

## 해조류로부터 수용성 항산화 물질의 추출

이 봉 호 · 최 병 욱 · 전 종 한 · 유 병 수\*

대전산업대학교 공업화학과, \*원광대학교 화학과  
(1996년 6월 21일 접수, 1996년 11월 11일 채택)

### Extraction of Water Soluble Antioxidants from Seaweeds

Bong Ho Lee, Byoung Wook Choi, Jong-Han Chun, and Byung-Soo Yu\*

Dept. of Ind. Chemistry, Taejon National University of Technology, Taejon 300-717, Korea

\*Dept. of Chemistry, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

(Received June 21, 1996, Accepted November 11, 1996)

**요 약 :** 우리나라 근해에 서식하는 여러 가지 해조류로부터 수용성 항산화 물질을 추출하여 라디칼 소거활성으로 항산화 활성을 측정하였다. 김, 미역, 다시마, 모자반, 청각, 툯, 홀파래 등에서 추출된 물질로부터 항산화 활성이 확인되었으며 이들중 홀파래에서 합성 항산화제인 BHT나 BHA보다 강한 강력한 항산화 성분이 추출되었다. 툯의 경우 홀파래에 필적할만한 항산화활성을 나타내었다. 항산화 성분을 확인하기 위해 Sephadex LH-20 column 등을 이용해 성분분리를 시도하였는데 각 분획의 활성이 분리전의 활성보다 낮아져 성분분리를 하지 않았으며 이는 단일 성분이 아닌 다성분이 항산화 활성을 나타내는 것이다.

**Abstract:** Water soluble antioxidants were extracted from various seaweeds and their antioxidative activities were measured to show that *Monostroma nitidum* has the highest antioxidant activity higher than that of the synthetic antioxidants, BHA or BHT among the samples. Other seaweeds such as *Hizikia fusiformis* showed antioxidant activity comparable to that of *Monostroma nitidum*. It seems that many antioxidative components show the additive effect since the purification of the extract using Sephadex LH-20 or ODS reduced the activity.

### 1. 서 론

대기중에 존재하는 산소는 식품 또는 동물의 세포 등과 같은 여러 유기물질에 대해 산화 반응을 유발시켜 많은 부작용을 나타내게 된다. 식품품의 원료 및 제품은 저장, 보존 및 가공 등의 공장에서 미생물에 의해 오염과 부패가 발생하기도 하고 화학적 물리적 작용에 의해 산화 또는 열화 반응이 발생하기도 함으로써 지방의 산화 반응이 진행되기도 한다. 이러한 지방 산화 반응은 식품품에 함유된 각종 화합물질중

특히 리놀산(linolic acid), 리노렌산(linoleic acid) 등과 같은 영양학적으로 필수적인 불포화 지방산과 반응성이 강한 산소가 쉽게 과산화 반응을 하여 과산화 지방질 또는 반응성이 매우 강력한 자유라디칼을 생성시키는 물론, 말론디알데히드(malondialdehyde) 등과 같은 발암성 물질을 생성시키는 것으로 보고되어 있다. 또한 자유 라디칼은 음식물 섭취시 소화기 내에서 인체의 세포 조직과 이상 반응을 야기시켜 인체내의 각종 세포 조직, 특히 소화기 계통에 암을 유발시킬 수 있는 가능성이 높아지게 된다.

이상과 같은 이유로 인해 식품내에 존재하는 각종 지질들의 과산화 반응을 방지시키기 위해 각종 식품의 가공법들이 소개되어 오고 있는 바, 건조 식품의 개발, 탈 산소제를 식품과 함께 포장시켜 포장된 내부의 산소를 제거시키는 기술, 진공 포장, 그리고 질소 가스 치환 포장 등의 기술들이 개발되어 식품 산업에 응용되어 오고 있다. 그러나 이러한 포장 기술은 식품 제조 원가를 상승시키는 것은 물론 사용상의 한계도 존재하며, 유통시 포장재의 손상으로 그 신뢰성이 저하되기도 한다.

상기와 같은 포장 기술의 개발에 의한 식품의 산화 방지외에 현재 가장 보편적으로 사용되고 있는 방법은 화학적으로 합성시킨 합성 항산화제를 식품에 첨가시키는 것이다. 예를 들면 부틸히드록시아니솔(BHA) 또는 부틸히드록시톨루엔(BHT) 등과 같은 합성 항산화제를 식품 제조시 함께 첨가시켜 제조된 식품에 항산화 능력을 부여시키는 것이다. 그러나 합성 항산화제가 발암 요인으로 주목 받게 되었으며, 이의 안전성 문제가 미국, 일본 및 기타 선진국에서 크게 대두되었다[1, 2].

