

Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Water and the Fermentation Liquid of Sea Tangle (*Saccharina japonica*)

Kyung Im Jung¹, Bo Kyung Kim¹, Jeong Hyeon Kang¹, Geun Hye Oh¹, In Kyung Kim² and Mihyang Kim^{1*}

¹Department of Food & Nutrition, Silla University, Busan 46958, Korea

²Full-Jungsung Co., Busan 48547, Korea

Received January 30, 2019 / Revised March 6, 2019 / Accepted April 1, 2019

The study investigated the physiochemical properties and the antioxidant and anti-inflammatory activities of the sea tangle (*Saccharina japonica*) in a water extract before (STWE) and after (STFL) fermentation with *Lactobacillus brevis*. The pH values of STWE and STFL were 6.18 and 4.16, and the sugar contents were 8.50°Brix and 7.40°Brix, respectively. The main free amino acids of STWE and STFL were glutamic acid, aspartic acid, and alanine, and the γ -amino butyric acid (GABA) content was increased by fermentation. The total polyphenol contents of STWE and STFL were 498.29 and 615.77 mg gallic acid equivalent (GAE)/ml, respectively. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities of STWE and STFL were markedly increased in a dose-dependent manner, and revealed about 89.89% and 96.94% activities, respectively, at 10% concentration ($p < 0.05$). The superoxide dismutase (SOD) activities of STWE and STFL were also markedly increased in a dose-dependent manner, and the activity of STFL was significantly increased when compared with STWE ($p < 0.05$). The anti-inflammatory activity was examined in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 cells. STWE and STFL decreased the production of reactive oxygen species (ROS), which had levels of about 189.90% and 174.69% at 1% concentration, respectively ($p < 0.05$). The contents of pro-inflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6), were decreased more by addition of STFL than by addition of STWE. The STWE and STFL showed high antioxidant and anti-inflammatory activity, and these activities were increased by fermentation. Therefore, sea tangle extracts can be used as functional food materials.

Key words : Anti-inflammatory, antioxidant, cytokines, fermentation, sea tangle

서 론

활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 인체 세포를 공격하여 과산화지질을 형성하고 DNA, RNA 파괴 및 다양한 효소 기능을 억제하여 노화 촉진 및 암 등의 질병을 유발하는 주요 원인이 된다[26, 40]. 정상 세포는 hydrogen peroxide, hydroxyl radical, singlet oxygen, superoxide radical 등의 ROS에 대항하며 산화적 스트레스를 입게 되는데, 최근 건강 및 노화 억제를 위한 항산화 물질에 대한 관심이 높아짐에 따라 ROS를 방어하는 천연 항산화 물질에 대해 연구가 활발하게 이루어지고 있다[50].

갈조류에 속하는 해조류인 다시마(*Saccharina japonica*)는 비

타민과 마그네슘, 요오드, 철 및 칼슘 등의 무기질과 해조 다당류인 후코이단과 알긴산을 풍부하게 함유하고 있고, γ -amino butyric acid (GABA)의 전구물질인 glutamic acid 등의 기능성 물질과 관련된 연구들이 보고되고 있다[17, 39]. 다시마에 대한 선행 연구로 항돌연변이 및 항암효과[6], 항당뇨 및 항산화 효과[5], 유방암 예방 효과[45], 혈액응고 및 면역력 증강 효과[8], 항균 및 항바이러스 효과[34] 등의 다양한 생리기능 보고되면서 기능성 식품으로서의 제품 개발에 관심이 모아지고 있다[22]. 현재 다시마는 1차 단순 가공품의 형태인 생초나 건제품 및 염장품으로 대부분이 판매되고, 일부는 추출 조미액 형태로 시판되고 있기에 원물의 우수성에 비해서는 상대적으로 부가가치가 낮은 편이다[7]. 따라서 다시마의 다양한 생리기능에 주목하여 고추장[39], 발효 다시마[11], 음료[22] 등의 제품화에 대한 연구가 이루어지고 있다.

건강에 대한 소비자들의 관심이 증가함에 따라 건강식품으로서의 발효 식품에 대한 관심이 높아지고 있다[10]. 발효는 고분자 유기물질을 상대적으로 단순한 물질로 전환시키는 생화학적인 반응으로 식품의 영양을 증진하고 섬유질의 소화율 향상 및 체내 흡수율을 개선하는 등 식품의 기능적 및 영양학적 특성 향상에 매우 중요한 역할을 한다[10]. 최근 유산균 등

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5620, Fax : +82-51-999-5657

E-mail : mihkim@silla.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.

의 미생물을 이용한 발효를 통해 해조류 추출물이 prebiotics로 이용될 수 있다고 보고되고 있으며, 이러한 유용 미생물에 의한 발효를 통해 새로운 생리활성 물질이 생성되고 유용 성분 또한 증가하는 것으로 보고되고 있다[32]. 다시마의 주요 아미노산인 glutamic acid는 유산균(*Lactobacillus brevis* BJ20)을 매개로 발효과정을 거치면 GABA로 전환되면서 그 함량이 증가한다[11]. 비단백 구성 아미노산인 GABA는 중추신경계의 주된 흥분 억제성 신경전달 물질로 신경안정, 혈압강하, 간기능 개선, 알코올 대사 촉진, 비만예방, 뇌기능 촉진 등의 생리활성 기능을 갖는 것으로 알려져 있다[13, 16, 27].

따라서 본 연구에서는 다시마 물 추출물과 유산균(*Lactobacillus brevis*)으로 발효시킨 다시마 발효액을 제조하여 이화학적 특성을 검토하고, LPS (lipopolysaccharide)로 처리한 RAW 264.7 대식세포에 대한 항산화 및 항염증 효과를 확인함으로써 다시마 물 추출액과 유산균으로 발효한 다시마 발효액에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 발효균주

본 연구에 사용한 다시마(맑은들썩, Hongchun, Korea)는 인터넷으로 분말상태로 구매하여 4℃의 냉장상태로 보관하며 사용하였으며, 발효균주는 *Lactobacillus brevis* (KCCM No. 11904)로 유산균 선택배지인 MRS 액체배지를 이용하여 37℃에서 정치 배양하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다.

