

# 부산 태종대 굴통머리 미역(*Undaria pinnatifida*)의 화학적 특성 및 항산화 효과

신영도 · 이정우 · 최명원 · 임선영\*

한국해양대학교 해양과학융합학부

## Chemical Characteristics and Antioxidant Effects of Sea Mustard *Undaria pinnatifida* from the Gultongmeori Area, Taejongdae, Busan

Young Do Shin, Jung Woo Lee, Myungwon Choi and Sun Young Lim\*

Division of Convergence on Marine Science, College of Ocean Science and Technology, Korea Maritime & Ocean University, Busan 49112, Republic of Korea

We investigated the nutritional characteristics and antioxidant effects of sea mustard *Undaria pinnatifida* fractions from Gultongmeori in Taejongdae, Youngdo, Busan. Based on dry weight, the moisture, crude protein, crude lipid, crude ash, and crude fiber contents were 34.98%, 11.55%, 0.43%, 17.82%, and 3.45%, respectively. To evaluate the antioxidant effect, we used radical scavenging (DPPH and ABTS), reactive oxygen species (ROS) production measurement, and DNA oxidation assays. Total flavonoid and phenol contents were higher in the *n*-hexane fraction than in other fractions. The *n*-hexane fraction was more effective at scavenging free radicals than other fractions as assessed using DPPH and ABTS assays ( $P < 0.05$ ). The ROS production assay showed that all sea mustard fractions decreased  $H_2O_2$  induced cellular ROS production compared to that seen in the control ( $P < 0.05$ ); however, the *n*-hexane fraction reduced cellular ROS production to a greater extent than the other fractions. Furthermore, the *n*-hexane fraction from Gultongmeori significantly inhibited genomic DNA oxidation. These results indicate that the antioxidant effect of sea mustard is associated with its high flavonoid and phenol content. This study proposes that processed food products supplemented with sea mustard can be developed as functional foods to promote health in the local population.

Keywords: Sea mustard, Flavonoids, Phenols, Antioxidant, Reactive oxygen species

### 서론

삼면이 바다로 둘러싸여진 우리나라는 다양한 해산물들을 쉽게 얻을 수 있으며, 특히 난류와 한류가 교차하기에 김, 미역, 다시마 등 다양한 해조류를 건제품, 염장품 및 조미품 등의 유용 식용자원으로 이용되어 왔다(Joo et al., 2003). 예로부터 아시아 지역에서 널리 해조류를 섭취해 왔으며, 영양학적으로 열량은 매우 낮으며, 무기질과 비타민, 식이섬유소가 풍부하고, 육지 식물에는 없는 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유하고 있으면서 채소류와 비교해서 불포화지방산과 필수아미노산이 많다는 것이 특징이다(Jimenez-Escrig and Cambrodón, 1999).

최근 해조류의 중금속 제거 활성(Choi et al., 2005), 항산화

활성(Oh et al., 2003), 항암활성(Kong et al., 2008), 항균 활성(Lim et al., 2008) 등 다양한 생리활성이 보고되어왔다. 특히 대표적인 식용 갈조류인 미역의 학명은 *Undaria pinnatifida* (Harvey) *Surinagar*로, 갈조강, 다시마목 미역과에 속하는 1년생 식물이며, 우리나라 전 연안에 분포하고 있다. 실제 미역 자체를 먹는 나라는 전 세계에서 한국, 일본, 중국, 대만, 하와이 등이지만, 보편적으로 전 국민이 상용하고 있는 곳은 한국과 일본뿐이다. 특히 일본은 김과 다시마의 활용이 보편적인 반면, 연간 5 kg의 해조류를 먹는 것으로 알려진 우리나라는 오래전부터 미역 이용이 월등하게 많은 미역 중주국이며, 한국에서는 해조류 소비의 75%가 미역이다(Kim, 2022). 그 중 청정 지역 갯바위에서만 자라는 돌미역은 바위에 붙어 있는 이끼를 제거하면 그

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 410. 4757 Fax: +82. 51. 404. 4750

E-mail address: sylim@kmo.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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0196>

Korean J Fish Aquat Sci 56(2), 196-203, April 2023

Received 9 January 2023; Revised 5 February 2023; Accepted 9 March 2023

저자 직위: 신영도(대학원생), 이정우(대학원생), 최명원(교수), 임선영(교수)

곳에 미역 포자가 서식하면서 생장한 대형 미역의 일종으로, 몸체는 엽상대, 포자엽 및 가근으로 나누어진다. 돌미역은 몸 전체에 걸쳐 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 인 및 황 등 무기질, 식이섬유, 비타민 등이 풍부하게 함유되어 있기 때문에 바다의 건강 채소이다(Kim et al., 2021a). 돌미역은 1년 중 2-3개월만 국내 연안 지역에서 채취되며, 채취된 돌미역은 건조시키거나 염장되어 각 지역으로 수출된다. 또한 국내에서 채취되는 돌미역은 원산지에 따라 각기 다른 특징을 가진다(Sohn, 2009).

