

다시마 추출액의 항산화 및 항염증 활성에 대한 효모 발효의 영향

엄성환·이배진¹·김영목^{1*}

부경대학교 식품공학과, ¹(주)마린바이오프로세스

Effect of Yeast Fermentation on the Antioxidant and Anti-inflammatory Activity of Sea Tangle Water Extract

Sung-Hwan Eom, Bae-Jin Lee¹ and Young-Mog Kim^{1*}

Department of Food Science and Technology, Pukyong National University,
Busan 608-737, Korea

¹Marine Bioprocess Co. LTD., Busan 619-912, Korea

To examine the effective use of seaweeds, sea tangle (*Laminaria japonica*) was extracted with water and the resultant extracts were fermented with *Saccharomyces cerevisiae*. Four strains of *S. cerevisiae* were cultured in aqueous extracts from sea tangle. *S. cerevisiae* SC-2, which was isolated from a traditional Korean fermented food (Meju), was selected for further study based on the results of a sensory evaluation. No significant differences in proximate compositions, such as moisture, crude protein, crude fat, and crude ash, of the sea tangle extracts before and after fermentation were observed. The reducing sugar decreased as the fermentation period increased, and the contents of some free amino acids were also affected by *S. cerevisiae* SC-2 fermentation. However, the content of glutamic acid, which is a major taste compound in sea tangle extract, was not affected by fermentation for up to 36 hr by the SC-2 strain. To determine the antioxidant activity of fermented sea tangle extract (fermented for 36 hr by SC-2 strain), the radical scavenging activities of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), superoxide, and nitric oxide were investigated and xanthin oxidase inhibition assay was performed. The antioxidant activity increased by 8 to 35%. The greatest enhancement of antioxidant activity was seen in the superoxide radical scavenging assay with 100 $\mu\text{g/mL}$ of raw and fermented sea tangle extract. The anti-inflammatory activity of fermented sea tangle extract was also enhanced. The fermented sea tangle extract showed 34.2% inhibitory activity against nitric oxide synthesis versus 11.9% for raw sea tangle extract at 100 $\mu\text{g/mL}$ concentration. These results suggest that fermented aqueous extracts from sea tangle are a useful resources.

Key words: Anti-inflammatory activity, Antioxidant activity, Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, Sea tangle

서 론

다시마 (sea tangle; *Laminaria japonica*)는 천연 정미성분인 아미노산 (glutamic acid 및 aspartic acid 등)을 다량 함유하고 있어 오랜 전부터 한국과 일본 등지에서 식재료로서 사용되어져 왔다. 또한, 다시마는 체내에서 다양한 대사활동에 관여하는 무기질 (Lee and Sung, 1983)과 갑상선 호르몬의 주성분인 요오드 등을 다량으로 함유하고 있고 (Tashiro, 1983) 알긴산 (Choi et al., 1986; Kim et al., 1988)과 후코이단 (fucoidan) (Colliec et al., 1991)등의 해조 다당류도 풍부하게 함유하고 있어 건강 기능성에 대한 연구가 활발히 진행되어 항균성, 항바이러스 활성 (Nishino et al., 1991), 항산화 활성 (Park et al., 1991), 항암 활성 (Hiroyuki et al., 1990; Usui et al., 1980), 항 혈액응고 및 면역력 증강 (Ferial et al., 2000)등과 같은 다양한 생리 활성에 대한 보고가 이루어졌고, 이로 인하여 건강 기능성 천연소재로서 각광을 받고 있다.

다시마는 현재 생초, 건제품 또는 염장품의 형태의 1차 단순

가공품으로 판매되는 것이 대부분이며 일부는 다시마 추출 조미액의 형태로 시중 판매 되고 있어 원재료의 우수성에 비해 상대적으로 부가가치가 낮은 편이다. 이에 다시마가 가지고 있는 다양한 생리활성에 주목하여 최근에는 식품에 첨가하거나 제품화하는 연구가 활발히 진행되어 다시마를 이용한 빵, 스낵, 케이크, 젤리 등과 같은 다양한 제품이 만들어지고 있다 (Korea Food Research Institute, 2000). 하지만, 다시마를 이용한 제품 개발의 문제점은 해조류 특유의 추출공정에서 발생하는 알긴산 등의 점질 다당류와 다시마 특유의 향, 풍미, 및 조작성 등을 들 수 있다. 따라서, 식품용 고급 소재로써의 적용을 위해서는 이러한 문제점을 해결하면서 동시에 기존의 기능성을 보다 높일 수 있는 생산 및 제조 (가공) 공정의 개발이 필요하다.

다시마는 정미성분을 다량 함유하고 있어 천연조미소재로서의 이용가치가 높지만 해조류 탄수화물의 대부분이 비소화성 복합 다당류로서 산이나 알칼리에 비교적 안정하고 특수한 미생물 효소에 의하지 않고서는 분해되기 어려우며 이용에 한계를 가져왔지만 최근에는 *Asteromonas* sp. (Uchida et al.,

*Corresponding author: ymkim@pknu.ac.kr

1995; Uchida and Numaguchi, 1996; Uchida, 1996), *Pseudoalteromonas espejana* (Uchida et al., 1997), lactic acid bacteria 및 yeast (Uchida and Murata, 2002) 등과 같은 미생물을 이용하여 해조류를 미립자화 하는 연구가 진행된 바 있다. 하지만, 이러한 미생물들을 이용하는 경우는 안전성 등의 문제점이 대두될 수 있다.