다시마 물 추출액 및 발효액 제조

건조 다시마분말 50 g에 1 l의 증류수를 넣고 실온에서 12시간 추출한 후 90℃에서 30분간 중탕하고 Whatman No. 2 filter paper (Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과하여 다시마 물 추출액을 제조하였다. 다시마 발효액의 제조는 Park 등[34]과 Yoo [47]의 방법을 참고하여 제조하였다. 다시마 물 추출액에 탄소원으로 glucose (1%, w/v)와 yeast extract (1.5%, w/v)를 혼합하여 121℃의 가압 조건에서 15분간 멸균하였다. 여기에 정치 배양한 발효균주를 1%의 농도로 접종하여 37℃에서 발효한 후 재멸균(121℃, 15분)하여 실험에 사용하였다.

pH 및 당도 측정

다시마 물 추출액 및 발효액의 pH는 pH meter (S 20, SevenEasy, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 측정하였고, 당도는 당도계(PAL-3, ATAGO Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

유리아미노산 측정

전 처리한 다시마 물 추출액 및 발효액을 30배로 희석하여 0.2 µm syringe filter로 여과한 다음 아미노산 자동분석기 (Hitach L-8900 Amino acid Analyzer, Hitach Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다. 분석에 사용한 column은 ion exchange column (4.6 mm × 60 mm), 검출기는 UV detector를 사용하여 570 nm에서 측정하였고, 시료 주입량 20 µl, 유속 0.35 ml/min, column 온도 50℃ 및 반응 온도 135℃의 조건으로 측정하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 polyphenol 함량은 Folin-Ciocalteu법[41]을 일부 변형시켜 측정하였으며 표준물질로는 gallic acid (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA)를 사용하여 분석하였다. 일정농도의 시료에 정제수 및 50% folin-ciocalteu reagent를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 이후 7.5% Na₂CO₃를 첨가하여 50℃에서 5분간 반응시킨 다음 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 다시마 발효액의 총 폴리페놀 함량은 µg gallic acid equivalent (GAE)/ml로 나타내었다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazy (DPPH) radical 소거능 측정

다시마 물 추출액 및 발효액의 전자공여능은 Blois의 방법 [3]을 일부 변형하여 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 96-well plate에 시료와 150 µM DPPH 시약을 혼합하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 ELISA reader (Versa Max Microplate Reader, Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조그룹과 흡광도차를 비교하여 free radical의 제거활성을 백분율 (%)로 나타내었다.

DPPH radical scavenging activity (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

Superoxide dismutase 활성 측정

다시마 물 추출액 및 발효액의 SOD 활성은 SOD assay kit (Dojindo Molecular Technologies, Rockville, MD, USA)를 사용하여 manufacturer's instruction에 기술된 방법에 따라서 수행하였다. 시료를 농도별로 희석하여 96-well plate에 20 µl씩 분주한 후 WST working solution 200 µl를 넣어 혼합한 다음 효소반응 용액 20 µl를 첨가하여 37℃에서 20분간 반응시킨 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군 실험은 효소 대신 20 µl dilution buffer를 넣고 수행하였다. SOD 활성은 시료 첨가구와 무첨가구 사이의 흡

광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{SOD activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS 양이온(ABTS⁺⁺) 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Lee 등[33]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate을 혼합하여 15시간 동안 암소에 방치하여 ABTS⁺⁺을 형성시킨 후 30°C에서 온도 평형을 실시한 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하여 값이 1.5가 되도록 distilled water로 희석하였다. 희석한 용액에 시료를 혼합하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTS radicals scavenging activity (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

세포 배양

RAW 264.7 murine macrophage cell line은 한국 세포주 은행(Seoul, Korea)에서 분양 받아 실험에 사용하였다. 세포 성장을 위한 기본 배지로는 10% FBS, penicillin 100 U/ml, streptomycin 100 µg/ml를 포함하는 DMEM 배지를 사용하였으며, T-flask에 접종하여 37°C, 5%의 CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 세포는 2~3일 마다 배지를 교환하면서 실험에 사용하였으며 세포가 80%이상 confluence되었을 때 계대 배양하여 실험에 사용하였다. 각 실험에서는 배양된 세포에 시료를 농도별로 첨가하여 2시간 동안 배양한 다음 스트레스를 유발하기 위하여 1 µg/ml의 lipopolysaccharide (LPS)를 첨가하여 20시간 배양하였다.

세포독성 측정

RAW 264.7 세포 생존율 측정을 위하여 MTT assay를 실시하였다. 세포가 confluence 상태가 되면 96-well plate에 well 당 2×10⁴ cells/ml로 세포를 seeding하여 2시간 배양하고, 시료를 농도별로 처리하여 20시간 incubation한 후 배지를 버리고 100 ml (1 mg/ml)의 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H tetrazolium bromide (MTT) solution을 각 well에 주입하여 37°C에서 4시간 재 배양하였다. Medium에서 MTT solution을 제거하고 100 µl dimethyl sulfoxide (DMSO)를 주입하여 30분 동안 incubation한 후 ELISA plate reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율(%)로 나타내었다.

ABTS radicals scavenging activity (%) =

$$\frac{\text{대조구 흡광도} - \text{시료 첨가구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

Intracellular ROS level 측정

산화적 스트레스에 의해 과산화지질을 생성하여 세포 독성으로 작용할 뿐만 아니라 세포 손상을 유발하는 ROS를 측정하기 위하여 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA, Sigma Chemical Co., USA) 형광염료를 이용하였다. DCF-DA는 세포에서 아세틸기를 제거하고, 세포내의 hydrogen peroxide와 같은 radical에 정량적으로 반응하여 DCF 형광물질로 변화되는 것을 측정하는 원리이다. 세포가 confluence 상태가 되면 96-well plate에 well당 2×10⁴ cells/ml로 세포를 seeding하여 2시간 배양한 후, 시료를 농도별로 처리하고 2시간 배양하였다. 스트레스 유발을 위해 1 µg/ml의 LPS를 첨가하여 20시간 배양하고 배지를 제거한 후, DCF-DA를 넣어 90분 동안 37°C, 5%의 CO₂ incubator에서 배양한 다음 flowcytometer로 DCF-DA fluorescence 상승률을 측정하였다.

Nitric Oxide (NO) 생성능 측정

RAW 264.7 세포주의 NO 생성을 측정하기 위해 세포를 96-well plate에 분주하고 24시간 배양한 후 시료를 넣고 2시간 뒤 1 µg/ml 농도의 LPS를 20시간 동안 처리하여 세포를 자극하였다. 배양이 끝난 후, NO의 측정을 위해 각 well의 상등액 100 µl를 96-well plate로 옮겨 동량의 Griess (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 시약을 가하여 15분간 상온에서 암반응시키고 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

염증성 cytokines 농도 측정

다시마 물 추출액 및 발효액의 염증성 cytokines 농도는 ELISA kit를 이용하여 manufacturer's instruction에 따라 수행하였다. 세포가 confluence 상태가 되면 6-well plate에 well 당 1×10⁶ cells/ml로 seeding하여 2시간 배양한 다음 다시마 물 추출액과 발효액을 농도별로 처리하여 20시간 incubation하였다. 이후 배지를 수거하여 TNF-α와 IL-6의 함량을 측정하였다.

통계처리

실험결과는 통계 SAS package (Statistical Analysis System, Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하여 각 시료의 평균과 표준편차를 계산하였고, 분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 실시하여 p<0.05 level에서 시료간의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

다시마 발효액의 이화학적 특성

다시마 물 추출액 및 발효액의 pH와 당도를 측정한 결과는 Table 1과 같다. 다시마 물 추출액의 pH는 6.18이었으나 발효

Table 1. pH and sugar content (°Brix) of sea tangle water extract and fermentation liquid

Fermentation period (days)	0	1	2	3	4
pH	6.18±0.01 ^{1)a2)}	4.21±0.00 ^b	4.16±0.00 ^c	4.20±0.00 ^b	4.04±0.00 ^d
Sugar content (°Brix)	8.50±0.10 ^a	7.10±0.10 ^b	7.40±0.10 ^b	7.40±0.00 ^b	7.50±0.10 ^b

¹⁾Results are mean ± SD of triplicate data.