이러한 합성 항산화제의 문제점을 극복하기 위해 천연물에서 항산화 물질을 추출하여 제조하는 방법이 오래전부터 연구되어 오고 있다[3-6]. 즉, 당근 등으로부터  $\beta$ -carotene을 추출하는것이 대표적인 예다. 그러나  $\beta$ -carotene은 추출량이 매우 적어 상업성에 제한을 받게 되어 아직까지 이를 식품 등에 항산화제로서 사용하지 못하고 있다. 최근에 이르러서도 국내외에서는 천연물로부터 항산화 물질을 추출하고자 하는 시도가 많은 연구진들에 의해 진행되어 오고 있다. 즉 Shin-Ya 등은[7] 미생물 균주인 *Streptomyces* sp. CL190으로부터 naphterpin 이라는 항산화제를 추출하여 그 구조를 규명하였으나 상업화 되지는 못하였고, Teshima 등과[8] Mo 등도[9] 미생물에서 항산화성 물질을 추출하여 보고하였으나 이들 역시 실용화에는 실패하였다. 그러나 농산물과 해산물로부터 여러 가지의 항산화성 물질을 추출하여 항산화 생리활성에 관한 실험과 그 구조를 밝히고자 하는 연구는 현재도 매우 활발히 진행되어 오고 있다[10-14].

해양 생물 특히 해조류로부터 생리 활성 물질중 항산화성 물질을 추출하고자 하는 노력은 1980년대 후반부터 시작되었는데 프랑스와 일본에서 특히 많은 연구가 진행되어 왔다. Takaki와 Miyashita는 일본

근해에서 서식하는 12종류의 해조류로부터 천연물을 추출하여 이 물질에 대한 tocopherol 성분을 조사하였다[15]. 그 결과 추출된 물질에 존재하는 tocopherol은  $\alpha$ -tocopherol이 주성분이며  $\beta$ -tocopherol이 소량으로 함께 존재 한다는 사실을 밝힌바 있다. 그리고 Kaneniwa 등은 역시 일본 근해에서 서식하는 해조류로부터 항산화성 물질을 추출하였는데, 이들은 해조류의 지질 성분에서 항산화성을 갖는 5-olefinic acid 등이 존재한다고 보고하였는데, 이러한 화합물들은 항산화제로는 흔하지 않는 물질들이다[16]. Nishibori와 Namiki 등은 7종의 해조류를 헥산/에탄올 혼합물로 항산화 물질을 추출하여 그들의 항산화 활성도를 측정된 결과 김과 미역에서 추출된 지질이 기존에 사용되어 오던 BHA 및  $\alpha$ -tocopherol에 필적할 만한 항산화성을 나타낸다고 보고하였다[17]. 그러나 이 역시 추출량이 매우 소량이어서 상업화 되지는 못하였다.

우리나라에서도 박 등이 12종류의 해조류를 메탄올과 클로로포름을 순차적으로 사용하여 각각의 추출물을 얻어 항산화 활성을 측정하였다[18, 19]. 그 결과 김, 미역 그리고 다시마 등에서 BHA 보다 우수한 항산화 물질을 얻을 수 있다고 보고하였다. 이 실험에서는 그러나 항산화 물질의 추출량이 적을뿐더러 또한 추출시 온도를 70°C의 비교적 고온을 이용하여 열에 불안정한 항산화 물질이 파괴되었을 가능성이 있다.

따라서 본 연구에서는 몇 가지 해조류의 추출물이 항산화 활성을 가지는지를 알아 보기 위하여 상온에서 용매와 추출방법을 달리하여 최적의 추출방법을 알아 보고 그들의 특성도 알아 보았다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료 채취 및 처리

시료들은 우리나라 근해에서 서식하는 김(*Porphyra yezoensis*), 미역(*Undaria pinnatifada*), 다시마(*Laminaria sinclairii*), 툫(*Hizikia fusiformis*), 홀파래(*Monostroma nitidum*), 파래(*Enteromorpha linza*), 모자반(*Sargassum fulvescens*), 및 청각(*Codium fragile*) 등의 해조류를 대상으로 하였다. 김, 미역, 다시마, 파래는 시장에서 구입하였고, 홀파래는 홀파래 생산업체(호성식품, 전라남도 해남)에서 구입하였으며, 자연광으로 건조한 툫과 모자반은 전남 완도군

보길도의 채취농가에서 구입하였다. 특히 홉파래는 항산화 물질이 파괴되지 않도록 하기 위하여 건조시 통상적인 건조온도인 70℃보다 낮은 40℃로 유지하면서 건조하였다. 그리고 이들 해조류중 미역, 다시마 및 툇은 물로 세척하여 염분을 제거시킨 후 다시 40℃ 이하에서 건조시켰다.

## 2.2. 해조류로부터 항산화 물질의 추출

### 2.2.1. 표준시료 제조방법

건조한 해조 10g을 믹서기를 이용해 미세하게 파쇄시키고 증류수 또는 에탄올 200ml를 첨가하여 실온에서 4시간 동안 교반시킨 후 고속원심분리기에서 원심 분리시켰다(중력 50,000g, 30분). 원심분리 후 남은 해조류의 잔류물에 다시 증류수 200ml를 넣고 동일한 조건에서 원심분리시켰다. 이러한 작업을 1회 더 반복하여 전체 3회에 걸쳐 원심분리를 실시하였다. 원심분리하는 동안 원심분리기안의 온도는 5℃로 유지시켜 온도 상승으로 인한 시료의 파괴를 방지하였다. 원심분리 후 상등액을 모아 40℃에서 회전농축기(rotary evaporator)나 동결건조기(freeze drier)로 증발건조시켜 정제하지 않은 시료를 제조하였다.

