

## *Phaeodactylum tricornutum*으로부터 항산화성 물질의 분리 및 구조

김세권<sup>+</sup> · 변희국 · 백호철 · 박표잠 · 강옥주\* · 김종배\*\*  
 부경대학교 화학과, \*동주대학 식품과학계열, \*\*군산대학교 식품공학과

### Structure and Isolation of Antioxidative Substance Derived from *Phaeodactylum tricornutum*

Se-Kwon KIM<sup>+</sup>, Hee-Guk BYUN, Ho-Chul BAEK, Pyo-Jam PARK  
 Ok-Ju KANG\* and Jong-Bae KIM\*\*

Department of Chemistry, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea  
 \*School of Food Science, Dong-Ju College, Pusan 604-080, Korea  
 \*\*Department of Food Science and Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-702, Korea

The antioxidative activity of marine microalgae, *Phaeodactylum tricornutum* (*P. tricornutum*) of Bacillariophyceae, was determined by measuring radical scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. The chloroform fraction of *P. tricornutum* showed strong antioxidative activity. The potential antioxidative activity of factions extracted with mixture solution of organic solvents was detected in dichloromethane: methanol (2:1) fraction. This fraction was further purified by preparative thin layer chromatography (PTLC) and repeated reverse-phase HPLC. On the basis of chemical and spectroscopic evidence from results obtained by UV, FT-IR, EIMS and NMR, the compound purified from *P. tricornutum* was identified as zeaxanthin.

**Key words:** Marine microalgae, *Phaeodactylum tricornutum*, Antioxidative activity, Zeaxanthin

#### 서 론

해양생물 자원은 매우 다양하고 양적으로 풍부하여 육상 생물 자원의 부족량을 보완할 수 있는 생물자원으로서 그 중요성은 점점 높아지고 있으며, 특히 해양 미세조류는 1차 생산자인 미이용 해양생물자원으로 최근 연구 대상으로 주목받고 있다.

해양 미세조류는 주로 수산양식용 사료원, 식품 및 식품첨가물로서 사용하기 위한 연구가 수행되어 왔으며, 최근에는 고부가가치의 건강보조식품 및 의약품으로 활용하기 위하여 항암성, 항공황이성, 항세균성 및 효소저해능 등과 같은 다양한 생리기능성에 관한 연구가 진행되고 있다 (Cannell et al., 1988; Lincoln et al., 1991; Gustafson et al., 1989; Gerwick et al., 1994; Codd, 1995; Moore, 1996; Sivonen, 1996).

이러한 생리기능성 중에서 항산화성 물질의 탐색에 관한 연구는 해양동물·식물에 대해 전반적으로 수행되고 있는데, 전자는 어류를 중심으로 어육단백질 유래의 천연 항산화성 펩타이드 (Kim et al., 1996; Jeon et al., 1999) 그리고 후자는 해조류를 중심으로 한 천연 항산화성 물질 (Matsukawa et al., 1997; Le Tutour et al., 1998; Yan et al., 1999)에 관한 연구가 이루어지고 있다.

항산화제는 유지나 지방산의 산화를 억제하기 위하여 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate (PC) 및 tert-butyl hydroquinone (TBHQ) 등과 같은 합성 항산화제가 사용되어 왔으며, 이들 항산화제가 인체의 노화와 발암의 원인이 되는 산소라디칼이나 산화물 라디칼의 소거제로서 활용하는 데는 화학적 합성 항산화제로 인한 안전성 문제가 대두

되어 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 현재 천연 항산화제로는  $\alpha$ -tocopherol (Fukuzawa et al., 1985), flavonoids (Cook and Samman, 1996) 및  $\beta$ -carotene (Tsuchihashi et al., 1995) 등이 식품산업에서 사용되고 있다.

미세조류에 대한 항산화성에 관한 연구로 韓 (1989)는 미세조류에 널리 분포하고 있는 carotenoid가 free radical 및 hydroxy radical의 강력한 소거물질이라고 보고한 바 있다. Carotenoid인 fucoxanthin은 식물에서 클로로필이 이용할 수 없는 파장영역의 빛을 이용 가능한 파장으로 변환하며, 광합성의 부산물로 생기는 free radical의 산화방지 작용을 하고 있다 (三室과 加藤, 1993). 또한 carotenoid는 동물의 보호색, 비타민 A 전구물질 및 항산화 작용 (Miki, 1991)뿐만 아니라 면역증강 작용 (Jyonouchi, 1993), 항종양 및 항발암 작용 (Kim et al., 2001)이 있다.

해양성 미세조류는 먹이사슬의 1차 생산자로서 그 생리학적 및 영양학적인 가치는 이미 밝혀져 있으나 (Belarbi et al., 2000; Carvalho and Malcata, 2000) 고부가가치의 천연 항산화제로 이용할 수 있는 항산화성에 관한 연구는 미비한 실정이었다.

따라서 본 연구에서는 대량 생산이 가능한 해양성 미세조류의 이용효율을 높이기 위하여 규조강인 *Phaeodactylum tricornutum* (*P. tricornutum*)의 추출물에 함유되어 있는 항산화성 물질을 분리·정제하여 그 화학적 구조를 결정하였다.

