Antioxidation Activities of Organic Solvent Fractions Obtained from Seaweed, *Hizikia fusiformis*

Min-Jeong Kim^{1,2}, Hye-Hyeon Lee^{1,2}, Min-Jeong Seo², Byoung-Won Kang², Jeong Uck Park² and Yong Kee Jeong^{1,2*}

¹Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

²Medi-Farm Industrialization Research Center, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received July 23, 2012 / Revised October 24, 2012 / Accepted December 20, 2012

Hizikia fusiformis has been widely used in Oriental herbal medicine and health food. To identify anti-oxidation properties that contain natural bioactive substances, we investigated the distribution of active compounds existing in batches of organic solvent fractionation. A dried form of *H. fusiformis* was subjected to sequential fractionation using *n*-hexane, ethyl acetate, *n*-BuOH, and aqueous *n*-BuOH. The results showed that among the four isolated fractions, the *n*-BuOH fraction showed the highest anti-oxidation activities. The *n*-BuOH fraction was applied to reserve-phase silica gel column chromatography, which produced three fractions: BA, BB, and BC. Among these fractions, BB showed the highest anti-oxidation activities, which increased in a concentration-dependent manner. At a concentration of 1.0 mg/ml *n*-BuOH fraction, the activities of DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging and reducing power were approximately $45 \pm 0.14\%$ and 1.34 ± 0.23 , respectively. In addition, the activities of β -carotene-linoleic acid, hydrogen peroxide scavenging, and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) radical scavenging were $76 \pm 0.12\%$, $82 \pm 0.06\%$, and $65 \pm 0.17\%$, respectively. These findings suggest that the BB fraction contains potent anti-oxidation properties and that it could be used in the production of natural and functional foods.

Key words : Antioxidant activity, *Hizikia fusiformis*, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)

서 론

최근 경제적 안정으로 인해 삶의 질이 높아짐에 따라 건강한 삶에 관한 현대인들의 관심이 커지고 있다. 그러나 급격한 생활환경의 변화와 서구화된 식생활로 인해 발생하는 각종 노화, 암, 동맥경화증, 뇌질환과 심혈관질환, 신장질환 등에 의한 질병들이 사회적 문제로 제기되고 있다[5]. 이러한 질병은 세포내 에너지대사 과정에서 생기는 superoxide anion, hydroxyl radical 및 peroxy radical과 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의해서 세포내 단백질, 지질 및 DNA가 기능적 손상을 받게 되어 생성된다[9]. 생체는 이러한 활성산소로부터 생체를 방어할 수 있는 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), catalase (CAT), glutathione reductase, glutathione-S-transferase 등의 항산화 효소

를 가지고 있으나[1], 과도한 스트레스에 노출되어 있는 현대인에게는 더욱 효과적이고 안전한 대책이 필요하다. 이로 인해 이에 대한 예방 및 개선책으로 안전성과 경제성을 고루 갖춘 천연물로부터 생리활성 물질들을 이용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다[6]. 이러한 천연물에 대한 연구는 대부분 육상생물에 한정되었으나, 그 회소성이 점차 고갈되어[14] 최근에는 많은 잠재력을 가지고 있는 해양생물로 연구의 방향이 넓혀지고 있다. 그 중 해조류는 육상생물과는 다른 환경으로 생체 내 2차 대사산물의 화학구조가 매우 독특하며, 매우 중요한 생리활성 물질들을 많이 함유하고 있어 그 연구가 활발히 진행되고 있다[10, 18, 19]. 해조류는 우리나라와 아시아 지역에서 널리 분포되어 이용해 왔으며, 영양학적으로 소화 흡수율이 낮아 큰 관심을 끌지 못했으나, 최근에 열량은 매우 낮고 비타민과 무기질,식이섬유소가 풍부하며, 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유한다고 보고 되고 있다[13]. 또한 채소류에 비해서 필수 아미노산과 불포화지방산을 많이 함유하고 있다[20].

본 연구에 사용된 톳(*Hizikia fusiformis*)은 갈조류 모자반과의 다년생 해조류로서 우리나라에서는 주문진 이남에서 서해안과 남해안 및 제주도에 걸쳐 서식한다. 다른 해조류에 비해 갈슘, 철, 요오드 같은 무기질, 비타민 등이 풍부하며, 항암[3], 면역증강[29], 항산화[31], 항균효과[23] 등에 관한 연구가 보고

*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7557, Fax : +82-51-206-0848

E-mail : ykj9912@dau.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.