Superoxide anion radical, hydroxyl radical, singlet oxygen 및 hydrogen peroxide 등 활성산소종이 신체 내에서 소거되지 않았을 때 free radical에 의해 노화 등 여러 질병의 원인으로 밝혀지면서 free radical에 작용하는 항산화제의 역할에 대한 연구가 끊임없이 진행되고 있다(Reiter, 1995). 지금까지 해조류의 항산화 특성에 대해서는 많은 연구가 진행되었으나 특정한 지역에서 채집된 해조류의 생리활성에 관련된 연구는 많지 않다. 선행 연구에서 부산 영도구 태종대산 구역별 5종 돌미역의 화학성분 및 항산화 활성을 분석한 결과가 있다(Kim et al., 2021a). 이러한 연구의 결과로부터 굴통머리 구역에서 채취한 돌미역 추출물의 총 플라보노이드 함량이 태종대산 5종 돌미역 중 총 플라보노이드 함량이 가장 높은 것을 확인한 바 있다. 이러한 배경에 기초해서 태종대산 굴통머리 구역에서 채취한 자연산 돌미역을 분획하여 얻어진 분획물의 페놀성 화합물의 함량과 항산화 활성을 규명하고 향후 이를 이용한 고부가가치의 지역 특산물 기능성 식품 개발에 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

실험에 사용된 돌미역은 부산시 태종대 굴통머리 구역에서 2021년 3월에 채취되었다(Fig. 1). 시료는 동결건조기(Freeze Dryer, Ilshin biobase, Daejeon, Korea)를 이용하여 20 Pa의 압력에서 -45°C로 3일간 건조하였다. 건조된 시료는 분말화시켜 실험 사용 전까지 냉동 보관하였다.

### 일반성분 분석

일반성분 분석은 AOAC (1990) 방법에 준하여 굴통머리 구역의 미역에 대한 수분, 조단백, 조지방, 조회분을 분석하였다. 수분 함량은 135°C 상압가열건조법을 이용하여 측정하였고, 조지방 정량은 Soxhlet 추출법으로 측정하였으며, 조단백질은 Kjeldahl법, 조회분은 건식회화법, 조섬유는 Henneberg-Stohmann method법으로 측정하였다.

### 추출 및 분획

Acetone과 methylene chloride (1:1 비율) 혼합 용매에 건조된 돌미역이 충분히 잠기도록 하여 상온에서 24시간 방치하였다. 이러한 추출 과정을 2회 반복하여 얻은 추출액들은 농축을 위하



Fig. 1. Map of sea mustard *Undaria pinnatifida* collection sites in Taejongdae.

여 rotary evaporator (N-1000; EYELA, Tokyo, Japan) 농축기를 이용하여 농축한 후 acetone/methylene chloride (A+M) 추출물을 얻었다. 남은 용매 추출 잔사에 동량의 methanol을 첨가하여 2회 추출한 후 농축하여 methanol (MeOH) 추출물을 얻었다. 두 용매로부터 최대로 얻은 추출물들을 혼합하여 용매 극성에 따라 분획하여 각각 *n*-Hexane 분획물, 85% aq. MeOH 분획물, *n*-butanol (*n*-BuOH) 분획물 및 Water 분획물을 생성하였다. 각각의 분획물들을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여, 배지에 희석하여 필요한 농도로 사용하였다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

변형된 Chae et al. (2002)의 방법에 따라 총 플라보노이드 (flavonoid) 함량을 다음과 같이 측정하였다. 추출물 및 분획물 1 mg을 MeOH 1 mL에 녹여 시험관에 취하고 10 mL의 diethylene glycol을 가한 후 1 N NaOH 1 mL 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다 (UV-visible spectrometer, Helios beta, Thermo Electron Co., Rochester, NY, USA). Rutin (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 사용하였다.

### 총 페놀 함량 측정

총 페놀(phenol) 화합물 함량은 Folin-Denies (Rice-Evans et al., 1997)법을 응용하여 측정하였다. 추출물 및 분획물 1 mg을 MeOH 1 mL에 녹이고, 10배 희석한 희석액 2 mL에 2배 희석한 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 2 mL을 첨가하여 혼합한 다음 3분 동안 방치한 후 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 2 mL를 넣고 1시간 동안 반응 시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다 (UV-visible spectrometer (Helios beta, Thermo electron corporation, USA). Tannic acid를 표준물질로 사용하였으며 표준곡선을 구하여 총 페놀성 화합물 함량을 측정하였다.

### 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성

시료를 MeOH로 농도별로 희석한 후 DPPH 2 mg을 ethanol

15 mL에 녹여 DPPH 원액을 조제하였다. DPPH 용액 1.2 mL에 DMSO 0.5 mL와 EtOH를 3 mL를 혼합하여 DPPH 희석액을 사용하였다. DPPH 희석액의 흡광도가 0.94–0.97이 되도록 하여 실험에 사용하였다(Chen et al., 1998). 시료 0.1 mL와 DPPH 희석액 0.9 mL를 섞은 후 10분 후 UV-visible spectrophotometer (Helios beta, Thermo Electron Co., Rochester, NY, USA)로 518 nm에서 측정하였다. 대조군으로 L-ascorbic acid와 butylated hydroxytoluene (BHT)를 사용하였다. 아래의 식에 따라 시료의 DPPH 라디칼 소거활성을 계산하였다.

