

경단구슬모자반(*Sargassum muticum*) 추출물의 항산화 및 항균활성

김지영 · 이정아 · 김길남 · 윤원종 · 이욱재 · 박수영[†]

(재)제주하이테크산업진흥원 제주생물종다양성연구소

Antioxidative and Antimicrobial Activities of *Sargassum muticum* Extracts

Ji-Young Kim, Jung-A Lee, Kil-Nam Kim, Weon-Jong Yoon, Wook Jae Lee and Soo-Yeong Park[†]

Jeju Biodiversity Research Institute, Jeju Hi-Tech Industry Development Institute, Jeju 690-121, Korea

Abstract

The solvent extracts of *Sargassum muticum*, which were extracted by using several solvents with different polarities, were prepared for use as natural preservatives. The *S. muticum* extract with 80% ethanol was sequentially fractionated with *n*-hexane, dichloromethane, ethylacetate, and butanol. In order to effectively screen for natural preservatives agents, we first investigated the antioxidant activities such as DPPH radical scavenging capacity, superoxide radical scavenging capacity, and xanthine oxidase inhibitory activity of the *S. muticum* extracts. Through the screening system, we found that dichloromethane and ethylacetate fraction had high antioxidant activity with increments of the extract concentration. The antimicrobial activities and cell growth inhibition were investigated for each strain with the different concentrations of *S. muticum* extracts. Antimicrobial activities were shown in ethanol, dichloromethane, and *n*-hexane fractions of *S. muticum*. However, butanol, ethylacetate and water fractions showed weak antimicrobial activity against the tested microorganisms. Among the five fractions, dichloromethane fraction showed the highest antimicrobial activities against microorganisms tested, such as *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis and *Pseudomonas aeruginosa*. The polyphenolic compounds from ethanol, *n*-hexane, dichloromethane, ethylacetate, butanol, and water fractions were 63.96 mg/g, 8.49 mg/g, 28.11 mg/g, 172.64 mg/g, 114.56 mg/g, and 34.91 mg/g, respectively. The dichloromethane fraction could be suitable for development as a food preservative.

Key words: *Sargassum muticum*, antioxidant activities, antimicrobial activities, polyphenolic compounds, natural preservatives

서 론

식품은 저장·유통과정 중 자동산화나 미생물의 오염에 의하여 부패나 변질을 일으킬 수 있으므로 식품보존제를 첨가하여 저장성을 높이고 있다. 식품보존제로는 인공 합성품이 많이 사용되고 있으나 천연물 중에서도 산화방지용 또는 항균성 물질이 존재하여 이의 검색과 식품의 이용에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(1-3). 여러 종류의 보존제들 가운데 가장 바람직한 것은 인체에 무해하면서 영양이 될 수 있고 각종의 생리활성을 가지고 있는 물질이어야 할 것이다. 천연항산화제로는 지금까지 페놀계, 아민계, 설파이드계 등 다종 분리되어 있으나 토코페놀 이외에는 인체독성, 양적, 경제적 측면이 고려되어 현재 사용되고 있지는 않다(4,5). 천연항균물질 중에는 전통적으로 사용해 온 소금, 식초 등 일반식품 소재 외에도 동물, 식물, 미생물 등에서 유래한 천연물질들이 많이 보고되어 있다. 현재 상품화되어 있거

나 항균성이 알려진 천연물질로는 주로 lysozyme, polylysine, protamine, conalbumin, avidin, 유기산, polyphenol 물질 등이 대표적이다(6-10). 최근에는 식품첨가제로 갈변반응 생성억제물질, 저급지방산 ester, 향신료 등도 주로 사용되어지고 있으며, 이들 가운데 우리나라에서 많이 사용하는 향신료들의 상당수가 여러 균에 대해 항균효과가 있는 것으로 알려져 있다(11-14).

이러한 이유로 최근에는 천연해양식물로부터 약리작용이 있는 물질을 찾으려는 관심이 높아지면서 해조류의 생리활성에 대한 기초연구뿐만 아니라 유효활성 성분을 추출하여 식품첨가물 또는 의약품으로 개발하고자 하는 노력이 증대되고 있다(5,15,16). 해조류는 예로부터 아시아 지역에서 널리 섭취해 왔으며, 영양학적으로 열량은 매우 낮으면서 비타민과 무기질,식이섬유소가 풍부하고, 육상식물에는 없는 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유하고 있으며, 채소류와 비교해서 필수아미노산과 불포화지방산이 많다는 것이 특

[†]Corresponding author. E mail: user111@jejuhidi.or.kr
Phone: 82 64 720 2322, Fax: 82 64 720 2301

징이다(17).