하지만, 다시마의 추출물에 *Saccharomyces cerevisiae*를 적용하여 다시마의 유용성분을 극대화 시키면서 기능성 소재로 개발하는데 큰 걸림돌이 되어왔던 특유의 풍미를 개선하고자 시도한 연구는 전혀 시도된 바 없다.

본 연구에서는 다시마의 유용성분을 극대화 시키면서 기능성 소재로 개발하는데 큰 걸림돌이 되어왔던 특유의 풍미를 개선하여 다시마를 고도 이용할 목적으로 다시마 열수 추출액에 예로부터 발효식품에 즐겨 사용되어진 효모인 *S. cerevisiae*를 이용한 발효공정을 도입하여 발효물의 식품학적 성분 특성에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

다시마 추출액의 제조

다시마는 2008년 10월에 부산광역시 소재 Food & Food Co., Ltd. (Busan, Korea)에서 구입하였다. 열수 추출을 위해 수세, 탈염, 분쇄공정을 거쳐 적당한 크기로 분쇄한 다시마분쇄물에 15배의 물 (w/v)을 첨가하고 70°C에서 30분간 열수추출 하였다. 이어서 다시마 추출액과 이의 잔사를 20 mesh 체로 분리한 후, 추출액을 취하여 냉각하였다. 얻어진 추출액을 pore size가 0.1 µm인 침지형 분리막 ((주)마린바이오프로세스, 부산, 한국)을 이용하여 잔재해 있는 다시마 잔사 등의 이물질들을 제거한 다음 다시마 열수 추출액 (이하 다시마 추출액으로 칭함)을 제조하였고, 이를 본 연구에서 시료로 사용하였다.

발효 균주 및 배양조건

다시마 추출액의 발효를 위하여 사용된 균주는 여러 발효 식품에서 분리하여 부경대학교 식품공학과 식품미생물학연구실에 보관중인 4종의 *Saccharomyces cerevisiae* (SC-1, SC-2, SC-3 및 SC-4)를 사용하였다. SC-1 균주는 메주에서, SC-2 균주는 빵에서 SC-3 균주는 누룩에서 SC-4는 전통 된장에서 각각 분리 되었다. Yeast Mold Broth (YMB) 배지에 각각의 균주를 전배양 후, 배양액 3%를 다시마 추출액에 접종하고 30°C에서 진탕 배양하면서 분광광도계 DR4000U (HACH Co., Colorado, USA)를 사용하여 배양시간에 따른 생육도를 측정하였다.

관능평가

다시마 추출액 및 다시마 발효액의 기호성에 대한 조사는 설문지를 이용하여 7점 기호 척도법 (Peryam and pilgrim, 1957; Ryu et al., 2009)으로 실시하였다. 7점은 “매우 좋다”. 6점은 “약간 좋다”, 5점은 “약간 좋다”, 4점은 “보통”, 3점은 “약간 싫다”, 2점은 “보통 싫다”. 1점으로 “대단히 싫다”로

나타내어 관능적 특성이 높을수록 높은 점수를 주도록 하였다 (Ryu et al., 2009). 관능검사를 실시하기 위하여 먼저 시료를 실온에 방치 시킨 뒤 검사목적과 취지를 충분히 숙지시킨 패널 요원을 선정하였다. 조사대상은 부경대학교 식품공학과 학부생과 대학원생 10명 (21세-28세)에서 선발하여 조사하였다.

일반성분, pH 및 염도

다시마 추출액의 일반성분 분석은 A.O.A.C.법 (1995)에 의해 수분은 105°C 상압가열건조법, 조지방은 soxhlet법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법, 조회분은 건식회화법으로 분석하였다. 환원당의 측정은 Somogy의 방법 (Somogy, 1952)에 따라 측정하였고 다시마 추출액의 pH 및 염도는 YSI 63 pH meter (YSI Inc, Ohio, USA)를 이용하여 측정하였다.

유리 아미노산

발효에 의한 다시마 추출액의 유리아미노산은 아미노산 자동분석기 (Hitach Amino acid Analyzer L-8900, Hitachi Ltd., Tyoko, Japan)를 이용하여 분석하였다. 다시마 추출액을 5 ml에 75% ethanol 25 ml를 가하고 homogenizer로 분쇄하였다. 분쇄된 시료는 4°C, 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 침전물을 제거하였다. 침전물에 다시 동일 ethanol을 넣고, 위의 과정을 반복하여 두 상층액을 합하였다. 상층액을 농축한 뒤 탈아민수로 50 mL 정용하였다. 5 mL을 취하여 5-sulfosalicylic acid 0.5 g을 넣고 10분간 혼합한 뒤 균질화하여 제단백을 실시하였다. 0.2 M citrate buffer (pH 2.2)로 10 mL 정용한 후, 0.45 µm 필터로 여과한 후에 시료 20 µL를 아미노산 자동분석기에 유속은 0.3 mL/min의 속도로 흘러주었다. 시료는 38°C로 유지되어진 column으로 흘러 들어가 135°C의 reactor에서 시료의 아미노산과 ninhydrin 용액과 반응을 하여 detector에서 검출하였다.