$$\text{EDA (electron donating ability) (\%)} = \frac{\text{대조군 흡광도} - \text{실험군 흡광도}}{\text{대조군 흡광도}}$$

## 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt radical cation (ABTS+) 라디칼 소거활성

굴통머리 구역의 분획물에 대한 ABTS+ 라디칼 소거활성은 Re et al. (1999)의 방법으로 측정하였다. Radical 생성을 위해 7 mM의 ABTS+와 2.45 mM의 potassium persulfate를 첨가하여 암소에서 16시간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도가 0.68–0.72가 되도록 EtOH로 희석하였다. ABTS+ 희석액 0.98 mL와 시료 0.02 mL를 혼합하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다(UV-visible spectrophotometer, Helios beta, Thermo Electron Co., Rochester, NY, USA). 대조군으로는 L-ascorbic acid와 BHT를 사용하였다. DPPH 소거활성의 식에 따라 시료의 ABTS+ 라디칼 소거활성을 계산하였다.

## 세포 내 활성산소종(reactive oxygen species) 생성 억제효과

인체 섬유종세포(HT-1080)는 한국 세포주 은행(Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 실험에 사용하였다. Roswell Park Mineral Institute (RPMI) 1640 (Lonza, Walkersville, Virginia, USA) 배지에 100 units/mL의 penicillin-streptomycin (Gibco Co., Grandisland, NY, USA)과 10% Fetal bovine serum (FBS; Corning cellgro, Manassas, VA, USA)을 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator (MCO-15AC, Sanyo, Electric Biomedical Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 HT-1080 세포를 배양하였다. 세포 내 활성산소종은 DCFH-DA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) assay (Lebel et al., 1992)로 측정하였다. 96 well cell culture plate에 세포를 분주한 후 24시간 배양하고, PBS로 씻은 후 20 µM DCFH-DA를 각 well에 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 20분간 예비 배양하였다. 각 well에 시료를 처리하여 1시간 배양한 후, DCFH-DA를 제거하고 PBS로 씻은 후 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 시간 대별 DCF fluorescence양을 excitation

488 nm, emission 530 nm에서 microplate reader (VICTOR3; Perkin Elmer, Co., Waltham, MA, USA)로 측정하였다. Blank 군과 control군은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가하고, blank군은 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 대신 PBS를 처리하여 측정하였다.

## Genomic DNA 추출 및 DNA 산화 억제효과

Genomic DNA의 추출은 AccuPrep® Genomic DNA Extraction kit (Bioneer Corporation, Daejeon, Korea.)를 이용하여 추출하였다. Milne et al. (1993)의 방법에 따라 추출된 genomic DNA의 산화도를 측정하였다. 시료, genomic DNA, FeSO<sub>4</sub> 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 물에 녹여 100 µL의 혼합물을 만들고 genomic DNA, FeSO<sub>4</sub> 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 최종 농도가 50 µg/mL, 200 µM, 그리고 0.1 µM이 되도록 준비하였다. 실온에서 이 혼합물을 30분간 반응시키고 10 mM의 EDTA를 첨가하여 반응을 중지시켰으며 반응물은 1% agarose gel을 이용하여 100 V에서 30분 동안 전기영동하였다. 전기영동한 gel은 1 mg/mL ethidium bromide로 염색하였고 UV로 관찰은 Alpha Ease gel image analysis software (Alpha Innotech, San Leandro, CA, USA)를 이용하여 관찰하였다.

## 통계분석

실험결과는 Mean±SD (Standard deviation)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 P<0.05 수준에서 유의성을 검증하였고 사후검증은 Tukey's test를 실시하였다(SAS program v.9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## 결과 및 고찰

### 굴통머리 구역 돌미역의 일반성분 분석

굴통머리 구역 돌미역의 일반성분을 분석하여 Table 1에 나타내었다. 동결건조 한 돌미역 100 g 중에는 수분함량은 34.98%로 나타났고, 11.55% 조단백과 0.43% 조지방을 나타냈으며, 조회분과 조섬유는 각각 17.82% 및 3.45%를 나타내었다. 넓미역의 수분 12.5%, 조단백질 및 조지방은 각각 9.7% 및 0.2%이며 조회분은 23.1%로 조회분을 제외한 나머지 성분들의 함유

Table 1. Proximate composition of sea mustard *Undaria pinnatifida* of Gultongmeori areas in Taejeungdae, Yeongdo, Busan

Composition	Contents (%)
Moisture	34.98
Crude Protein	11.55
Crude lipid	0.43
Crude ash	17.82
Crude fiber	3.45

량이 넓미역보다 굴통머리 구역 돌미역이 더 높았다(Cho et al., 2013). Choi et al. (2008)은 시판 미역제품의 주산지(기장산, 진도산 및 완도산) 및 가공방법(가닥미역 및 실미역)에 따라 미역을 분류하고 이들의 일반성분을 비교한 결과 수분, 조지방, 조단백질, 탄수화물의 함량과 칼로리에서는 차이가 없었으나 회분 함량을 비교했을 때 기장산 실미역의 회분 함량이 높은 것으로 나타났다고 보고했다. 또한 기장산 가닥미역의 조지방 함량은 0.53%, 진도산 가닥미역의 조지방 함량은 1.47%로 나타나 진도산 가닥미역의 조지방 함량이 높은 것으로 나타났다고 보고하였다. 구멍쇠미역의 일반성분은 건당 기준으로 당질 45.4%, 조단백질 15.0%, 조지방 2.3% 및 조회분 33.1%으로 나타났다고 보고되었다(Park et al., 2012). 이상의 연구에서 사용된 미역의 경우 주로 양식산으로 자연산인 굴통머리 돌미역의 일반성분과는 다소 차이가 있음을 시사한다.