모자반속(*Sargassum*)은 갈조강(*Phaeophyceae*), 모자반목(*Fucales*), 모자반과(*Sargassaceae*)에 속하는 대형 갈조류로서 주로 온대역의 태평양연안, 인도양 그리고 호주연안에 널리 분포하며, 400여종을 포함하는 매우 큰 분류군이다. 본 연구에 사용된 경단구슬모자반(*Sargassum muticum*)은 한국산 모자반속 식물 중 최근에 다른 모자반속 식물과 구분하여 새로이 명명된 종(18)으로 생리활성에 대한 기초연구가 아직 되어 있지 않다. 이에 본 연구에서는 갈조류인 모자반속 중 경단구슬모자반으로부터 에탄올 추출물 및 순차적 용매분획물을 얻어 항산화성 및 항균효과를 검색하고자 하였으며, 아울러 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하여 그 상관성 등을 비교 조사하여 식품 저장성이나 안전성을 향상하기 위한 식품첨가제나 보존제로서의 개발 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 추출

제주도 연안에 분포하고 있는 경단구슬모자반(*Sargassum muticum*)을 채취하여 경상대학교 생명과학부 옥정현 박사로부터 동정 받아 추출용 시료로 사용하였다. 경단구슬모자반의 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 제조는 80% 에탄올(EtOH) 및 분획용 헥산(*n*-Hexane), 디클로로메탄(CH_2Cl_2), 에틸아세테이트(EtOAc) 그리고 부탄올(BuOH)을 사용하여 용매의 극성을 이용한 순차적 추출법을 사용하였다. 즉 분말 건조된 시료에 80% 에탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하여 동결건조기로 완전 건조시켰다. 상기의 과정을 3회 반복 추출하여 에탄올 추출물을 얻은 뒤, 건조된 에탄올 추출물에 10배량의 증류수와 동량의 헥산을 첨가하여 분획한 후 감압 농축하여 헥산 분획물을 얻었다. 동일한 방법으로 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올 그리고 물 층을 분획하여 각각의 순차 분획물을 얻었으며, 모든 과정은 3회 반복 실시하였다. 각 시료 분획물은 해당 용해시켜 0.2 μm membrane filter(Advantec MFS Inc., USA)로 제균하여 4°C에 보관하면서 본 연구에 사용하였다.

사용균주 및 시약

본 실험에 사용한 균주는 Table 1에 나타난 바와 같이 그람양성균 3종과 그람음성균 3종으로 총 6종을 선정하여

사용하였으며, 배지는 tryptic soybean agar(TSA), tryptic soybean broth(TSB), brain heart infusion(BHI)은 Difco(USA)사에서 구입하여 사용하였다. 또한, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), NBT(nitroblue tetrazolium), xanthine oxidase, Folin-Ciocalteu's phenol reagent, tannic acid, rutin 등 그 밖의 시약들은 Sigma Chemical Co.(USA)로부터 구입하여 사용하였고, 추출용매 및 시약은 일급 또는 특급시약을 사용하였다.

DPPH radical 소거활성 측정

항산화활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, Sigma)을 이용하여 시료의 라디칼 소거효과(radical scavenging effect)를 측정하는 Blois법을 활용하였다(19). DPPH 약 2 mg을 에탄올 15 mL에 녹여 DPPH용액을 제조하였다. 이 용액 12 mL에 DMSO 6.25 mL를 첨가한 후, 517 nm의 파장에서 대조군의 흡광도가 0.94~0.97이 되도록 에탄올로 희석하여 10초간 진탕시켰다. 그리고 용매 1 mL에 분말로 추출된 시료 1 mg을 첨가하여 충분히 녹인 후 준비된 DPPH 450 μL 에 시료용액 50 μL 를 넣어 실온에서 10분간 방치하였다가 517 nm에서 흡광도를 측정하였는데, 대조군으로는 Sigma사의 butylated hydroxy anisole(BHA), ascorbic acid, trolox를 사용하였다.

Xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거활성 측정

Xanthine/xanthine oxidase에 의한 uric acid 생성은 290 nm에서 증가된 흡광도에 의해 측정하였고, 대조군으로는 allopurinol(Sigma)을 사용하였다. Superoxide의 양은 nitroblue tetrazolium(NBT) 환원방법에 의해 측정하였다(20,21). 반응액으로는 각 농도별 시료(15.63, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)와 0.5 mM xanthine과 1 mM EDTA를 200 mM phosphate buffer(pH 7.5) 100 μL 에서 준비하였고 50 mU/mL xanthine oxidase를 첨가하여 uric acid의 생성을 유도하였다. Superoxide 소거활성은 위 반응액에 0.5 mM NBT를 첨가하여 반응시켰다. Xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거활성은 각각 생성된 uric acid와 superoxide의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도(IC₅₀)로 표시하였으며, 각 시료는 3회 반복하여 실험을 실시하여 평균값을 구하였다.

