

Heavy Metal Contents and Antioxidant Activity and Cytotoxic Effect of Red Sea Bream (*Pagrus major*): Comparative Studies in Domestic and Imported Red Sea Bream (*Pagrus major*)

Seong Yeon Hwang¹, Jin Han Bae² and Sun-Young Lim^{1*}

¹Division of Marine Bioscience, Korea Maritime and Ocean University, Busan 606-791, Korea

²Busan Regional Food & Drug Administration, Ministry of Food and Drug Safety, Busan 614-720, Korea

Received January 13, 2015 / Revised February 10, 2015 / Accepted February 12, 2015

This study compared the heavy metal contents and the effects of extracts from domestic and imported red sea bream on the antioxidant activity and cytotoxicity of human cancer cell lines. The antioxidant activity was measured using the fluorescently sensitive dye, 2',7'-dichlorofluorescein-diacetate (DCFH-DA), and antiproliferative activity against AGS human gastric adenocarcinoma and HT-29 human colon cancer cell lines, which was determined by the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Domestic red sea bream had a higher mercury content when compared to imported red sea bream, but there was no significant difference in the lead content. Treatments with acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from domestic and imported red sea bream dose-dependently decreased the H₂O₂ induced ROS production, compared to the control. The cell viability showed that treatments with the A+M and MeOH extracts had cytotoxicity in the growth of AGS and HT-29 cancer cells. In the case of AGS, the extracts from the domestic red sea bream were higher in inhibiting cancer cell growth, compared to imported red sea bream. Our results demonstrate that the heavy metal contents of domestic and imported red sea bream were below the limit of the Food Code of Korea. The results of the biological activities indicate that the antioxidant activity of extracts from imported red sea bream was more effective, while the extracts from the domestic red sea bream were stronger in cytotoxic activity.

Key words : Antioxidant, cytotoxicity, heavy metals, reactive oxygen species, red sea bream

서론

삼면이 바다로 둘러싸인 우리나라에 있어서 수산식품이 우리의 식생활에서 차지하는 비중은 상당히 크며, 특히 동물성 단백질의 공급원으로서 매우 중요하여, 최근 어류의 소비가 전 세계적으로 증가하는 경향을 보이고 있다[11]. 참돔(*Pagrus major*)은 대표적인 흰살 생선으로서 농어목 도미과 참돔속에 속하는 어종으로 체장이 최대 100 cm 정도로 암컷보다 수컷의 성장이 빠른 것으로 알려져 있다[9]. 참돔은 우리나라의 경우 남해, 서해 및 동해의 수심 10~200 m 바닥의 기복이 심한 암초지역에 두루 분포하고 있다[9]. 돔의 국내생산량은 국내 양식 기술 발달과 소비증가에 따라 2006년에서 2011년 사이에 13,498톤에서 17,437톤으로 생산량이 증가하였으며, 참돔 또한 4,888톤에서 8,712톤으로 크게 생산량이 증가하였다[17]. 현

재, 수산물의 소비가 해마다 늘어나고 있을 뿐만 아니라 국내 산 수산물의 값이 높아짐에 따라 수입 수산물 양 또한 증가하고 있다[16].

지금까지 진행된 여러 연구들은 활성산소종(reactive oxygen species)이 동맥경화 및 심혈관계 질환 발병의 중심적인 역할을 하는 것으로 보고하였다[5, 7]. 유해산소로 알려진 활성산소종은 세포 구성 성분들인 지질, 단백질, 탄수화물 및 DNA와 반응하여 산화적 손상 및 효소활성을 변화시켜 뇌졸중 및 파킨슨씨병과 같은 뇌 질환뿐만 아니라 심장질환, 허혈, 동맥경화, 암 등과 같은 각종 질병을 일으키는 원인이기도 하다[14]. 이러한 활성산소들을 억제하기 위하여 생체 내에 방어시스템으로 항산화 물질들이 존재한다. 항산화물질은 활성산소의 생성을 억제하거나 그 활성도를 경감시키며 활성산소로 인해 손상된 조직들을 복원시키는 역할을 한다. 한편, 암 발생의 80%는 연령, 식생활, 지속적인 스트레스, 과로, 환경독소 등과 같은 환경요인에 의한 것으로 보고되었으며, 식품 중에 함유된 각종 성분들은 발암 또는 촉진물질로서 암화과정을 촉진시킬 수 있는 반면, 이를 저해하는 기능을 가지기도 한다[21]. 암 발생의 가장 밀접한 관련을 갖는 식이 인자는 지방이며 지방과 암 발생의 관계는 매우 복잡하다. 동물 실험에 의하면 생선이나 어유의 섭취는 오히려 암의 발생을 억제하는

*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.