**굴통머리 구역 돌미역 분획물의 총 플라보노이드 및 총 페놀 함량**

굴통머리 구역 돌미역 분획물들의 총 플라보노이드 및 페놀 함량을 정량하여 그 값을 Table 1과 Table 2에 나타내었다. 굴통

머리 구역에서 채취한 돌미역의 플라보노이드 함량은 *n*-Hexane 분획물이 38.05±0.12 mg/g로 가장 높은 플라보노이드 함량을 나타내었으며, 85% aq. MeOH, *n*-BuOH 및 Water 분획물 순이다. 총 페놀함량도 *n*-Hexane 분획물이 4.62±0.05 mg/g로 가장 높은 함량을 나타내었다(Table 2). 이에 따라 *n*-Hexane 분획물의 총 플라보노이드 및 총 페놀 함량이 높게 나타났다. Lee et al. (2020)은 제주도에서 서식하는 넓미역의 총 플라보노이드 및 총 폴리페놀 함량은 각각 50.35 및 82.64 mg/g로 나타났다고 보고하였으며, 또한 Kim et al. (2021b)은 국내에서 생산된 미역과 쇠미역의 페놀 함량을 측정된 결과 에탄올 추출물에서 각각 31.31±1.07 및 29.18±1.0 mg/g의 함량을 나타냈다고 보고하였고 미역 미세분쇄분말 열수 추출물에서는 페놀 함량은 3.46 mg/g으로 보고되었다(Kim et al., 2012). 이상의 결과로부터 미역과 속하는 해조류의 경우 추출방법 및 서식지에 따라 그 함량이 상이함을 나타내었다.

**굴통머리 구역 돌미역 분획물의 DPPH 라디칼 소거 활성**

굴통머리 구역 돌미역 분획물의 DPPH 라디칼 소거활성은 Table 3에 나타내었다. 첨가농도 0.025, 0.05, 0.1, 0.25 및 0.5 mg/mL에서 굴통머리 구역 돌미역 분획물들과 대조군(L-ascorbic acid, BHT)의 소거활성을 비교하였다. DPPH radical 소거능은 *n*-Hexane 분획물이 실험한 모든 농도에서 EDA값이 높게 나타났으며, 0.5 mg/mL의 농도에서 66.69±0.22%의 소거능을 나타내었다(Table 3). 이러한 *n*-Hexane 분획물의 높은 소거활성은 앞서 *n*-Hexane 분획물에 함유된 높은 함량의 총 플라보노이드 및 페놀과 연관성과 높다고 여겨진다. 해조류의 총 페놀 함량과 항산화 효과 사이에는 양의 상관관계가 잘 알려져 있다(Siriwardhana et al., 2003; Karawita et al., 2005). Lim et al. (2002)은 중국 연안 13종의 해조류에서 순차적으로 분획 추출하여 항산화 효과를 측정된 결과 항산화 활성이 높은 분획물에 폴리페놀이 많이 함유되어 있었다고 보고하였다. Cho et al. (2013)은 넓미역 에탄올 추출물과 열수 추출물과 비교했을 때

Table 2. Contents of Gultongmeori areas in Taejeungdai, Yeongdo, Busan of total flavonoids and phenols of fractions from sea mustard *Undaria pinnatifida*

Samples	Total flavonoid contents (mg/g)	Total phenol contents (mg/g)
<i>n</i> -Hexane <sup>1</sup>	38.05±0.12 <sup>a2</sup>	4.62±0.05 <sup>a</sup>
85% aq. MeOH	15.14±0.30 <sup>b</sup>	2.74±0.09 <sup>b</sup>
<i>n</i> -BuOH	1.49±0.15 <sup>c</sup>	1.81±0.03 <sup>c</sup>
Water	0.83±0.03 <sup>d</sup>	0.14±0.01 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>*n*-Hexane, *n*-Hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, Water fraction. <sup>2</sup>Values are expressed as mean±SD. Values in the same column with different letters are significantly at P<0.05 using Tukey's test.

