

전기투석시스템을 활용한 염생식물 칠면초(*Suaeda japonica*) 추출물의 염분 표준화에 따른 주요 성분 및 생리활성 비교 연구

박현호^{1,2,3} · 고석천³ · 정원교^{1,2,3*}

¹부경대학교 의공학과, ²부경대학교 BK21 Plus 해양 융복합 생명의학기술 센터, ³부경대학교 해양 융복합 바이오닉스 연구단

Comparison of the Biological Activities of Electrodialysis-desalted Bioactive Compounds from the Halophyte *Suaeda japonica*

Hyeon-Ho Park^{1,2,3} Seok-Chun Ko³ and Won-Kyo Jung^{1,2,3*}

¹Department of Biomedical Engineering, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

²Centre for Marine-Integrated Biomedical Technology (BK21 Plus), Pukyong National University, Busan 48513, Korea

³Marine-Integrated Bionics Research Center, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

To effectively remove salts from *Suaeda japonica*, extracts, an electrodialysis system was developed. The biological activities of non-desalted (NDS) and desalted *S. japonica* (DS) extracts were compared. The DS extract exhibited superior polyphenolic (6.26%) and carbohydrate (28.56%) contents. The IC₅₀ values of the DS extract against DPPH radicals and hydrogen peroxide were 0.22 and 0.68 mg/mL, respectively, which was higher than that of the NDS extract. Neither the DS nor the NDS extract was cytotoxic in RAW 264.7 macrophages. Additionally, the DS extract had a higher NO inhibitory effect compared to the NDS extract in lipopolysaccharide (LPS)-activated RAW 264.7 macrophages. These data indicate that DS extracts have greater biological activity than do ND extracts, and application of the electrodialysis process may be useful in marine bioresource applications.

Key words: *Suaeda japonica*, Desalting, Electro-dialysis system, Biological activity

서 론

염생식물이란 육상식물이 서식할 수 없는 고농도의 염분을 함유하는 해안가, 염분이 있는 호숫가, 암염이 있는 지대 및 만조 때 침수되는 낮은 지대에 서식하는 식물을 말한다(Lee et al., 2012). 이와 같은 염생식물은 육상식물과 달리 해수와 담수의 끊임없는 교차로 인한 염분농도의 잦은 변화와 장기간 침수되는 환경에서 고농도의 염분을 이용한 삼투압 조절로 세포기능 보호 등 다양한 자기방어 기작을 가진다(Kong et al., 2008). 이러한 극한환경에 서식하는 염생식물들은 페놀성 화합물을 포함한 2차 대사산물과 같은 특이적인 생리활성물질들을 다량 함유하고 있다고 보고되어 있으며, 이를 이용한 약리학적 기능에 대한 연구가 진행되어 왔으나, 아직까지 미비한 실정이다.

염생식물의 일종인 칠면초(*Suaeda japonica*)는 명아주과(Chenopodiaceae)의 일년생 식물로 세계적으로 구분된 해안식

생 중 Sino-Japanese group의 대표 종으로 우리나라에서는 예부터 식용으로 사용하였으며, 낮게 침수되는 지대부터 건조한 지역까지 서식하며 특히 서해안 갯벌지역에 넓게 분포되어 있다(Cho et al., 2014). 선행연구에 따르면 칠면초는 항산화(Lee et al., 2012; Lee et al., 2011), 신경염증질병(Kang et al., 2013) 및 간보호(Kim et al., 2010)에 효능이 있다고 보고된 바 있으며 한방에서는 해열효과가 있어 식물성 소금 및 천연염료로 사용하고 있다(Choi et al., 2010; Choi et al., 2009). 반면, 칠면초가 유용한 생리활성물질을 가짐에도 불구하고 고농도의 염으로 인해 약리학적 이용에 제약을 받고 있다.

염은 세포외액에서 가장 많이 존재하는 전해질로, 체내에서 삼투압(osmolality)조절, 수분균형과 체액의 양조절, pH조절 및 신경전달 물질 등의 역할을 하는 중요한 인자이다. 그러나 과도한 염 섭취는 체내에 불균형을 유발하며, 혈액량을 증가시켜 고혈압(hypertension)을 초래하거나 혈중 나트륨농도가 높아

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0124>



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.

Korean J Fish Aquat Sci 49(2) 124-130, April 2016

Received 21 January 2016; Revised 13 March 2016; Accepted 14 March 2016

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5775 Fax: +82. 51. 629. 5775

E-mail address: wkjung@pknu.ac.kr

저 고나트륨혈증(hyponatremia)을 초래한다(Jung and Shim, 2008; Kim, 2006). 그리고 염은 세포부종 및 세포탈수가 일어난 세포사망(cell death)이나 세포자살(cell apoptosis)을 유발하여 세포독성 실험에 영향을 주며, 자유라디칼 생성을 촉진시키고 산소와 철과 구리 같은 전위금속과의 착물 형성을 방해하는 리간드 역할도 할 수 있기 때문에 다량의 염이 포함된 시료의 활성을 정확히 측정하기 위해서는 염을 제거하는 표준화가 필요하다(Michea et al., 2000; Stela, 1994).