효과가 있는 것으로 보고되었다[20].

따라서 본 연구에서는 국내에서 주로 소비되는 국내산 및 수입산 참돔의 영양적 가치와 안전성을 평가하기 위하여 일반 성분과 중금속 함량을 비교 분석하였고 생리활성을 알아 보기 위하여 참돔을 용매의 극성에 따라 추출하여 항산화 및 세포 독성 효과에 대해 비교 연구하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 수입산 참돔은 일본산으로 2013년 3월에 부산 자갈치 수산시장에서 구입하였으며, 국내산 참돔은 통영시에서 양식된 것으로 2013년 4월 부산 자갈치 수산시장에서 구입하였다. 각각의 시료는 신선한 상태에서 머리와 꼬리, 내장을 제거한 후 뼈를 중심으로 반으로 나누어 5 mm 두께로 3등분으로 포를 떼며 동결건조기를 이용하여 -45°C에서 20 Pa의 압력으로 3일간 건조시켰다. 건조된 시료는 분말화하여 실험 사용 전까지 -75°C deep freezer (NF-400SF, NIHON FREEZER, Tokyo, Japan)에 냉동 보관하였다.

일반성분 분석

시료의 일반성분인 수분, 조지방, 조단백, 조회분은 AOAC 방법[1]에 따라 분석하였다. 즉 수분은 상압가열건조법(105°C 건조법), 조단백은 Kjeldahl 질소정량법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 550°C 회화로에서 회화시키는 직접회화법으로 정량하였다.

중금속 함량 측정

수은은 화학적 전처리한 후 자동수은분석기(Direct Mercury Analyzer, DMA-80, Milestone Srl, Bergamo, Italy)를 이용하여 측정하였다. 납 분석은 무게를 측정한 후 시료를 도가니에 취하여 건조 후 탈화시킨 다음 500°C에서 24시간 회화하였다. 회화 후 회분을 미량의 질산에 희석한 후 증류수 50 ml에 정용하여 시험용액을 조제하였다. 납은 inductively coupled plasma (Optima 3000DV, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였다.

추출 및 분획

건조된 시료는 유기용매 추출을 위하여 acetone과 methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 시료가 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 추출액은 40°C 수욕 상에서 rotary evaporator (N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하여 acetone/methylene chloride 추출물(A+M)을 얻었다. 남은 잔사에 동량의 methanol을 부어 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 methanol 추출물(MeOH)을 얻었다. 세포 실험에는 각각의 추출물들을

dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 배지로 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 세포배양에 사용된 DMSO의 최종농도는 0.1% 이하가 되도록 하였다.

세포 배양

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 위암세포(AGS), 인체 결장암세포(HT-29)와 인체 섬유육종세포(HT-1080)를 분양받아 본 실험실에서 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. AGS와 HT-29 세포는 10% FBS와 100 units/ml의 penicillin-streptomycin이 함유된 RPMI 1640 배지, HT-1080 세포는 10% FBS와 100 units/ml의 penicillin-streptomycin이 함유된 RPMI 1640 배지로 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였으며 배양 중인 세포를 일주일에 2~3번 새로운 배지로 바꿔주었다. 일주일 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (GIBCO, Buffalo, NY, USA)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 75 mm³ cell culture flask에 10 ml씩 일정한 수로 분할하여 주입하고 계속 6~7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

세포 내 활성산소종 측정

세포 내 활성산소종은 DCFH-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate) assay로 측정하였다[12, 19]. DCFH-DA (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, 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-DA를 각 well에 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 20분간 pre-incubation하였다. 각 well에 시료를 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 1시간 배양한 후, DCFH-DA를 없애고 세포는 다시 PBS로 씻은 후 500 µM H₂O₂를 처리하여 시간별로 DCF fluorescence를 excitation 488 nm, emission 530 nm에서 microplate reader (VICTOR3, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)로 측정하였다. 대조군들(blank군과 control군)은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500 µM H₂O₂를 처리를 하고, blank군은 500 µM H₂O₂ 대신 PBS를 처리하여 측정하였다.