Table 3. DPPH radical scavenging effect (%) of fractions from sea mustard *Undaria pinnatifida*

Samples <sup>1</sup>	Concentrations (mg/mL)				
	0.025	0.05	0.1	0.25	0.5
<i>n</i> -Hexane <sup>2</sup>	16.53±0.63 <sup>c3</sup>	26.21±0.59 <sup>c</sup>	36.27±0.66 <sup>c</sup>	52.25±0.54 <sup>c</sup>	66.69±0.2 <sup>c</sup>
85% aq. MeOH	14.79±0.81 <sup>d</sup>	25.65±0.06 <sup>c</sup>	35.75±0.33 <sup>c</sup>	50.62±0.46 <sup>c</sup>	61.57±0.16 <sup>d</sup>
<i>n</i> -BuOH	3.72±0.60 <sup>f</sup>	5.99±0.09 <sup>d</sup>	12.67±0.41 <sup>d</sup>	16.99±0.37 <sup>d</sup>	23.67±1.2 <sup>e</sup>
Water	5.36±0.25 <sup>e</sup>	5.95±0.09 <sup>d</sup>	6.44±0.31 <sup>d</sup>	10.48±0.13 <sup>e</sup>	11.49±0.19 <sup>f</sup>
L-ascorbic acid	91.19±0.03 <sup>a</sup>	91.40±0.03 <sup>a</sup>	91.47±0.03 <sup>a</sup>	91.61±0.03 <sup>a</sup>	91.65±0.00 <sup>a</sup>
BHT	24.99±0.31 <sup>b</sup>	37.70±0.660 <sup>b</sup>	55.17±0.23 <sup>b</sup>	79.81±0.42 <sup>b</sup>	86.81±0.09 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Gultongmeori areas in Taejeungdai, Yeongdo, Busan, Korea. <sup>2</sup>*n*-Hexane, *n*-Hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, Water fraction; BHT, Butylated hydroxytoluene. <sup>3</sup>Values are expressed as mean±SD. Values in the same column with different letters are significantly at P<0.05 using Tukey's test.

첨가농도 1,000 µg/mL 농도에 각각 70% 및 30%로 DPPH 라디칼 소거능을 나타내어 넓미역 에탄올 추출물에 의한 소거활성이 높음을 보고하였다. 인도산 홍조류 분획물들의 DPPH 소거능을 비교한 결과 분획물들 중 petroleum ether 분획물은 높은 총 페놀함량과 함께 가장 높은 항산화 효과를 나타내었다고 보고되었다(Ganesan et al., 2008).

#### 굴통머리 구역 분획물의 ABTS+ 라디칼 소거활성

굴통머리 구역 돌미역 분획물의 ABTS+ 라디칼 소거활성은 Table 4에 나타내었다. DPPH 결과와 유사하게 *n*-Hexane 분획물에 의한 소거활성이 가장 높았으며, 0.5 mg/mL의 농도에서 53.73±1.12%의 소거능을 나타내었다(Table 4). Jin et al. (2018)은 미역귀에서 0.01, 0.05, 0.1 및 0.5 mg/mL 농도에서 4.2, 21.6, 33.4 및 67.4%의 ABTS 라디칼 소거능을 보였다. 양이온 소거능을 측정하는 ABTS+ 라디칼 소거능은 음이온 소거능을 측정하는 DPPH 라디칼 소거활성과 비교했을 때, 다소 낮은 소거활성을 나타내었다. Neri et al. (2019)은 양식산인 통영산 및 기장산 미역 추출물의 항산화 활성을 비교한 결과 기장산 미역 추출물은 통영산 미역 추출물보다 높은 DPPH 및 슈퍼옥사이드 소거활성을 보였고 수산이온 소거활성에는 통영산 미역 추출물에서 높게 나타났고 통영산 및 기장산 추출물의 fucoidan 함량을 측정된 결과 12.1% 및 13.6%로 나타났다고 보고하였다.

#### 굴통머리 구역 돌미역 분획물의 세포 내 활성산소종(reactive oxygen species) 생성 억제효과

인체의 산화적 스트레스에 의해 발생하는 활성산소종들은 생명체의 세포 신호 전달에 중요한 역할을 하거나 과발현된 활성산소종들의 경우는 생체내의 세포와 조직에 해로운 반응을 일으켜 암, 뇌졸중, 당뇨 및 동맥경화 등의 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Cavas and Yurdakoc, 2005; Cho et al., 2011). 굴통머리 구역 돌미역의 분획물(0.05 및 0.1 mg/mL 첨가농도)을 인체 섬유육종세포(HT-1080)에 처리하여 측정시간 120분

동안 세포 내 활성 산소종을 측정된 결과 굴통머리 구역 돌미역 분획물들 모두 시간이 지남에 따라 세포 내 활성산소종을 크게 억제하였다(Fig. 2). 대조군과 비교했을 때 분획물들 중 굴통머리 구역 돌미역의 *n*-Hexane 분획물(0.1 및 0.05 mg/mL 첨가농도)에 의한 활성산소종 생성 억제가 높았다( $P < 0.05$ ).