염이 포함된 혼합액을 효과적으로 제거할 수 있는 방법은 증발법(distillation), 역삼투압법(reverse osmosis), 증기압축법(vapor compression) 및 전기투석법(electrodialysis) 등 다양한 방법이 있다(Cho and Han, 2001). 이중에 본 연구에 사용되는 전기투석법(ED)은 전기분해와 투석을 조합시킨 방법으로써 전기적으로 하전된 막을 사용한 전기화학적 분리정제기술을 말한다. 이 방법은 최초로 Maigrot and Savates 의해 제안된 후 Meyer and Strauss에 의해 현재의 전기투석법의 공정이 완성되었고, Juda and McRae에 의해 균질형 이온교환막이 개발되면서 탈염뿐만 아니라 단백질과 아미노산의 정제, 유아용 우유의 제조, 초산의 생산, 젖산 발효액의 농축 등에 이용되고 있다(Park et al., 2000). 다량의 나트륨이 포함되어 있는 칩면초에서 추출한 시료의 나트륨 함량을 간과한 채 생리활성에 관한 연구를 수행할 경우 시료의 정확한 생리활성을 측정하지 못할 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 탈염 전의 칩면초 추출물과 전기투석법에 의한 탈염에 따른 칩면초 추출물에 대한 성분 및 생리활성을 비교 하는 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

시약

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2-deoxyribose, peroxidase, 2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzthiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS), Folin-Ciocalteu reagent, Dimethyl sulfoxide (DMSO), Griess reagent (1% sulfanilamide and 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride in 2.5% phosphoric acid), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium-bromide (MTT)는 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Duplecco's modified eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) 및 phosphate buffer saline (PBS)는 Gibco BRL Co. (Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였다.

칩면초

실험에 사용된 칩면초는 2010년 4월 전남 고흥 거금도에서 직접 채취하여 흐르는 물로 수세하여 동결건조기에서 감압 하에 건조시킨 후 분말화하여 사용하였다. 칩면초는 국가 생물종 지

식정보 시스템에서 제공하는 칩면초 도감(www.nature.go.kr)을 참조하여 종에 대한 확인을 수행하였다.

칩면초 추출물 조제

분말화 시킨 시료를 70% 에탄올과 1:10 (w/w) 비율로 혼합한 후 상온에서 24시간 동안 3회 반복 추출하였다. 추출용액을 3,000 rpm에서 20분 동안 원심분리 하여 잔사를 제거한 상층액을 취한 후 감압여과 하였다. 획득한 여과액을 회전진공농축기를 이용하여 에탄올을 휘발 시켰으며, 농축액을 동결건조 하여 추출 시료를 획득 하였다. 획득한 시료는 -20℃에서 보관하면서 실험 시료로 사용하였다.

전기투석장치

전기투석 장치는 탁상형 전기투석 장치(CJ-S3, 창조테크노)를 사용 하였으며, 전기투석막은 다수의 이온 교환막 및 개스킷을 편성해 일체화 한 것으로, 전기투석막내에서는 탈염실(B액)과 농축실(A액)이 교대로 형성되어 있다. 그리고 B액이 흐르는 라인과 A액이 흐르는 라인이 각각 분리되어 있어 이온 교환막을 사이에 두고 2개의 액이 접하고 있다. 샘플액으로부터 탈염된 염은 이온 교환막을 거쳐 농축실로 이동, 탈염을 하는 구조로 되어 있다(Fig. 1). 전극액(C액)에는 5% (w/v) Na₂SO₄ 용액 500 mL, 투과액에는 증류수 1,000 mL를 넣고 시료액에는 칩면초 3 g에 증류수 500 mL를 섞은 혼합액을 넣은 후 전기투석막(AC-110-400, CHANG JO, SEOUL, KOREA)을 통하여 150분 동안 순환 시킴으로써 탈염을 수행하였으며, 이때 전압은 15 V로 유지시켰다. 본 연구에 사용된 전기투석막은 분획분자량이 100 Da 이하이며, 1가이온만 선택적으로 분리할 수 있다. 더욱이 정밀하고 세밀하여 저 분자량의 유기물에서도 막을 통과하기 어렵고, 높은 회수율로 샘플을 회수할 수 있으며, 샘플의 염분을 농축 회수하는 목적으로도 이용이 가능하다.