²⁾Different letters (a-e) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

1일째 4.21, 2일째 4.16으로 급격히 감소하였고, 3일째 소폭 증가하는 경향이었으나 4일째 다시 감소하였다($p < 0.05$). Kim 등 [22]은 겔 생성균 *Gluconocetobacter hansenii* TF-2를 이용한 다시마 발효액의 pH는 발효 전 5.93이었으나 배양 2일째 3.61로 급격히 감소하였고 이후 소폭 증가하였다가 서서히 감소하였다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과였다. Song 등[43]은 함초 발효액의 pH 측정 결과 발효 전 4.50이던 배양액이 12시간 후 2.95로 급격하게 감소하였고 이후 소폭 감소하여 48시간째 2.87이었다고 보고하였다. 다시마 물 추출액의 당도는 8.50 °Brix였으나 발효 1일째 7.10°Brix로 유의적으로 감소하였고 ($p < 0.05$) 2일째 7.40°Brix로 소폭 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. Eom 등[7]의 다시마 추출액은 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 발효에 의해 환원당이 2일 이내에 급속한 감소를 보였고, Song 등[42]의 톳 추출액은 유산균(*Lactobacillus brevis*) 발효에 의해 환원당이 감소하였다는 결과와 유사하였는데, 이는 미생물이 발효 중 환원당을 탄소원으로 이용하였기 때문인 것으로 판단하였다. 이상의 결과에서 pH와 당 함량은 발효 2일째 급격히 감소하였으나 이후에는 큰 차이를 보이지 않았기에 식품소재로서의 개발 가능성을 확인하고자 경제성을 고려하여 다시마 물 추출액을 2일간 발효 제조한 다시마 발효액 및 물 추출액의 항산화 및 항염증 활성을 측정하였다.

유리아미노산 함량

다시마 물 추출액과 발효액의 유리아미노산을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 총 유리아미노산 함량은 물 추출액과 발효액 각각 958.45 mg/100 ml와 933.45 mg/100 ml로 발효에 의해 총 유리아미노산은 감소하는 것으로 나타났다. 다시마 물 추출액의 주요 유리아미노산은 glutamic acid (234.73 mg/100 ml), aspartic acid (102.54 mg/100 ml) 및 alanine (94.66 mg/100 ml)의 순으로 풍부하게 함유되어 있었고, 그 외에 25여종의 유리아미노산이 확인되었다. 다시마 발효액의 주요 아미노산 또한 glutamic acid (187.24 mg/100 ml), aspartic acid (101.63 mg/100 ml) 및 alanine (95.30 mg/100 ml)으로 동일하였다. 다시마의 정미성분으로 알려진 glutamic acid는 발효에 의해 감소하였으나, GABA는 발효 전 2.83 mg/100 ml에서 발효 후 21.17 mg/100 ml로 약 7.48배 증가하였는데, 이와 같은 결과는 주요 유리아미노산인 glutamic acid가 발효에 의해 GABA로 전환되었기 때문인 것으로 판단된다[13, 27, 48]. Eom 등[7]은 다시마 추출액에는 glutamic acid와 aspartic acid

Table 2. Free amino acid contents of sea tangle water extract and fermentation liquid

Free amino acid	Contents (mg/100 ml)	
	Water extract liquid	Fermentation liquid
Phosphoserine	11.77	13.34
Taurine	3.17	2.66
Phosphor ethanol amine	8.44	ND ¹⁾
Urea	ND	ND
Aspartic acid	102.54	101.63
Hydroxyl proline	ND	ND
Threonine	37.86	38.39
Serine	39.18	37.92
Glutamic acid	234.73	187.24
Sarcosine	ND	ND
α-amino adipic acid	ND	ND
Proline	25.67	24.03
Glycine	27.15	28.87
Alanine	94.66	95.30
Citrulline	2.36	ND
α-amino butyric acid	5.33	4.58
Valine	64.41	68.72
Cysteine	ND	ND
Methionine	17.76	18.12
Cystathionine	ND	0.00
Isoleucine	50.26	53.81
Leucine	84.18	86.19
Tyrosine	13.47	ND
Phenylalanine	44.86	45.42
β-alanine	1.15	0.00
β-amino isobutyric acid	2.17	0.81
γ-amino butyric acid	2.83	21.17
Ethanol amine	ND	2.93
Hydroxylysine	ND	ND
Ornithine	8.83	35.82
Lysine	41.74	54.55
1-methylhistidine	ND	ND
histidine	10.28	11.95
3-methylhistidine	ND	ND
Anserine	ND	ND
Carnosine	ND	ND
Arginine	23.65	ND
Total free amino acid	958.45	933.45

¹⁾Not detected.

및 alanine이 주요 유리아미노산으로 *Saccharomyces crevisiae* SC-2 균주를 이용한 다시마 발효액에서는 다소 감소하였으며 총 유리아미노산 또한 감소하는 것으로 보고하여 본 연구와 유사한 결과였다. Ryu 등[39]은 유산균 발효 다시마 분말을 첨가한 고추장의 품질특성 연구에서 유산균 발효 다시마 미첨가군의 GABA 함량은 49.0 mg/100 g, 첨가군은 100.9 mg/100 g으로 유산균 발효 다시마 첨가에 의해 GABA 함량은 2배가량 증가하는 것으로 보고하였다. 한편, Jeon 등[13]은 다시마를 함유하는 배지에서 유산균 배양시의 GABA 생산량을 측정 한 결과, 42시간 이후부터 GABA를 생산하기 시작하여 72시간 만에 84.5%의 GABA 전환율이 나타났다고 보고하였다. 자연계에 널리 분포되어 있는 아미노산인 GABA는 신경전달물질로 혈압 강하 효과, 알코올 대사 증진 효과 및 뇌기능 촉진 등의 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다[16, 27]. 이상의 결과로 다시마 물 추출액은 발효에 의해 생리활성 물질인 GABA의 함량이 증가되었음을 확인할 수 있었으며, 이는 다양한 식품개발에 적용 가능할 것으로 생각된다.

총 폴리페놀 함량

Phenol성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물 중 하나로 phenolic hydroxyl (OH)기를 포함하며, 단백질 등 거대 분자와 쉽게 결합하는 기능을 가지고 있다[44]. 항산화 효과 등의 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져 있는 페놀 화합물의 총 함량이 높을수록 항산화 활성 또한 증가하는 것으로 알려져 있다[9, 18]. 따라서 본 연구에서는 다시마 발효에 따른 총 폴리페놀 함량을 gallic acid 표준 곡선으로부터 측정하였으며, 그 결과(Table 3) 다시마 물 추출액은 498.29 µg GAE/ml, 발효액은 615.77 µg GAE/ml로 발효에 의해 총 폴리페놀 함량은 약 1.24배 증가하는 것으로 나타났다. Song 등[42]은 톳 추출물은 유산균(*Lactobacillus brevis*) 발효에 의해 폴리페놀 함량이 다소 증가하였는데, 이는 유산균 균주에 의해 가수분해되었기 때문인 것으로 판단하였다. Park 등[37]은 생더덕 추출물의 발효(*Leuconoleu mesenteroides*)에 의해 총 폴리페놀 함량은 5배가량 증가하는 것으로 보고하였고, Lee와 Hong [28]은 블루베리는 유산균(*Lactobacillus plantarum* CGKW3) 발효에 의해 총 플라보노이드 함량이 증가하는 것으로 보고하였는데, 이는 유산균 발효에 의해 유익한 항산화 물질이 생성된 것으로 판단하였다. 한편, Hwang 등[10]은 다시마와 톳은

Table 3. Total polyphenol contents of sea tangle water extract and fermentation liquid

Sample	Water extract liquid	Fermentation liquid
Total polyphenol contents (µg GAE/ml) ²⁾	498.29±9.21 ²⁾	615.77±6.81

¹⁾GAE standards for gallic acid equivalent.