### 2.2.2. 초음파로 처리한 시료제조법

위의 방법과 같이 시료를 파쇄시켜 증류수에 넣고 교반시키면서 초음파로 처리시켰다. 이는 해조류의 세포 조직을 보다 효과적으로 파괴시켜 항산화 물질의 추출을 용이하게 함이다. 초음파는 Sonicor Ultrasonic Processor(20KHz)를 사용하였으며 일반적인 방식대로 20초 동안 초음파를 가한다음 10초 쉬는 방식으로 10분 동안 주사하였다. 나머지 과정은 위와 동일하게 실시하였다.

### 2.3. 항산화 물질의 분리 정제

추출된 항산화 물질은 먼저 TLC(thin layer chromatography)로 분석하였다. 이때 solid support는 silica gel plate를 사용하였고, 용리액은 항산화 물질이 수용성이기 때문에 극성이 큰 methanol, acetone, ethyl acetate, acetonitrile 등의 유기용매를 사용하였다. 정제하지 않은 수용액 추출물 시료는 감압하에서 잘 건조시킨 다음 methanol로 다시 추출하였다. 항산화효과를 나타내는 물질을 순수하게 분리하고자 이 methanol 추출물에 대하여 다시 다음 두 가지 방법에 의하여 정제를 시도하였다.

방법 1. (Scheme 1 참조) : 농축된 methanol 용액은 다시 물에 녹이고 녹지 않는 물질은 걸러낸다. 이 수용액은 ODS column(1×30cm)에 얹어 증류수로부터 methanol까지 극성을 달리하여 용리하여 모두 5개의 분획을 얻어 항산화 활성을 측정하였다.

방법 2. (Scheme 2 참조) : 농축된 methanol 용액을 diethyl ether, methylene chloride, ethyl acetate, acetonitrile, methanol, 증류수 순으로 극성을 증가시켜가며 각각의 용매에 녹지 않는 물질들을 추출하였다. 이 중 항산화 효과를 크게 나타내는 methanol 분획을 다시 농축시킨 후에 Sephadex LH-20 column(1×100cm)을 이용하여 methanol로 용리하여 크게 3개의 분획을 얻어 항산화 활성을 측정하였다.

### 2.4. 항산화 활성 측정

항산화 활성측정은 *in vitro* 방식인 Bios법[20]을 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, Aldrich사) 약 20mg을 에탄올 150ml에 녹여 DPPH 용액으로 제조한 후, 이 용액 600 $\mu$ l에 DMSO 250ml를 첨가시키고 적당량의 에탄올로 희석시켜 10초간 진탕시켰다. 그리고 518nm의 파장에서 대조군의 흡광도가 0.94~0.97이 되도록 농도를 조정하였다. 이때 사용한 분광광도계는 Hewlett Packard 사의 Model HP 8452A diode array spectrophotometer였다. 역시 동일한 방법으로 흡광도가 0.94~0.97인 DPPH 용액 3 ml에 항산화 물질 시료(1mg/ml) 용액을 100~200 $\mu$ l씩 각각 넣고 충분히 섞은 후 10분간 반응시켰다. 그리고 반응물에 대한 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 흡광도 감소치를 DPPH radical 소거활성으로 하여 항산화 활성도를 나타내었다. 이러한 Bios 방법에 의해 해조류 항산화제와 기존의 BHT의 항산화 활성을 비교하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 추출 용매에 따른 항산화 물질의 추출

증류수 또는 에탄올을 이용하여 추출한 여러 해조류들의 항산화 활성을 살펴보면 Table 1과 같다. 그 결과 미역, 다시마, 청각 등은 물 추출물과 에탄올 추출물 모두에서 거의 활성을 나타내지 않거나 낮은 활성을 나타내었다. 반면에 모자반, 툇 그리고 홉파래에서는 상당히 높은 항산화 활성을 갖는 것으로 나타

**Table 1.** The Antioxidant Effect of Various Seaweeds Extracted with Water And Ethanol

Seaweed <sup>a</sup>	Antioxidant effect( $\Delta A$ ) <sup>b</sup>	
	Water extract	Ethanol extract
<i>Laminaria sinclairii</i>	0.189	0.200
<i>Undaria pinnatifida</i>	0.026	0.133
<i>Porphyra yezoensis</i>	0.092	0.328
<i>Codium fragile</i>	-0.109	0.224
<i>Enteromorpha linza</i>	0.429	0.351
<i>Hizikia fuziformis</i>	0.326	0.493
<i>Monostroma nitidum</i>	0.766	0.472
<i>Sargassum fulvescens</i>	-0.044	0.455

<sup>a</sup> The concentration of a sample in a cuvette was 1mg/ml.