항균력 측정

추출된 항균성 물질의 항균력 검색은 paper disc 방법을

Table 1. List of strains and media used for antibacterial experiments

	Strains	Media	Temp. (°C)
Gram positive bacteria	<i>Bacillus subtilis</i> (ACTC 2213)	TSA/TSB	37
	<i>Listeria monocytogenes</i> (ACTC 19115)	BHI	37
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ACTC 25293)	TSA/TSB	37
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> (ACTC 25922)	TSA/TSB	37
	<i>Salmonella</i> Typhimurium (ACTC 14028)	TSA/TSB	37
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ACTC 27853)	TSA/TSB	37

사용하였다(22). 각 균주는 10 mL의 액체배지에 접종하고 37°C에서 18시간씩 3회 계대 배양하여 항균활성 시험균주로 사용하였으며, 항균성 시험용 평판배지 조제는 각각의 시험균 농도를 650 nm에서 optical density(O.D)값 0.4(10^6 CFU/mL)가 되게 한 후 pour-plate 방법에 따라 배지가 분주된 배양접시에 균일하게 섞은 후 실온에서 응고시켜 균접종 평판배지를 만들어 사용하였다. 각각의 시료를 100, 250, 500, 1000, 2000 μ g/mL으로 희석하여 멸균된 paper disc(Whatman No.5, 8 mm)를 시료 수에 맞게 25 μ L씩 천천히 흡수시킨 후, 추출용매를 완전히 증발시키고 시험용 평판배지 표면에 놓아 밀착시키고 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 생육저해환(clear zone, mm)의 크기를 측정하여 항균활성을 비교 분석하였다.

최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

최소저해농도는 broth microdilution 방법(23)에 따라 다음과 같이 측정하였다. 각각의 균 농도를 650 nm에서 O.D값을 0.4(10^6 CFU/mL)가 되게 한 후 well plate에 분주하고, 각 시료를 0, 6.25, 12.5, 25, 50 μ g/mL 농도로 10 μ L씩 처리하여 24시간 배양하였다. 세균 배양액의 증식 정도를 microplate reader(Bio-TEK Instrumenis Inc., USA)를 통해 650 nm에서 측정하였다.

생육저해율 측정

미생물의 생육저해율의 측정은 배지 10 mL에 각각의 균 농도를 650 nm에서 O.D값을 0.4(10^6 CFU/mL)가 되게 한 후, 각각의 시료를 1,000 μ g/mL 농도로 처리하였다. 배양 후 microplate reader(Bio-TEK Instrumenis Inc.)를 통해 650 nm에서 측정하여 다음 식으로 생육저해율(%)을 확인하였다. 생육저해율은 균의 정지기인 24시간에서 그 값을 측정하였다.

$$\% \text{ inhibitory effect} = \frac{(\text{control} - \text{control blank}) - (\text{treatment} - \text{treatment blank})}{(\text{control} - \text{control blank})} \times 100$$

총 폴리페놀 함량 측정

폴리페놀 화합물 함량은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis방법을 이용하여 측정하였다(24). 시료를 1 mg/mL로 녹인 다음 0.2 mL를 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL로 만든 후, 여기에 0.2 mL Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma)를 첨가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에 방치하였다. 그리고 2 M sodium carbonate 용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 mL로 만든 후, 실온에서 1시간 동안 방치하여 상등액을 725 nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준물질은 tannic acid(Sigma)를 이용하였다. 표준곡선을 작성한 후 시료의 총 폴리페놀 함량은 g/mg tannic

acid로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 화합물의 함량은 다음과 같은 발색 방법을 통하여 측정하였다(25). 즉, 시료를 각각 1 mg/mL로 녹인 다음 0.1 mL를 취하고 증류수를 0.4 mL 첨가하였다. 여기에 5% NaNO₂를 0.03 mL 첨가하여 잘 혼합한 후 5분간 실온에 방치하였다. 그리고 10% AlCl₃를 0.03 mL 첨가하여 혼합하고 실온에 5분간 방치한 후 1 M NaOH 용액을 0.2 mL 첨가하였다. 1분간 상온에서 반응시킨 후 증류수 0.24 mL를 첨가한 후 잘 혼합하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 rutin(Sigma)을 이용하여 표준곡선을 작성한 후 모자반 추출물 및 분획물 시료의 총 플라보노이드 함량을 g/mg rutin으로 나타내었다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복으로 이루어졌으며, 실험결과는 각 항목에 따라 평균치±표준편차를 구하여 신뢰수준 95%(p<0.05)에서 통계적 유의차를 평가하였다.