#### 재료 및 방법

##### 1. 재 료

본 연구에서 사용한 미세조류는 해양에서 서식하는 황갈편조식물문 (Chrysophyta) 중 규조강 (Bacillariophyceae)인 *P. tricornutum*을

<sup>+</sup>Corresponding author: sknkim@mail.pknu.ac.kr

부경대학교 수산과학연구소의 한국 해양 미세조류 은행 (한국과학재단 특성화 연구사업)으로부터 분양받아 동결건조하여 사용하였다.

항산화성 물질을 분리 및 정제하기 위한 분석용 thin layer chromatography (TLC) plate와 분취용 Preparative TLC (PTLC) plate는 Merck사의 precoated Kieselgel 60 F<sub>254</sub>를 사용하였으며, silica gel은 Merck사의 Kieselgel 60을 사용하였다. High performance liquid chromatography (HPLC)용 column은 Shiseido사의 Capcell Pak C<sub>18</sub> (φ4.6×250 mm)을 사용하였으며, 용매는 특급용 시약을 사용하였다.

2. Methanol 획분의 추출 및 분획

동결건조한 *P. tricornutum* 50g에 3배 가량의 methanol을 가하여 80°C에서 2시간 동안 환류 냉각하면서 2회 추출 여과한 후, 감압 건조하여 methanol 추출물로 하였다. Methanol 추출물은 10% methanol 용액에 부유시킨 후, Fig. 1과 같이 hexane, chloroform, ethylacetate 그리고 butanol로 계통 분획하여 얻은 지용성 획분을 감압 건조하였으며, 물층인 수용성 획분은 동결건조하여 분리·정제에 사용하였다.

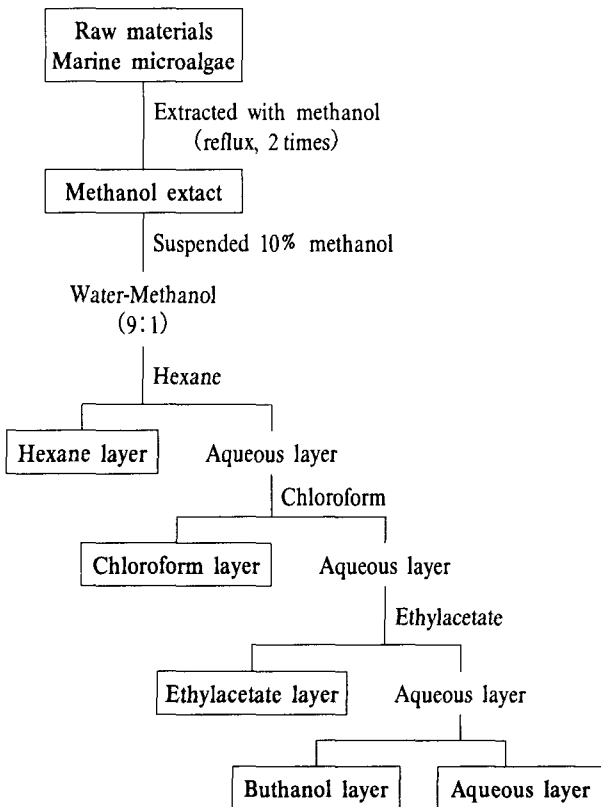


Fig. 1. Flow diagram for extraction of antioxidative fraction from the marine microalgae.

3. 항산화성 측정

3.1. Radical scavenging activity (RSA) 측정

RSA는 Hatano et al. (1988)의 방법을 약간 변경하여 측정하였다.

각 획분별로 일정한 농도가 되도록 methanol 2 mL에 녹이고 이를 1.5×10<sup>-4</sup> M 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)/methanol 용액 0.5 mL와 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식으로 RSA 값을 계산하였다. 대조구는 시료용액 대신에 2 mL의 methanol을 넣어 시료용액과 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다. RSA 값은 실험한 값의 평균값으로 나타내었다.

$$RSA (\%) = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

3.2. IC<sub>50</sub>값의 측정

최종 활성물질을 1~20 µg/mL 농도가 되게 methanol 2 mL에 녹여 1.5×10<sup>-4</sup> M DPPH/methanol 용액 0.5 mL와 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후, 517 nm에서 흡광도로 RSA 값을 구하여 대조구의 흡광도에 대해 50% 흡광도 감소를 나타내는 시료의 농도를 IC<sub>50</sub>으로 표시하였다. IC<sub>50</sub>값은 실험한 값의 평균값으로 나타내었다.

4. 항산화성 물질의 분리·정제

지용성 획분과 수용성 획분 중 DPPH radical 소거능이 가장 좋은 획분을 시료로 사용하였다. 시료량의 약 50배 정도의 silica gel을 충전시킨 open column (φ35×300 mm)에 시료를 주입한 후, hexane, hexane:ethylacetate (5:1), hexane:ethylacetate (1:1), hexane:ethylacetate (1:5), ethylacetate, dichloromethane:methanol (10:1), dichloromethane:methanol (5:1), methanol 순으로 용리시켜 8가지의 조추출물을 얻었다.