되고 있다. 특히 폴리페놀 화합물이 많은 분획 추출물에서 항산화 효과가 컸다는 보고[8, 25]가 있었으나, 지속적인 연구는 미비한 상태이다. 현재 톳에서부터 분리된 항산화 물질들은 phlorotannin, 황산기를 갖는 다당류 등 한정된 연구에 그쳐 새로운 천연물질의 탐색이 필요한 상태이다[34, 35]. 따라서 본 연구에서는 해조류의 대표적인 톳의 EtOH 추출물을 용매의 극성에 따라 분획하여 분리한 물질을 *in vitro* 상태에서 다양한 항산화 활성을 측정하여 비교, 검토하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험에 사용된 톳(*H. fusiformis*)은 2010년 3월 경상남도 거제에서 구입하여 실험 전 수세, 음건하여 실험 전까지 -20°C에서 냉동 보관하였다.

톳 EtOH 추출 및 분획

시료의 EtOH 추출물은 건조시료 10배의 80% EtOH을 가하여 4°C에서 24시간, 3회 반복 추출하였다. 추출된 추출액은 여과(pore size 6 µm) 후 40°C rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)로 농축 후 동결건조(BioTron, Hannil Co., Korea) 하였다. 추출된 80% 톳 EtOH 추출물을 극성에 따라 용매별로 분획하여 Fig. 1과 같이 분획물을 얻었다. 농축한 추출물을 *n*-hexane, ethylacetate, *n*-BuOH, aqueous *n*-BuOH 순으로 각각 3회 연속 반복 추출한 다음 rotary vacuum evaporator로 유기용매를 증발시킨 후 동결 건조하여 사용하였다.

n-BuOH 분획물의 silica gel column chromatography

n-BuOH 분획물을 RP-18 silica gel column chromatog-

raphy를 실시하였다. 전개용매는 MeOH : Water = 10:1로 용출시키고 각각의 분획들은 60 F₂₅₄ plate TLC (0.2 mm, 5×7 cm, Merck)를 이용하여 유사한 pattern들을 합쳐 3개의 분획물을 얻었다.

Nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR) 분석

AVANCE-500 (Bruker, Germany) NMR spectrometer에서 DMSO-*d*₆를 사용하여 ¹H-NMR (500 MHz)과 ¹³C-NMR (125 MHz)를 얻었다.

Free radical scavenging activity

Free radical scavenging activity의 측정은 Brand-Williams method [2]을 이용하여 측정 하였다. 6×10⁻⁵M DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 메탄올 용액 195 µl와 메탄올로 희석한 추출물 5 µl를 96-microplate에 혼합하였다. 이때 혼합용액 중의 추출물 최종 농도는 1.0 mg/ml가 되도록 하였다. 실온에서 30분간 방치한 후 515 nm에서 흡광도를 측정하였고 기존의 항산화제로 알려진 BHA (butylated hydroxy anisole), BHT (butylated hydroxyl toluene), galic acid를 대조구로 사용하였다. 시료의 항산화 효능은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비율로 산출하였다.

Reducing power activity

Reducing power activity의 측정은 Oyaizu method [30]을 이용하여 측정하였다. 시료 50 µl에 200 mM phosphate-buffer (pH 6.6) 50 µl와 1% potassium ferricyanide 50 µl를 넣고 50°C에서 20분간 반응시켰다. 이때, 혼합용액 중의 추출물 최종 농도는 1.0 mg/ml가 되도록 하였다. 반응 종료 후 반응액에 10% trichloroacetic acid 용액 50 µl를 가하고 5,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액 100 µl취하여 증류수 100 µl와 1% ferric chloride 20 µl을 혼합한 후 10분간 반응시킨 뒤 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

β-carotene-linoleic acid activity

β-carotene-linoleic acid activity는 Miller method [26]을 이용하여 측정하였다. 0.1 mg의 β-carotene을 chloroform 500 µl에 용해시킨 후 20 mg의 linoleic acid 및 100 mg의 Tween 40을 첨가하여 50°C에서 chloroform을 감압 농축하여 제거하고 얻어진 잔류물에 증류수 50 ml를 가하여 정용한 것을 기질액으로 사용하였다. 기질액 10 µl와 시료 200 µl를 96-microwell plate 가하여 혼합하였다. 이때 혼합용액 중의 추출물 최종 농도는 1.0 mg/ml가 되도록 하였다. 50°C에서 2시간 반응시킨 후 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 항산화 효능은 시료 무 첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비율로 산출하였다.