다시마 발효액의 항산화 활성 조사

*S. cerevisiae*를 이용한 다시마 추출액과 발효액의 항산화 활성을 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

1) DPPH radical scavenging assay

다시마 추출액과 발효액의 DPPH radical scavenging assay는 Kim and Lee (2007)가 언급한 방법에 따라 측정하였다. 시료를 96 well plate에 0.1 mL씩 분주하고 0.4 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액을 동량 첨가하여 실온에서 30분간 방치한 후 540 nm에서 분광광도계 Wallac 1420 (Perkin Elmer, MA, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 이때 대조구인 YMB 배지는 시료와 같은 농도로 첨가하여 위에서와 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다.

DPPH radical scavenging activity(%)

$$= \left(\frac{\text{공시료군} - \text{반응군}}{\text{공시료군}} \right) \times 100$$

2) Superoxide radical scavenging assay

Superoxide radical scavenging assay는 Kono (1978)의 방법에 따라, 0.5 mM xanthine과 1 mM EDTA를 함유하고 있는

phosphate buffer (200 mM, pH 7.5)에 시료를 첨가하고 50 mU/mL xanthine oxidase로 25°C에서 1시간동안 반응을 유도하였다. 그 후, 0.5 mM NBT (nitroblue tetrazolium)를 첨가한 후 37°C에서 20분 동안 반응시켰다. 여기에 2.0 N HCl를 첨가하여 반응을 중지시키고 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조구인 YMB 배지는 시료와 같은 농도로 첨가하여 위에서와 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다.

Superoxide radical scavenging activity(%)

$$= \left(\frac{\text{공시료군} - \text{반응군}}{\text{공시료군}} \right) \times 100$$

3) Nitric oxide scavenging assay

Nitric oxide (NO) scavenging assay는 Park and Jeon (2008)이 언급한 방법에 따라 실시하였으며, 실험은 NO제공자인 10 mM sodium nitroprusside (SNP, Sigma-Aldrich Co., MO, USA) 용액 200 μL에 시료를 첨가하고 25°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 반응액과 동일한 양의 Griess 반응액 (Sigma-Aldrich Co., MO, USA)을 첨가하고, 실온에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 아질산염의 흡광도를 측정하는 방법인 Griess assay (Green et al., 1982)를 실시하였다. 대조구인 YMB배지와 비교하여 평균값을 구하였다.

Nitric oxide radical scavenging activity(%)

$$= \left(\frac{\text{공시료군} - \text{반응군}}{\text{공시료군}} \right) \times 100$$

4) Xanthine oxidase inhibition assay

Xanthine oxidase inhibition assay는 Song et al. (2007)과 Parejo et al. (2002)의 방법에 따라 측정하였다. 0.5 mM xanthine과 1 mM EDTA를 함유하고 있는 phosphate buffer (200 mM, pH 7.5)에 시료를 첨가하고 50 mU/mL xanthine oxidase로 25°C에서 1시간 반응시켜 uric acid의 생성을 유도하였다. Xanthine/xanthine oxidase에 의한 uric acid 생성은 290 nm에서 증가된 흡광도에 의해 측정하였다.

Xanthine oxidase inhibition activity(%)

$$= \left(\frac{\text{공시료군} - \text{반응군}}{\text{공시료군}} \right) \times 100$$

다시마발효액의 독성 및 항염증 활성

*S. cerevisiae*를 이용한 다시마 추출원액 및 발효액의 독성 및 항염증 활성에 대한 조사는 하기에 언급한 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphebyltetrazolium bromide] assay 및 cell based NO assay의 방법에 의하여 측정하였다.

1) MTT assay

마우스 대식세포 (RAW 264.7; ATCC No. TIB-71)를 penicillin (100 μg/mL), streptomycin (100 μg/mL), 10% FBS (fetal bovine serum)가 포함된 DMEM (GIBCO BRL, NY, USA) 배지를 사용하여 5% CO₂ 조건하에서 37°C에서 배양하였다. 세포 배양 후, 24 well plate (SPL, Daejeon, Korea)에 마우스

대식세포 (5 × 10⁵)를 분주하고, 4시간 뒤에 새 배지로 교체 후에 다시마 추출액 (2.5, 5, 및 10 μg/mL)을 첨가하고 24시간 동안 배양하였다. MTT (0.1 mg/mL)을 각 well에 처리하여 4 시간 배양한 후 형성된 insoluble formazan을 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 녹이고 Wallac 1420 VICTOR2 Multilabel ELISA reader (Perkin Elmer, MA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 결과를 대조구인 kojic acid (Sigma, MO, USA)와 비교하여 평균값을 구하였다

Cell viability(%) = ($\frac{\text{반응군}}{\text{대조군}}$) × 100

2) Cell based NO assay

MTT assay에서 기술한 바와 같은 세포를 배양 후, 다시마 추출액(2.5, 5, 10 μg/mL)으로 1시간 동안 처리 후, 중요 염증 매개체인 LPS (lipopolysaccharide, 1 μg/ mL)를 stimulator (Sigma-Aldrich Co., MO, USA)로 16 시간 동안 처리하여 NO생성 정도를 측정하였다. 반응 종료 후, NO₂의 생성량은 Griess assay를 이용하여 측정하였다 (Green et al., 1982). 세포배양 상층액 100 μL를 96 well plate (SPL, Daejeon, Korea)에 분주하고, Griess 용액 100 μL를 첨가하여 반응 시켰다. 반응 5분 후에 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구는 kojic acid를 사용하였다.