MTT assay

배양된 암세포는 96 well cell culture plate에 5×10⁴ cells/ml이 되도록 100 µl씩 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 배지는 제거한 뒤 각 시료를 배지로 희석하여 각 well당 100 µl씩 첨가하고, 대조군에는 시료 대신 PBS를 100 µl씩 첨가하였다. 이 plate를 다시 37°C, 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 후 MTT assay [4]를 위하여 3-

(4,5-dimethylthiazole)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 시약 5 mg을 PBS 1 ml로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 배지 9 ml와 희석하여 100 µl를 첨가하고 3~4시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후 각 well에 형성된 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 반응 후 남은 MTT가 처리된 배지를 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 100 µl씩 분주하여 5~10분간 반응시켜 microplate reader (VICTOR3, Perkin Elmer, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 세포의 생존 수와 비례한다.

통계처리

실험은 3회 반복 실험하여 Mean ± SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었고, 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 t-test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

국내산 및 수입산 참돔의 일반성분 및 중금속 함량 비교

국내산 및 수입산 참돔의 일반성분은 Table 1에 나타내었다. 수입산 과 비교했을 때 국내산 참돔은 높은 함량의 수분과 낮은 함량의 조지방, 조단백질 및 회분을 나타내었다. Table 2는 국내산 및 수입산 참돔의 중금속 함량을 비교한 것으로 원산지에 따른 유의적 차이를 보였으며 국내산 참돔의 수은 함량은 0.08 mg/kg으로 수입산 참돔(*P. major*)보다 높은 함량을 나타내었으나 납의 경우 원산지에 따른 유의적 차이는 보

Table 1. Proximate composition (%) of domestic and imported *P. major*

	Domestic	Imported
Moisture	74.9±0.38	73.1±0.77*
Crude fat	1.4±0.04	2.9±0.32*
Crude protein	20.3±0.16	22.1±0.40*
Ash	1.2±0.05	1.4±0.04

Values are means SEM (n=3). **p*<0.05, significant effect between domestic and imported

Table 2. Contents of mercury and lead (mg/kg) of domestic and imported *P. major*

	Domestic	Imported
Mercury	0.08±0.01	0.02±0.02*
Lead	0.01±0.00	0.01±0.00

Values are means SEM (n=3). **p*<0.05, significant effect between domestic and imported

이지 않았다. 선행연구[2]에서 종류별 즉 참돔, 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*), 뱀에돔(*Girella major*) 및 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*)의 일반성분 및 중금속 함량을 비교한 결과 수분 함량은 뱀에돔(*G. major*)에서 높았고 조지방 함량은 돌돔(*O. fasciatus*)에서 높았고 조단백질과 회분은 참돔에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 중금속 함량을 비교한 결과 수은의 함량은 뱀에돔 및 돌돔에서 각각 0.07 및 0.06 mg/kg로 유의적으로 높은 함량을 나타내었고 납의 함량에는 종류별 유의적 차이가 없었다. 우리나라의 중금속 규제 현황[10]을 살펴보면 중금속 함량 기준이 0.5 mg/kg 이하로 설정되어 있는데 본 연구에서 나타난 바에 따르면 수입산 및 국내산 참돔 모두 0.5 mg/kg 이하로 검출되어 안전성면에서는 문제가 없는 것으로 나타났다.