Fig. 1. Scheme of solvent fractionation of *Hizikia fusiformis*.

Hydrogen peroxide scavenging activity

Hydrogen peroxide scavenging activity의 측정은 Miller method [26]을 이용하여 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonic acid (ABTS)-peroxidase system에서 측정하였다. 96-microplate에 시료 80 μ l, 10 mM H_2O_2 20 μ l, 0.1 M phosphate buffer (pH 5.0) 100 μ l를 넣고 혼합하였다. 이때, 혼합용액 중의 추출물 최종 농도는 1.0 mg/ml가 되도록 하였고 37°C에서 5분간 반응하였다. 반응액에 1.25 mM ABTS 30 μ l와 1 U/ml peroxidase 30 μ l를 가하고 혼합한 후 37°C에서 10분간 반응하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 항산화 효능은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도비로 산출하였다.

ABTS radical scavenging activity

ABTS radical scavenging activity ABTS radical 소거능 측정은 ABTS⁺ cation decolorization method [33]을 사용하였다. 7 mM ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12시간 동안 반응 시켰다. 반응액의 흡광도를 414 nm에서 증류수로 희석하여 1.5로 맞춘다. 희석시킨 반응액 3 ml에 시료용액 1.0 ml를 가하여 실온에서 10분간 반응시킨 다음 흡광도를 측정하였으며, 시료의 항산화 효능은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도비로 산출하였다.

통계분석

본 실험에서 얻은 결과는 각 시료마다 세 번씩 반복 실험을 통해 실험군당 평균과 표준편차를 계산하여 나타내었다.

결과 및 고찰

추출물 및 분획물

건조 톱 시료(2 kg)를 80% 에탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하고 조추출물 34.41 g을 얻었다. 그리고 80% EtOH 추출물을 증류수로 현탁시킨 후에 *n*-hexane, ethylacetate, *n*-BuOH 등으로 순차적으로 분획하여 *n*-hexane 층에서 12.56 g, ethylacetate 층에서 8.17 g, *n*-BuOH 층에서 11.19 g 그리고 잔사인 *n*-BuOH 수용액 층에서 1.45 g의 분획물을 얻었다. 각 순차적 분획물의 수율은 Table 1에 나타내었으며, 추출에 사용한 톱의 80% EtOH 추출물의 수율은 58.12%이었다. EtOH 추출물에 대한 각 순차적 분획물들을 항산화 활성 실험을 통해 가장 활성이 높은 *n*-BuOH 층(11.19 g)을 RP-18 silica gel column chromatography를 실시하여 3개의 분획물을 얻었다. 전개용매는 MeOH : water = 10:1로 용출시키고 각각의 분획물은 TLC로 전개하여 유사한 pattern들을 합쳐 3개의 분획물을 얻었다. 분획물 BA 3.20 g, BB 2.34 g 그리고 BC 에서 가장 많은 5.45 g을 얻었다.

Table 1. Yields (%) of each fractions from 80% ethanol extract of *Hizikia fusiformis*

Fractions	Yields (g)	Yields (%)
80% EtOH ex.	34.41	58.12
<i>n</i> -hexane fr.	12.56	36.50
ethyl acetate fr.	8.17	23.74
<i>n</i> -BuOH fr.	11.19	32.51
aqueous <i>n</i> -BuOH fr.	1.45	4.21
BA fr.	3.20	28.59
BB fr.	2.34	20.91
BC fr.	5.45	48.70

*ex: extract, fr: fraction

Free radical scavenging activity

톱 80% EtOH 추출물 및 순차적 분획물의 Free radical 소거능에 대한 결과와 *n*-BuOH 층에서 분리된 3개의 분획물에 대한 농도별 소거능을 Fig. 2에 나타내었다. 추출물의 분리의 기

Fig. 2. Free-radical scavenging activity. (A) Various solvent fractions of 80% EtOH extract from *Hizikia fusiformis*. (B) Isolated compounds from the *n*-BuOH extract. BHA: butylated hydroxy anisole, BHT: butylated hydroxy toluene.