#### 굴통머리 구역 돌미역 분획물의 Genomic DNA 산화 억제효과

활성산소종들은 세포의 DNA 염기변이나 염기가닥 손상 등 DNA를 산화시키므로 DNA가 손상을 입게 되면 암이나 노화 같은 생리학적 문제가 나타난다고 밝혀졌다(Valko et al., 2007). 200 µg/mL의 시료 첨가농도에서 대조군과 비교한 genomic DNA의 산화정도는 Fig. 2에 나타내었다. 대조군으로는 시료 첨가없이 산화시킨 control과 시료, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub> 모두 처리하지 않은 blank를 사용하였다. 실험 결과, 분획물들 중에서는 *n*-Hexane 분획물이 가장 좋은 산화 억제력을 보였다(Fig. 3). Noroozi et al. (1998)은 플라보노이드 및 카로티노이드 첨가는 인체림프구에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 DNA 산화를 억제시켰다고 보고하였다. Kim et al. (2021a) 선행연구에서 부산시 영도구 태종대 구역을 5군데로 나누어 각각 채취한 돌미역들의 추출물들 중 굴통머리 구역의 추출물은 높은 함량의 총 플라보노이드 및 총 페놀을 함유하였고 총 *n*-3 불포화지방산 함량 또한 가장 높았다고 보고하였다. 또한 굴통머리 구역 돌미역 추출물을 분획하여 비교한 결과 *n*-Hexane 분획물은 높은 총 플라보노이드 및 총 페놀 함량을 함유하였고 이러한 높은 함량은 세포내 활성산소종 생성 억제효과 및 DPPH 및 ABTS+ 라디칼 소거능과 Genomic DNA 산화 억제효과와 상관성이 있음을 확인하였다. DNA 손상은 활성산소종에 의한 산화적 스트레스로 유발되며 정상적인 DNA는 supercoiled 형태로 존재하나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 철의 Fenton 반응에 의해 생성된 OH 라디칼 또는 Fe<sup>2+</sup> 존재 하에서는 산화적 스트레스에 의한 손상을 받아 open-circular 형태로 전환된다. 페놀성 화합물은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 금속 이온과의 반응을 억제하고 Fenton 반응의 억제를 이끌어내어 Fe<sup>2+</sup>의 환원 반응

Table 4. ABTS radical scavenging effect (%) of fractions from sea mustard *Undaria pinnatifida*

Samples <sup>1</sup>	Concentrations (mg/mL)				
	0.025	0.05	0.1	0.25	0.5
<i>n</i> -Hexane <sup>2</sup>	10.92±0.89 <sup>e3</sup>	13.65±1.12 <sup>c</sup>	30.18±0.78 <sup>c</sup>	44.71±0.51 <sup>c</sup>	53.73±1.12 <sup>b</sup>
85% aq. MeOH	6.78±0.38 <sup>e</sup>	10.04±0.45 <sup>d</sup>	14.82±0.43 <sup>d</sup>	22.57±0.62 <sup>d</sup>	32.18±1.27 <sup>c</sup>
<i>n</i> -BuOH	2.10±0.98 <sup>d</sup>	6.68±0.30 <sup>e</sup>	12.04±0.21 <sup>e</sup>	15.07±0.30 <sup>e</sup>	19.41±1.10 <sup>d</sup>
Water	1.27±0.59 <sup>c</sup>	2.49±0.05 <sup>f</sup>	3.46±0.17 <sup>f</sup>	4.29±0.05 <sup>f</sup>	6.68±0.08 <sup>e</sup>
L-ascorbic acid	92.29±0.05 <sup>a</sup>	92.41±0.05 <sup>a</sup>	92.55±0.00 <sup>a</sup>	92.69±0.05 <sup>a</sup>	92.69±0.00 <sup>a</sup>
BHT	53.16±0.48 <sup>b</sup>	79.53±0.99 <sup>b</sup>	90.26±0.12 <sup>b</sup>	92.04±0.05 <sup>b</sup>	92.18±0.05 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Gultongmeori areas in Taejeungdai, Yeongdo, Busan. <sup>2</sup>*n*-Hexane, *n*-Hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, Water fraction. <sup>3</sup>Values are expressed as mean±SD. Values in the same column with different letters are significantly at  $P < 0.05$  using Tukey's test.

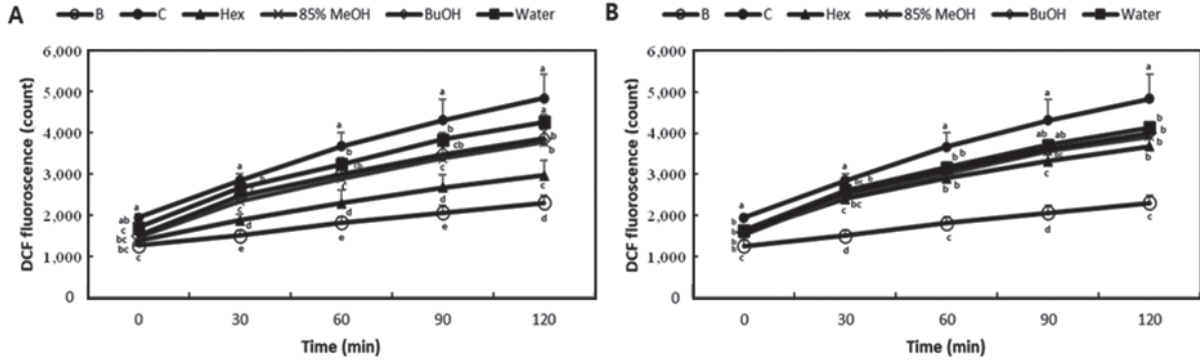


Fig. 2. Inhibitory effect of solvent fractions from sea mustard *Undaria pinnatifida* from Gultongmeori areas in Taejongdai (A, 0.1 mg/mL; B, 0.05 mg/mL) on levels of reactive oxygen species in HT-1080 human fibrosarcoma cells. Control, Treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and distilled water; blank was treated with distilled water without H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; *n*-Hexane, *n*-Hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, Water fraction. Values are expressed as mean±SD. Values with different letters are significantly different at P<0.01 using Tukey’s test.