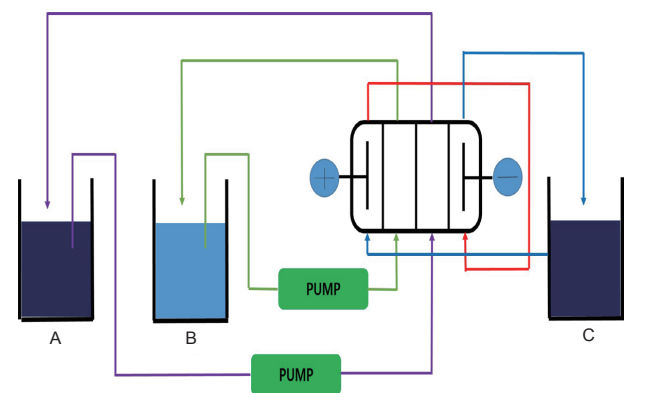


Fig. 1. Conceptual flow diagram of electro dialysis system. A, desalination tank; B, Concentrate tank; C, electrode tank.

총 Polyphenol 함량측정

각 추출물(탈염 전 및 후 추출물)의 총 polyphenol 함량 측정은 Singleton et al. (1999)에 준하여 수행하였다. 각 추출물 100 μ L를 분주한 후에 7.5% sodium carbonate (Na_2CO_3) 250 μ L를 가한 후 5분간 상온에서 반응시켰다. 여기에 1 N Folin-Ciocalteu reagent 300 μ L를 가하여 30분 동안 암실 조건에서 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 표준물질로 gallic acid를 사용하여 동일한 방법으로 작성된 표준곡선으로부터 총 polyphenol 함량으로 환산하였다.

총 당 함량측정

각 추출물의 총 당 함량 측정은 Dubois et al. (1956)에 준하여 수행하였다. 각 추출물 100 μ L를 분주한 후에 5% phenol 100 μ L를 혼합하고 H_2SO_4 500 μ L를 혼합하여 상온에서 20분간 반응 시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 표준물질로 glucose를 사용하여 동일한 방법으로 작성된 표준곡선으로부터 총 당 함량으로 환산하였다.

DPPH radical 소거활성 측정

각 추출물의 DPPH radical 소거활성은 Nanjo et al. (1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96-well plate에 각 추출물 100 μ L를 넣고 메탄올에 용해시킨 1.5×10^{-4} M DPPH 용액 100 μ L를 넣고 상온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

DPPH radical 소거활성(%) = $[1 - (\text{대조구 흡광도} - \text{추출물 흡광도}) / \text{대조구 흡광도}] \times 100$

Hydrogen peroxide 소거활성 측정

각 추출물의 hydrogen peroxide 소거활성은 Müller (1985)의 방법에 따라 수행하였다. 0.1 M phosphate buffer (pH 5.0)와 각 추출물 100 μ L를 각각 96-well plate에 넣어 혼합한 후 20 μ L의 hydrogen peroxide를 혼합한 후 37°C에서 5분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 1.25 mM ABTS와 peroxidase (1 unit/mL)를 각각 30 μ L 첨가하여 최종적으로 37°C에서 10분간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Hydrogen peroxide 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

Hydrogen peroxide 소거활성(%) = $[1 - (\text{대조구 흡광도} - \text{추출물 흡광도}) / \text{대조구 흡광도}] \times 100$

세포배양

실험에 사용된 RAW 264.7 대식세포는 American Type of Culture Collection (ATCC, Rockville, VA, USA)에서 구입

하였다. 대식세포는 10% FBS와 1% streptomycin/penicillin (Gibco/BRL, Gaithersburg, MD, USA)이 포함된 DMEM에 5% CO_2 와 37°C 조건에서 배양하였다.

세포독성평가

각 추출물의 대식세포에 대한 독성 평가는 MTT assay를 통해 검증하였다. 대식세포는 1×10^5 cells/mL로 96-well plate에 분주한 후 5% CO_2 와 37°C 조건에서 24시간 동안 배양한 후, 각 추출물을 100, 200, 400 및 800 μ g/mL의 다양한 농도로 전처리 하여 동일한 조건에서 배양 하였다. 1시간 후 lipopolysaccharide (LPS, 1 μ g/mL)를 처리하여 추가적으로 24시간 배양 하였다. 배양 후 50 μ L의 MTT 용액을 각 well에 첨가하여 생존 세포에서 formazan을 형성할 수 있도록 하기 위해서 4시간 동안 배양 후 MTT 용액을 제거하고 100 μ L DMSO를 첨가하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric oxide (NO) 생성 억제 활성 측정

대식세포는 1×10^5 cells/mL로 24-well plate에 분주한 후 5% CO_2 와 37°C 조건에서 24시간 동안 배양한 후, 각 추출물을 100, 200, 400 및 800 μ g/mL의 다양한 농도로 전처리 하여 동일한 조건에서 배양 하였다. 1시간 후 lipopolysaccharide (LPS, 1 μ g/mL)를 처리하여 추가적으로 24시간 배양 하였다. 배양 배지 100 μ L와 Griess reagent 100 μ L를 혼합하여, 상온에서 10분간 반응 시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

본 연구 결과는 모두 평균(Mean) \pm 표준편차(standard deviation)로 나타내었다. 통계 및 분석은 SPSS 프로그램(SPSS Inc. Ver. 12.0)의 One-way ANOVA-test를 사용하여 Duncan's multiple range test ($P < 0.05$)로 유의성을 평가하였다.