²⁾Results are mean ± SD of triplicate data.

유산균(*Lactobacillus rhamnosus* GG) 발효에 의해 총 폴리페놀 함량이 감소하는 것으로 보고하여 본 연구와는 차이가 있었다. 페놀산 중에서는 pH에 민감하게 반응하여 변형이 일어나는 페놀산과 열과 낮은 pH에서도 비교적 안정한 페놀산이 존재하는 것으로 알려져 있다[10]. 따라서 발효에 의한 총 폴리페놀 함량 변화는 발효 균주와 발효 조건 등의 차이에 따른 결과라 사료된다. 한편 Kim 등[19]은 다시마와 미역 추출물의 총 페놀 함량 측정 결과 각각 3.91 mg/g과 3.55 mg/g으로 다시마의 총 페놀 함량이 높은 것으로 보고하였고, Ahn 등[1]은 갈조류와 홍조류 및 녹조류 중 갈조류의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 상대적으로 높은 것으로 보고하였다.

DPPH radical 소거능

인체 내에서의 free radical은 단백질과 지질 등과 반응하여 인체의 노화를 촉진시킬 수 있는 물질로 이러한 free radical을 제거할 수 있는 천연물에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있는데, free radical을 상쇄시키거나 환원시키는 능력이 큰 물질은 활성산소 등의 다른 radical에 대한 소거 활성 및 항산화 활성을 기대할 수 있다[30]. 따라서 본 연구에서는 radical의 환원력을 측정하는 원리로써 다시마 물 추출액과 발효액의 DPPH radical 소거능을 측정하였다(Fig. 1). 그 결과, 농도의 존적으로 DPPH radical 소거능이 증가 하였으며($p < 0.05$), 물 추출액과 발효액 10% 농도에서는 각각 89.89%와 96.94%로 발효액의 소거능이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). Song 등[42]은 톳 추출물의 DPPH radical 소거능은 발효 전 72.57%에서 *Lactobacillus brevis* 20균주를 이용한 발효에 의해 81.12%로 증가하는 것으로 보고하였고, Eom 등[7]은 *Saccharomyces crevisiae* SC-2 균주를 이용한 다시마 발효액 100 µg/ml 농도에서의 DPPH radical 소거능은 발효 전 72.7%에서 발효 후 80.5%로 증가하는 것으로 보고하였다. Kang 등[17]의 연구에서는 굴과 다시마 발효분말의 DPPH radical 소거능은 100 µg/

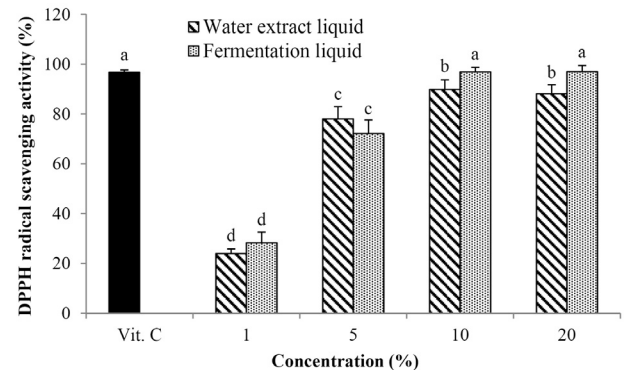


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of sea tangle water extract and fermentation liquid. Results are mean ± S.D. of triplicate data. Vit. C (Vitamin C, 0.001%) is used as positive control. Different letters (a-d) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

ml 농도에서 91%로 같은 농도의 butylated hydroxyanisol (BHA)보다 높은 것으로 나타났다. 미역, 다시마, 불등가사리 복합 해조류의 DPPH radical 소거능은 유산균(*Lacobacillus sakei*) 발효에 의해 증가하는 것으로 보고되어 있고[15], Lee 등 [30]은 유산균으로 발효한 꽃송이버섯 혼합물의 DPPH radical 소거능은 발효에 의해 증가하는 것으로 보고하여 본 연구와 동일하였다. 총 폴리페놀 함량은 항산화 활성과 관련이 있는 것으로 알려져 있는데[23], 본 연구결과에서 다시마 발효액의 높은 DPPH radical 소거능을 확인할 수 있었으며, 이는 다시마에 함유된 폴리페놀성 화합물 및 발효 중 생성된 대사산물이나 성분변화가 유효하게 작용하였기 때문인 것으로 판단된다.

Superoxide dismutase 활성

SOD는 다른 종류의 항산화제보다 우수한 항산화 효과를 나타내는 것으로 알려진 항산화 효소로[29] 생체 내에서 superoxide 이온(O₂⁻)을 과산화수소(H₂O₂)로 전환시키는 반응을 촉매한다[20]. DNA 등 세포 구성 성분들에 산화적 손상을 일으키는 H₂O₂는 노화와 질병의 원인이 되는 활성산소 중 하나이다. SOD에 의해 superoxide 이온이 전환되어 생성된 H₂O₂는 peroxidase나 catalase에 의해 물 분자와 산소 분자로 전환되어 인체 내 산화적 피해가 감소하게 된다[20]. 그러나 다시마 추출액 및 발효액의 SOD 활성을 분석한 연구는 거의 없는 실정이다. 본 연구에서 다시마 물 추출액과 발효액의 SOD 활성을 측정한 결과(Fig. 2), 농도 의존적으로 증가하였으며($p < 0.05$) 30% 농도에서의 SOD 활성은 물 추출액과 발효액 각각 74.65%와 83.41%로 발효액의 SOD 활성이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). Eom 등[7]은 *Saccharomyces crevisiae* SC-2 균주를 이용한 다시마 발효액 100 µg/ml 농도에서의 superoxide radical 저해활성은 발효 전 49.2%에서 발효 후 83.8%로 증가하는 것으로 보고하였고, Song 등[43]은 함초 발효액 50%

농도에서의 SOD 유사활성은 34.5%로 보고하였으며, Niwa와 Miyachi [35]는 발효에 의해 저분자량의 페놀성 화합물이 증가하게 되어 항산화 활성이 증가하는 것으로 보고하였다. 본 연구결과 다시마 발효액의 높은 SOD 활성은 DPPH radical 소거능에서와 같이 폴리페놀 화합물에 기인하는 것으로 생각되며 기능성 식품개발을 위한 소재로서 높은 가치가 있는 것으로 사료된다.