준이 되는 free radical 소거능을 알아보기 위해 1.0 mg/ml의 농도에서 항산화능을 측정한 결과 *n*-BuOH > aqueous *n*-BuOH > ethylacetate > *n*-hexane 순으로 나타났다. 그 중 가장 높은 소거능을 나타내는 *n*-BuOH 층에서 분리된 3개의 분획물을 농도별로 항산화능을 확인하였다. 그 중 BB 분획물이 농도가 1.0 mg/ml일 때 $45 \pm 0.14\%$ 로 가장 높게 나타났으며, BA 분획물 보다는 3배 높은 소거능을 나타낸다. BC 분획물에서는 수율은 가장 높았으나 소거능은 거의 나타나지 않았다. 톱 80% EtOH 추출물의 free radical 소거능은 Karawita와 Park [16, 32]에 보고되어 있다. 이는 본 실험에서 얻은 항산화 활성에 대한 결과보다 약간 높은 수치로 ethylacetate 분획물에서 높은 항산화 물질이 존재하는데, 항산화 활성의 차이는 추출 방법과 추출시기, 부위에 따라 것으로 사료된다. 본 실험을 통해 가장 높은 소거능을 보이는 BB 분획물은 식품의 산화를 억제하며[11, 21], 생체에서는 활성 radical에 의한 세포 손상과 노화를 억제 하는 새로운 항산화제 소재로 충분히 활용할 만한 가치를 지닌 기능성 물질로 예상된다[22].

Reducing power activity

활성 산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력인 환원력은 항산화능과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있는데 이는 항산화 활성에 주요한 인자로 작용한다[7]. 700 nm에서 ferricferricyanide (Fe^{3+}) 혼합물이 수소를 공여하여 radical을 안정화시켜 ferrous (Fe^{2+})로 전환하는 값을 나타낸 것인데 일반적으로 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 알려져 있고, 전자공여능은 phenolic 물질에 대한 항산화 효능의 지표라고 할 수 있다[17, 24]. 톱에서 분리된 3개의 분획물에 대한 환원력을 Fig. 3에 나타내었다. 분획물의 농도가 높아질수록 환원력은 증가하였으며, 1.0 mg/ml의 농도에서 BB 분획물이 1.34 ± 0.23 로 가장 높은 환원력을 나타내었다. 이는 대조구로 사용된 BHA와 BHT 보다 높은 환원력을 나타내며, galic acid

Fig. 3. Redcing power activity of isolated *n*-BuOH extract from *Hizikia fusiformis*. BHA: butylated hydroxy ani-sole, BHT: butylated hydroxy toluene.

와 거의 유사한 활성을 나타낸다. 또한 BA 분획물에 비해서는 2배 높은 활성을 나타내며, BC 분획물의 경우에는 특유의 짙은 색에 의한 흡광도만 나타낼 뿐 환원력은 거의 없는 것으로 사료된다. BB 분획물은 다른 분획물들에 비해 환원력이 우수하며, 시료의 농도가 증가할수록 환원력도 증가하였다.

β -carotene-linoleic acid activity

분획물의 지질과산화 억제능은 지질 산화 유도를 통해 생겨난 free peroxy radicals이 β -carotene의 이중결합을 공격함으로써 원래의 오렌지색으로부터 빠르게 decolorization이 진행되는 것을 470 nm에서 흡광도를 측정하였다[4]. 분획물들의 지질과산화 억제능은 Fig. 4에 나타내었다. 그 중 가장 높은 활성을 보이는 BB 분획물은 대조구인 BHA와 BHT가 1.0 mg/ml의 농도에서 94%와 91%의 높은 활성에 비해 다소 떨어지나 galic acid와는 $76 \pm 0.12\%$ 의 유사한 활성을 보인다. 모든 시료들이 농도에 따라 그 활성이 유의적인 것을 확인할 수 있다. 특히 BB 분획물은 같이 분획된 BA와 BC 분획물에 비해 2배 이상의 높은 활성을 가진다. 지질과산화 억제능이 가장 우수한 BB 분획물은 생체 내에서 Fe과 같은 금속류가 과산화수소와 빠르게 반응하여 생성되는 2차 산화물의 생성을 억제하여 생체 내 손상을 방지할 것으로 예상된다.