결과 및 고찰

탈염 후 전기전도도, 염함량 및 수율

탈염의 원리는 이온 교환막과 전기의 힘을 이용한 강제적인 투석법에 의해 탈염을 실시하며, 양이온만을 투과 시키는 양이온 교환막과 음이온만을 투과 시키는 음이온 교환막을 조합해 그 사이에 샘플액을 흘려, 이것에 직류 전압을 걸어 전기적으로 이온을 샘플액에서 제거하는 원리이다(Fig. 2). 탈염의 정도는 전기전도도(conductivity)의 변화를 관찰함으로써 확인할 수 있다.

탈염이 효과적으로 이루어졌는지 확인하기 위하여 추출물의 전기투석 전과 후의 전기전도도와 염의 함량 비교 및 수율을 확인 하였다(Table 1). 그 결과 전기전도도는 8.9 mS/cm에서 1.8 mS/cm로 감소하였으며, 염의 농도도 90 mM에서 13 mM로 감소하였다. 또한, 전기투석 후의 수율을 확인한 결과 53.33%를 나타내었다. 이전의 연구에 의하면 칠면초에는 회분 함량이 높

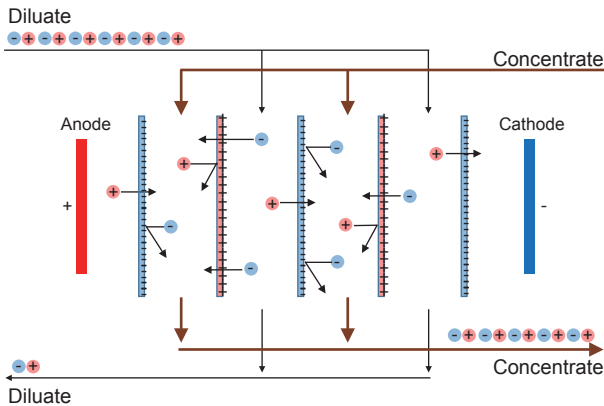


Fig. 2. Principle of ion-exchange membrane of electro dialysis system.

Table 1. Change of condition and yield after desalting by electro dialysis system

Conditions	Desalting	
	Before	After
Conductivity (mS/cm)	8.90±0.10	1.80±0.20 ¹
NaCl (M)	0.09±0.01	0.02±0.01 ¹
Yield (%)	100	53.33±0.53

¹P<0.05 indicates significantly different from non-desalting.

고, 이는 염생식물 특성상 다량의 나트륨이 포함되어 있기 때문이라 보고하였다. 또한, 건조중량의 무기질 함량을 비교한 결과 나트륨의 함량이 가장 많다고 보고하였다(Lee et al., 2012). 이전의 연구결과와 비교할 때 추출물에 포함되어있는 다량의 나트륨이 전기투석에 의해 제거되었기 때문에 무게가 감소한 것으로 판단된다.

탈염 전 후의 총폴리페놀 및 총당함량 변화

폴리페놀과 당성분은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물로서 다양한 구조를 지니고 있으며, 항산화, 항암 및 항염증 효과 등의 다양한 생리활성 기능을 가지는 것으로 알려져 있다(Kang et al., 2014; Kim et al., 2000; Kim et al., 2003). 일반적으로 폴리페놀과 당과 같은 주요한 물질들이 생리활성을 나타내는 대표적인 물질로 보고되어 있어 칩면초 추출물의 탈염

Table 2. Change of polyphenolic and carbohydrate contents after desalting by electro dialysis system

Components	Desalting	
	Before	After
Total polyphenol (%)	4.48±0.41	6.26±0.11 ¹
Total carbohydrate (%)	15.56±0.05	28.56±0.07 ¹

¹P<0.05 indicates significantly different from non-desalting.

전과 후의 폴리페놀 및 당 함량을 측정하였다. 각 추출물의 폴리페놀 및 당함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 폴리페놀은 탈염 전보다 탈염 후 4.48%에서 6.26%로 약 1.8%의 함량이 증가하였으며, 당은 15.56%에서 28.56%로 약 13%의 함량이 증가하였다. 이는 염 제거 후 추출물의 주요물질들이 전기투석에 의한 탈염에 의해 제거되지 않는 것을 알 수 있다.