ABTS radical 소거능

ABTS radical 소거능은 ABTS와 potassium persulfate가 반응하여 청록색의 ABTS 라디칼을 생성하고, 생성된 ABTS 라디칼은 무색의 물질로 환원되는 성질을 이용한 측정법으로 비극성과 극성 물질 모두에 적용 가능한 장점이 있기에 항산화 활성 측정에 많이 활용되는 분석법이다[38, 46]. 본 연구에서 다시마 물 추출액 및 발효액의 ABTS radical 소거능을 측정한 결과(Fig. 3), 농도 의존적으로 증가하였으며($p < 0.05$) 50% 농도에서의 ABTS radical 소거능은 물 추출액과 발효액 각각 99.95%와 83.67%로 높은 소거능을 보였다($p < 0.05$). Lee [31]는 미역과 다시마 추출물의 DPPH radical 소거능 및 ABTS radical 소거능을 측정한 결과, DPPH radical 소거능은 다시마 추출물이 높게 나타났으나 ABTS radical 소거능은 미역 추출물이 높게 나타나는 것으로 보고하였다. 이와 같은 결과는 DPPH radical 소거능은 비극성 물질의 소거활성을 확인할 수 있으나 ABTS radical 소거능은 비극성과 극성 물질 모두를 소거할 수 있으며[30], ABTS는 cation radical, DPPH는 free radical과 반응하여 기질의 특성이 다르기 때문에 소거활성에 차이가 있는 것으로 판단된다[4].

세포독성

다시마 물 추출액과 발효액의 cell viability는 MTT 분석을 통해 측정하였으며 세포독성 실험을 수행한 결과는 Fig. 4와

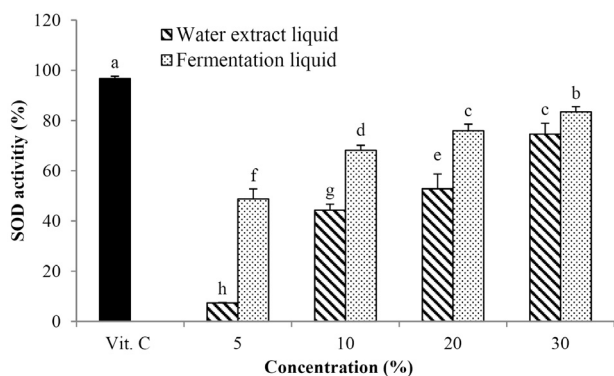


Fig. 2. Superoxide dismutase (SOD) activity of sea tangle water extract and fermentation liquid. Results are mean ± S.D. of triplicate data. Vit. C (Vitamin C, 0.05%) is used as positive control. Different letters (a-h) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

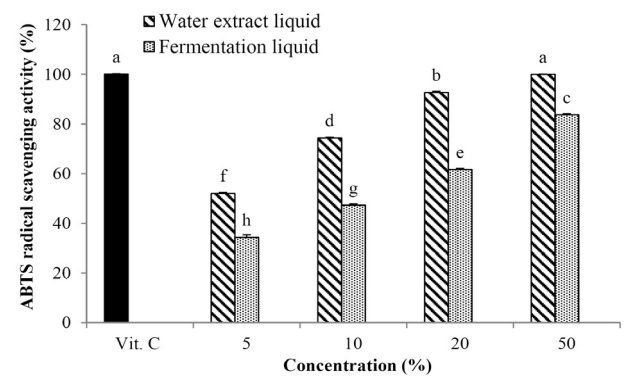


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of sea tangle water extract and fermentation liquid. Results are mean ± S.D. of triplicate data. Vit. C (Vitamin C, 0.1%) is used as positive control. Different letters (a-h) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

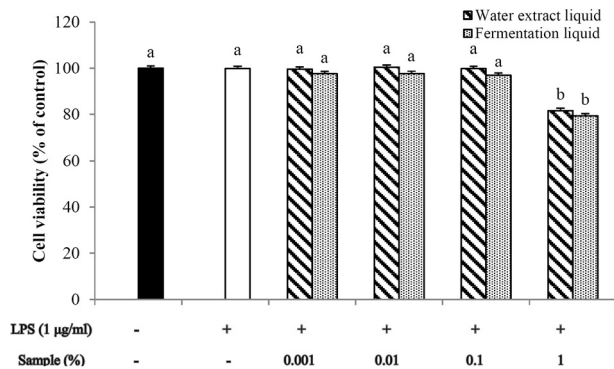


Fig. 4. Effects of sea tangle water extract and fermentation liquid on cell cytotoxicity in bacterial LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Cells (2×10^4 cells/well) in 96-well plates were first incubated with and without indicated concentrations of sample for 20 hr. Results are mean \pm S.D. of triplicate data. Different letters (a-b) within a total sample differ ($p < 0.05$).

같다. 각각의 시료를 0.001%-1%의 농도로 RAW 264.7 대식세포에 처리하여 세포 생존율을 측정된 결과, 다시마 물 추출액과 발효액 각각 99.57-81.66%와 97.62%-79.39%로 나타났다. 발효액의 pH에 따라 다르지만 본 연구에서와 같이 1% 미만의 농도에서는 RAW 264.7 세포가 성장하지만 1% 이상의 농도에서는 급격하게 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 대부분의 발효액에 대한 연구는 건조 후 분말 형태의 시료를 만들어 실험에 사용한다. 하지만 이와 같은 연구방법은 발효액의 고유한 효과를 검증하기에 한계가 있을 것으로 판단된다. 따라서 본 연구에서 이후 진행된 세포실험은 다시마 물 추출액 및 발효액 각각 0.001%와 0.01%, 0.1% 및 1%의 농도로 진행하였다.

ROS 생성에 대한 다시마 물 추출액과 발효액의 영향

인체 세포를 공격하여 단백질과 핵산 및 지질을 파괴하고 다양한 효소의 기능을 저해하여 노화를 촉진시키고 암 등의 질병을 유발하는 것으로 알려진 ROS [26, 40]는 산소의 환원 대사물질로 산소가 요구되는 정상 세포 내에서의 대사 과정이나 세포질 내의 효소작용에 의해 생성되거나 다양한 외부 요소들에 의해 생성된다[50]. 세포들은 ROS에 의한 손상 및 축적에 대항하기 위하여 항산화 방어기전을 갖고 있지만 ROS의 발생이 세포의 항산화 능력을 초과하는 경우에는 산화적 스트레스에 노출된다[2]. 따라서 본 연구에서는 다시마 물 추출액 및 발효액의 처리에 따른 대식세포 내 ROS를 측정하기 위하여 DCF-DA를 이용하여 flow cytometer로 분석하였다. LPS로 유도된 RAW 264.7 대식세포의 ROS 생성을 측정된 결과(Fig. 5) 농도 의존적으로 감소하였는데, 1% 농도에서의 다시마 물 추출액과 발효액의 ROS 생성은 각각 189.90%와 174.69%로 LPS 처리군(252.00%)보다 각각 26.64%와 30.68% 감소하였다

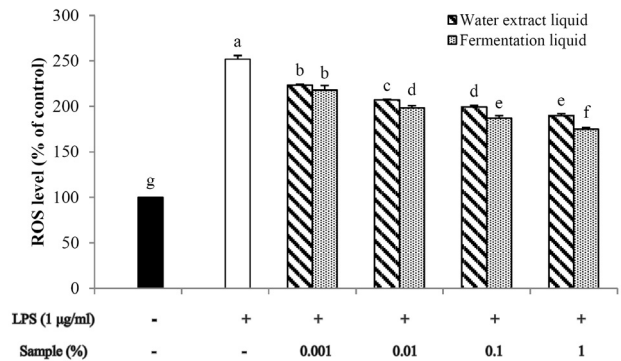


Fig. 5. Effect of sea tangle water extract and fermentation liquid on intracellular ROS level in LPS-treated RAW 264.7 cells. Cells (2×10^4 cells/well) in 96-well plates were first incubated with and without indicated concentrations of sample for 2 hr, and then incubated with LPS (1 µg/ml) for 20 hr. Untreated is negative control without LPS treatment. Results are mean \pm S.D. of triplicate data. Different letters (a-f) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

($p < 0.05$). 이상의 결과에서 다시마 물 추출액과 발효액은 세포 내의 ROS 생성을 억제하여 산화적 스트레스에 대한 방어 효과가 있는 소재임을 확인하였다.