Nitric oxide inhibition(%)=[1- ($\frac{\text{반응군} - \text{보정군}}{\text{대조군}}$)] × 100

결과 및 고찰

다시마 추출액의 *S. cerevisiae*에 의한 발효 특성

본 연구에 사용된 4종의 효모 균주 중, SC-3번 균주가 다른 균주에 비교하여 상대적으로 증식이 잘 되었지만, 사용된 다른 효모 균주 모두 다시마 추출액에서 비교적 성장이 잘 되는 것으로 나타나 다시마 추출액에는 효모의 증식에 필요한 영양 성분이 풍부한 것으로 판단된다 (Fig. 1). 4종의 효모 균주

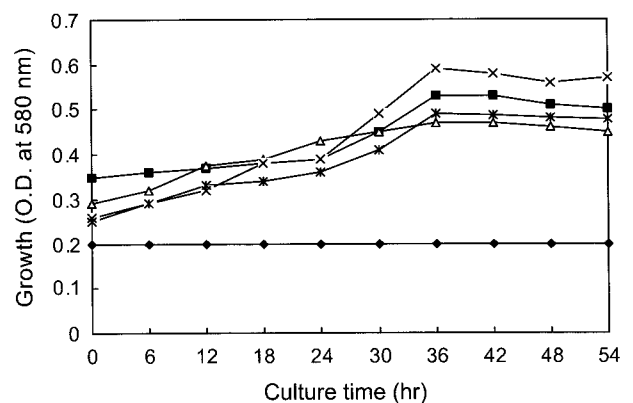


Fig. 1. Yeast cell growth in extract of sea tangle extract and fermented sea tangle extract. -◆-, control; -■-, SC-1; -▲-, SC-2; -×-, SC-3; -✱-, SC-4.

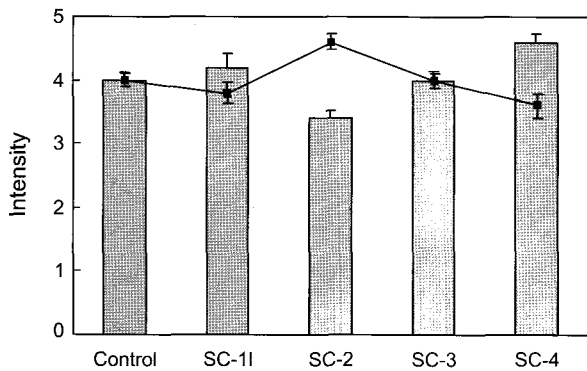


Fig. 2. Effect of yeast fermentation on sensory evaluation of sea tangle water. Odor intensity was expressed a bar and pleasant and unpleasant smell of olfactory detection was a line.

모두 다시마 추출액에 효모배양액을 총 농도의 3%가 되도록 접종을 하였을 경우에는 약 36시간 배양 후에 생육 정지기에 도달하였다. 또한, 일반 배지에서서의 생육속도에 비교하였을 때 그다지 큰 차이가 없어, 효모의 발효에 의한 다시마 추출액의 풍미개선이 기대되었다. 이에 36시간 발효 후에, 각각의 발효액의 향기의 관능평가를 실시하였다 (Fig. 2). 여러 효모에 의한 각각의 다시마 추출 발효액의 관능평가 결과, *S. cerevisiae* SC-2가 발효 후에 맛과 다시마 특유의 off-flavor를 감소시키는 효과가 뛰어난 것으로 조사되어 다시마를 이용한 고급 식품소재로서의 개발 가능성을 고려하여 SC-2 균주를 가지고 추후 실험을 진행하였다.

*S. cerevisiae*의 발효에 의한 다시마 추출액의 일반성분 변화

발효에 의한 다시마 추출액의 물성 변화를 조사하기 위하여 먼저 일반성분의 변화를 조사하였다. 수분의 경우 다시마 추출액의 수분함량이 96%로 나타났는데, 발효를 진행하여도 큰 변화는 나타나지 않았고 조회분의 경우도 거의 변화가 없었다 (Table 1). 하지만, 환원당의 경우는 발효 2일 이내에 급속한 감소를 보였고, 그 이후에는 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 미생물이 당분을 탄소원으로 사용하였기 때문인 것으로 추정된다. 조단백질과 조지방도 거의 변화가 없었다 (Table 1).

Table 1. Change of proximate composition in water extract from sea tangle fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2 during fermentation (Unit : %)

	Fermentation time (hr)				
	0	12	24	36	48
Moisture	95.87 ± 0.02	96.59 ± 0.01	96.05 ± 0.05	96.05 ± 0.01	95.69 ± 0.02
Crude fat	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.00
Crude protein	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Crude ash	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
Reducing sugar	0.99 ± 0.09	0.25 ± 0.01	0.34 ± 0.00	0.35 ± 0.00	0.34 ± 0.00

Table 2. Change of contents of amino acids in sea tangle water extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2 during fermentation (unit : $\mu\text{mol}/100\text{ g}$)