<sup>b</sup> The antioxidant effect is expressed in the absorbance change.

났다. 모자반의 경우 에탄올로 추출한 것은 상당한 항산화 효과를 보이는데 비해 물로 추출한 것은 거의 활성을 보이지 않는 것을 알 수 있었다. 이는 모자반의 항산화 물질이 유기용매에 더 잘 녹는 것을 의미하는 것이라고 말할 수 있다. 툫의 경우도 에탄올로 추출한 것이 더 높은 항산화 활성을 보이는 등 전반적으로 에탄올 추출물이 더 좋은 결과를 보여주었다. 홉파래는 물로 추출한 것이 아주 높은 항산화 활성을 보였으며 에탄올로 추출한 것도 다른 해조류에 비해 상당히 높은 항산화 활성을 보이고 있다.

최근 박 등은[18] 우리나라 근해의 12가지 식용 해조류에서 메탄올을 사용하여 항산화제를 추출하였는데 이들은 김 > 미역 > 다시마 > BHA > 파래 > tocopherol > 넓미역 등의 순으로 활성이 강하다고 보고하였는데 이들의 결과는 본 연구의 결과와는 많은 차이를 보이는 것으로 알 수 있다. 박 등의 연구에서 김, 미역 다시마 등이 파래보다 높은 활성을 보이는 이유는 다음과 같다고 여겨진다. 항산화 성분의 추출 시 박 등은 높은 온도에서 끓는 메탄올을 사용하여 추출되는 항산화 성분이 높은 온도에서만 잘 추출되는 성분으로 여겨지며, 본 연구진은 실온에서 물 혹은 에탄올을 사용했기 때문에 고온에서 추출되는 항산화 물질이 추출되지 않았다고 여겨진다. 파래의 경우는 이와 달리 저온에서 비교적 용이하게 항산화 물질들이 추출되고 오히려 높은 온도에서는 열에 불안정하여 쉽게 항산화 효과를 잃는 것이 아닌가 생각된다.

**Table 2.** The Antioxidant Effect of Young and Adult *Hizikia fuziformis*

Age of <i>H. fuziformis</i> <sup>a</sup>	Antioxidant effect( $\Delta A$ )
young	0.067
grown up	0.382

<sup>a</sup> The concentration of the sample in a cuvette was 1mg/ml.

**Table 3.** The Ultrasonic Effect on Antioxidant Effect of *Hizikia fuziformis*

Reaction time (min)	Antioxidant effect( $\Delta A$ ) (no ultrasonic)	Antioxidant effect( $\Delta A$ ) (ultrasonic)
0	0.000	0.000
2	0.172	0.156
4	0.315	0.343
6	0.327	0.387
8	0.388	0.402

### 3.2. 항산화 활성 측정

#### 3.2.1. 해조류의 성장 기간에 따른 활성 변화

해조류의 성장 기간에 따른 추출된 항산화 물질의 활성을 비교하기 위해 어린 툫을 채취한 후 이를 완전히 성장된 툫의 것과 항산화 활성을 비교하여 보았다(Table 2). 이 결과, 툫의 성장 초기에는 항산화 물질이 생산되지 않는 것으로 나타났다. 이는 성장 초기에는 항산화 물질이 필요없고 어느 시기가 지난 후 어떤 필요에 따라 항산화 물질을 생산하는 것으로 볼 수 있다.

#### 3.2.2. 시료 처리 방법에 따른 항산화 활성 변화

툫의 경우 시료를 파쇄한 다음 증류수로 추출시 초음파로 처리하여 추출한 수용액의 항산화 활성을 초음파로 처리하지 않은 수용액과 비교하여 보았다. Table 3에는 초음파로 처리한 것과 처리하지 않은 것을 비교하여 나타내었는데, 표에서 알 수 있는 바와 같이 초음파로 처리하는 경우 항산화 활성의 차이가 없는 것으로 나타나고 있다.

#### 3.2.3. 합성 항산화제인 BHT와 파래 추출물과의 항산화력 비교

Table 4에는 합성 항산화제인 BHT와 홉파래의 증류수 추출물과의 항산화력을 Bios assay를 통하여

**Table 4.** Comparison of Antioxidant Effect of BHT and *Enteromorpha nitidum*

Reaction time (min)	Antioxidant effect of BHT( $\Delta A$ )	Antioxidant effect of <i>M. nitidum</i> ( $\Delta A$ )
0	0.000	0.000
2	0.430	0.411
4	0.615	0.685
6	0.614	0.738
8	0.614	0.749

**Table 5.** The Antioxidant Effect of *Monostroma nitidum* Extract

Concentration of sample (mg/mL)	Antioxidant effect( $\Delta A$ )
0.14	0.185
0.28	0.352
0.56	0.437
0.82	0.858
1.02	0.875

비교하여 나타내었다. 이때 시료관 안의 시료의 농도는 0.65mg/ml였다.