DPPH radical 소거활성

합성 항산화제가 널리 알려져 있지만 고 용량으로 장기간 이용 시 암 및 간손상을 유발 시킬 수 있는 부작용이 보고되고 있어 최근 천연 항산화제에 대한 관심과 연구가 크게 부각되고 있는 실정이다(Park et al., 2012). 이러한 맥락에서 최근 부작용 없이 안전하게 복용할 수 있는 천연자원으로부터 항산화제에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. Free radical은 생물학적 손상의 주요 원인으로 알려져 있고, DPPH radical 소거활성 측정은 천연항산화제의 free radical 소거활성을 평가하는데 가장 일반적으로 사용되고 있는 방법으로, 항산화 효능을 확인하고 스크리닝 목적으로 널리 사용되는 방법이다. 항산화 효능이 있는 물질과 만나면 전자를 내어 주면서 radical이 소멸되고 색이 변하는 원리이다(Ko et al., 2010a; Yokozawa et al., 1988). 따라서 칩면초 추출물의 탈염 전 후의 생리활성의 변화를 확인하기 위하여 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 탈염 전 후의 추출물은 0.1, 0.2 그리고 0.4 mg/mL의 농도로 측정을 하였으며, 모두 농도의존적으로 DPPH radical 소거활성이 증가하는 것을 확인하였다. 탈염 전과 비교하여 탈염 후의 DPPH radical 소거활성은 0.2와 0.4 mg/mL의 농도에서

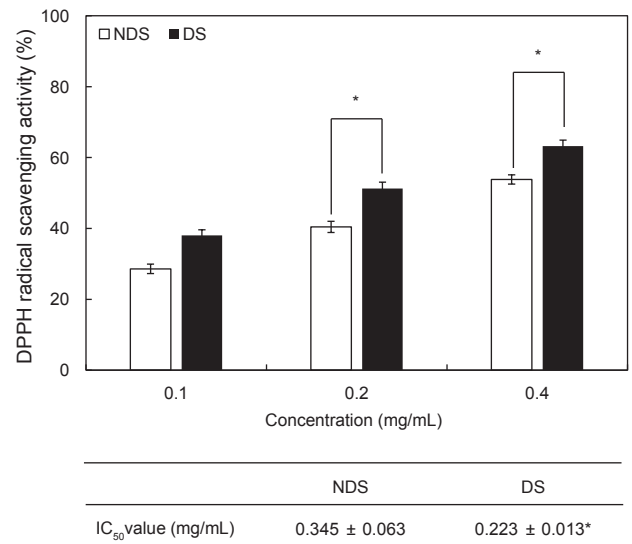


Fig. 3. DPPH radical scavenging activities of NDS and DS from *Suaeda japonica*. Values are expressed as means ± standard deviation (SD) in triplicate experiments. Statistical evaluation was performed to compare the NDS and DS. *P<0.05.

유의적으로 증가함을 나타내었으며, 50% 저해농도(IC₅₀ value)를 확인한 결과 0.35 mg/mL에서 0.22 mg/mL로 현저하게 감소하는 것을 확인하였다. DPPH radical에 대한 많은 연구들이 폴리페놀 및 당과의 긍정적 상호관계에 대하여 보고된 바 있는데 (Kim et al., 2000; Oki et al., 2002), 이러한 연구결과와 비교하여 볼 때 탈염 후의 추출물의 유효성분의 증가와 상관성이 있음을 입증하는 것이라 사료된다.

Hydrogen peroxide 소거활성

Hydrogen peroxide는 non free radical의 활성산소종(Reactive oxygen species)의 하나로서 체내 세포 및 조직의 DNA에 심각한 산화적 손상을 초래해 노화, 암, 심혈관 질환 등의 각종 질병을 유발한다고 알려져 있다(Ko et al., 2010b; Park and Kang, 2002). 탈염 전후의 hydrogen peroxide 소거활성을 측정 한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 탈염 전 후의 추출물은 0.25, 0.5 그리고 1 mg/mL의 농도로 측정을 하였으며, 모두 농도의존적으로 hydrogen peroxide 소거활성이 증가하는 것을 확인하였다. 탈염 전과 비교하여 탈염 후의 hydrogen peroxide 소거활성은 0.5와 1 mg/mL의 농도에서 유의적으로 증가함을 나타내었으며, 50% 저해농도(IC₅₀ value)를 확인한 결과 탈염 전 추출물은 1 mg/mL 이상인 반면, 탈염 후 추출물은 0.68 mg/mL로 현저하게 감소하는 것을 확인하였다. 이 결과는 DPPH radical 소거활성의 결과와 유사한 결과를 나타냈다. 또한, 탈염 후 추출물의 hydrogen peroxide 소거활성이 Lee et al. (2012)의 연구결과와 탈염 과정을 거치지 않은 칠면초 추출물의 hydrogen peroxide 소거활성 보다는 비교적 우수한 활성을 나타내었다. Kim