상기에서 추출된 8가지의 조추출물 중에서 DPPH radical 소거능이 가장 좋은 획분을 분리정제용 시료로 사용하였다. 활성이 가장 좋은 시료를 약 5~10% 용액으로 조제하여 PTLC plate (10×20 cm)에 capillary syringe를 사용하여 시료를 band 형태로 주입시킨 후 전개용매로 hexane:acetone (7:3)을 사용하여 전개한 다음, 용매를 완전히 건조시키고 UV lamp (254 nm)로 흡수대를 확인하였다. 분리된 각 band들을 끊어모아 chloroform:methanol (1:1) 용매를 사용하여 흡착되어 있는 시료를 완전히 용출시킨 다음 여과한 후 감압 건조하여 4개의 획분을 얻었다.

PTLC 획분중 가장 좋은 활성을 가진 획분을 감압 건조하여 chloroform:methanol (1:1) 용매에 녹여 HPLC에서의 시료용액으로 사용하였다. HPLC에서 C<sub>18</sub> column을 사용하였으며, 이동상은 H<sub>2</sub>O와 acetonitrile로 하여 단계별 농도구배법 (80~100% acetonitrile, 60 min)으로 용출된 획분 중에서 DPPH radical 소거능이 가장 높은 획분을 HPLC로 다시 정제하였다.

5. 구조분석

*P. tricornutum*에서 분리·정제된 항산화활성 물질의 구조는 NMR (Varian Unity Inova 750, USA), EIMS (JEOL JMS-SX 102, USA), FT-IR (Perkin Elmer Spectrum 2000, USA) 및 UV (Varian Cary 1C, USA) 기기를 사용하여 확인하였다.

결과 및 고찰

1. 항산화성 물질의 분리·정제

*P. tricornutum*의 methanol 획분과 계통분획에 의한 획분들의 항산화성은 DPPH radical 소거능 방법으로 측정하여 DPPH radical을 50% 소거시키는 시료농도인 IC<sub>50</sub>값으로 나타내었다. *P. tricornutum*에 대한 이전의 보고 (Kim et al., 2001)에서 수용성 획분에서는 DPPH radical 소거능이 400 µg/mL 이상이었으며, 지용성 획분의 경우는 chloroform, ethylacetate 및 hexane 획분에서 각각 50 µg/mL, 104 µg/mL 및 148 µg/mL로 chloroform 획분의 DPPH radical 소거능이 가장 높았다.

Choi et al. (1993)은 해조류 18종의 methanol 추출물이 갖는 DPPH radical 소거능을 측정한 결과, 대부분 480 µg/mL 이상이었으나 *Ecklonia stolonifera*와 *Symphycoladia latiuscula*는 각각 68.8 µg/mL 및 54.2 µg/mL이었다고 보고하였다. 또한 Le Tutour et al. (1998)은 vitamine E와 5종의 갈조류 추출물에 대한 항산화성의 상승효과를 측정한 결과, 5종 모두 13~45% 범위 내에서 상승작용이 있어 해양성 조류에 항산화성이 있음을 확인하였다.

본 연구에서의 DPPH radical 소거능이 가장 높은 물질은 *P. tricornutum*의 chloroform 획분으로 Choi et al. (1993)이 보고한 값과 거의 유사하였으며, *P. tricornutum*의 chloroform 획분을 분리·정제용 시료로 선정하였다.

미세조류 *P. tricornutum*의 chloroform 획분은 silica gel column chromatography에서 8개의 획분으로 분리하여 감압 건조하였으며, 각 획분의 농도 40 µg/mL로 측정된 RSA 값은 Fig. 2에 나타내었다. 소수성이 강한 hexane과 그 혼합용매로 용출된 C1~C3의 RSA 값은 모두 10% 이하로 낮게 나타났으며, 혼합용매의 친수성을 높여 용출시켜 얻은 획분 C7 및 C8은 각각 58% 및 35%로 소수성 혼합용매로 용출된 획분에 비해 높게 나타났다. 이들 8개의 획분 중에서 dichloromethane:methanol (5:1)로 용출시킨 획분 C7이 DPPH radical 소거능이 가장 높아 다음 정제과정으로 PTLC를 행하였다.

Dichloromethane:methanol (5:1) 획분은 PTLC에서 4개의 획분으로 나누어 chloroform:methanol (1:1) 용매로 용출한 후 감압 건조하여 시료의 농도를 40 µg/mL되게 조제하여 RSA 값을 측정하였다 (Fig. 3). Silica gel column chromatography로 정제한 것과 비교하면 같은 농도에서 약 20% 정도 활성이 증가되었다.

PTLC에서 분리한 획분 중 가장 활성이 좋은 T3 획분을 C<sub>18</sub> column이 장치된 HPLC를 이용하여 H<sub>2</sub>O와 acetonitrile을 이용하여 단계별 농도구배법 (80~100% acetonitrile)에 의해 유속 1.0 mL/min로 용리시켜 정제한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. HPLC에서 T3 획분은 4개의 획분 (H1~H4)으로 분리되었으며, 각 획분을 감압건조하여 20 µg/mL 농도에서의 RSA 값을 측정하였다. 각 획분중에서 RSA 값은 retention time이 18.40 min인 획분 H2가 가장 우수하였다. 이 획분을 다시 HPLC로 정제하여 단일 획분을 얻었으며 (Fig. 5), 정제된 물질과 항산화제인 α-tocopherol, BHT 및 BHA의 IC<sub>50</sub>값은 Table 1에 비교하여 나타내었다. 정제된 물질의 IC<sub>50</sub>값은 8.3 µg/mL로 합성 항산화제인 BHT 및 BHA보다는 활성