국내산 및 수입산 참돔 추출물의 항산화 활성 비교

활성산소종은 superoxide anion ($\cdot O_2^-$)을 비롯하여 hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$), 알킬 과산화물, 할로젠 산화물 등이 있는데 이들은 구조적으로 분자 또는 원자 최외각에 하나의 부대 전자를 가지므로 반응성이 크고 매우 불안정한 화합물이며, 다양한 산화효소에 의해 세포질, 세포내과립(mitochondria, microsome, peroxisome) 및 cytosol에서 생성된다[8]. 천연물 유래 항산화 물질 검색과 수산식품의 효과적인 이용이라는 측면에서 참돔을 이용하여 세포 내 활성산소종 억제효과를 검색하였다. Fig. 1은 국내산 참돔의 A+M 및 MeOH 추출물을 인체 섬유육종세포(HT-1080)에 처리하였을 때, 세포 내 활성산소종 생성 저해효과를 본 실험 결과이다. A+M 및 MeOH 추출물을 첨가농도 0.1 및 5 mg/ml로 처리했을 때 측정시간 120분 동안 500 µM H_2O_2 만을 처리

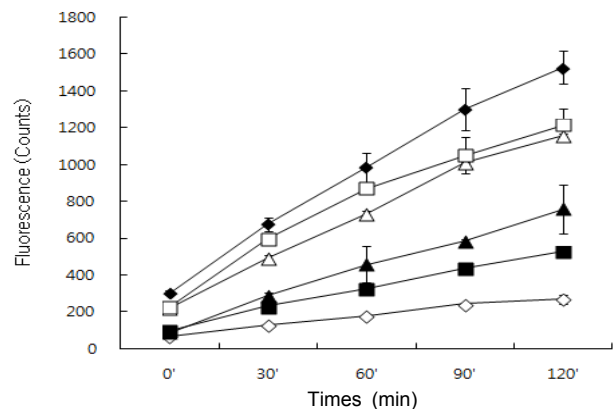


Fig. 1. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from domestic *P. major* on production of reactive oxygen species in HT-1080 human fibrosarcoma cells. ◆, Control; ◇, Blank; ▲, A+M 5; ■, MeOH 5; △, A+M 0.1; □, MeOH 0.1; A+M 5, acetone with methylene chloride extract 5 mg/ml; MeOH 5, methanol extract 5 mg/mL; A+M 0.1, acetone with methylene chloride extract 0.1 mg/ml; MeOH 0.1, methanol extract 0.1 mg/ml.

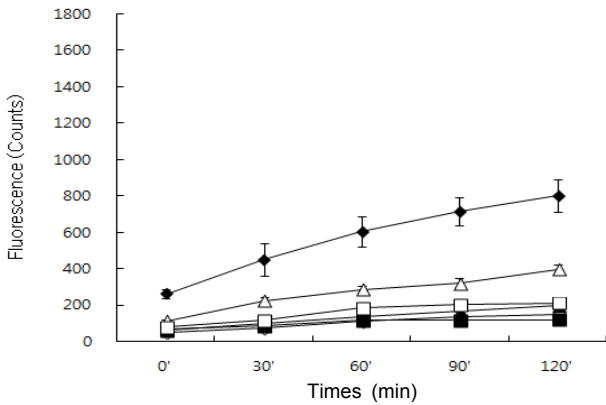


Fig. 2. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from imported *P. major* on production of reactive oxygen species in HT-1080 human fibrosarcoma cells. ◆, Control; ◇, Blank; ▲, A+M 5; ■, MeOH 5; △, A+M 0.1; □, MeOH 0.1; A+M 5, acetone with methylene chloride extract 5 mg/ml; MeOH 5, methanol extract 5 mg/ml; A+M 0.1, acetone with methylene chloride extract 0.1 mg/ml; MeOH 0.1, methanol extract 0.1 mg/ml.