결과 및 고찰

에탄올 추출물 및 순차분획물의 수율

경단구슬모자반 건조분말 시료(61.70 g)를 80% 에탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하여 조추출물 13.57 g을 얻었다. 그리고 에탄올 추출물을 10배량의 증류수로 현탁시킨 후에 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 그리고 부탄올 등으로 순차적으로 분획하여 헥산 층에서 1.73 g, 디클로로메탄 층에서 0.74 g, 에틸아세테이트 층에서 0.13 g 및 부탄올 층에서 1.18 g 그리고 잔사인 물 층에서 8.14 g의 분획물을 얻었다. 각 순차적 분획물의 수율은 Table 2에 나타내었으며, 추출에 사용한 경단구슬모자반 에탄올 추출물의 수율은 약 21.99%이었다. 에탄올 추출물에 대한 각 순차분획물 중 에틸아세테이트 분획물 수율이 0.70%로 가장 낮았고, 수용성 분획물이 45.48%로 가장 높은 수율을 보였다.

경단구슬모자반 추출물의 항산화활성

경단구슬모자반 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 항산화활성에 대한 결과를 Table 3과 Fig. 1에 나타내었다.

Table 2. Yield of each fractions extracted from *S. muticum*

Solvent	Yield (% w/w) ¹⁾
EtOH extract	21.99
n Hexane fraction	9.90
CH ₂ Cl ₂ fraction	4.38
EtOAc fraction	0.70
BuOH fraction	6.55
Water fraction	45.48

¹⁾Yield (%)—solid extract or fraction (g)/raw material (dry weight) × 100.

Table 3. Comparison of antioxidant potential by the ethanol extract and its various fractions of *S. muticum*

Treatment	IC ₅₀ (µg/mL) ¹⁾		
	DPPH radical scavenging activity	Xanthine oxidase inhibitory activity	Superoxide radical scavenging activity
80% EtOH	825.12±5.74	> 1000	518.87±4.14
<i>n</i> Hexane	172.65±5.12	> 1000	1 87.72±12.67
CH ₂ Cl ₂	54.50±1.74	> 1000	186.14±3.79
EtOAc	51.59±3.37	> 1000	15.23±1.94
BuOH	335.31±4.74	> 1000	21.35±1.54
Water	> 1000	> 1000	213.15±4.85
BHA ²⁾	22.70±0.61	NA	NA
Ascorbic acid	3.90±3.22	NA	NA
Trolox	8.62±2.20	288.60±4.4	189.9±2.03
Allopurinol	NA ³⁾	3.12±0.17	22.65±0.35

¹⁾IC₅₀ values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

²⁾Butylated hydroxy anisole. ³⁾NA: not available method.