Hydrogen peroxide scavenging activity

톱 분획물의 hydrogen peroxide (H_2O_2) 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 5에 나타내었다. Hydrogen peroxide는 체내에서 세포 독성물질로 전이 금속이온과 함께 활성산소 종을 생산하며, 체내에 생산되는 항산화 효소들에 의해 물로 전환되어 분해된다[28]. Hydrogen peroxide 소거활성은 시료의 농도에 따라 의존적으로 증가한다. 시료의 1.0 mg/ml 농도에서는 BB분획물이 $82 \pm 0.06\%$ 로 가장 높았으며, BA분획물에 비해서는 2배, BC분획물에 비해서는 4배 가량 높은 소거능을 나타낸다.

Fig. 4. β -carotene-linoleic acid activity of isolated *n*-BuOH extract from *Hizikia fusiformis*. BHA: butylated hydroxy ani-sole, BHT: butylated hydroxy toluene.

Fig. 5. Hydrogen peroxide scavenging activity of isolated n-BuOH extract from *Hizikia fusiformis*. BHA: butylated hydroxy ani-sole, BHT: butylated hydroxy toluene.

특히 높은 농도에서는 대조구들과 비슷한 소거능을 나타내나, 농도가 낮아짐에 따라서 급격한 차이가 나는 것을 볼 수 있다.

ABTS radical scavenging activity

투스 분획물의 ABTS radical 소거능의 소거활성을 측정 한 결과는 Fig. 6에 나타내었다. ABTs 소거능은 potassium persulfate와 반응하여 생성된 ABTS radical이 시료중의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 청록색이 탈색되는 정도를 414 nm에서 흡광도를 측정하였다[12]. 그 결과 시료 1.0 mg/ml의 농도에서 BB분획물이 $65 \pm 0.17\%$ 로 가장 높은 소거능을 나타내었으며, 같이 분리된 BA 분획물에 비해서 2배 높은 소거능을 보이며, BC분획물의 경우는 6배 높은 소거능의 차이가 나타난다. 특히, 대조구들과 같이 농도가 높아질수록 소거능은 증가하였으며, galic acid와 비교할 때 농도의 변화에 따라 거의 유사한 소거능을 나타내었다. ABTS법에 의한 항산화

Fig. 6. ABTS radical scavenging activity of isolated n-BuOH extract from *Hizikia fusiformis*. BHA: butylated hydroxy ani-sole, BHT: butylated hydroxy toluene.

Fig. 7. 500 MHz ^1H -NMR (A) and 125 MHz ^{13}C -NMR (B) spectrum of BB fraction.

화력 측정법은 DPPH는 free radical을 ABTS는 양이온 radical을 소거하는 점에서 서로 차이가 나며 두 기질과 반응물과의 결합 정도가 달라지므로 radical 제거 능력에서도 차이를 보이나 BB 분획물은 모든 radical에서 우수한 소거능을 보였다.

이상의 결과에서 토틸에서부터 분획된 용매 분획물 중 항산화 활성이 높은 n-BuOH에서 분리된 BA, BB, BC의 항산화 활성을 검토하였다. 그 중 가장 우수한 항산화능을 가진 물질을 함유하고 있을 것으로 사료되는 BB 분획물은 ^1H 과 ^{13}C -NMR을 측정하여 부분 정제된 분획물의 구조를 추정 한 결과, 플라본을 골격구조를 지니고 있는 화합물인 것으로 나타났다[15, 27]. ^1H -NMR 스펙트럼에서는 7.0~8.0 ppm에서 플라본의 방향족 화합물에 기인하는 수소가 관측되었으며 3.5~4.3 ppm에서는 다중 메톡시기에 속해 있는 수소가 관측되었다(Fig. 7A). 또한, ^{13}C -NMR 스펙트럼에서는 50~120 ppm에서 플라본의 방향족 화합물에 기인하는 탄소가 관측되었다(Fig. 7B). 이 결과로부터 BB 분획물은 플라본의 골격구조에 메톡시기 다중 결합된 구조를 하고 있는 물질로 추정되며 현재 BB분획물의 완전 정제를 진행하고 있다. 또한 이를 기능성물질로 활용하기 위하여 다양한 생리활성 평가가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산물부(농림, 식품, 수산) 기술개발사업(610003-03-1-SB110)의 연구비지원에 의해서 수행되었습니다.