한 control군에 비해 세포 내 활성산소종을 억제시켰다. A+M 추출물의 경우, 측정시간 120분 기준으로 5 mg/ml의 처리 농도에서 control군에 비해 50%의 억제효과가 나타났으며, 반면 MeOH 추출물의 경우 65%의 높은 활성산소종 억제효과를 나타내었다. Fig. 2는 수입산 참돔의 A+M 및 MeOH 추출물에 의한 활성산소종 생성 저해효과를 나타내었다. 수입산 참돔 역시 두 추출물의 각 농도에 따라 농도 의존적으로 활성산소종 생성 저해효과를 보였다. A+M 추출물의 경우 5 mg/ml의 처리 농도에서 측정시간 동안 control군에 비해 75%의 활성산소종 억제효과를 보였으며 0.1 mg/ml 처리 농도에서는 51%의 활성산소종 억제효과를 보였다. MeOH 추출물의 경우 0.1 및 5 mg/ml의 처리 농도에서 측정시간 동안 control군에 비해 각각 74% 및 85%의 활성산소종 생성을 감소시키는데 우수한 능력을 나타내었다. 따라서 국내산 및 수입산 참돔추출물들에 의한 활성산소종 생성 억제효과를 비교해 보면 수입산 참돔 추출물에 의한 저해효과가 높았으며 두 추출물들 중 MeOH 추출물에 의한 저해효과가 높았음을 알 수 있었다.

천연물 유래 항산화 물질 검색 사례로 Lee 등[13]은 뱀장어 (*Anguilla japonica*)로부터 추출한 Carnosine을 이용하여 항산화능을 측정하기 위해 환원력, DPPH 라디칼 소거능, SOD 유사활성 및 아질산염 소거능 측정을 한 결과 Carnosine의 농도 증가에 따라 라디칼 소거능 및 SOD 유사 활성이 증가하였으며, 아질산염 소거능 또한 pH 1.2에서 높은 소거능을 나타냄을 통해 천연 항산화제로서 가능성을 보였다. 최근 Taheri 등[18]은 염장된 청어(*Cupea harengus*)로부터 분리된 50-10 kDa 및 10-1 kDa peptide fractions에서 라디칼 소거능이 높았으며 각각 0.5 mg/mL농도에서 54.2 및 69.1%의 라디칼 소거능이 있

음을 보였다. 이와 같이 현재 천연물 유래 항산화 물질 검색이 활발히 진행 되고 있으며, 본 연구에 사용된 참돔 추출물 또한 향후 분리, 정제를 통하여 유용한 천연항산화제 탐색에 기초 자료가 될 것이라 사료된다.

국내산 및 수입산 참돔 추출물의 세포독성 효과 비교

국내산 및 수입산 참돔 추출물의 인체 암세포에 대한 독성 효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. DMSO에 의한 독성은 값이 거의 변화하지 않았으므로 DMSO에 의한 독성은 세포의 생존율에 아무런 영향을 미치지 않았다. Fig. 3은 국내산 참돔의 A+M 및 MeOH 추출물을 AGS 암세포에 처리했을 때 농도 의존적으로 AGS 암세포에 대해 독성 효과를 나타내었다. 특히 MeOH 추출물의 경우 가장 낮은 농도인 0.5 mg/ml에서부터 세포독성이 나타났다($p<0.05$). Table 3은 AGS 및 HT-29 암세포들에 대한 국내산 및 수입산 참돔 추출물의 IC₅₀ 값을 비교하여 나타낸 것이다. AGS 암세포에 대한 국내산 참돔 A+M 및 MeOH 추출물의 IC₅₀값은 각각 2.77 및 1.18 mg/ml로 MeOH 추출물에 의한 세포독성 효과가 높았다. Fig. 4은 국내산 참돔 추출물을 HT-29 암세포에 처리했을 때 세포독성 효과를 나타낸 것이다. AGS 암세포와 마찬가지로 A+M 및 MeOH 추출물 모두 가장 낮은 농도인 0.5 mg/ml부터 농도 의존적으로 HT-29 암세포에 대해 독성을 나타내었으며 5

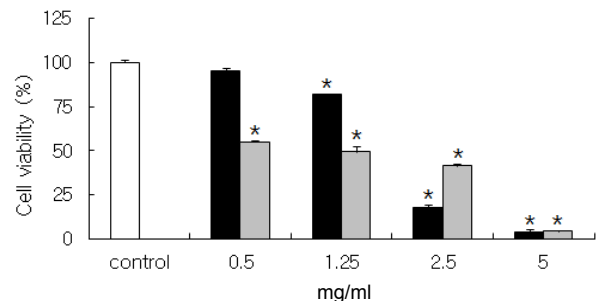


Fig. 3. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from domestic *P. major* on the cell viability of AGS human gastric adenocarcinoma cells. ■, A+M; ▒, MeOH; A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol extract. * $p<0.05$, significant effect between the control and each extract.