Free amino acids	Culture time (hr)				
	0	12	24	36	48
Phosphoserine	4.6	4.3	3.8	4.8	4.1
Taurine	2.7	2.8	2.2	2.8	2.6
Aspartic acid	506.7	468	433.3	450	446.9
Serine	1.0	1.0	0.9	1.1	0.9
Glutamic acid	873.0	852.3	844.8	824.7	767.8
Proline	35.8	0.9	1.1	1.2	0.9
Glycine	11.0	9.3	8.6	9.7	8.7
Alanine	99.7	46.0	47.3	47.9	47.5
Valine	3.2	2.8	2.5	2.8	2.6
Methionine	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4
DL-Alloctystathionine	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Isoleucine	1.8	0.9	0.8	1.0	1.0
Leucine	3.7	0.4	0.4	0.7	0.7
Tyrosine	1.7	0.6	0.6	0.7	0.7
Phenylalanine	1.2	0.0	0.0	0.2	0.2
γ -Aminobutyric acid	1.0	0.6	0.6	0.6	0.6
Ethanolamine	10.0	9.1	8.1	9.4	8.2
Lysine	2.4	0.0	0.0	0.3	0.3
Histidine	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Arginine	1.3	0.2	0.0	0.2	0.3

효모의 증식에 따른 추출액의 pH는 발효전의 pH 6.2에서 발효가 끝날 무렵에는 약 pH 7.8 정도로 상승하였지만 발효에 따른 pH의 변화가 심하지 않아 *S. cerevisiae*의 생육에 큰 영향을 미치지 않았고 (결과 미제시) 염도도 효모발효에 따른 큰 변화는 나타나지 않았다 (결과 미제시).

*S. cerevisiae*의 발효에 의한 다시마 추출액의 유리 아미노산 변화

다시마의 정미에 큰 영향을 미치는 유리 아미노산들이 발효에 의해 어떻게 변화 하는가를 조사하였다. 다시마 추출액에는 glutamic acid, aspartic acid, alanine의 순으로 유리아미노산들이 풍부하게 존재하고 있었고 이외에 20여종의 아미노산이 검출되었다 (Table 2). 일반적으로 다시마의 정미성분으로 잘 알려져 있는 glutamic acid 및 aspartic acid은 발효에 따라 유의적인 차이가 나타나지는 않으나 발효 48시간 이후에는 다소 감소하였고 alanine 및 proline의 경우에도 효모발효에 의해 대폭 감소되는 경향이 나타났다 (Table 2). 이외의 아미노산들은 발효에 의한 큰 유의적인 차이는 없었다.

이상의 결과를 종합하면 *S. cerevisiae* SC-2 균주를 이용한 다시마 추출액의 발효는 다시마의 주된 정미 성분인 glutamic acid 양의 변화가 적으면서 다시마 특유의 off-flavor 감소효과가 큰 36시간까지의 발효가 가장 적합한 것으로 나타났다. 이후 이 조건에서 연구를 진행하였다.

*S. cerevisiae*의 발효에 의한 다시마추출액의 항산화 활성 증가

다시마추출원액과 그 효모발효액을 대상으로 하여 DPPH radical scavenging assay에 의한 항산화 활성의 결과는 Fig.

3과 같다. Positive control인 BHA (butylated hydroxyanisole)의 경우 50 $\mu\text{g/mL}$ 과 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 48.7%, 83.8%의 활성을 나타내었다. 다시마 추출원액의 경우는 50 $\mu\text{g/mL}$ 과 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 41.6%, 72.7%이고, 다시마 발효액은 같은 농도에서 각각 67.4%, 80.5%로 나타났다. 다시마 발효액은 positive control인 BHA와 거의 대등한 소거활성을 나타내었는데 다시마 발효액이 정제된 화합물이 아닌 점을 고려한다면 상당한 활성치를 나타내는 것으로 판단된다. 또한, 다시마 발효액은 다시마 추출 원액보다 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 25.8%, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 7.8% 높은 활성을 나타내어 효모발효에 의해 DPPH radical 소거활성이 증진되었다는 것을 알 수 있다.

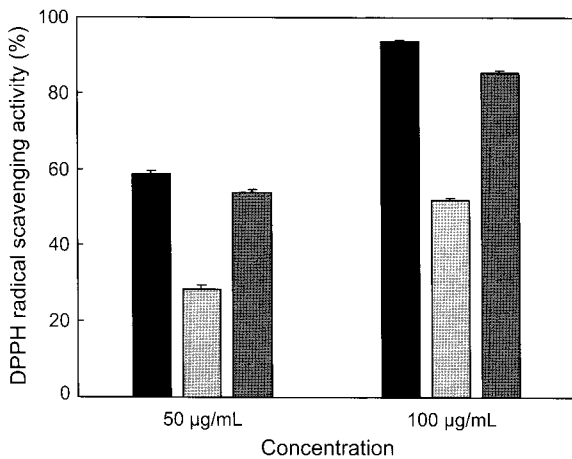


Fig. 3. Effect of yeast fermentation on DPPH radical scavenging activity of sea tangle water extract. ■, BHT(butylated hydroxyanisole); ▨, sea tangle water extract; ▩, sea tangle water extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2.

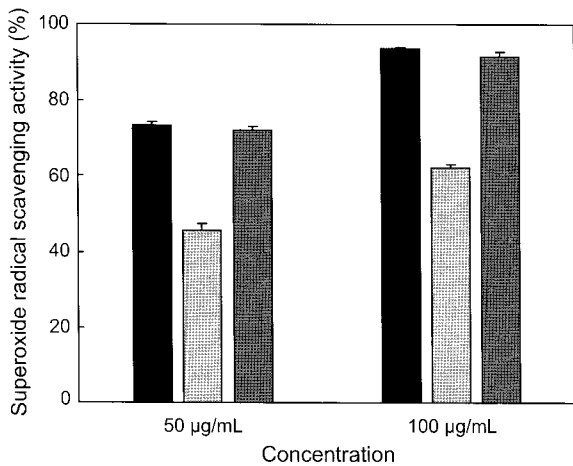


Fig. 4. Effect of yeast fermentation on superoxide radical scavenging activity of sea tangle water extract. ■, BHT (butylated hydroxyanisole); ▨, sea tangle water extract; ▩, sea tangle water extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2.