Table 4에서 알 수 있는 바와 같이 해조류, 특히 홑파래에서 추출한 수용성 항산화제는 기존의 합성 항산화제인 BHT나 tocopherol에 필적할만한 항산화 능력을 보여 주었다. 특히 정제하지 않은 상태에서도 이와 같이 높은 항산화력을 보이고 있으며 수용성이기 때문에 제품 응용면에서 매우 유리할 것으로 보인다.

**3. 2. 4. 홑 파래에서 추출한 항산화제의 농도 변화에 따른 항산화 활성도**

Table 5에는 홑파래 추출물의 첨가량에 따른 항산화 활성 정도를 대조군에 대한 흡광도 변화를 나타내었다. Table 5에서 알 수 있는 바와 같이 농도가 증가함에 따라 항산화 효과가 증가하다가 0.82mg/ml 이상의 물질을 사용하는 경우에는 항산화 효과가 더 이상 크게 증가하지 않는 것을 알 수 있었다.

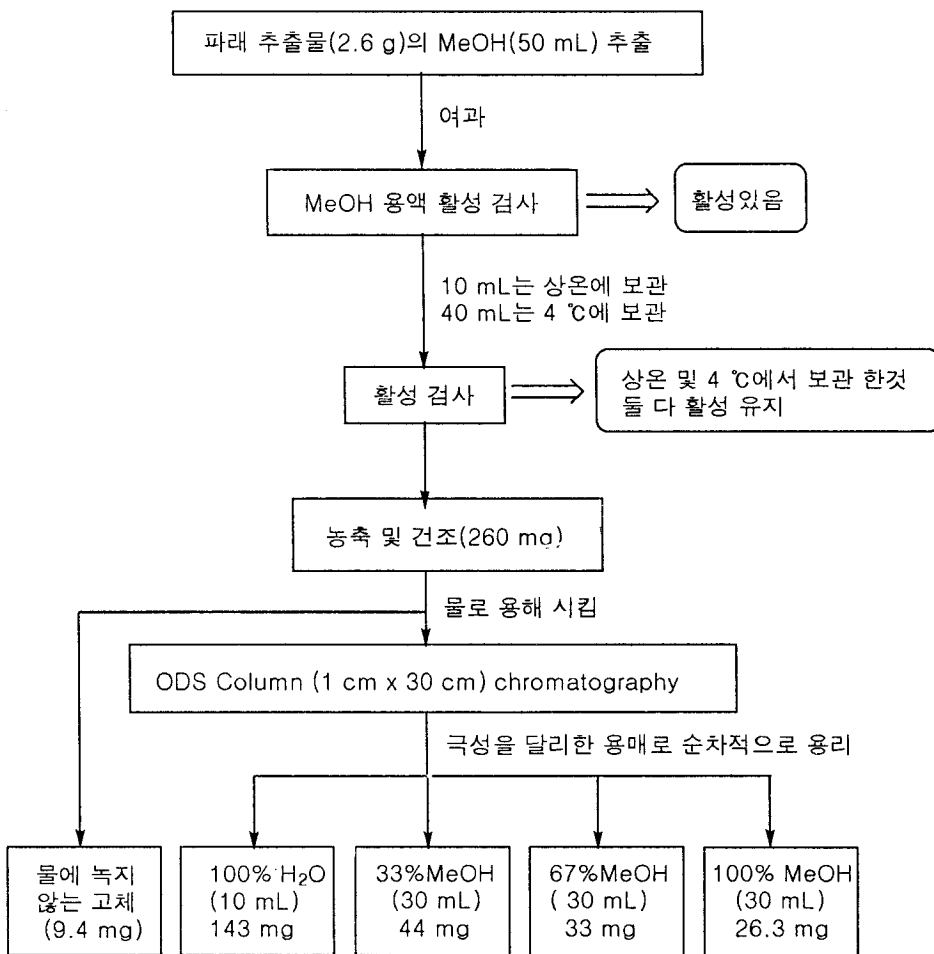
**3. 3. 파래추출물의 정제**

파래로부터 추출된 불순한 추출물은 Scheme 1과 2와 같은 두 가지 방법에 의해 정제를 실시하면서 각 단계 별로 활성을 측정하였다.