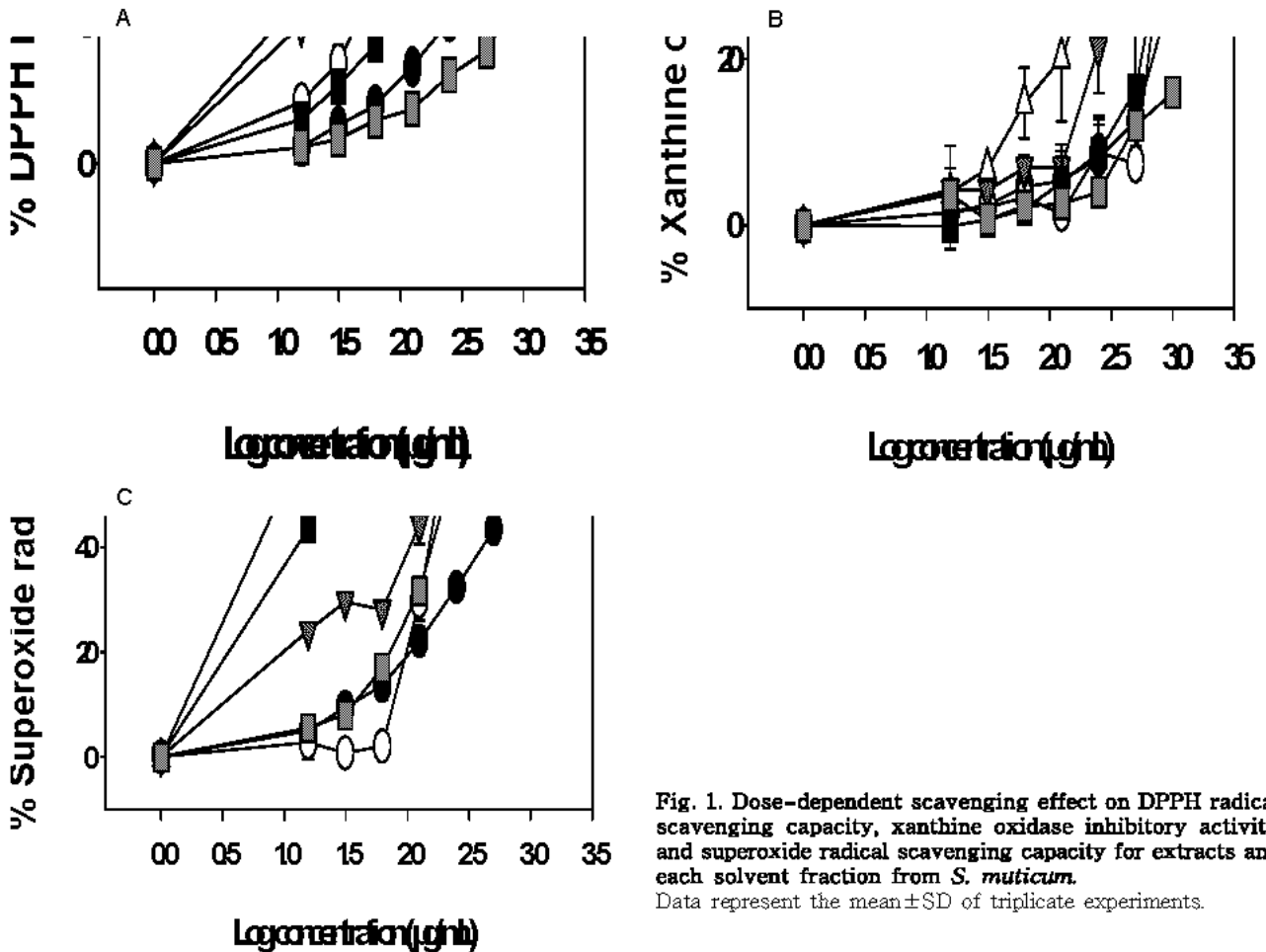


Fig. 1. Dose-dependent scavenging effect on DPPH radical scavenging capacity, xanthine oxidase inhibitory activity and superoxide radical scavenging capacity for extracts and each solvent fraction from *S. muticum*.
Data represent the mean±SD of triplicate experiments.

DPPH의 free radical 소거활성은 에탄올 추출물 및 순차적 분획물 모두에서 처리농도에 따라 농도 의존적으로 DPPH의 free radical 소거활성이 증가함을 보였으며(Fig. 1-A), 특히 순차적 분획물 중 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물의 DPPH radical 소거활성은 대조군으로 사용한 BHA 등보다는 약했지만 IC₅₀값이 각각 54.52 µg/mL와 51.59 µg/mL를 나타내어 비교적 높은 항산화활성을 나타내었다

(Table 3). 경단구슬모자반 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 xanthine oxidase 저해활성과 superoxide radical 소거활성을 xanthine/xanthine oxidase system에 의해 측정하였다. 경단구슬모자반 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 xanthine oxidase 저해활성은 그다지 높게 나타나지 않았지만 순차적 분획물 중 에틸아세테이트 분획물인 경우 농도가 높아질수록 xanthine oxidase에 대한 저해효과가 높게 나타

났다(Fig. 1-B). Superoxide radical 소거활성은 에탄올 추출물 및 순차적 분획물 모든 처리구에서 농도 의존적으로 활성이 증가함을 보였으며(Fig. 1-C), 특히 에틸아세테이트 분획물인 경우 superoxide radical 소거활성의 IC₅₀값이 15.23 µg/mL로 매우 높은 superoxide radical 소거활성을 나타내었다(Table 3).

항산화 물질의 가장 특징적인 기작은 유리기와 반응하는 것으로 유리기 소거작용은 활성라디칼(free radical)에 전자를 공여하여 식물 중의 항산화효과나 인체에서 노화를 억제하는 척도로 사용된다(19,26). Xanthine oxidase(xanthine: oxygen oxidoreductrase, EC 1, 2, 3, 4)는 xanthine을 기질로 하여 uric acid를 생성하는 과정에서 superoxide radical을 생성하는 효소이다. Xanthine oxidase는 산화적 환경에서 xanthine dehydrogenase로부터 생성된다. Xanthine oxidase는 hypoxanthine을 산화시켜 최종적으로 uric acid와 산소를 생성하며 산소유리기와 수소과산화기가 이 산소로부터 발생하게 된다. Xanthine oxidase에 의해 생성된 산소유리기는 세포의 손상을 초래한다. 그러나 이 내인성 항산화 방어체계가 세포내 산화-환원 균형을 유지하는데 문제가 생길 경우 결과적으로 산화스트레스가 일어나게 되며 이 산화스트레스는 직접적으로 세포내 거대분자의 손상을 일으키거나 세포손상을 일으키는데 중요한 역할을 한다(27). 따라서 산소유리기의 자유기를 소거할 수 있는 물질 또한 산화적 손상의 예방에 유용할 것으로 사료된다.