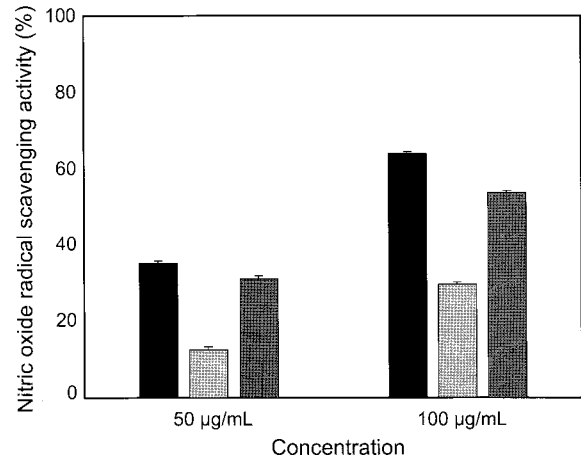


Fig. 5. Effect of yeast fermentation on nitric oxide scavenging activity of sea tangle water extract. ■, BHT (butylated hydroxyanisole); ▨, sea tangle water extract; ▩, sea tangle water extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2.

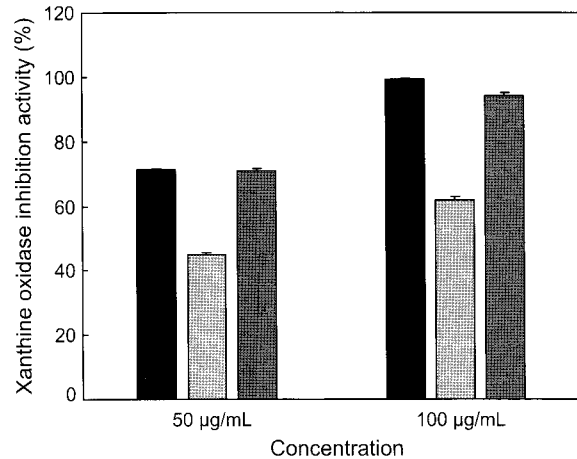


Fig. 6. Effect of yeast fermentation on xanthine oxidase inhibition activity of sea tangle water extract. ■, BHT (butylated hydroxyanisole); ▨, sea tangle water extract; ▩, sea tangle water extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2.

다시마 추출원액 및 다시마 발효액을 대상으로 superoxide radical scavenging assay에 의한 항산화 활성의 결과는 Fig. 4와 같다. Positive control인 BHA의 경우 50 $\mu\text{g/mL}$ 과 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 56.4%, 93.8%의 활성을 나타내었고 다시마 추출원액은 각각 25.7%, 49.2%이었다. 다시마 발효액은 같은 농도에서 52.3%, 83.8%로 positive control인 BHA에 근접하는 항산화 활성을 나타내어 발효에 의해 다시마 추출원액보다 superoxide radical 소거능 활성이 증가하는 것이 관찰되었다.

다시마 추출원액 및 다시마 발효액에 대한 nitric oxide scavenging assay에 의한 항산화 활성 조사 결과, 추출원액에서는 50 $\mu\text{g/mL}$ 과 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 12.3%, 29.6%로 나타났지만 다시마 발효액은 같은 농도에서 각각 29.9%와 57.9%로 nitric oxide 소거능도 발효과정을 통해 활성이 증가하는 것이 나타났다 (Fig 5).

Xanthine oxidase inhibition assay에 대한 항산화 활성 변화 결과, positive control인 BHA의 경우 50 $\mu\text{g/mL}$ 과 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 71.3%, 99.4%의 활성을 나타내었으며, 다시마 추출원액의 경우 45.1% 및 61.8%였고, 다시마 발효액은 69.5%와 92.5%를 나타내어 DPPH 및 super oxide radical 소거능과 같이 발효과정을 통해 다시마 원액보다 항산화 활성이 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 6).

한편, YM 배지에 배양한 효모배양액에서는 DPPH radical 등의 소거능 활성이 거의 미미한 것으로 조사되었다 (결과 미제시). 이상의 결과를 종합하면, 다시마 추출액의 효모 발효에 의한 DPPH radical, superoxide radical, nitric oxide 소거활성 및 xanthine oxidase inhibition의 활성 증가는 효모 발효에 의해 다시마추출액 중에 항산화 화합물들의 함량 증가에 의한 것으로 판단되어지며 Park and Han (2006)은 다시마의 곰팡이 발효에 의해 항산화 활성 및 페놀 화합물이 증가하였다고 보고하고 있다. 다시마추출액의 효모 발효후의 항산화활성 증가에 대한 작용기작을 명확히 하기 위해서는 추후 항산화 관련 물질들의 정성 및 정량이 필요할 것으로 판단된다.