**3. 3. 1. 방법 1**

Scheme 1에서와 같이 항산화활성을 가진 물질의 분리 및 정제를 위하여 메탄올 용매를 이용하여 많은 양의 비활성 물질을 제거하여 약 10배의 정제 효과를 보였다. 이는 해조류로부터 추출시 물에 의해 함께 추출된 단백질들이 methanol 용매에서 굳어져 용해되지 않아 쉽게 제거됨을 알 수 있었다. 이 과정에서 항산화물질은 메탄올에 비교적 잘 녹아 나오는 것을 알 수 있었으며 methanol 추출물질은 상온에서도 장시간(약 1개월) 보관시에도 그 항산화 효과를 그대로 유지하는 것을 알 수 있었다. 보다 더 순수한 물질로 정제하기 위하여 역상 크로마토그래피법으로 ODS(octadecylsilane) resins를 이용하였고 100% 증류수로부터 100% 메탄올로 순차적으로 용리하였으며, 역상크로마토그래피를 위하여 메탄올 추출물질을 증류수에 녹일 때 녹지 않는 물질을 포함하여 5가지의 분획을 얻었다. 각각의 분획은 TLC를 이용하여 검사한 결과 예상대로 극성이 다른 물질들로 각각 구성되어 있는 것을 알 수 있었다. 그러나 어느 한 분획도 단일 화합물을 가지고 있지 않고 복잡하게 여러 화합물이 섞인 형태로 나타났다. 이들 분획들의 항산화 활성을 살펴본 결과 5개 분획 모두 처음의 methanol 추출물 보다 낮은 활성을 보여주었다. 그러나 이들 5개의 분획을 합하여 다시 항산화 활성을 검색하여 보니 활성이 정제하지 않은 불순한 상태의 활성과 같이 높은 값을 보이는 것을 알 수 있었다. 즉 각 분획들이 혼합되어 있는 상태에서는 분리된 각각의 분획에 대한 활성보다 항산화 활성이 증가 하였다. 이러한 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 항산화 활성을 나타내는 성분은 어떠한 단일 성분으로 나타내는 것이 아니라, 여러성분이 복합적으로 존재함으로써 상승효과(synergic effect) 또는 보호효과가 나타나는 것이라로 볼 수 있다. 이러한 결과는 일본에서 발표한 연구결과[16]와 불가사리[21]의 항산화 물질 추출 결과와도 일치하고 있다. 즉 일본 연구진의 결과와 불가사리에서 항산화 성분을 분리하였더니 40여 가지 화합물이 항산화 효과를 나타내게 되는 결과[21]와 비슷한 결과를 보여주었다. 만약 어떤 한 성분이 항산화 효과를 나타낸다면 분획시켰을 때 어떠한 특정 분획에서 더 높은 항산화 효과를 보여주어야 하는데 본 연구결과에서는 모든 각각의 분획이 세 분획을 합한 경우 보다 더 낮은 활성을 나타내었다.

그리고 각 분획들은 TLC상에서 역시 서로 다른



Scheme 1. Schematic diagram of purification of *Monostroma nitidum* water extract using methanol and ODS column.

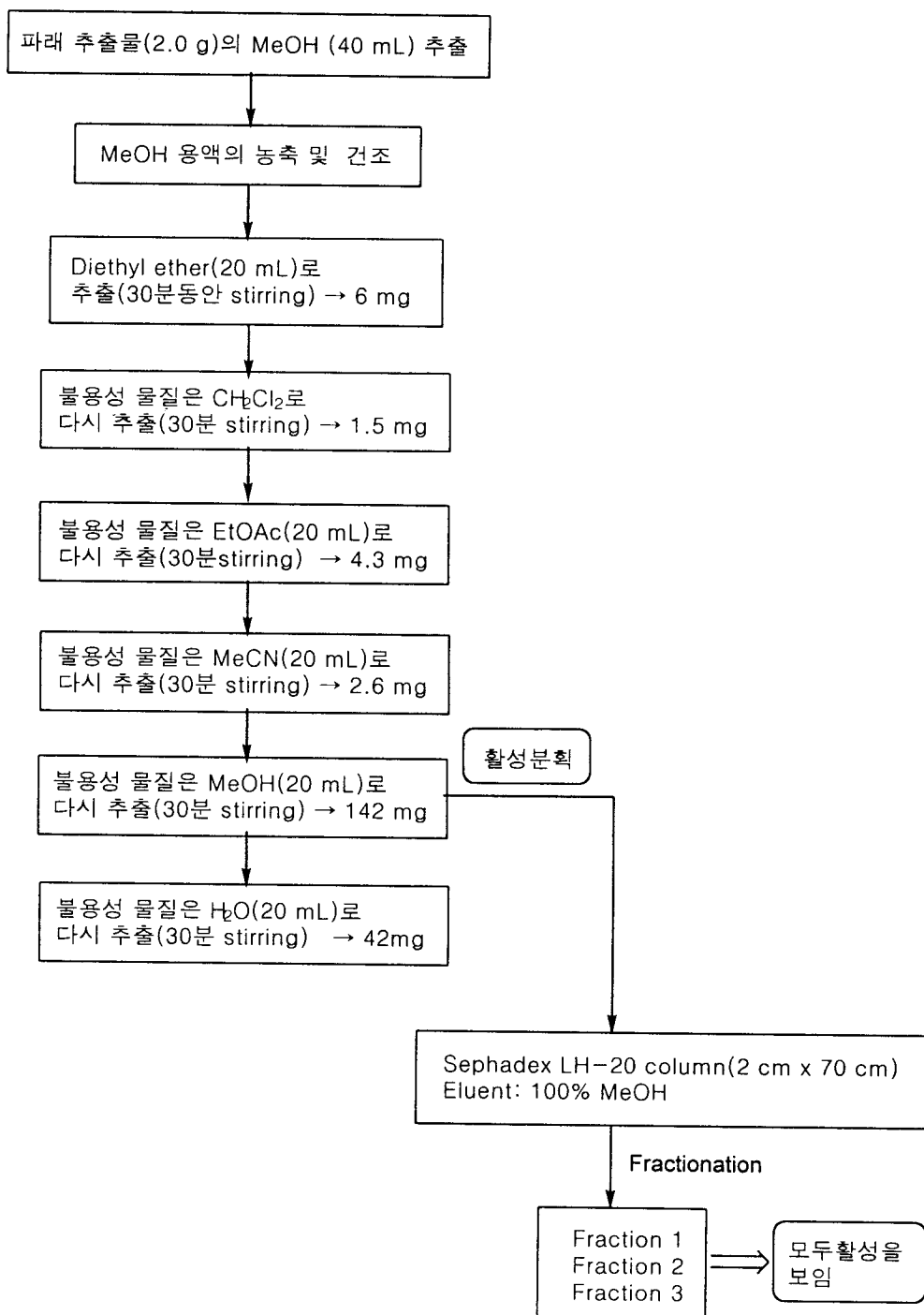
많은 수의 화합물을 함유하는 것을 보여주었다. 또한 대부분의 이들 화합물들은 TLC 상에서 UV 빛을 흡광하는 것으로 보아, 항산화 물질의 성분이 방향족 화합물일 것으로 예측하였던 UV 스펙트럼 결과를 다시 한번 확인하여 주었다. 그러나 순수한 한 가지의 화합물이 항산화 효과를 나타내는 것이 아닌 이 경우에 이들 화합물들의 구조를 정확하게 예측하기는 어려운 것으로 여겨진다.