최근 해조류의 추출물을 대상으로 한 항산화능 결과 보고(5,28)에서도 해조류 추출물들이 높은 항산화능을 갖는다는 연구 결과와 마찬가지로 본 실험에서도 경단구슬모자반 추출물이 우수한 항산화활성 물질을 갖고 있음을 확인할 수 있었다.

경단구슬모자반 추출물의 항균활성

경단구슬모자반 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 항균활성은 전반적으로 disc에 점적한 추출물과 분획물의 농도가 증가할수록 항균활성이 크게 나타났다. 특히 에탄올 추출물과 순차적 분획물 중 핵산 및 디클로로메탄 분획물에서 처리농도가 증가할수록 항균활성을 나타내는 생육저해환 크기가 비례적으로 크게 증가하였으며, 그람양성균은 *B. subtilis*에서, 그람음성균은 *P. aeruginosa*에서 가장 높게 항균활성이 나타났다(data not shown). 순차적 분획물들 중에서 항균력이 가장 높게 나타난 경단구슬모자반 디클로로메탄 분획물의 최소저해농도를 액체배지희석법(broth dilution method)으로 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 경단구슬모자반 디클로로메탄 분획물에 대한 최소저해농도는 *B. subtilis*와 *P. aeruginosa*에서 6.25 µg/mL로 가장 낮은 농도에서 생육이 저해되었으며, *L. monocytogenes*, *S. aureus*에서는 12.5 µg/mL, *S. Typhimurium*은 25 µg/mL, *E. coli*에서는 50 µg/mL 등의 순으로 나타났다.

경단구슬모자반 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 농도

Table 4. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the dichloromethane fraction from *S. muticum* against several bacteria

Strains	Growth at various concentration (µg/mL)					MIC (µg/mL)
	0	6.25	12.5	25.0	50.0	
<i>B. subtilis</i>	+ ¹⁾	²⁾				6.25
<i>L. monocytogenes</i>	+	± ³⁾				12.5
<i>S. aureus</i>	+	±				12.5
<i>E. coli</i>	+	+	+	+		50.0
<i>S. Typhimurium</i>	+	+	+			25.0
<i>P. aeruginosa</i>	+					6.25

¹⁾Growth. ²⁾No growth. ³⁾Uncertain in growth.

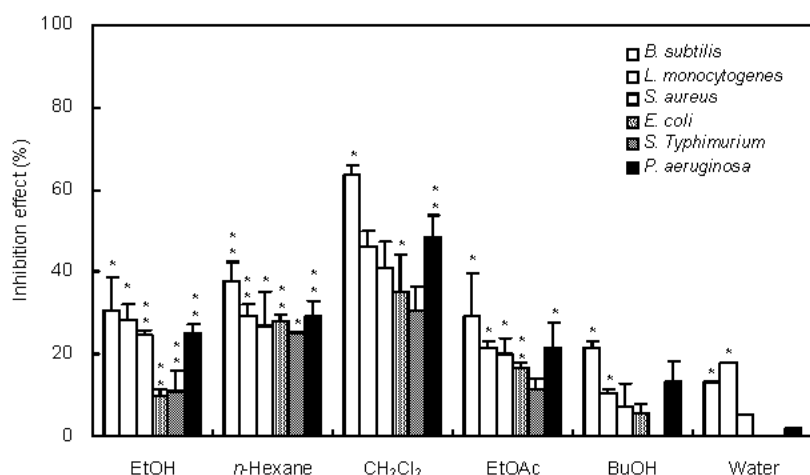


Fig. 2. Growth inhibitory rate of extracts and each solvent fraction from *S. muticum* against several bacteria. Data represent the mean±SD of three determinations. *p<0.05, **p<0.01.

Table 5. Total polyphenol and flavonoid contents in extracts and each solvent fraction from *S. muticum* (mg/g)

Solvent	Polyphenol	Flavonoid
EtOH extract	69.79±0.24	8.47±1.23
n Hexane fraction	71.21±1.53	38.01±0.78
CH ₂ Cl ₂ fraction	229.43±2.63	48.59±2.38
EtOAc fraction	347.29±1.65	64.19±2.91
BuOH fraction	145.50±1.74	24.07±1.74
Water fraction	45.5±0.82	0.67±0.24

Data represent the mean±SD of triplicate experiments.