NO 생성에 대한 다시마 물 추출액과 발효액의 영향

NO는 미생물의 침입이나 cytokines의 자극에 의하여 세포가 활성화 되는 것으로 NO 합성 효소에 의해 L-arginine으로부터 형성되는 반응성이 강한 이원자 free radical이다[12, 21]. 적절한 수준의 NO는 면역조절, 혈관확장, 신경전달 및 혈소판

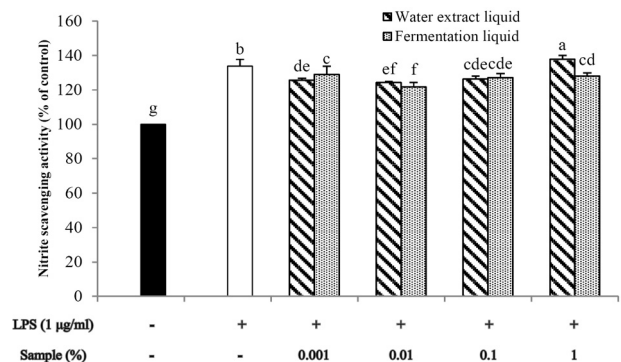


Fig. 6. Effects of sea tangle water extract and fermentation liquid on NO synthesis in bacterial LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were cultured for 20 hr with various concentration of PBE in the presence of LPS (1 µg/ml). NO release was measured using the method of Griess (nitrite). Results are mean \pm S.D. of triplicate data. Different letters (a-f) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

억제 등의 기능을 수행하지만 다량 생성될 경우 염증반응을 촉진하고 기관지염, 관절염, 종양발생 및 세포의 돌연변이 등의 병적 반응을 일으키는 것으로 알려져 있다[12, 25, 47]. 본 연구에서는 다시마 발효에 따른 항염증 활성을 측정하기 위하여 RAW 264.7 대식세포에 LPS를 처리하고 세포 내의 NO 생성을 유도한 후 다시마 물 추출액 및 발효액을 대식세포에 처리하여 NO 합성에 미치는 영향을 알아보았다(Fig. 6). 그 결과 다시마 물 추출액과 발효액 0.1% 농도에서의 NO 합성은 각각 126.32%와 127.09%로 LPS 처리군(133.86%) 보다 각각 5.63%와 5.06% 감소하였다. 다시마 물 추출액은 발효에 의해 NO 합성이 유의적으로 감소하였으나 전체적으로 억제율은 낮은 것으로 나타났다. Eom 등[7]은 다시마 추출액 및 효모로 발효한 발효액을 분말화하여 항염증 활성을 측정된 결과 100 µg/ml 농도에서의 NO 생성 억제율은 21.8%와 34.2%로 발효에 의해 항염증 활성이 증가한다고 보고하였다. 본 연구결과, 다시마 물 추출액과 발효액의 NO 생성 억제율이 높지 않은 것으로 나타났지만 본 연구에 사용한 다시마 물 추출액과 발효액은 정제 및 건조, 농축된 화합물이 아닌 것을 고려한다면 의미있는 결과라 사료된다.

염증성 cytokines 농도

LPS는 RAW 264.7 대식세포 또는 monocyte에서 TNF-α와 IL-1β 및 IL-6와 같은 염증성 cytokines를 증가시키는 것으로 알려져 있는데[24], 염증성 cytokines의 과도한 발현은 전신성 염증반응 증후군과 심한 조직손상 및 패혈증 등을 야기시키는 것으로 알려져 있다[14]. 따라서 본 연구에서는 LPS로 처리한 RAW 264.7 세포에 다시마 물 추출액과 발효액을 농도별로

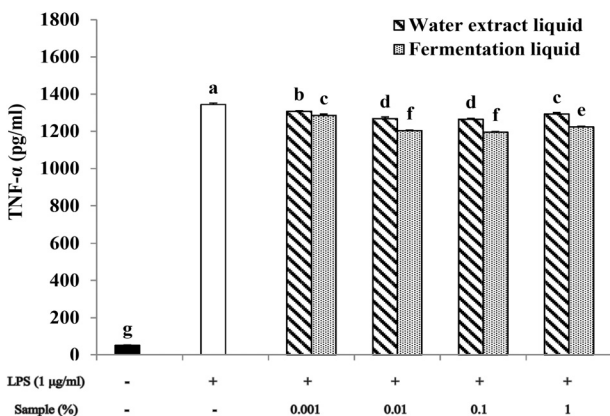


Fig. 7. Effects of sea tangle water extract and fermentation liquid on the production of TNF- α in RAW 264.7 cells. The cells were pre-treated with samples as indicated concentrations for 2 hr, and then incubated with or without LPS (1 µg/ml) for 20 hr. The level of cytokine was measured by ELISA kit. Results are mean ± S.D. of triplicate data. Different letters (a-g) within a total sample differ significantly ($p<0.05$).

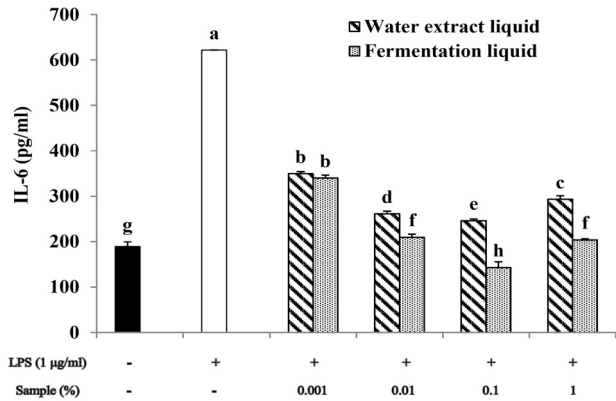


Fig. 8. Effects of sea tangle water extract and fermentation liquid on the production of IL-6 in RAW 264.7 cells. The cells were pre-treated with samples as indicated concentrations for 2 hr, and then incubated with or without LPS (1 µg/ml) for 20 hr. The level of cytokine was measured by ELISA kit. Results are mean ± S.D. of triplicate data. Different letters (a-h) within a total sample differ significantly ($p<0.05$).