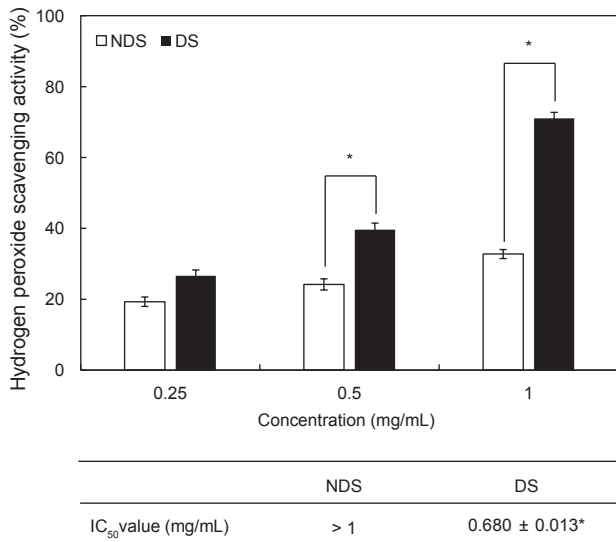


Fig. 4. Hydrogen peroxide scavenging activities of NDS and DS from *Suaeda japonica*. Values are expressed as means ± standard deviation (SD) in triplicate experiments. Statistical evaluation was performed to compare the NDS and DS. *P<0.05.

et al. (2003)은 항산화력의 정도는 추출물 내에 함유되어 있는 항산화 유효성분의 종류 및 함량에 따라 현저한 차이가 있음을 보고하였다. 그리하여 탈염 후의 추출물이 항산화력을 가지는 유효성분의 증가와 관련이 있음을 입증하는 것이라 사료된다.

세포독성확인

탈염 전후의 추출물이 세포에 대한 독성의 유무를 확인하기 위하여 대식세포에 다양한 농도의 탈염 전후의 추출물과 LPS를 처리한 후 MTT 방법을 통하여 확인하였다. 그 결과, 탈염 전후의 추출물은 추출물과 LPS 무처리군과 LPS 단독 처리군과 비교하여 최고농도 800 µg/mL의 농도에서 세포에 대한 독성이 없는 것을 확인하였다(Fig. 5). 이후 NO 생성 억제 효능을 확인하기 위하여 독성이 없는 800 µg/mL의 농도를 최고농도로 하여 실험을 진행하였다.

NO 생성억제능 확인

염증은 심혈관 질환, 암, 류마티스 관절염, 천식 및 기관지염 등 다양한 질환에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(Heo et al., 2010). 대식세포는 염증유발 사이토카인(cytokine) 및 염증유발인자를 분비 함으로서 염증과 관련한 과정에서 중요하게 관여하는 세포이다(Ko and Jeon, 2015). 염증유발인자 중 하나인 NO는 NO 합성효소(NOS)에 의하여 아르기닌(arginine)으로부터 합성되며, 병리학 조건에서 과잉 생성되며 조직손상을 유발한다고 알려져 있다(Kim et al., 1999). 그리하여, NO 억제는 염증반응의 예방을 위한 본질적인 요소라 할 수 있으며, 최근 천연자원으로부터 NO 억제에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Ko and Jeon, 2015). 본 연구에서는 염증을 유발하는 NO 생성 억제활성을 확인하고자 대식세포에 LPS로 염증을 유도하여 탈염 전후 추출물의 효능 비교를 하였다. 그 결과, LPS 단독 처리 그룹의 NO 생성율을 100% 기준으로 하였을 때, 탈염 전

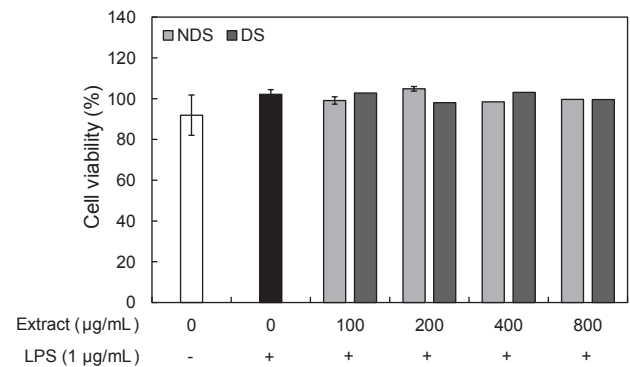


Fig. 5. Cytotoxic effects of NDS and DS from *S. japonica* on viability in RAW 264.7 macrophages. Cells were treated with NDS and DS from *Suaeda japonica* at the indicated concentrations (100, 200, 400 and 800 µg/mL). Values are expressed as means ± standard deviation (SD) in triplicate experiments.