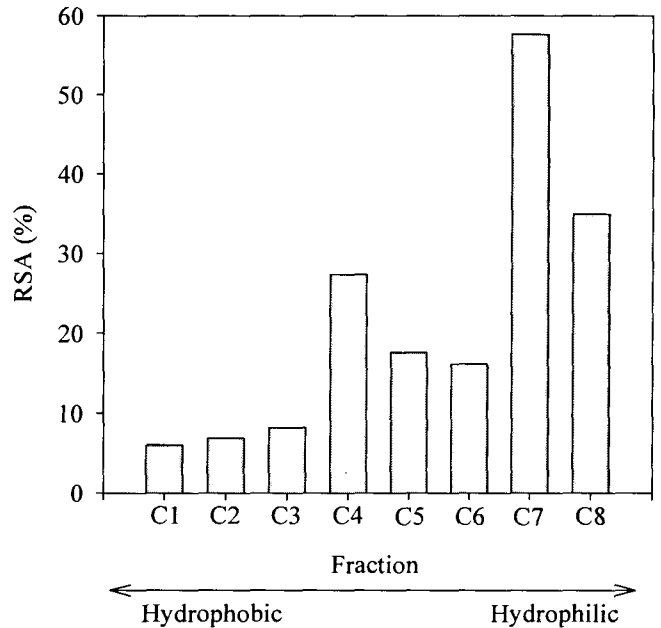


Fig. 2. Radical scavenging activity (RSA) of fractions further isolated from chloroform fraction of *P. tricornutum* with various mixed solvent system. The sample concentration was 40 µg/mL. The organic solvents used are as follows: C1, hexane; C2, hexane:ethylacetate (5:1); C3, hexane:ethylacetate (1:1); C4, hexane:ethylacetate (1:5); C5, ethylacetate; C6, dichloromethane:methanol (10:1); C7, dichloromethane:methanol (5:1); C8, methanol.

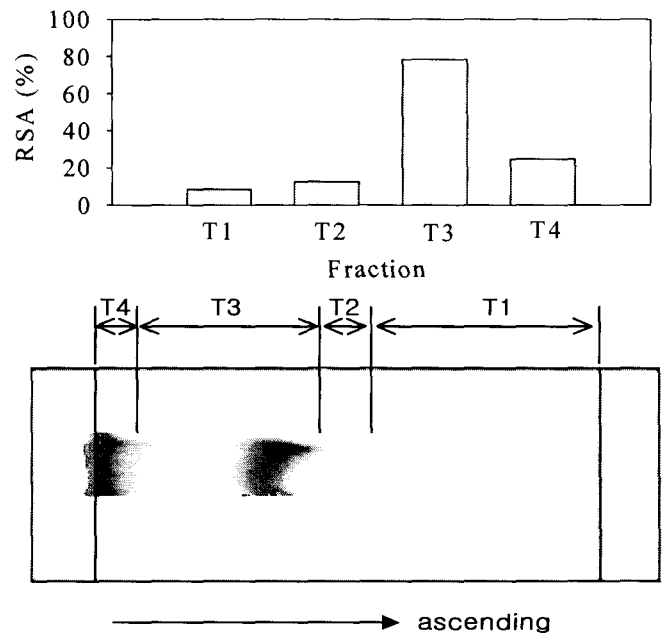


Fig. 3. RSA and preparative thin layer chromatography (PTLC) chart of fraction C7 extracted by dichloromethane:methanol (5:1). Developing solvent used hexane:acetone (7:3), and bands were identified by the UV-lamp of 254 nm.

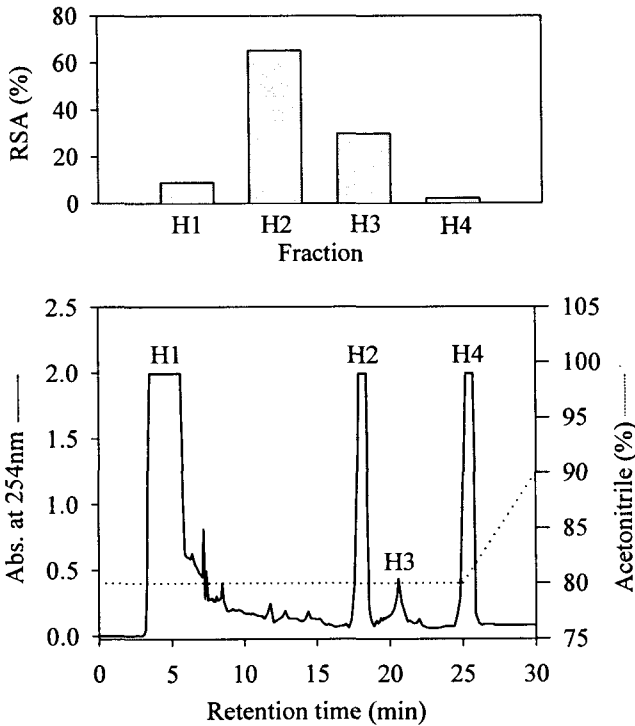


Fig. 4. RSA and reverse-phase HPLC chromatogram of active fraction T3 of PTLC. The operation conditions of HPLC were carried out with step-wise 80~100% acetonitrile as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min, and absorbances were measured using UV detector at 254 nm.