Table 3. IC₅₀ values of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from domestic and imported *P. major* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma and HT-29 human colon cancer cell lines

Samples (mg/ml)		Domestic	Imported
AGS	A+M	2.77	3.35
	MeOH	1.18	2.53
HT-29	A+M	2.79	3.35
	MeOH	3.81	3.61

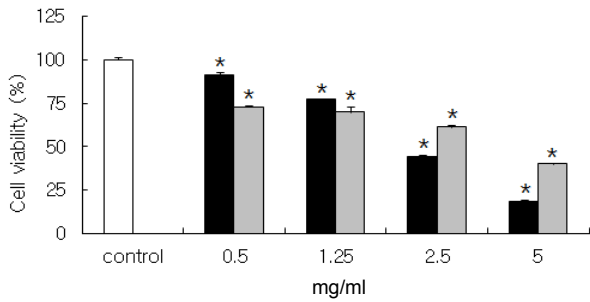


Fig. 4. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from domestic *P. major* on the cell viability of HT-29 human colon cancer cell. ■, A+M; ▒, MeOH; A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol extract. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract.

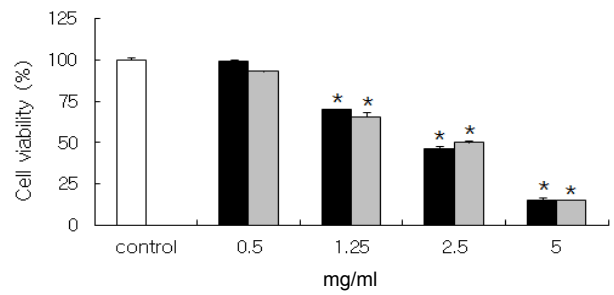


Fig. 6. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from imported *P. major* on the cell viability of HT-29 human colon cancer cell. ■, A+M; ▒, MeOH; A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol extract. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract.

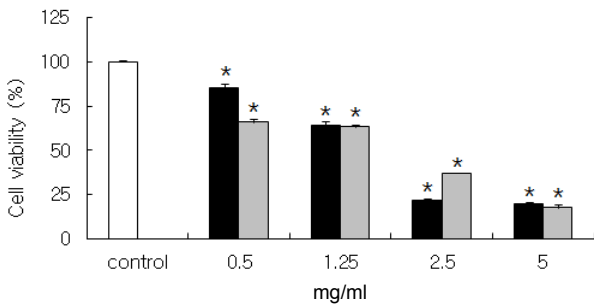


Fig. 5. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from imported *P. major* on the cell viability of AGS human gastric adenocarcinoma cells. ■, A+M; ▒, MeOH; A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol extract. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract.

mg/mL 첨가 농도에서 각각 82% 및 60%의 세포독성을 나타내었다($p < 0.05$). HT-29 암세포에 대한 국내산 참돔 A+M 및 MeOH 추출물의 IC_{50} 값은 각각 2.79 및 3.81 mg/ml로 여기에서는 A+M 추출물에 의한 HT-29 암세포 독성효과가 높았다. Fig. 5은 수입산 참돔의 A+M 및 MeOH 추출물을 AGS 암세포에 처리했을 때 세포독성 효과를 나타낸 것이다. A+M 및 MeOH 추출물 둘 다 0.5 mg/ml에서 농도 의존적으로 AGS 암세포에 대해 세포독성을 나타내었다($p < 0.05$). A+M 및 MeOH 추출물 모두 5 mg/ml 첨가 농도에서 80% 및 82%의 세포독성을 나타내었고 IC_{50} 값은 각각 3.35 및 2.53 mg/ml로 국내산 참돔과 유사하게 MeOH 추출물에 의한 세포독성 효과가 높았다. Fig. 6은 수입산 참돔 A+M 및 MeOH 추출물을 HT-29 암세포에 처리한 결과를 나타낸 것으로, A+M 및 MeOH 추출물을 5 mg/ml 첨가 농도로 처리한 결과 81% 및 80%의 세포독성 효과를 나타내었고 IC_{50} 값은 각각 3.35 및 3.61 mg/ml이었다. Lim 등[15]은 항암효과와 같은 생리활성이 거의 알려져 있지 않은 해양생물 및 이를 이용한 수산 발효식품의 열수 및 methanol 추출물들에 의한 항암활성을 연구한 결과 개별 열수 추출