처리하여 pro-inflammatory cytokine인 TNF-α와 IL-6의 분비량을 알아보았다. 그 결과(Fig. 7), TNF-α 분비량은 다시마 물추출액과 발효액 0.1% 농도에서 각각 1,265.69 pg/ml과 1,195.69 pg/ml로 LPS 단독 처리군(1,344.31 pg/ml)보다 각각 5.85%와 11.06%의 억제 효과를 보였다($p<0.05$). IL-6 분비량도 다시마 물 추출액과 발효액 처리 시 농도 의존적으로 감소하였는데 ($p<0.05$), 0.1% 농도에서의 IL-6 분비량은 다시마 물추출액과 발효액 각각 246.25 pg/ml과 142.92 pg/ml로 LPS 단독 처리군(621.67 pg/ml)에 비해 각각 60.39%와 77.01%의 억제 효과를 나타내었다(Fig. 8). Hwang 등[10]은 다시마 추출액 및 유산균으로 발효한 발효액을 분말화하여 LPS 자극에 의해 염증을 유도한 RAW 264.7 대식세포에서 형성하는 IL-1β, IL-6 및 TNF-α와 같은 cytokines의 생성에 미치는 영향을 분석한 결과, IL-1β와 TNF-α는 다시마 추출액 건조 분말, IL-6는 다시마 발효액 건조 분말이 염증성 cytokines의 생성을 감소시키는 것으로 보고하였다. 본 연구결과 다시마 물 추출액과 발효액은 pro-inflammatory cytokine인 TNF-α와 IL-6 분비 억제를 통해 항염증 효과를 나타냄을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2018년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원(해양수산기술 사업화지원사업) 지원 및 부산광역시(2018년도 BB21+사업)의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

References

1. Ahn, S. M., Hong, Y. K., Kwon, G. S. and Sohn, H. Y. 2010.

- Evaluation on *in-vitro* anticoagulation activity of 35 different seaweed extracts. *J. Life Sci.* **20**, 1640-1647.
2. Beckman, K. B. and Ames, B. N. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* **78**, 547-581.
 3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
 4. Cho, A. R., Park, K. W., Kim, K. M., Kim, S. Y. and Han, J. J. 2014. Influence of roasting conditions on the antioxidant characteristics of Colombian coffee (*Coffea Arabica* L.) beans. *J. Food Biochem.* **38**, 271-280
 5. Cho, Y. J. and Bang, M. A. 2004. Hypoglycemic and antioxidative effects of dietary sea-tangle extracts supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Nutr. Health* **37**, 5-14.
 6. Cui, C. B., Lee, E. Y., Lee, D. S. and Ham, S. S. 2002. Antimutagenic and anticancer effects of ethanol extract from Korean traditional Doenjang added sea tangle. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 322-328.
 7. Eom, S. H., Lee, B. J. and Kim, Y. M. 2010. Effect of yeast fermentation on the antioxidant and anti-inflammatory activity of sea tangle water extract. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **43**, 117-124.
 8. Ferial, H. B., Mostafai, E., Corinne, S. and Catherine, B. V. 2000. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. *Thromb. Res.* **100**, 453-459.
 9. Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J. and Aruoma, O. I. 1995. The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* **33**, 601-607.
 10. Hwang, Y. J., Chae, I. S. and Lee, Y. K. 2017. Anti-inflammatory effects of fermented *Laminaria japonica* and *Hizikia fusiforme* water extracts with probiotics in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cell line. *J. East Asian Soc. Diet. Life.* **27**, 1-8
 11. Jeon, B. H. 2017. Effects of GABA enriched fermented sea tangle supplementation on body composition, muscular activity, muscle growth factors, and inspiration functions in adult males. *Kor. A. Kines.* **19**, 1-9.
 12. Jeong, H. R., Sung, M. S., Kim, Y. H., Ham, H. M., Choi, Y. M. and Lee, J. S. 2012. Anti-inflammatory activity of *Salvia plebeia* R. Br. Leaf through heme oxygenase-1 induction in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 888-894.
 13. Jeon, S. J., Kim, A. R. and Lee, J. H. 2015. Physiological functions of lactic acid bacteria fermented broth containing *Fagopyrum esculentum* and *Saccharina japonica*. *J. Life Sci.* **25**, 1110-1114.
 14. Kang, K. O. 2011. Physiological and antioxidant activities of green, oolong and black tea extracts. *J. East Asian Soc. Diet. Life* **21**, 243-249.
 15. Kang, S. W., Kim, E. J., Jung, Y. R. and Ko, H. J. 2018. The anti-oxidant and whitening activities of seaweeds mixture fermentation extract. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **44**, 327-334.
 16. Kang, Y. M., Qian, Z. J., Lee, B. J. and Kim, Y. M. 2011. Protective effect of GABA-enriched fermented sea tangle against ethanol-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **16**, 966-970
 17. Kang, Y. M., Woo, N. S. and Seo, Y. B. 2013. Effects of *Lactobacillus brevis* BJ20 fermentation on the antioxidant and anti-inflammatory activities of sea tangle *Saccharina japonica* and oyster *Crassostrea gigas*. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **46**, 359-364.
 18. Kim, H. J., Jun, B. S., Kim, S. K., Cha, J. Y. and Cho, Y. S. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 1127-1132.
 19. Kim, J. W., Kwon, Y. R. and Youn, K. S. 2012. Quality characteristics and antioxidant properties in spray-dried and freeze-dried powder prepared with powdered seaweed extract. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **44**, 716-721.
 20. Kim, K. M., Park, M. H., Kim, K. H., Im, S. H., Park, Y. H. and Kim, Y. N. 2009. Analysis of chemical composition and *in vitro* anti-oxidant properties of extracts from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). *J. Appl. Biol. Chem.* **52**, 58-64.
 21. Kim, M. J., Bae, N. Y., Kim, K. B. W. R., Park, J. H., Park, S. H., Jang, M. R. and Ahn, D. H. 2016. Anti-inflammatory effect of *chondrus nipponicus* yendo ethanol extract on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **45**, 194-201.
 22. Kim, M. L., Choi, M. A. and Jeong, J. S. 2008. Development of fermented beverage using the sea tangle extract, and quality characteristics thereof. *Kor. J. Food Preserv.* **15**, 21-29.
 23. Kim, N. H., Lee, J. W., Do, J. H. and Yang, J. W. 2003. Effects of the fermentation periods on the qualities and functionalities of the fermentation broth of wild vegetables. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **35**, 272-279.
 24. Kim, S. M., Cho, Y. S. and Sung, S. K. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **33**, 626-632.
 25. Kim, Y. S., Lee, S. J., Hwang, J. W., Kim, E. H., Park, P. J. and Jeong, H. H. 2012. Anti-inflammatory effects of extracts from *Ligustrum ovalifolium* H. leaves on RAW 264.7 macrophages. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 1205-1210.
 26. Nakamura, J., Purvis, E. R. and Swenberg, J. A. 2003. Micromolar concentrations of hydrogen peroxide induce oxidative DNA lesions more efficiently than millimolar concentrations in mammalian cells. *Nucl. Acids Res.* **31**, 1790-1795.
 27. Lee, B. J., Senevirathne, M., Kim, J. S., Kim, Y. M., Lee, M. S., Jeong, M. H., Kang, Y. M., Kim, J. I., Nam, B. H., Ahn, C. B. and Je, J. Y. 2010. Protective effect of fermented sea tangle against ethanol and carbon tetrachloride-induced hepatic damage in Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.* **48**, 1123-1128.
 28. Lee, D. H. and Hong, J. H. 2015. Physicochemical properties and storage stability of blueberry fermented by lactic acid bacteria. *Kor. J. Food Preserv.* **22**, 796-803.
 29. Lee, H. J. and Lim, M. H. 2016. Antioxidation effect of lemongrass and maychang essential oil. *J. Kor. Soc. Cosm.* **22**, 319-326.
 30. Lee, J. J., Son, H. Y., Choi, Y. M., Cho, J. H., Min, J. K. and Oh, H. K. 2016. Physicochemical components and antioxidant activity of *Sparassis crispa* mixture fermented by lac-