S. cerevisiae의 발효에 의한 다시마발효액의 항염증 활성 증가

다시마는 항산화활성 외에도 항염증에 대한 활성도 가지고 있다고 보고 되어있다 (Choi et al., 2008). 이에 본 연구에서는 다시마의 항염증 활성에 대한 효모 발효의 영향을 조사하기 위하여 다시마 추출원액 및 추출액의 *S. cerevisiae*를 이용한 효모 발효액에 대한 세포 독성 및 항염증 활성에 대하여 조사를 진행하였다. 세포독성 및 항염증 활성은 MTT assay와, cell based NO assay의 방법에 의하여 측정하였다.

다시마 추출원액 및 발효액을 대상으로 한 MTT assay에 의한 결과, 추출원액 및 발효액에서 시험에 사용된 모든 농도 (12.5~100 $\mu\text{g/mL}$)에서 95% 이상의 세포 생존율이 나타나 세포 독성은 거의 없는 것으로 조사되었다 (Fig. 7).

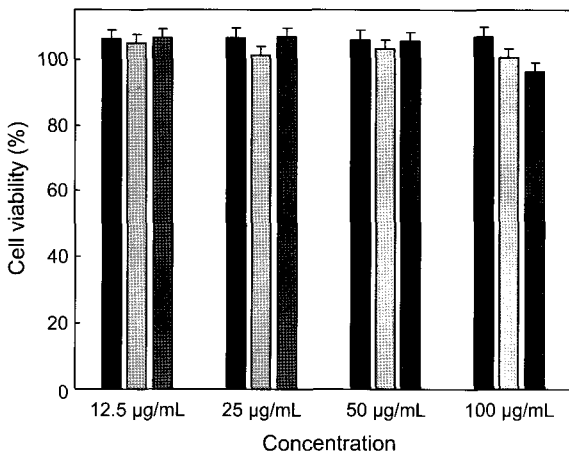


Fig. 7. Effect of yeast fermentation on cell cytotoxicity (Raw 264.7 cells) of sea tangle water extract. ■, kojic acid; ▨, sea tangle water extract; ▩, sea tangle water extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2.

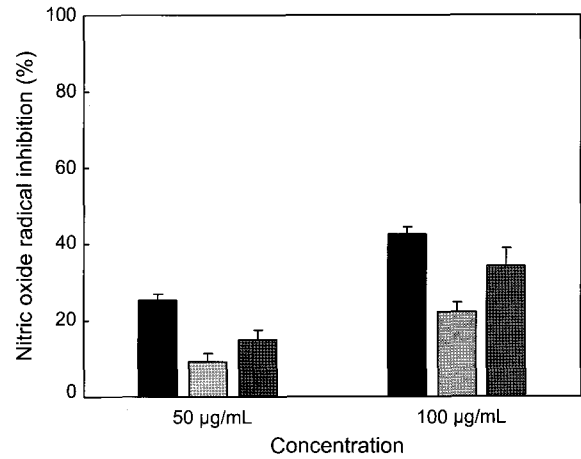


Fig. 8. Effect of yeast fermentation on cell (Raw 264.7 cells) based nitric oxide assay of sea tangle water extract. ■, kojic acid; ▨, sea tangle water extract; ▩, sea tangle water extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* SC-2.

세포독성을 나타내지 않는 최대 농도인 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 다시마 추출원액 및 그 효모발효액의 항염증 활성에 대해 조사하였다. 항염증 활성은 활성산소 중 하나이며, 최근 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 nitric oxide (NO) 생성 억제에 대한 다시마 추출액 및 그 발효액의 효과를 측정하였다. Cell based NO assay로 조사한 결과, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 다시마추출원액은 21.8%, 추출액의 효모발효액은 34.2%로 조사되어 항산화활성의 경우와 마찬가지로 다시마추출액의 효모 발효에 의한 항염증 활성의 증가가 나타났다 (Fig. 8). 다시마 추출액의 효모발효액은 positive control인 kojic acid (42.5%) 보다는 NO 생성 억제능이 떨어지는 것으로 나타났지만, 다시마발효액이 정제된 화합물이 아닌 점을 고려한다면 상당한 활성치를 나타내는 것으로 판단된다.

대식세포는 pathogene에 의하여 활성화되면 NO의 발현뿐만 아니라 superoxide anion도 호흡과정에서 대량생산된다고 보고되고 있다 (Haroun-Boihedja et al., 2000). Fig. 4에 나타난 것처럼, 다시마 추출액의 효모발효액의 superoxide radical 소거능의 결과로 유추해볼 때, 효모발효액에 의한 superoxide anion의 소거도 기대가 되어 염증반응을 완화할 수 있을 것으로 기대가 된다 (Veen, 2001).

본 연구에서는 다시마 추출액을 이용한 부가가치가 높은 식품 소재의 개발을 위하여 효모를 이용한 발효공정의 적용 가능성을 검토하였다. 그 결과 다시마 특유의 이취를 경감시키지만 다시마의 정미성분인 아미노산에는 거의 영향을 미치지 않는 효모 균주를 선발하였고 이 균주를 이용하여 항산화 및 항염증 등의 기능이 증대되는 것을 확인하였다. 이러한 연구는 향후, 다시마 등의 해조류가 가지고 있는 특유의 풍미를 개선하면서 기능이 강화된 제품 개발에 연결 되어질 것으로 기대되어진다.

사 사

본 연구는 중소기업청의 기업부설연구소 설치 지원사업의

연구비 지원에 의해 수행되었습니다 (산기연08-1-018). 또한, 부산시의 Brain Busan 21사업에 의한 대학원생의 장학금 지원에도 감사드립니다.