References

- Anderson, D. 1999. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutation Res* **350**, 103-108.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol* **28**, 25-30.
- Cho, K. J., Lee, Y. S. and Ryu, B. H. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *J Korean Fish Soc* **23**, 345-352.
- Choi, S. I., Lee, Y. M. and Hoo, T. R. 2003. Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity *in vitro* of traditional herbal medicine extracts. *Korean J Biotech Bioeng* **18**, 282-288.
- Cutler, R. G. Antioxidants aging, and longevity. 1984. Free Radicals in Biology. pp. 371-423, 6th eds., In Pryor, W. A. (ed), Academic press.
- Gomes, A., Vedasiromoni, J. R., Das, M., Sharma, R. M. and Ganguly, D. K. 1995. Anti-hyperglycemic effect of black tea (*Camellia sinensis*) in rat. *J Ethnopharmacol* **45**, 223-226.
- Gordon, M. H. 1990. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In Food Antioxidant. pp. 1-18, In Hudson, B. J. F. (ed.), Elsevier Applied Science, London/New York.
- Huang, H. L. and Wang, B. G. 2004. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qungdao coastline. *J Agric Food Chem* **52**, 4993-4997.
- Hur, S. K., Kim, S. S., Heo, Y. H., Ahn, S. M., Lee, B. G. and Lee, S. K. 2001. Effect of the grapevine shoot extract on free radical scavenger activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in raw macrophages. *J Appl Pharmacol* **9**, 188-193.
- Jeon, M. H. and Kim, M. 2011. Effect of *Hizikia fusiforme* fractions on proliferation and differentiation in osteoblastic MC3T3-E1 Cells. *J Life Sci* **21**, 300-308.
- Jeong, D. S., Sohn, Y. K., Lee, Y. I., Yun, I. H. and Kim, J. K. 1986. Study on the chemical constituents and processings of *Ganoderma lucidum*. *Ann Res Report* **28**, 140-148.
- Jeong, J. W., Lee, Y. C., Jung, S. W. and Lee, K. M. 1994. Flavor components of citron juice as affected by the extraction method. *Korean J Food Sci Technol* **26**, 709-712.
- Jimenez-Escrig, A. and Cambrodon, I. G. 1999. Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. *Arch Latinoam Nutr* **49**, 114-120.
- Joung, E. Y. and Lee, S. K. 2007. Antioxidant activity and regeneration effect in HaCat cell by Jeju Island aboriginal Ecklonia cava. *J Korean Soc Cosm* **13**, 1071-1077.
- Juma, B. F., Yenesew, A., Midiwo, J. O. and Waterman, P. G. 2001. Flavones and phenylpropanoids in the surface exudate of *psidium punctulata*. *Phytochemistry* **57**, 571-574.
- Karawita, R., Siriwardhana, N., Lee, K. W., Heo, M. S., Yeo, I. K., Lee, Y. D. and Jeon, Y. J. 2005. Reactive oxygen species scavenging, metal chelatin, reducing power and lipid peroxidation inhibition properties of different solvent fractions from *Hizikia fusiformis*. *Eur Food Res Technol* **220**, 363-371.
- Kim, H. K., Kim, Y. E., Do, J. R., Lee, Y. C. and Lee, B. Y. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* **27**, 80-85.
- Kang, K., Park, Y., Hwang, H. J., Kim, S. H., Lee, J. G. and Shin, H. C. 2003. Antioxidative properties of brown algae polyphenolics and their perspectives as chemopreventive agents against vascular risk factors. *Arch Pharm Res* **26**, 286-293.
- Koing, G. M., Kehraus, S., Seibert, S. F., Abdel-Lateff, A. and Muller, D. 2005. Natural products from marine organism and their associated microbes. *Chem Biochem* **7**, 229-238.
- Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* **27**, 969-978.
- Lee, K. D., Chang, H. K. and Kim, H. K. 1997. Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J Food Sci Technol* **29**, 432-436.
- Lee, S. K. 1997. Evaluation of cancer chemopreventive activity mediated by antioxidants and modulators of tumor promotion. Ph. D. Thesis, Illinois university, Chicago, USA.
- Lim, S. B., Kim, S. H., Ko, Y. H. and Oh, C. K. 1995. Extraction yields of *Hizikia fusiforme* and Aloe vera Linne by supercritical carbon dioxide and antimicrobial activity of their extracts. *Korean J Food Sci Technol* **27**, 68-73.
- Lim, S. N., Cheung, P., Ooi, V. and Ang, P. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J Agric Food Chem* **50**, 3862-3866.
- Matthaus, B. 2002. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J Agric Food Chem* **50**, 3444-3452.
- Miller, H. E. 1971. Simplified method for the evaluation of antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* **48**, 91.
- Moon, B. H., Lee, Y. S., Shin, C. S. and Lim, Y. H. Y. 2005. Complete Assignments of the ¹H and ¹³C NMR Data of Flavone Derivatives. *Bull Korean Chem Soc* **26**, 603-608.
- Obata, T. and Yamanaka, Y. 1996. Effect of iron (II) on the generation of hydroxyl free radicals in rat myocardium. *Biochem Pharmacol* **51**, 1411-1413.
- Owen, T. A., Aronow, M. and Shahoub, V. 1990. Progressive development of the rat osteoblast phenotype *in vitro*: relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. *J Cell Physiol* **143**, 420-430.
- Oyaizu, M. 1985. Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. *Jpn J Nutr* **44**, 307-314.
- Park, J. C. and Choi, J. W. 1996. Screening of marine natural products on inhibitory effect of the formation of lipid peroxidation. *Korean J Pharmacogn* **27**, 117-122.
- Park, K. E., Jang, M. S., Lim, C. W., Kim, Y. K., Seo, Y. G. and Park, H. Y. 2005. Anti-oxidant activity on ethanol extract from boiledwater of *Hizikia fusiformis*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **48**, 435-439.
- Re, R., Pellegrini, N., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTs radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* **26**, 1231-1237.