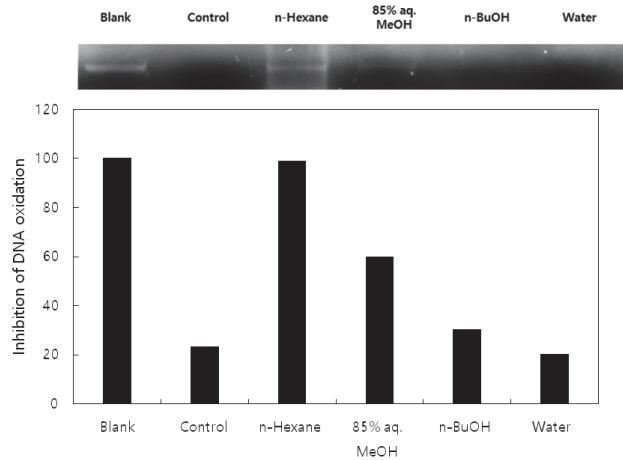


Fig. 3. Antioxidant effects of solvent fractions from sea mustard *Undaria pinnatifida* on genomic DNA in HT-1080 cells. Control, Treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and distilled water; blank was treated with distilled water without H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *n*-Hexane, *n*-Hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, water fraction

을 일으키고 OH 라디칼을 직접적으로 제거하여 산화적 스트레스로부터 DNA의 구조를 보호한다고 알려졌다(Prakash et al., 2007). 따라서 본 연구에서 굴통머리 돌미역 분획물은 DPPH 및 ABTS 라디칼 제거능보다 OH 라디칼 소거능이 우수하다고 여겨진다. 돌미역의 또 다른 가능성이 있는 생리활성 물질로 Fucoidan을 들 수 있는데 Lakshmanan et al. (2022)은 해조류 *Sargassum ilicifolium*으로부터 추출한 fucoidan이 라디칼을 소거하는 활성이 높음을 보고하였다. 기능성 식품 및 의약품 산업에서는 여러 경로 생성된 활성산소종들을 제거하기 위하

여 가격이 저렴하면서 항산화 활성이 높은 합성 항산화제가 널리 사용되어 왔으나 이들의 부작용이 보고되면서 합성 항산화제보다 더 안전하고 효과적인 항산화제를 천연물로부터 얻고자 하는 연구들 중 자연산 돌미역의 항산화 활성을 규명함으로써 지역 해양생물자원의 중요성에 대한 인식 제고 및 이들을 활용한 지역 수산식품 개발에 기초 자료로 활용될 것으로 기대된다.

## 사 사

본 과제(결과물)은 2022년 한국해양대학교 국립대학육성사업의 재원으로 영도연안연구센터의 지원을 받아 수행된 연구 결과입니다.

## References

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis (15th edn.). AOAC, Arlington, VA, U.S.A.

Cavas L and Yurdakoc K. 2005. An investigation on the antioxidant status of the invasive alga *Caulerpa racemose* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman, et Boudoreque (Caulerpales, Chlorophyta). *J Exp Mar Biol Ecol* 325, 189-200. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.05.002>.

Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW and Oh SH. 2002. *Standard Food Analysis*. Jigu-moonwhasa, Paju, Korea, 381-382.

Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Fujimoto K and Nokihara K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *J Agric Food Chem* 46, 49-53. <https://doi.org/10.1021/jf970649w>.