를 1000 µg/mL로 하여 액체배지에 첨가한 후 미생물에 대한 생육저해율을 측정하였다(Fig. 2). 그 결과 에탄올 추출물은 각각의 균주마다 약간의 차이는 보였지만 전반적으로 30% 내외에서 생육저해효과를 나타내었고, 특히 순차적 분획물들 중에서 디클로로메탄 분획물이 *B. subtilis*에 대해 63.63%로 가장 높은 저해율을 나타내었고, 그 다음으로는 *P. aeruginosa*에서 48.59% 이상의 생육저해율을 나타내었다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

식물에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 phenolic hydroxyl 그룹 때문에 단백질 또는 효소단백질, 기타 거대분자들과 결합하는 성질, 항산화효과, 2가 금속이온과의 결합력을 가진다. 또한 단백질과 결합하는 성질은 미생물 세포와 작용하여 성장저해를 유발시킴으로써 항균효과 등의 생리활성 기능을 가진다(29,30). 따라서 경단구슬모자반 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 총 폴리페놀화합물과 플라보노이드의 함량을 측정 비교하였다(Table 5). 경단구슬모자반 에탄올 추출물과 순차적 분획물별 총 폴리페놀 함량은 에탄올 추출물에서 69.79 mg/g, 헥산에서 71.21 mg/g, 디클로로메탄에서 229.43 mg/g, 에틸아세테이트에서 347.29 mg/g, 부탄올에서 145.5 mg/g 그리고 수용성 분획물에서 45.5 mg/g로 에틸아세테이트 분획물>디클로로메탄 분획물>부탄올 분획물>헥산 분획물>에탄올 추출물>수용성 분획물 순으로 나타났다. 특히 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타난 에틸아세테이트 분획물은 에탄올 추출물에 비해 약 5배 가량 증가되는 경향을 보였다. 또한 경단구슬모자반 에탄올 추출물과 순차적 분획물별 총 플라보노이드 함량은 에탄올 추출물에서 8.47 mg/g, 헥산에서 38.01 mg/g, 디클로로메탄에서 48.59 mg/g, 에틸아세테이트에서 64.19 mg/g, 부탄올에서 24.07 mg/g 그리고 수용성 분획물에서 0.67 mg/g이었으며, 한편 총 플라보노이드 함량이 가장 높게 나타난 에틸아세테이트 분획물은 에탄올 추출물에 비해 약 7.6배 가량 증가되는 경향을 보였으며, 디클로로메탄 분획물 또한 에틸아세테이트 분획물과 비슷한 함량을 보여 주었다. 경단구슬모자반 에탄올 추출물과 순차적 분획물에서의 총 플라보노이드 함량 순서는 에틸아세테이트 분획물>디클로로메탄 분획물>헥산 분획물>부탄올 분획물>에탄올 추출물>수용성 분획물 순이었다.

총 폴리페놀과 플라보노이드의 함량 차이에 따른 항산화 및 항균활성과의 유연관계를 살펴보면, 전반적으로 총 폴리페놀 함량이 높게 나타난 에틸아세테이트와 디클로로메탄 분획물에서 각각의 처리 농도 범위 내에서 3가지 항산화효과 검색 실험 결과에서 보듯이 항산화능이 높게 나타난 것으로 보아 유의성을 찾을 수 있었으며, 아울러 추출물 및 순차적 분획물에 함유된 총 페놀성화합물의 함량에 따라서 항산화활성의 차이가 다르게 나타남을 확인할 수 있었다. 그러나 항균활성은 총 폴리페놀 함량 대비 총 플라보노이드의 함량이 높게 나타난 디클로로메탄 분획물이 다른 추출물과 분획물들에서보다 우수한 항균활성을 보임으로써 경단구슬모자반에서의 항균활성에 관여하는 성분은 페놀성화합물 중에서 플라보노이드 성분이 주된 것이라 사료된다. 따라서 해조류의 다양한 생리활성은 주로 다당류에 의한 것으로 보고(31)되고 있으나 경단구슬모자반의 활성성분은 부분적으로나마 폴리페놀 및 플라보노이드와 갈조류의 주된 항산화 물질(32)로 알려진 carotenoid 성분과 chlorophyll 성분이 주된 것이라 예상된다.

요 약

본 연구는 갈조류인 모자반속 중에서 경단구슬모자반(*Sargassum muticum*)을 대상으로 에탄올추출 및 용매분획하여 항산화활성 및 항균활성을 비교 분석하였으며, 아울러 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 변화를 측정하여 그 상관성 등을 조사함으로써 식품 저장성이나 안전성을 향상하기 위한 식품첨가제나 보존제로서의 개발 가능성을 알아보고자 하였다. 그 결과 경단구슬모자반 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 항산화활성은 처리 농도가 높아질수록 항산화활성도 비례해서 증가되었으며, 특히 순차적 용매분획물 중 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물에서 항산화활성이 가장 우수하게 나타났다. 또한 항균활성은 순차적 용매분획물 중에 디클로로메탄 분획물이 본 실험에 사용된 6종의 균주 모두에서 가장 효율적인 항균활성을 보여 주었다. 이러한 경단구슬모자반 에탄올 추출물과 순차적 분획물별 항산화 및 항균활성 결과는 총 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량과 유의한 양의 상관관계를 나타내었으며, 한편 총 폴리페놀 함량은 에틸아세테이트 분획물>디클로로메탄 분획물>부탄올 분획물>헥산 분획물>에탄올 추출물>수용성 분획물 순으로, 총 플라보노이드 함량은 에틸아세테이트 분획물>디클로로메탄 분획물>헥산 분획물>부탄올 분획물>에탄올 추출물>수용성 분획물 순으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지방기술혁신사업(RTI04-02-07) 지원으로 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