물에 의한 HepG2 인체 간암세포의 증식 억제 효과가 가장 높았고 수산 발효식품들 중에는 전어박 것 methanol 추출물에 의한 간암세포 증식 억제 효과가 높았다고 보고하였다. 또한 전갱이 과에 속하는 방어(*Seriola quinqueradiata*)를 보통육과 혈압육으로 구분하여 각각의 항산화 및 항증식 효과를 비교한 연구에서 보통육과 비교했을 때 방어 혈압육에 의한 세포 내 ROS 생성 억제능과 AGS 및 HT-29 인체 암세포 증식 억제 효과가 높았다고 보고하였다[3]. 이상의 결과들로부터 국내산 및 수입산 참돔(*P. major*)의 증금속 함량은 우리나라의 증금속 기준인 0.5 mg/kg 이하로 검출되었으며 또한 FAO/WHO에서 설정한 인체 허용 잠정 주간섭취허용기준(PTWI: Provisional Tolerable Weekly Intake)과 비교[6]하여 수은의 경우 2.5%, 납은 0.1%에 해당되는 상당히 낮은 수준으로 과잉 섭취로 인한 위해성은 거의 없는 것으로 생각된다. 또한 국내산 및 수입산 참돔의 생리활성을 비교한 결과 활성산소종 생성 억제와 같은 항산화 효과에서는 수입산 참돔의 활성이 높았고 암세포 증식 억제 효과에서는 국내산 참돔에 의한 증식 억제 효과가 높았음을 알 수 있었다. 본 연구 결과를 기초자료로 하여 향후 참돔의 다양한 생리활성 규명이 필요하다고 사료된다.

감사의 글

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

References

1. AOAC International. 2005. *Official methods of analysis* 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, USA.
2. Bae, J. H. and Lim, S. Y. 2010. Metals and biochemical composition of four sea bream species (*Acanthopagrus schlegelii* Bleeker, *Pargrus major* Temminck and Schlegel, *Oplegnathus fasciatus* Kroyer and *Girella punctata* Gray). *Philipp. Agric.*