참고문헌

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., U.S.A., 49-59.
- Choi JH, Rhim CH, Kim JY, Yang JS, Choi JS and Byun DS. 1986. Basic studies in the development of diet for the treatment of obesity. 1. The inhibitory effect of alginic acid as a dietary fiber on obesity. Bull Kor Fish Soc 19, 303-311.
- Choi JS, Shin SH, Ha YM, Kim YC, Kim TB, Park SM, Choi IS, Song HJ and Choi YJ. 2008. Mineral contents and physiological activities of dried sea tangle (*Laminaria japonica*) collected from gijang and wando in Korea. J Life Sci 18, 474-481.
- Collic S, Fischer AM, Tapon-Bretraudiere H, Boisson C, Durand P and Jozefonvicz J. 1991. Anticoagulant of a fucoidan fraction. Thrombosis Res 64, 143-147.
- Ferial HB, Mostafai E, Corinne S and Catherine BV. 2000. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. Thromb Res 100, 453-459.
- Green LC, Wagner DA and Glogoski J. 1982. Analysis of nitrate, nitrite and [15N]nitrate in biologic fluids. Anal Biochem 126, 131-138.
- Haroun-Boihedja F, Ellouali M, Sinquin C. and Boisson-Vidal C. 2000. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans. Thrombosis Research 100, 453-459.
- Hiroyuki N, Hideomi A, Koichi A and Kazutosi N. 1990. Antitumor activity of marine algae. Hydrobiologia 204, 577-584.
- Kim H and Lee SW. 2007. The effects of quercetin on paraquat-induced cell damage. J Korean Soc Emerg Med 18, 41-47.
- Kim SH, Park HY and Park WK. 1988. Determination and physical properties of dietary fiber in seaweed products. J Kor Soc Food Sci 17, 320-325.
- Kono Y. 1978. Generation of superoxide radical during autooxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. ABB 186, 186-195.
- Korea Food Research Institute. 2000. Study in Development of Processed Foods Using Seaweeds. Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Seoul, Korea.
- Lee JH and Sung NJ. 1983. The content of minerals in algae. J Kor Soc Food Sci 12; 51-58.
- Mitsuda H, Yasumoto K and Iwami K. 1966. Antioxidative action of indole compounds during the autooxidation of linoleic acid. Eiyo to Shokuryo 19, 210-214.
- 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.
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Flerlage N, Burillo J and Codina C. 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. J. Agric. Food Chem 50, 6882-6690.
- Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH and Rhee KS. 1991. Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. J Kor Food Sci Technol 23, 256-261.
- Park MJ and Han JS. 2006. Radical scavenging and antioxidant activities of fermented *Laminaria japonica* Extracts. J Food Sci Nutr 11, 10-16.
- Park EY and Jeon H. 2008. Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of *Equisetum hyemale*. Nat Prod Sci 14, 239-243.
- Peryam DR and Pilgrim FJ. 1957. Hedonic scale method of measuring food preferences. Food Technol 11, 9-14.
- Ryu HS, Shin ES and Jang DH. 2009. Sensory and texture properties of seasoned tofu containing Freshwater crab meat. Kor J Rish Aquat Sci 42, 190-196.
- Sidwell GG, Salvin J, Benca MF and Mitchell JH. 1954. The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. J Am Oil Chem Soc 31, 603-606.
- Somogy, M. 1952. Notes on sugar determination. J Biol Chem 195, 19-23.
- Song HS, Moon HJ, Park BE, Choi BS, Lee DJ, Lee JY, Kim CJ and Sim SS. 2007. Anti-oxidant activity and whitening activity of bamboo extracts. J Pharm Soc Korea 51, 500-507.
- Tashiro T. 1983. Analysis of nucleic acid related substances of dried purple laver. Bull J apan Soc Sci Fish 49, 1121-1125.
- Usui T, Asari K and Mizuno T. 1980. Isolation of highly fucoidan from *Eisenia bicyclis* and its anticoagulant and antitumor activities. Agric Biol Chem 44, 1965-1970.
- Uchida M. 1996. Formation of single cell detritus densely covered with bacteria during experimental degra-

- dition of *Laminaria japonica* Thalli. Fisheries Sci 62, 731-736.
- Uchida M and Murata M. 2002. Fermentative preparation of single cell detritus from seaweed, *Undaria pinnatifida*, suitable as a replacement hatchery diet for unicellular algae. Aquaculture 207, 345-357.
- Uchida M, Nakata K and Maeda M. 1997. Conversion of *Ulva* fronds to diet for *Artemia nauplii* utilizing the degrading and attaching abilities *Pseudoalteromonas espejiana*. J Applied Phycology 9, 541-549.
- Uchida M, Nakayama A and Abe S. 1995. Distribution and characterization of bacteria capable of decomposing brown algae fronds in waters associated with *Laminaria* vegetation. Fisheries Sci 61, 117-120.
- Uchida M and Numaguchi K. 1996. Formation of protoplasmic detritus with characteristics favorable as food for secondary animals during microbial decomposition of *Ulva pertusa* (chlorophyta) frond. J Mar Biotechnol 4, 200-206.
- Van der Veen RC. 2001. Nitric oxide and T cell immunity. Int Immunopharmacol 1, 1491-1500.

2010년 1월 13일 접수

2010년 3월 9일 수정

2010년 4월 13일 수리