- tic acid bacteria. *Kor. J. Food Preserv.* **23**, 361-368
31. Lee, N. Y. 2013. Antioxidant effect and tyrosinase inhibition activity of seaweeds ethanol extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 1893-1898.
 32. Lee, W., Oh, J. Y., Kim, E. A., Kang, N., Kim, K. N., Ahn, G. and Jeon, Y. J. 2016. A probiotic role of *Ecklonia cava* improves the mortality of edwardsiella tarda-infection zebrafish models via regulating the growth of lactic acid bacteria and pathogen bacteria. *Fish Shellfish Immunol.* **54**, 620-628.
 33. Lee, Y. M., Bae, J. H., Kim, J. B., Kim, S. Y., Chung, M. N., Park, M. Y., Ko, J. S., Song, J. and Kim, J. H. 2012. Changes in the physiological activities of four sweet potato varieties by cooking condition. *Kor. J. Nutr.* **45**, 12-19.
 34. Nishino, T., Aizu, Y. and Nagumo, T. 1991. The relationship between the molecular weight and the anticoagulant activity of two types of fucan sulfates from the brown seaweed *Ecklonia kurom.* *Agric. Biol. Chem.* **55**, 791-797.
 35. Niwa, Y. and Miyachi, Y. 1986. Antioxidant action of natural health products and Chinese herbs. *Inflammation* **10**, 79-91.
 36. Park, S. H., Lee, S. J., Jeon, M. J., Kim, S. Y., Mun, O. J., Kim, M. H., Kong, C. S., Lee, D. G., Yu, K. H., Kim, Y. Y. and Lee, S. H. 2014. Evaluation of biological activities of fermented *Hizikia fusiformis* extracts. *J. Life Sci.* **24**, 304-310.
 37. Park, S. J., Song, S. W., Seong, D. H., Park, D. S., Kim, S. S., Gou J. Y., Ahn, J. H., Yoon, W. B. and Lee, H. Y. 2009. Biological activities in the extract of fermented *Codonopsis lanceolate*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 983-988.
 38. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
 39. Ryu, D. G., Park, S. K., Jang, Y. M., Song, H. S., Kim, Y. M. and Lee, M. S. 2018. Change in food quality characteristics of *Gochujang* by the addition of sea-tangle *Saccharina japonica* powder fermented by lactic acid bacteria. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **51**, 213-220.
 40. Sahinoglu, T., Stevens, C. R., Bhatt, B. and Blake, D. R. 1996. The role of reactive oxygen species in inflammatory disease: Evaluation of methodology. *Methods* **9**, 628-634.
 41. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
 42. Song, H. S., Kim, H. K., Min, H. O., Choi, J. D. and Kim, Y. M. 2011. Change of physicochemical and sensory properties of *Hizikia fusiformis* water extract by the fermentation of lactic acid bacteria. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **44**, 104-110.
 43. Song, T. C., Lee, C. H., Kim, Y. E., Kim, I. H., Han, D. S. and Yang, D. H. 2007. The functionality of the saltwort (*Salicornia herbacea* L.) extract fermented juice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 395-399.
 44. Son, H. J., Um, M. Y., Kim, I. H., Cho, S. M., Han, D. S. and Lee, C. H. 2016. *In Vitro* screening for anti-dementia activities of seaweed extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **45**, 966-972.
 45. Tear, J. 1982. The dietary intake of *Laminaria*, a brown seaweed, and breast cancer prevention. *Nutr. Cancer* **4**, 217-222.
 46. Uchida, K. and Stadtman, E. R. 1993. Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction. *J. Biol. Chem.* **268**, 6388-6393.
 47. Weisa, A., Cicatiello, I. and Esumi, I. I. 1996. Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide synthase gene promoter by interferon- γ , bacterial lipopolysaccharide and N^G-monomethyl-L-arginine. *Biochem. J.* **316**, 209-215.
 48. Woo, N. S. and Seo, Y. B. 2013. Stress relaxation and sleep induction effect of fermented sea tangle *Saccharina japonica* and oyster *Crassostrea gigas* powder. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **46**, 702-707.
 49. Yoo, K. H. 2000. Deodorization of seaweed product off-flavors by lactic acid bacteria fermentation. MS Thesis. *Kangnung National University*, Kangwon, Korea.
 50. Yoon, M. Y. 2013. A study on anti-oxidant activity and anti-inflammatory action of sea buckthorn seed extract. *Kor. Soc. Biotech. J.* **28**, 327-331.

초록 : 다시마 물 추출액과 발효액의 항산화 및 항염증 활성

정경임¹ · 김보경¹ · 강정현¹ · 오근혜¹ · 김인경² · 김미향^{1*}

(¹신라대학교 식품영양학과, ²정성짓든)

본 연구에서는 다시마 물 추출액과 유산균(*Lactobacillus brevis*)으로 발효한 다시마 발효액의 이화학적 특성 및 항산화 활성과 항염증 활성에 대하여 검토하였다. 다시마 물 추출액 및 발효액의 pH는 각각 6.18과 4.16이었고, 당도는 8.50°Brix와 7.40°Brix였다. 다시마 물 추출액과 발효액의 주요 유리아미노산은 glutamic acid와 aspartic acid 및 alanine으로 발효에 의해 glutamic acid는 감소한 반면 GABA의 함량은 증가하였다. 다시마 물 추출액 및 발효액의 총 폴리페놀 함량은 각각 498.29 µg GAE/ml와 615.77 µg GAE/ml였다. DPPH radical 소거능은 농도 의존적으로 증가하였으며, 10% 농도에서의 DPPH radical 소거능은 각각 89.89%와 96.94%로 나타났다($p < 0.05$). 다시마 물 추출액과 발효액의 SOD 활성 또한 농도 의존적으로 증가하였으며, 다시마 발효액의 경우 물 추출액보다 유의적으로 활성이 증가하는 결과가 나타났다($p < 0.05$). 나아가 LPS로 유도된 RAW 264.7 대식세포를 이용하여 항염증 활성을 검토하였다. 다시마 물 추출액과 발효액의 ROS 생성은 1% 농도에서 각각 189.90% 및 174.69%를 나타내었다. 또한, 염증성 cytokines인 TNF- α 와 IL-1 β 의 분비량은 다시마 발효액이 물 추출액보다 유의적으로 감소하는 결과가 나타났다($p < 0.05$). 이상의 결과에서와 같이 다시마 추출액과 발효액은 높은 항산화 및 항염증 활성이 있는 것으로 나타났으며, 특히 발효에 의해 그 활성이 증가하여 기능성 식품소재로서 활용이 가능할 것으로 사료된다.