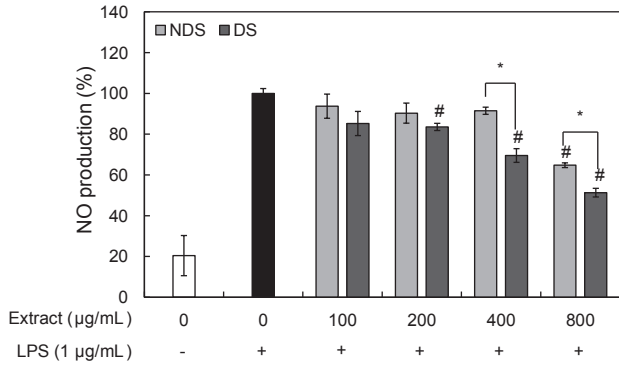


Fig. 6. Inhibitory effects of NDS and DS from *Suaeda japonica* on LPS-stimulated NO production in RAW 264.7 macrophages. Production of NO was assayed in the culture medium of macrophages stimulated with LPS (1 µg/mL) for 24 h in the presence of NDS and DS from *S. japonica* (100, 200, 400 and 800 µg/mL). Values are expressed as means±standard deviation (SD) in triplicate experiments. Statistical evaluation was performed to compare the NDS and DS. #P<0.05 vs LPS-treated group and sample-treated group, as indicated. *P<0.05 vs NDS and DS, as indicated.

추출물은 800 µg/mL의 농도에서만 유의적으로 감소하는 결과를 나타낸 반면, 탈염 후 추출물은 200, 400 그리고 800 µg/mL의 농도에서 유의적으로 감소하는 결과를 나타냈다. 또한, 탈염 전후 추출물간 비교에서는 400 및 800 µg/mL의 농도에서 유의적인 차이를 나타냈다. 이는 위의 항산화 활성의 결과와 유사한 결과를 나타내었으며, 유효성분의 함량의 차이에 따라 활성에 차이가 있는 것으로 사료된다.

염생식물은 예로부터 약용 및 식용으로 사용해왔고 극한환경에서 생성되는 특이적인 2차산물과 다양한 페놀성 화합물을 가지는 우수한 천연소재이다. 그러나, 강한 삼투압을 유지하기 위해 고농도의 염을 함유하여 약리학적 사용이 제한되고 있다. 본 연구에서는 염 함유에 따른 문제점을 해결하고자 염생식물의 일종인 칠면초 추출물을 전기투석장치를 이용하여 염을 제거한 후, 이에 따른 유효성분(폴리페놀, 당) 및 생리활성(항산화, 항염증)의 변화를 확인하였다. 그 결과, 염 제거 전의 추출물과 비교하여 염 제거 후의 추출물은 유효성분이 유의적으로 증가하였다. 또한, 항산화 및 항염증의 생리활성이 유의적으로 증가하였고, 이는 칠면초 추출물의 유효성분이 생리활성에 관련하는 성분이며, 유효성분의 증가에 따라 생리활성이 증가하는 결과를 나타낸 것이라 사료된다. 따라서 전기투석장치를 이용하여 염이 제거 된 칠면초 추출물은 식품을 포함한 다양한 분야 응용시킬 수 있을 것으로 사료된다. 또한 전기투석장치를 이용하여 염생식물 뿐만 아니라 염이 포함된 해양생물유래 추출물에 적용하여 염에 의한 제한적인 면도 보완할 수 있을 것이라 사료된다.

사 사

이 논문은 2013학년도 부경대학교와 해양수산부 해양생명공학사업(20150220)의 지원을 받아 수행된 연구임.

References

Cho BY and Han YW. 2001. A study on Seawater desalination using EDR method. Korean J Soc Water Wastewater 15, 309-316.

Cho JY, Huang Z, Park SY, Park KH, Pai TK, Kim SY, Kim HR and Ham KS. 2014. The effects of several halophytes on insulin resistance in otsuka long-evans tokushima fatty rats. Korean J Food Sc Technol 46, 100-107. <http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2014.46.1.100>

Choi JI, Kim YY, Kim JH, Kwon JH, Ahn DH, Chun BS and Lee JW. 2010. Physiological activities of *Suaeda japonica* extracts on harvest season. Korean J Soc Food Sci Nutr 39, 99-104. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.1.099>

Choi JI, Kim YJ, Kim JH, Song BS, Yoon Y, Byun MW, Kwon JH, Chun SS and Lee JW. 2009. Antioxidant activities of the extract fractions from *Suaeda japonica*. Korean J Soc Food Sci Nutr 38, 131-135. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2009.38.2.131>

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal Chem 28, 350-356. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>

Heo SJ, Yoon WJ, Kim KN, Ahn GN, Kang SM, Kang DH, Affan A, Oh C, Jung WK and Jeon YJ. 2010. Evaluation of anti-inflammatory effect of fucoxanthin isolated from brown algae in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. Food Chem Toxicol 48, 2045-2051. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.003>

Jung CE and Shim EG. 2008. Salt-related dietary behaviors and sodium intakes of university students in Gyeonggi-do. Korean J Soc Food Sci Nutr 37, 578-588. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.5.578>

Kang H, Koppula S, Kim HK and Park TK. 2013. *Suaeda japonica* Makino attenuates lipopolysaccharide-induced neuro-inflammatory responses in BV-2 microglia via NF-kappa B signaling. Trop J Pharm Res 12, 351-356. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v12i3.12>

Kang MC, Kim SY, Kim YT, Kim EA, Lee SH, Ko SC, Wijesinghe WA, Samarakoon K W, Kim YS, Cho JH, Jang HS and Jeon YJ. 2014. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of polysaccharide purified from aloe vera (*Aloe barbadensis*) gel. Carbohydrate Polymers 99, 365-371. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.091>

Kim DU. 2006. Hyponatremia and hypernatremia. Korean J Pediatrics 49, 463-469.