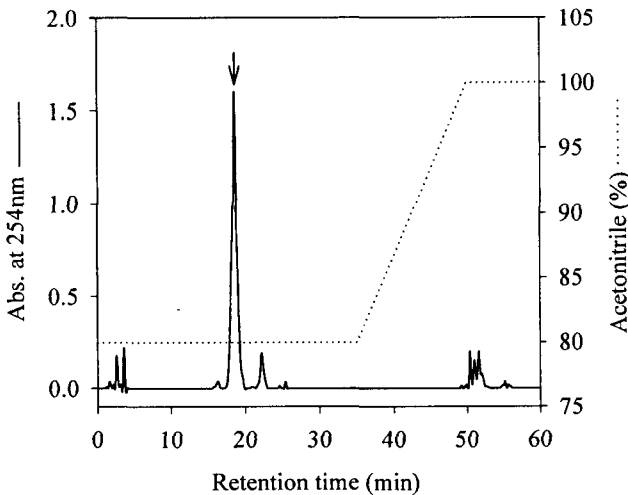


Fig. 5. Reverse-phase HPLC rechromatogram of active fraction H2. The operation conditions of HPLC were carried out with step-wise 80~100% acetonitrile as mobile phase at 1.0 mL/min of a flow rate using UV detector at 254 nm.

이 낮았지만 천연 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol보다는 다소 높게 나타났다.

Table 1. The radical scavenging effect of the purified compound on DPPH radical

Samples	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> ( $\mu$ g/mL)
$\alpha$ -Tocopherol	9.8
BHT <sup>b</sup>	3.4
BHA <sup>c</sup>	1.8
Compound	8.3

<sup>a</sup> Amount required for 50% reduction of DPPH radical after 30 min.

<sup>b</sup> Butylated hydroxytoluene

<sup>c</sup> Butylated hydroxyanisole

Values are means of three experiments.

2. 구조분석

미세조류 *P. tricornutum*의 chloroform 추출물로부터 분리정제된 항산화성 물질의 성상은 적색의 무결정 분말로써 전계용매 hexane: acetone (7:3)으로 TLC에서 전개한 결과, R<sub>f</sub>값이 0.25로 나타났다. 이 물질의 구조를 분석하기 위하여 FT-IR, UV, EIMS 및 NMR를 측정하였으며, 이들 결과를 종합적으로 검토하여 구조를 결정하였다. 이 화합물의 FT-IR spectrum은 Fig. 6에서와 같이 3,363 cm<sup>-1</sup>에서 hydroxyl기, 2,956 cm<sup>-1</sup>와 2,917 cm<sup>-1</sup>에서 지방족 CH의 특징적인 흡수대가 보였으며, 1,442 cm<sup>-1</sup>와 964 cm<sup>-1</sup>에서의 흡수대로 보아 trans-alkene 구조가 있음을 추정할 수 있었다. UV spectrum (Fig. 7)을 보면 chloroform 용매에서  $\lambda_{max}$ 값이 430, 454 및 483 nm인 것으로 보아 conjugation이 많이 되어 있는 물질임을 추정할 수 있었으며, EIMS를 측정한 결과 (Fig. 8), m/z 569에서의 molecular peak를 확인할 수 있었다. 이상의 spectra data와 <sup>1</sup>H-NMR (750 Hz, CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) spectrum을 Britton et al. (1995)이 보고한 carotenoid의 spectroscopy와 비교·종합한 결과, zeaxanthin으로 동정되었다 (Fig. 9).

이미 carotenoid는 항산화제로써 많이 알려져 있으며, zeaxanthin,  $\beta$ -carotene, lutein, fucoxanthin 등 미세조류에 널리 분포하고 있는 carotenoid가 일중항산소 소거활성을 가지고 있다는 것을 알

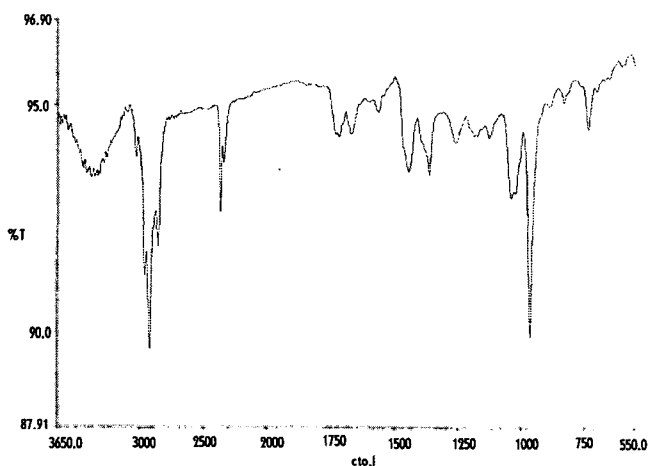


Fig. 6. FT-IR spectrum of compound purified from chloroform fraction of *P. tricornutum*.