34. Yan, X., Nagata, T. and Fan, X. 1998. Antioxidative activities in some common seaweeds. *Plant Foods Hum Nutr* **52**, 253-262.
35. Zhang, Q., Li, N., Zhou, G., Lu, X., Xu, Z. and Li, Z. 2003.

In vivo antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanesis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacol Res* **48**, 151-155.

초록 : 톳(*Hizikia fusiformis*)에서부터 분리된 유기용매 분획물의 항산화활성

김민정^{1,2} · 이해현^{1,2} · 서민정² · 강병원² · 박정욱² · 정영기^{1,2,*}

(동아대학교 ¹생명공학과, ²Medi-Farm 산업화 연구사업단)

*Hizikia fusiformis*을 80% EtOH 추출물을 용매의 극성에 따라 n-hexane, ethyl acetate, *n*-BuOH, Aqueous *n*-BuOH fraction으로 순차적으로 분리하였다. 분리된 4개의 분획물 중에 항산화 활성이 높은 *n*-BuOH 분획물을 reserve-phase column chromatography를 실시하여 분리된 3개의 BA, BB, BC 분획물에 대한 항산화 활성을 검토하였다. 가장 항산화 능이 높은 BB 분획물은 모든 실험에서 농도의존적으로 활성이 증가하는데, 시료의 농도가 1.0 mg/ml일때 DPPH radical scavenging activity와 Reducing power activity는 45±0.14%, 1.34±0.23로 가장 높게 나타난다. β-carotene-linoleic acid activity와 Hydrogen peroxide scavenging activity도 76±0.12%와 82±0.06%로 가장 높았으며, ABTS radical scavenging activity도 65±0.17%의 활성을 나타낸다. 이상의 연구 결과에서, 최종 분리된 BB분획물은 높은 항산화능을 가진 물질을 함유하고 있을 것으로 예상되며, 이는 앞으로 새로운 천연 기능성 식품으로서의 이용 가능성을 시사하고 있다.