### 3.3.2. 방법 2

본 방법에서는 Scheme 1에서와 같이 얻은 메탄올 추출물을 극성이 비교적 적은 diethyl ether로부터 다시 추출하고 녹지 않는 물질은 좀더 극성이 강한 용

매를 이용하여 극성에 따른 물질의 분리를 시도하였다. 그러나 Scheme 2에서 보듯이 대부분의 물질들은 메탄올에 녹았으며 항산화 효과 또한 methanol 용매를 이용한 추출물만이 현저한 항산화 효과를 보여주었다. 그러나 methanol에는 녹지 않고 증류수에만 녹는 수용성 물질은 전혀 항산화 효과를 가지지 않는 것을 알 수 있었다. 따라서 항산화 물질은 비교적 극성이 강한 methanol에 가장 잘 녹는 물질들인 것으로 예측할 수 있었다.

보다 순수한 항산화 물질로 정제를 위하여 methanol 추출분획은 Sephadex LH-20 resins를 이용하여 크기 배제 크로마토그래피를 시도하여 쉽게 크게 3가지의 분획으로 나눌 수 있었다. 그러나, 이들 세 가



Scheme 2. Schematic diagram of purification of *Monostroma nitidum* water extract using various solvents.

지 분획들도 여러성분들이 함께 존재하고 있는 것을 TLC상에서 알 수 있었으며, 이들 모두 유사한 항산

화효과를 가지고 있었으나 이들 각각의 분획에 대한 항산화 활성은 세 분획을 합친 경우 보다 오히려 저하되었다. 이러한 결과는 방법 1에 의한 분리 및 정제의 경우와 동일한 결과를 보여주는 것이다. 따라서 항산화 효과를 가진 물질들을 각 성분으로 분리 시키는 것은 큰 의미가 없고 순수한 물질이 아닌 상태에서 각종 분광기 스펙트럼을 얻는 것은 항산화 물질의 구조해석에 큰 도움을 주지 못하기 때문에 더 이상의 분리 정제 실험은 실시 하지 않았다.

#### 4. 결 론

이상에서 본 바와 같이 우리나라 근해의 여러 가지 해조류가 항산화 성분을 함유하고 있는 것으로 밝혀졌으며, 여기에는 수용성 성분과 다른 여러 가지 용매에 의해 추출되는 성분들도 많은 것으로 밝혀지고 있다.

본 실험은 우리나라 근해에서 생육하는 여러 가지 해조류에서 새로운 항산화제를 찾고자 여러 가지 용매를 사용하여 항산화 성분을 추출해서 활성을 검사하였다. 결과에 의하면 톳과 홉과래에서 많은 양의 수용성 항산화제가 추출되었으며, 합성 항산화제인 BHT나 BHA에 필적할만한 활성을 갖는 것으로 나타났다. 지금까지의 연구결과에 의하면 이들은 여러 가지 성분이 모여 항산화 활성을 나타내는 것으로 보인다. 앞으로 각 성분들을 분리해 구조를 밝혀야 할 것이며, 이 물질의 상업화를 위해서는 열 안정성, 그리고 독성연구 등을 실시하여야 할 것이다.