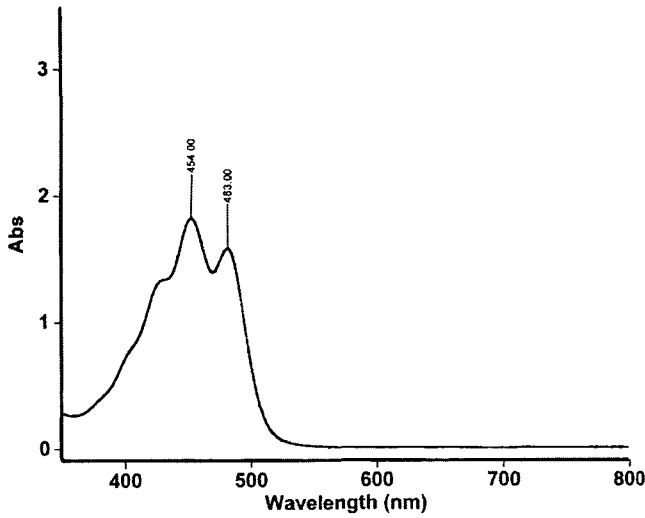


Fig. 7. UV spectrum of compound purified from chloroform extract of *P. tricornutum*.

수 있었다. 또한 carotenoid가 일중항산소, free radical 및 hydroxy radical의 강력한 소거물질이라는 것도 보고되어 있다 (松野와 幹,

1990; Miki, 1991). 그리고 Mortensen et al. (1997)은 carotenoid가 HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>S, RSO<sub>2</sub>, GS 및 NO<sub>2</sub> radical 순으로 저해속도가 빠르다고 보고하였다.

해양생물에 존재하는 carotenoid는 β-carotene, astaxanthin, zeaxanthin, tunaxanthin 및 fucoxanthin 등의 다양한 carotenoid가 분포되어 있다 (片山, 1979). 이외에도 해면 *Ianthella basta* 유래의 bastaxanthin류, 불가사리 *Ophiocoma nigra* 유래의 ophiioxanthin류의 carotenoid의 구조가 결정되었다 (Liaaen-Jensen and Hertzberg, 1995). 또한 어류 유래의 salmoxanthin과 parasiloxanthin, 이매패 유래의 mactraxanthin, 멧게 유래의 halocynthiaxanthin과 mytiloxanthin 등의 carotenoid가 보고되어 있다 (片山, 1979). 이들 carotenoid 중에서 특히 astaxanthin은 새우, 게, 참돔의 체표와 연어의 근육에 존재하는 적색 carotenoid로 어류의 양식에 사용되고 있으며, 이들의 생산은 미생물 유래, 녹조 *Haematococcus pluvialis*와 효모 *Phaffia rhodzyma*의 배양액으로부터 추출되고 있다 (Bernhard, 1989).

Mortensen et al. (1997)은 linoleic acid에 대한 carotenoid류의 항산화성 연구에서 astaxanthin, canthaxanthin, β-carotene 및 zeaxanthin 순으로 활성이 높았다고 보고하였다. 또한 Lim et al. (1992)은 egg yolk에서 astaxanthin의 항산화성이 가장 높았으며,

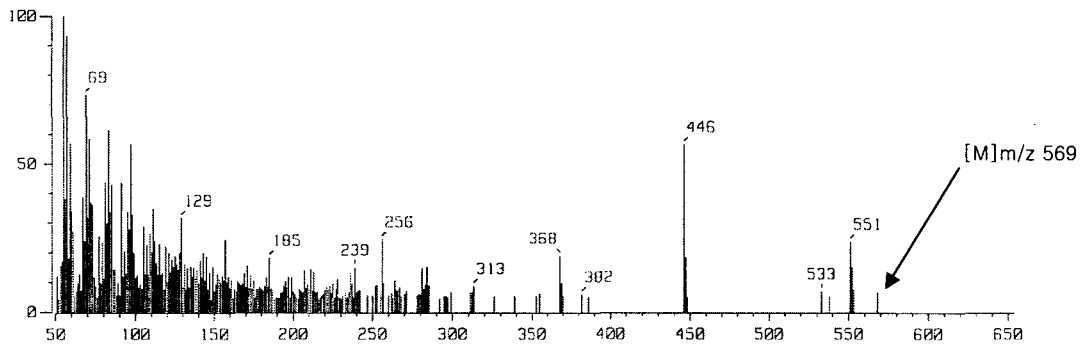


Fig. 8. EIMS spectrum of compound purified from chloroform extract of *P. tricornutum*.