Kim HK, Cheon BS, Kim YH, Kim SY and Kim HP. 1999. Ef-

- fects of naturally occurring flavonoids on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW 264.7 and their structure-activity relationships. *Biochem Pharmacol* 58, 759-765.
- Kim HH, Jun BS, Kim SK, Cha JY and Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Korean J Soc Food Sci Nutr* 29, 1127-1132.
- Kim JG, Kang YM, Eum GS, Ko YM and Kim TY. 2003. Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (*Akebia quinata* Decaisn, *Scirpus fluvialis* A. Gray, *Gardenia jasminoides* for. *Grandiflora* Makino). *J Agric Life Sci* 37, 69-75.
- Kim J, Song JY, Lee JM, Oh SH, Lee HJ, Choi HJ, Go JH and Kim YH. 2010. A study on physicochemical property of *Salicornia herbacea* and *Suaeda japonica*. *J Fd Hyg Safety* 25, 170-179.
- Ko SC and Jeon YJ. 2015. Anti-inflammatory effect of enzymatic hydrolysates from *Styela clava* flesh tissue in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages and in vivo zebrafish model. *Nutr Res Prac* 9, 219-226. <http://dx.doi.org/10.4162/nrp.2015.9.3.219>.
- Ko SC, Kang SM, Ahn G, Yang HP, Kim KN and Jeon YJ. 2010a. Antioxidant activity of enzymatic extracts from *Sargassum coreanum*. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 39, 494-499. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.4.494>
- Ko SC, Kang SM., Lee SH, Ahn G, Kim KN, Kim YT, Kim JS, Heu MS and Jeon YJ. 2010b. Protective effect of enzymatic extracts from *Sargassum coreanum* on H₂O₂-induced cell damage. *Fish Aquat Sci* 13, 26-35. <http://dx.doi.org/10.5657/fas.2010.13.1.026>
- Kong CS, Um YR, Lee JI, Kim YA, Lee JS and Seo YW. 2008. Inhibition effects of extracts and its solvent fractions isolated from *Limonium tetragonum* on growth of human cancer cells. *Korean J Biotechnol Bioeng* 23, 177-182.
- Lee KS, Kim AJ and Lee KY. 2012. Analysis of Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Suaeda japonica*. *J East Asian Soc Dietary Life* 22, 521-526. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2011.40.6.804>
- Lee KS, Gim JC, Son SM and Lee KY. 2011. Antioxidative effect of *Suaeda japonica* ethanol extract and solvent partitioned fractions. *Korean J Soc Food Sci Nutr* 40, 804-808. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2011.40.6.804>
- Michea L, Ferguson D R, Peters E M, Andrews P M, Kirby M R and Burg M B. 2000. Cell cycle delay and apoptosis are induced by high salt and urea in renal medullary cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 278, 209-218.
- Müller HE. 1985. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS-peroxidase medium. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 259, 151-158. [http://dx.doi.org/10.1016/S0176-6724\(85\)80045-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-6724(85)80045-6)
- Nanjo F, Goto K, Seto R, Suzuki M, Sakai M and Hara Y. 1996. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol Med* 21, 895-902. [http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849\(96\)00237-7](http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849(96)00237-7)
- Oki T, Masuda M, Furuta S, Nishibia Y, Terahara N and Suda I. 2002. Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. *Food Chem Toxicol* 67, 1752-1756. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08718.x>
- Park EJ and Kang MH. 2002. Application of the alkaline comet assay for detecting oxidative DNA damage in human biomeditoring. *Korean J Nutr* 35, 213-222.
- Park HJ, Kim MM and Oh YH. 2012. Effect of fruit extract of *Prunus mume* on the scavenging activity of reactive oxygen species and melannin production in B16F10 cells. *J Life Science* 22, 936-942. <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2012.22.7.936>
- Park PJ, Lee SH and Kim SK. 2000. Desalination of boiled oyster extract by electrodialysis. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15, 167-173.
- Singleton VL, Orthofer R and Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299, 152-178.
- Stela H. 1994. Oxidation of ascorbic acid and metal ions as affected by NaCl. *J Agric Food Chem* 42, 2402-2406. <http://dx.doi.org/10.1021/jf00047a008>
- Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka GI and Nishioka I. 1988. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem Pharm* 56, 213-222. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952\(98\)00128-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952(98)00128-2)