- Scientist* **95**, 102-108.
3. Bae, J. H. and Lim, S. Y. 2011. Comparison between ordinary and dark muscle extracts of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) on chemical characteristics, antiproliferative and antioxidant properties. *J. Food Technol.* **9**, 99-105.
 4. Denizot, F. and Lang, R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modification to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**, 271-277.
 5. Diane, L. T. 1990. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: Emphasis on vitamin C, vitamin E and β -catotene. *Circulation* **99**, 591-595.
 6. Food and Agriculture Organization-World Health Organization. 2010. Summary report of the seventy-second meeting of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) http://www.who.int/foodsafety/chem/summary72_rev.pdf
 7. Hur, E. S. and Lee, K. H. 2001. Cardiovascular disease and natural antioxidants. *J. Human Ecology* **5**, 19-35.
 8. Kashiwaki, K., Shinkai, T., Kajii, E. and Kashiwagi, A. 2005. The effect of reactive oxygen species on amphibian aging. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* **140**, 197-205.
 9. Kim, Y. U., Myoung, J. G., Kim, Y. S., Han, K. H., Kang, C. B. and Kim, J. G. 2001. *The marine fishes of Korea*, pp. 206, Hanguel Press, Seoul, Korea.
 10. Korea Food and Drug Administration. 2010. *Food Code*, pp. 1629, Seoul: Korea Food Industry Association (KFIA) Press, Seoul, Korea.
 11. Korea Rural Economic Institute. 1996. *Food balance sheet*, pp. 186-196, Korea Rural Economic Institute, Seoul, Korea.
 12. 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.
 13. Lee, K. T., Song, H. S. and Park, S. M. 2007. Antioxidant effects of carnosine extracted from the eel *anguilla japonica*. *J. Kor. Fish. Soc.* **40**, 193-200.
 14. Li, H., Yaschiki, S., Sonoda, J., Loun, H., Ghosh, S., Byrnes, J., Lema, C., Fujiyoshi, T., Karasuyama, M. and Sonoda, S. 2000. Green tea polyphenols induce apoptosis *in vitro* in peripheral blood T lymphocytes of adult T-cell leukemia patients. *Cancer Sci.* **91**, 34-40.
 15. Lim, H. S., Kim, S. H., Yoo, E. J., Kang, D. S., Choi, M. R. and Song, S. H. 2001. Anticancer effect of extract from the marine and salted fish products. *J. Life. Sci.* **11**, 48-53.
 16. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (MIFAFF). 2011. *Yearbook of fishery products export & import statistics*, pp. 284-285, MIFAFF Press, Seoul, Korea.
 17. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (MIFAFF). 2012. *Agricultural and forestry statistical yearbook*, pp. 302-317, MIFAFF Press, Seoul, Korea.
 18. Taheri, A., Saena Farvin, K. H., Jacobsen, C. and Baron, C. P. 2013. Antioxidant activities and functional properties of protein and peptide fractions isolated from salted herring brine. *Food. Chem.* **142**, 318-326.
 19. Tsuchiya, M., Suematsu, M. and Suzuki, H. 1994. *In vivo* visualization of oxygen radical-dependent photoemission. *Methods Enzymol.* **233**, 128-140.
 20. Vauqhan, V. C., Hassing, M. R. and Lewandowski, P. A. 2013. Marine polyunsaturated fatty acids and cancer therapy. *Br. J. Cancer* **108**, 486-492.
 21. Watson, R. R. and Leonard, T. K. 1986. Selenium and vitamin A, E and C: nutrients with cancer prevention properties. *J. Am. Diet. Assoc.* **86**, 505-510.

초록 : 국내산 및 수입산 참돔의 중금속 함량 및 항산화 활성과 세포독성 효과 비교

황성연¹ · 배진한² · 임선영^{1*}

(¹한국해양대학교 해양생명과학부, ²식품의약품안전처 부산지방식품의약품안전청)

본 연구에서는 국내에서 주로 소비되는 국내산 및 수입산 참돔의 일반성분과 중금속 함량을 비교 분석하였고 생리활성을 비교하기 위하여 참돔을 용매의 극성에 따라 추출하여 항산화 및 세포독성 효과에 대해 연구하였다. 수입산과 비교했을 때 국내산 참돔은 높은 함량의 수분과 낮은 함량의 조지방, 조단백질 및 회분을 나타내었다. 국내산 및 수입산 참돔의 중금속 함량을 비교한 결과 원산지에 따른 유의적 차이를 보였으며 국내산 참돔의 수은 함량은 0.08 mg/kg으로 수입산 참돔보다 높은 함량을 나타내었으나 납의 경우 원산지에 따른 유의적 차이는 보이지 않았다. 국내산 및 수입산 참돔의 A+M 및 MeOH 추출물을 인체 섬유육종세포(HT-1080)에 처리하였을 때, 세포 내 활성산소종 생성 저해효과를 살펴 본 실험 결과, 국내산 및 수입산 참돔 추출물들에 의한 활성산소종 생성 억제효과를 비교해 보면 수입산 참돔 추출물에 의한 저해효과가 높았으며 두 추출물들 중 MeOH 추출물에 의한 저해효과가 높았음을 알 수 있었다. 인체 암세포들(AGS 및 HT-29)들에 대한 세포독성 활성 결과에서 AGS 암세포의 경우 국내산 참돔 A+M 및 MeOH 추출물들에 의한 세포독성 효과가 수입산 참돔 A+M 추출물들보다 높았다. HT-29 암세포에 대해서는 국내산 참돔 A+M 추출물에 의한 세포독성 효과가 수입산 참돔 A+M 추출물에 의한 것보다 높았고 MeOH 추출물에 의한 세포독성 효과는 유사했다. 따라서 본 연구 결과를 기초자료로 하여 향후 참돔의 다양한 생리활성 규명이 필요하다고 사료된다.