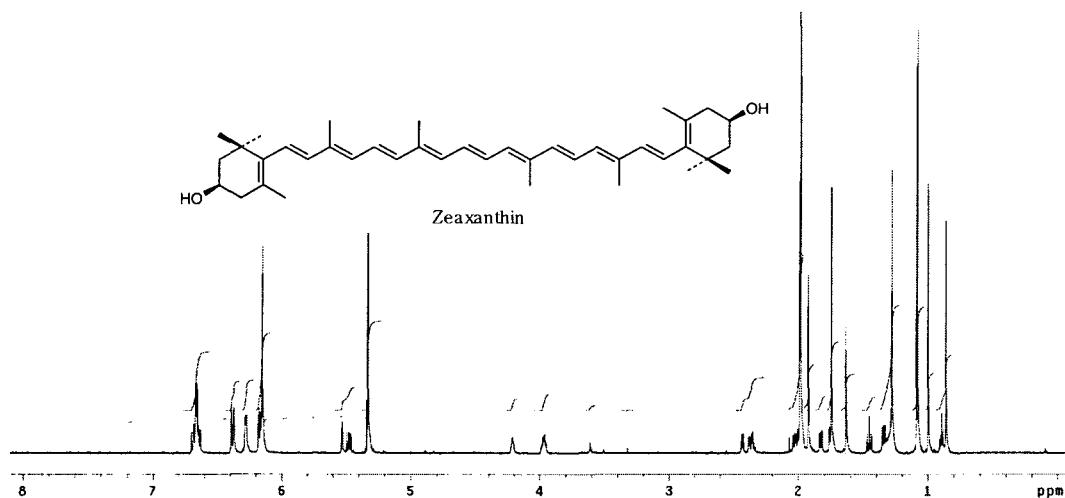


Fig. 9. <sup>1</sup>H-NMR spectrum and the chemical structure of compound purified from chloroform extract of *P. tricornutum*.

다음으로 zeaxanthin, canthaxanthin 그리고  $\beta$ -carotene이었다고 보고한 바 있다. 이들의 결과에서 carotenoid류의 항산화성은 astaxanthin이 높았으며,  $\beta$ -carotene이 낮았는데 이러한 결과는 최근 Matsushita et al. (2000)에 의해서도 astaxanthin- $\beta$ -glucoside, astaxanthin, zeaxanthin,  $\beta$ -carotene 순으로 항산화성이 높았다는 보고에서 확인할 수 있었다. 그리고 Siems et al. (1999)은 자외선 및 자연광에 의한 carotenoid의 파괴속도를 측정 한 결과, lycopene >  $\beta$ -carotene > zeaxanthin > lutein 순으로서 사람의 혈장이나 조직에서 산소라디칼의 소거에 zeaxanthin과 lutein의 중요성을 제시하였다.

해양 생태계에서 1차 생산자로 대량 생산이 가능한 미세조류로부터 분리·동정된 zeaxanthin은 상기 보고에서와 같이 carotenoid류 중에서 astaxanthin 보다는 항산화성이 낮았지만  $\beta$ -carotene보다는 활성이 높을 뿐만 아니라 자연광에 대한 안정성도 높아 carotenoid와 관련된 산업분야에서 이들의 항산화성을 활용한다면 zeaxanthin의 이용 효율성이 높을 것으로 기대된다.

## 요 약

본 연구에서는 비교적 성장이 빠르고 배양이 용이한 황갈편조 식물문 중 규조강에 속하는 *P. tricornutum*으로부터 선정하여 항산화성 물질을 분리·정제하여 물질의 구조를 밝혔다.

*P. tricornutum*의 각 유기용매 추출물의 항산화성은 chloroform 희분이 가장 좋았으며, 이 희분을 시료로 하여 silica gel column chromatography, PTLC 및 HPLC를 사용하여 항산화성 물질을 분리·정제하였다. Silica gel column을 사용하여 분리된 희분의 항산화성은 dichloromethane:methanol (5:1)로 용출시킨 희분에서 가장 높았으며, 이 희분의 PTLC 희분은 항산화성이 20% 증가하였다. 최종 정제된 물질의  $IC_{50}$ 값은  $8.3 \mu\text{g/mL}$ 으로 화학적으로 합성된 항산화제인 BHT 및 BHA보다는 낮았지만 천연 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol보다는 다소 높게 나타났으며, 이 물질의 화학적 구조는 carotenoid류인 zeaxanthin으로 동정되었다.

## 감사의 글

본 연구는 1996년도 한국학술진흥재단에서 시행한 대학부설 연구소과제 (관리번호, 1996-005-H0337) 수행에 의한 연구결과이며, 연구비를 지원해 준 한국학술진흥재단에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

Belarbi, E.H., E. Molina and Y. Chisti. 2000. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. *Process Biochemistry*, 35, 951~969.

Bernhard. 1989. *Carotenoids Chemistry and Biology*, Krinsky, N.I., M. M. Mathews-Roth and R.F. Taylor ed., Plenum Press, New York, pp. 337~363.

Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander. 1995. *Carotenoids Vol. 1B*, Birkhauser Verlag, Basel, pp. 27~177.

Cannell, R.J.P., S.J. Kellam, A.M. Owsianka and J.M. Walker. 1988. Results of a large scale screen of microalgae for the production of protease inhibitors. *Planta Medica*, 56, 10~14.

Carvalho, A.P. and F.X. Malcata. 2000. Effect of culture media on production of polyunsaturated fatty acids by *Pavlova lutheri*. *Cryptogamie Algol.*, 21, 59~73.

Choi, J.S., J.H. Lee, H.J. Park, H.G. Kim, H.S. Young and S.I. Mun. 1993. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *prunus davidina*. *Kor. J. Pharmacogn.*, 24, 299~303.

Codd, G.A. 1995. Cyanobacterial toxins; occurrence, properties and biological significance. *Wat. Tech. Sci.*, 32, 149~156.