문헌

1. Beuchat LR, Golden DA. 1989. Antimicrobials occurring naturally in food. *Food Technol* 43: 134 139.
2. Kim HY, Lee YJ, Kim SH, Hong KH, Kwon YK, Lee JY, Ha SC, Cho HY, Chang IS, Lee CW, Kim KS. 1999. Studies on the development of natural preservatives from natural products. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1667 1678.
3. Kim JY, Lee JA, Yoon WJ, Oh DJ, Jung YH, Lee WJ, Park SY. 2006. Antioxidative and antimicrobial activities of *Euphorbia jolkini* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 38: 699 706.
4. Branen AL. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59 63.
5. Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH, Rhee KS. 1991. Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. *Korean J Food Sci Technol* 23: 256 261.
6. Kubo I, Muroi H, Kubo A. 1995. Structural functions of an antimicrobial long chain alcohols and phenols. *Bioorg Med Chem* 3: 873 880.
7. Sakanaka S, Juneja LR, Taniguchi M. 2000. Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore forming bacteria. *J Biosci Bioeng* 90: 81 85.
8. Cho MH, Bae EK, Ha SD, Park JY. 2005. Application of natural antimicrobials to food industry. *Food Sci Ins* 38: 36 45.
9. Lee JH, Lee SR. 1994. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 317 323.
10. Topisirovic L, Kojic M, Fira D, Golic N, Strahinic I, Lozo J. 2006. Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. *Int J Food Microbiol* 112: 230 235.
11. Park SK, Park JC. 1994. Antimicrobial activity of extracts and coumaric acid isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 9: 506 511.
12. Yang JY, Han JH, Kang HR, Hwang MK, Lee JW. 2001. Antimicrobial effect of mustard, cinnamon, Japanese pepper and horseradish. *J Fd Hyg Safety* 16: 37 40.
13. Kim JS, Koo KM, Jung YH, Yang JG, Lee GG. 2004. Antimicrobial activities of *Zanthoxylum schinifolium* extract against *Vibrio parahaemolyticus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 500 504.
14. Kim OM, Kim MK, Lee KR, Kim SD. 1998. Selective antimicrobial effects of spice extracts against *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from *Kimchi*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 26: 373 378.
15. Mabeau S, Fleurence J. 1993. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci Technol* 4: 103 107.
16. Kim YM, Kim DS, Choi YS. 2004. Anticoagulant activities of brown seaweed extracts in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 36: 1008 1013.
17. Jimenez Escrig A, Goni Cambrodon I. 1999. Nutritional evaluation and physiological effect of edible seaweeds. *Arch Latinoam Nutr* 49: 114 120.
18. Oak JH, Lee IK. 2005. Taxonomy of the genus *Sargassum* (Fucales, Phaeophyceae) from Korea: I. Subgenus *Bactrophycus* section *Teretia*. *Algae* 20: 77 90.
19. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198 1200.
20. Nishikimi M, Roa NA, Yagi K. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Commun* 46: 849 854.
21. Fridovich I. 1970. Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 245: 4053 4057.
22. Davidson PM, Parish ME. 1989. Method for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 43: 148 155.
23. Amster D. 1996. *Susceptibility testing of antimicrobial in liquid media, antibiotics in laboratory medicine*. 4th ed. Williams and Wilkins, MD, USA. p 52 111.
24. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966 968.
25. Jia Z, Tang M, Wu J. 1999. The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555 559.
26. Halliwell B. 1991. Drug antioxidant effects. A basis for drug selection. *Drug* 42: 569 605.
27. Cheng ZJ, Kuo SC, Chan SC, Ko FN, Teng CM. 1998. Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochim Biophys Acta* 1392: 291 299.
28. Kwak CH, Kim SA, Lee MS. 2005. The correlation of antioxidant effects of 5 Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1143 1150.
29. Lee JH, Lee SR. 1994. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 317 323.
30. Shin SJ, Kwon SK, Lee KH, Sung ND, Choi WY. 1994. Extraction and characterization of antibacterial components from the roots of evening primrose (*Oenothera odorata* Jacquin). *J Agric Sci* 21: 54 59.
31. Jimenez Escrig A, Goni Cambrodon I. 1999. Nutritional evaluation and physiological effect of edible seaweeds. *Arch Latinoam Nutr* 49: 114 120.
32. Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol* 63: 605 607.

(2007년 2월 26일 접수; 2007년 3월 9일 채택)