본 연구진의 연구 결과에 의하면 김, 미역, 다시마, 그리고 청각 등은 항산화 효과가 아주 미미하거나 없고 모자반에서만 에탄올 추출물에서 항산화 성분이 검출되는 것으로 밝혀졌다. 또 한 가지 주목할 점은 물로 추출할 때 홉과래를 제외한 다른 해조류는 큰 활성을 보이지 않는데 이는 추출되는 성분이 유기용매를 사용할 때와 다르거나 산지나 처리 및 보관법에 따라 시료가 달라서 그럴수도 있을 것이다.

항산화 성분은 해조류의 지리적 위치, 계절과 생장 조건 등에 따라 변화할 수 있는 것으로 알려지고 있다. 톳의 경우 생장 초기의 어린 톳에서는 항산화 효과가 거의 없는 것으로 나타나며 어떤 해조류는 다 성장한 다음에도 항산화 효과가 없는 것으로 보아 모든 해조류가 다 같은 항산화성분을 포함하지는 않으며 같은 파래에서도 종류에 따라 항산화성분의 함유

비율이 다른 것으로 볼 수 있다.

이 수용성 항산화제들이 몇 가지 점만 갖추면 합성 항산화제를 대체할 수도 있을 것이다. 우선은 경제성이 있어야 하고(항산화 성분의 추출량과 추출비용), 항산화 효과, 열 안정성, 그리고 지용성(lipophilicity)이 있어 유지 성분과 섞일 수 있어야 한다. 앞에서 언급한대로 BHT와 BHA 등은 많은 양을 지속적으로 섭취하면 발암 등 신체에 유해한 여러 가지 부작용을 나타내게 되는바 속히 이들을 대체할 천연 항산화제가 필요한 실정이지만 아직까지 천연 항산화제는 경제성과 안정성 등의 문제로 상업화가 되지 못하고 있다. 본 연구에서 보고한 홉과래의 경우 추출량이나 항산화 효과 등은 문제가 되지 않고 지금 여러 가지 안정성 검사를 하고 있어 상업화에 밝은 전망을 보이고 있다.

정제 부분에서 언급한 대로 성분들을 분리하게 되면 오히려 항산화 능력이 감소하게 되고 정제하는 비용 또한 상당히 들 것이기 때문에 정제하지 않은 상태에서 생체에 독성만 없다면 그대로 사용하는 것이 훨씬 경제적이다. 홉과래는 식용으로 사용되고 있고 아주 소량만 사용해도 항산화 효과가 좋기 때문에 일단 독성문제는 없을 것으로 판단되지만 장기적이고 체계적인 독성 연구가 필요할 것이다.

수용성 항산화 물질을 여러 가지 그람 음성균 및 그람 양성균에 대해 항균력 시험을 해 보았는데 항균력이 없는 것으로 나타났으며 항암 세포의 증식에 대한 영향을 조사하였으나 아무런 영향도 미치지 않는 것으로 나타나 아직 여러 가지 실험을 계속 할 예정이다.

#### 감 사

본 연구는 한국과학재단의 국산기기 연구지원사업에 의하여 수행된 것임을 밝혀 둡니다.

#### 참 고 문 헌

1. A. L. Brannen, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 59 (1975).
2. K. Fujimoto and T. Kaneda, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1125(1980).
3. G. W. Burton, *J. Nutrition*, **119**, 109(1989).
4. K. Igarashi, K. K. Takanashi, M. Makino, and



- T. Yasui, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **36**, 852(1989).
5. N. Ramarathnam, T. Osawa, M. Namiki, and S. Kawasaki, *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 316(1988).
6. M. A. Soliman, A. A. El-Sawy, H. M. Fadel, and F. Osman, *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 523(1985).
7. K. Shin-Ya, S. Imai, K. Furihata, Y. Hayakawa, Y. Kato, G. D. Vanduyne, J. Clardy, and H. Seto, *J. Antibiotics*, **43**, 444(1990).
8. Y. Teshima and K. Shin-Ya, *J. Antibiotics*, **44**, 685(1991).
9. C. J. Mo, K. Shin-Ya, K. Furihata, K. Furihata, A. Shimazu, Y. Hayakawa, and H. Seto, *J. Antibiotics*, **43**, 1337(1990).
10. *Japan Patent*, 2291218(A)(1990).
11. *World Patent*, 9107946(A)(1991).
12. *France Patent*, 2655268(A)(1991).
13. *European Patent*, 504236(A1)(1992).
14. *Japan Patent*, 329438(A)(1991).
15. K. Miyashita and T. Takagi, *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 315(1987).
16. M. Kaneniwa, Y. Itabashi, and T. Tagagi, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 861(1987).
17. S. Nishibori and K. Namiki, *家政學雜誌*, **36**, 17(1985).
18. 박재환, 강규찬, 백상봉, 이윤형, 이규순, *한국식품과학회지*, **23**, 256(1991).
19. 조순영, 유명진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이용호, *한국식품과학회지*, **26**, 417(1994).
20. M. S. Bios, *Nature*, **181**, 1199(1958).
21. M. Iorizzi, P. Bryan, J. McClintock, L. Minale, E. Palagiano, S. Maurelli, R. Riccio, and F. Zollo, *J. Nat. Prod.*, **58**, 653(1995).