Cook, N.C. and S. Samman. 1996. Flavonoids chemistry, metabolism cardioprotective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem.*, 7, 66~76.

Fukuzawa, K., S. Takase and H. Tsukatani. 1985. The effect of concentration on the antioxidant effectiveness of  $\alpha$ -tocopherol in lipid peroxidation induced by superoxide free radicals. *Arch. Biochem. Biophys.*, 240, 117~120.

Gerwick, W.H., M.A. Roberts, P.J. Proteau and J.L. Chen. 1994. Screening cultured marine microalgae for anticancer-type activity. *J. Appl. Phycol.*, 6, 143~149.

Gustafson, K.R., J.H. Cardellina, R.W. Fuller, O.S. Weislow, R.F. Kiser, K.M. Snader, G.M.L. Patterson and M.R. Boyd. 1989. AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae). *J. Natl. Cancer. Inst.*, 81, 1254~1258.

Hatano, T., H. Kagawa and T. Okawa. 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice wet: their relative astringency and radical scavenging effect. *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 2090~2097.

Jeon, Y.J., H.G. Byun and S.K. Kim. 1999. Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes. *Process Biochemistry*, 35, 471~478.

Jyonouchi, H., L. Zhang and Y. Tomita. 1993. Studies of immunomodulating actions of carotenoids, II, astaxanthin enhances in vitro antibody production to T-dependent antigens without facilitating polyclonal B-cell activation. *Nutr. Cancer*, 19, 269~280.

Kim, M.K., S.H. Ahn and Y.C.L. Kim. 2001. Relationship of serum  $\alpha$ -tocopherol, carotenoids and retinol with the risk of breast cancer. *Nutrition Research*, 21, 797~809.

Kim, S.K., H.C. Baek, H.G. Byun, O.J. Kang and J.B. Kim. 2001. Biochemical composition and antioxidative activity of marine microalgae. *J. Korean Fish. Soc.*, 34, 260~267.

Kim, S.K., H.C. Lee, H.G. Byun and Y.J. Jeon. 1996. Isolation and characterization of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysates of yellowfin sole skin gelatin. *J. Korean Fish. Soc.*, 29, 246~255.

Le Tutour, B., F. Benslimane, M.P. Goulet, J.P. Gouyguou, B. Saadan and F. Quemeneur. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activities of the brown algae, *Laminaria digitata*, *Himantalia elongata*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus* and *Ascophyllum nodosum*. *J. Appl. Phycol.*, 10, 121~129.

Liaaen-Jensen, S. and S. Hertzberg. 1995. *Carotenoids Vol. 1A*, Ed. Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander, Birkhauser Verlag, Basel, 283~286.

Lim, B.P., A. Nagao, J. Terao, K. Tanaka, T. Suzuki and K. Takama.

1992. Antioxidant activity of xanthophylls on peroxy radical-mediated phospholipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1126, 178~184.
- Lincoln, R.A., K. Strupinski and J.M. Walker. 1991. Enzyme inhibitors from algae. *Biochem. Soc. Trans.*, 19, 429S.
- Matsukawa, R., Z. Dubinsky, E. Kishimoto, K. Masaki, Y. Masuda, T. Takeuchi, M. Chihara, Y. Yamamoto, E. Niki and I. Karube. 1997. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *J. Appl. Phycol.*, 9, 29~35.
- Matsushita, Y., R. Suzuki, E. Nara, A. Yokoyama and K. Miyashita. 2000. Antioxidant activity of polar carotenoids including astaxanthin- $\beta$ -glucoside from marine bacterium on PC liposomes. *Fisheries Science*, 66, 980~985.
- Miki, W. 1991. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl. Chem.*, 63, 141~146.
- Moore, R.E. 1996. Cyclic peptides and depsipeptides from cyanobacteria: a review. *J. Indust. Microbiol.*, 16, 134~143.
- Mortensen, A., L.H. Skibsted, J. Sampson, C. Rice-Evans and S.A. Everett. 1997. Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Letters*, 418, 91~97.
- Siems, W.G., O. Sommerburg and F.J.G.M. Van Kuijk. 1999. Lycopene and  $\beta$ -carotene decompose more rapidly than lutein and zeaxanthin upon exposure to various pro-oxidants *in vitro*. *BioFactors*, 10, 105~113.
- Sivonen, K. 1996. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia*, 35, 12~24.
- Tsuchihashi, H., M. Kigoshi, M. Iwatsuki and E. Niki. 1995. Action of  $\beta$ -carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 323, 137~147.
- Yan, X., Y. Chuda, M. Suzuki and T. Nagata. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63, 605~607.
- 幹 涉. 1989. 海洋生物由来カロテノイドの一重項酸素消去活性. 平成2年度日本水産学会 秋季大会講演要旨集, p. 184.
- 三室 守, 加藤哲也. 1993. 海洋生物のカロテノイド, 幹 涉編, 恒星社厚生閣, 東京, 87~96.
- 松野隆男, 幹 涉. 1990. 動物におけるカロテノイドの生理機能と生物活性. *化学と生物*, 28, 219~227.
- 片山輝久. 1979. 海洋天然物化学, 化学総説 25, 日本化学会編, 学会出版センター, 東京, 139~156.

---

2001년 6월 7일 접수

2001년 9월 22일 수리