Cho M., Yoon SJ and Kim YB. 2013. The nutritional composi-

- tion and antioxidant activity from *Undariopsis peterseniana*. Ocean Polar Res 35, 273-280. <https://doi.org/10.4217/OPR.2013.35.4.273>.
- Cho ML, Lee HS, Kang IJ, Won MH and You SG. 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. Food Chem 127, 999-1006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.072>.
- Choi JS, Bae HJ, Kim YC, Park NH, Kim TB, Choi YJ, Choi EY, Park SM and Choi IS. 2008. Nutritional composition and biologic activities of the methanol extracts of sea mustard (*Undaria pinnatifida*) in market. J Life Sci 18, 387-394. <https://doi.org/10.5352/JLS.2008.18.3.387>.
- Choi IW, Kim SU, Seo DC, Kang BH, Sohn BK, Rim YS and Cho JS. 2005. Biosorption of heavy metals by biomass of seaweeds, *Laminaria species*, *Ecklonia stolonifera*, *Gelidium amansii* and *Undaria pinnatifida*. Korean J Environ Agric 24, 370-378. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2005.24.4.370>.
- Ganesan P, Kumar CS and Bhaskar N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. Bioresource Technol 99, 2717-2723. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.005>.
- Jimenez-Escrig A and Cambrodón IG. 1999. Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. Arch Latinoam Nutr 49, 114-120.
- Jin SW, Kim KJ, Koh YW, Im SB, Ha NI, Jeong HG and Seo KS. 2018. Abstract antioxidant activity and anti-inflammatory effect of alginic acid from sea mustard sporophyll. In: Proceedings of the Plant Resources Society of Korea Conference 78-78.
- Joo DS, Lee JK, Cho YS, Cho SY, Je YK and Choi JW. 2003. Effect of seatangle oligosaccharide drink on serum and hepatic lipids in rats fed a hyperlipidemic diet. J Kor Soc Food Sci Nutr 32, 1364-1369. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2003.32.8.1364>.
- Karawita R, Siriwardhana N, Lee KW, Heo MS, Yeo I.K, Lee YD and Jeon YJ. 2005. Reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition properties of different solvent fractions from *Hizikia fusiformis*. Eur Food Res Technol 220, 363-371. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1044-9>.
- Kim H, Jayapala HPS, Jo WH, Nam HS and Lim SY. 2021a. A comparative study on the chemical characteristics and antioxidant effects of sea mustards sourced from different Areas in Taejongdae. J Life Sci 31, 559-567. <https://doi.org/10.5352/JLS.2021.31.6.559>.
- Kim NL. 2022. Korea's Seaweed History. HumanandBooks, Seoul, Korea, 28.
- Kim JW, Kwon YR and Youn KS. 2012. Quality characteristics and antioxidant properties in spray-dried and freeze-dried powder prepared with powdered seaweed extracts. Kor J Food Sci Technol 44, 716-721. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2012.44.6.716>.
- Kim KA, Oh TH and Chun SH. 2021b. Antioxidative activities and protective effects on alcohol-induced oxidative stress in the human hepatic HepG2 cells of *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata* extracts. J Marine Life Sci 6, 66-72. <https://doi.org/10.23005/ksmls.2021.6.2.66>.
- 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. KSBB J 23, 177-182.
- Lakshmanan A, Balasubramanian B, Maluventhen V, Malasiamy A, Baskaran R, Liu WC and Arumugam M. 2022. Extration and characterization of Fucoïdan derived from *Sargassum ilicifolium* and its biomedical potential with in silico molecular docking. Appl Sci 12, 13010. <https://doi.org/10.3390/app122413010>.
- LeBel CP, Ischiropoulos H and Bondy SC. 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. <https://doi.org/10.1021/tx00026a012>.
- Lee CH, Park YN and Lee SG. 2020. Analysis and comparison of bioactive compounds and total antioxidant capabilities of Korean brown algae. Korean J Food Sci Technol 52, 54-59. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2020.52.1.54>.
- Lim JH, Jung KS, Lee JS, Jung ES, Kim DK, Kim YS and Park DH. 2008. The study on antimicrobial and antifungal activity of the wild seaweeds of Jeju Island. J Soc Cosmet Sci Korea 34, 201-207.
- Lim SN, Cheung PCK, Ooi VEC and Ang PO. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. J Agric Food Chem 50, 3862-3866. <https://doi.org/10.1021/jf020096b>.
- Milne L, Nicotera P, Orrenius S and Burkitt MJ. 1993. Effects of glutathione and chelating agents on copper-mediated DNA oxidation: Pro-oxidant and antioxidant properties of glutathione. Arch Biochem Biophys 304, 102-109. <https://doi.org/10.1006/abbi.1993.1327>.
- Neri TAN, Rohmah Z, Ticar BF, Pamos GN and Choi BD. 2019. Evaluation of sea mustard (*Undaria pinnatifida*) sporophylls from south Korea as fucoidan source and its corresponding antioxidant activities. Fish Aquat Sci 22, 24. <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0141-4>.
- Noroozi M, Angerson WJ and Lean MEJ. 1998. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative damage to human lymphocytes. Am J Clin Nutr 67, 1210-1218. <https://doi.org/10.1093/ajcn/67.6.1210>.
- Oh JK, Shin YO, Sohn HS and Seo RM. 2003. Effect of functional food including seaweeds extracts supplementation on hematological variables and antioxidant system. Korean J Physic Edu 42, 895-903.
- Park SJ, Min KJ and Park TG. 2012. Nutritional characteristics and screening of biological activity of *Agarum cribrosum*. Korea J Food Nutr 25, 842-849. <https://doi.org/10.9799/ks->

fan.2012.25.4.842.

- Prakash CP, Garima U, Brahma NS and Harikesh B. 2007. Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). Food Chem 104, 783-790. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.029>.
- 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. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3).
- Reiter RJ. 1995. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain<sup>1</sup>. FASEB J 9, 526-533. <https://doi.org/10.1096/fasebj.9.7.7737461>.
- Rice-Evans C, Miller N and Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci 2, 152-159. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2).
- Siriwardhana N, Lee KW, Kim SH, Ha WJ and Jeon YJ. 2003. Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. Food Sci Technol Inter 9, 339-346. <https://doi.org/10.1177/1082013203039014>.
- Sohn JW. 2009. A study on Korean seaweed foods by literature review. Korean J Food Nutr 22, 75-85.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telsler J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 39, 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.