation and physicochemical characteristics of abalone meat aged in *Kochujang*. *J Korean Soc food Sci Nutr* **38**, 773-779.
12. Korea Statistics (KOSTAT). 2013. Statistic database for fisheries production. Available from: <http://www.kostat.go.kr>.
13. Lebel, C. P., Ischiropoulos, H. and Bondy, S. C. 1992. Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem Res Toxicol* **5**, 227-231.
14. Lee, C. G., Kwon, H. K., Ryu, J. H., Kang, S. J., Im, C. R., Kim, J. I. and Im, S. H. 2010. Abalone visceral extract inhibit tumor growth and metastasis by modulating Cox-2 levels and CD8+ T cell activity. *BMC Complement Altern Med* **10**, 60.
15. Lee, S. M., Park, C. S. and Kim, D. S. 2001. Effects of dietary herbs on growth and body composition of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai*. *J Korean Fish Soc* **34**, 570-575.
16. Li, J., Kim, B. S. and Kang, S. G. 2013. Analysis and composition of general compositions, amino acids, fatty acids and collagen of abalone harvested in three different regions in Korea. *Korean J Food Preserv* **20**, 441-450.
17. Lim, J. H., Park, S. S., Jeong, J. W., Park, K. J., Seo, K. H. and Sung, J. M. 2013. Quality characteristics of *Kimchi* fer-

- mented with abalone or sea tangle extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **42**, 450-456.
18. Moon, S. Y., Yoon, H. S., Seo, D. C. and Choi, S. D. 2006. Growth comparison of juvenile abalone, in different culture systems in the west coast of Korea. *J Aquaculture* **19**, 242-246.
  19. Morrison, W. R. and Smith, L. M. 1959. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron-fluoride-methanol. *J Lipid Res* **5**, 600-608.
  20. Numata, A., Kanbara, S., Takahashi, C., Fujiki, R., Yoneda, M., Usami, Y. and Fujita, E. 1992. A Cytotoxic principle of the brown alga *Sargassum tortile* and structure of chromenes. *Phytochemistry* **31**, 1209-1213.
  21. Salem, M., Reyer, M. and Karanian, J. 1996. Losses of arachidonic acid in rat liver after alcohol inhalation. *Lipids* **31**, 153-156.
  22. Shin, E. S., Lee, K. A., Lee, H. K., Kim, K. B. W. R., Kim, M. J., Byun, M. W., Lee, J. W., Kim, J. H., Ahn, D. H. and Lyu, E. S. 2008. Effect of gain size and added water on quality characteristics of abalone porridge. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **37**, 245-250.
  23. Uchida, H., Sasaki, T., Uchida, N. A., Takasuka, N., Endo, Y. and Kamiya, H. 1987. Oncostatic and immunomodulatory effects of a glycoprotein fraction from water extract of abalone, *Haliotis discus hannai*. *Cancer Immunol Immunother* **24**, 207-212.
  24. Yoo, M. J. and Chung, H. J. 2007. Optimal manufacturing condition and quality properties of the drinking of disk abalone. *Korean J Food Culture* **22**, 827-832.
  25. Zhu, B. W., Wang, L. S., Zhou, D. Y., Li, D. M., Sun, L. M., Yang, J. F., Wu, H. T., Zhou, X. Q. and Tada, M. 2008. Antioxidant activity of sulphated polysaccharide conjugated from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino). *Euro Food Res Technol* **22**, 827-832.

## 초록 : 전복 용매 추출물의 세포독성과 항산화 활성

임 선 영\*

(한국해양대학교 해양환경생명과학부)

본 연구에서는 전복을 동결 건조시킨 후 전복의 지방산을 비교 분석하였고 세포독성 활성 및 세포 내 활성산소종 생성 억제 효과를 측정하여 전복의 생리활성을 알아보고자 하였다. 지방산 조성 변화를 살펴보면 포화지방산들 내에서는 16:0의 함량이 건조 전복에서 높았고 불포화지방산들 내에서는 건조 전복의 경우 낮은 함량의 20:4n-6와 높은 함량의 22:6n-3를 나타내었다. 전복 A+M 추출물을 0.05 및 0.1 mg/ml 첨가농도로 HT-29 암세포에 처리했을 때 24%의 세포독성 효과를 나타내었다( $p < 0.05$ ). MeOH 추출물의 경우 A+M 추출물과 비교했을 때 세포독성 효과가 낮았다. 건조 전복의 각 분획물을 농도별로 처리하였을 때, 농도의존적으로 세포독성 활성을 나타내었고, 특히 85% aq. MeOH 분획물에 의한 세포독성 활성이 가장 높았다( $p < 0.05$ ). 세포 내 활성산소종 생성 억제효과에서 낮은 농도에서는 MeOH 추출물보다는 A+M 추출물에 의한 저해효과가 높았으며 분획물들 간 큰 차이는 없으나 85% aq. MeOH 분획물에 의한 생성 억제효과가 다소 높아 36%의 활성산소종 억제효과를 나타내었다.