Journal of Marine Bioscience and Biotechnology 2006, p. 170-177 Vol. 1, No. 3

High Throughput Screening (HTS) 기법을 통한 제주 자생 해조류의 DPPH 라디칼 소거활성 평가

김길남 · 허수진 · 차선희 · 전유진*

제주대학교 해양생산과학부

Evaluation of DPPH Radical Scavenging Activity of Jeju Seaweeds Using High Throughput Screening (HTS) Technique. Kil-Nam Kim, Soo-Jin Heo, Seon-Heui Cha and You-Jin Jeon*. *Faculty of Applied Marine Science, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea.*

Abstract As a rapid and quick bioactive compound evaluation technique, in this study we utilized a automatic system of High Throughput Screening (HTS) to investigate DPPH radical scavenging efficacy of seaweeds, collected from Jeju Island in Korea. In this study, 6 species of green seaweeds, 18 species of brown seaweeds and 22 species of red seaweeds extracted with methanol at 20℃ and 70℃ were subjected to HTS. Of the green seaweeds tested, *Enteromorpha compressa* (20G6) of the green seaweeds showed DPPH radical scavenging activity of over 60%. On the other hand, the other green seaweeds showed poor DPPH radical scavenging activities (lees than 40%) at 1 mg/ml. *Sargassum siliquastrum* (20B17, 70B17), *Dictyota dichotoma* (70B1), *Sargassum coreanum* (70B16) and *Ecklonia cava* (70B26) among the brown seaweeds showed significantly high DPPH radical scavenging activity with 96%, 97%, 92%, 92%, 87%. *Polysiphonia japonica* (20R24), *Schizymenia dubyi* (20R17), *Gelidium amansii* (20R18) and *Acrosorium flabellatum* (20R23) among the red seaweeds showed remarkable DPPH radical scavenging activity of over 90%.

Key words : HTS, DPPH radical, seaweeds, Jeju Island, radical scavenging activity

서 론

해양생물자원은 전 지구상의 생물자원의 약 80%인 약 50만종을 차지하고 있으며, 육상 동식물의 생육환경과 매우 다른 고염, 고압, 저온의 생육조건을 가지고 있다. 또한 해양은 지구 생명체의 탄생장소로서 아직까지도 많은 생물종들이 해양에서만 서식하고 있다. 이와 같은 다양한 해양 동식물로부터 새로운 기능성의 식품소재나 의약품 소재의 개발은 최근 해양 선진국들이 앞을 다투어 연구개발하고 있는 분야로서 그 가능성이 무궁무진하다고 할 수 있다.

해조류는 소화 흡수율이 낮아 영양학적인 측면에서 관심을 끌지 못하였으나 최근 혈관내 콜레스테롤 침착 방지 및 장관 운동을 원활히 하고, 중금속 배출을 촉진시키며 고지혈증의 개선 등 식용 해조류로 생리활성 물질들이 확인되면서 기능성 식품으로서의 개발에 관심이 모아지고 있다[12,17]. 해조류는 육상식물에 비해 생육하는 환경이 현저한 차이가 있어 구성성분이 다를 뿐만 아니라 미네랄과 비타민이 매우 풍부하게 함유하고 있고, 또 어떤 특정적인 해조류의 성분은 항균, 항산화, 항바이러스 활성을 비롯하여 혈압 및 혈중 콜레스테롤 조정, 항종양활성, 면역활성 자극효과 등을 나타내는 것으로 알려져 있다[3,4,13,15]. 하지만 이런 해조류의 생리활성측정은 한정된 해조류에서만 연구가 이루어졌을 뿐 해조류에 대한 생리활성에 대한 연구는 아직도 미비한 실정이다. 그 이유는 사람의 인력으로 많은 해조류 추출물의 생리활성을 측정하기에 많은 시간과 인원

* Corresponding author
Phone: +82-64-754-3475, Fax: +82-64-756-3493
E-mail: youjinj@cheju.ac.kr

및 비용이 들기 때문이다.

많은 양의 물질들을 기존의 low-throughput screening (LTS) 방법으로 약효나 독성, 또는 체내동태 특성을 검색하기에 불합리하여 사람들은 많은 물질들을 효율적으로 검색할 수 있는 방법을 생각하게 되었고, 그 결과 high-throughput screening (HTS) 기법이 개발 되었다. HTS란 말 그대로 단시간에 적은 비용을 들여서 보다 많은 물질을 검색하는 방법을 일컫는다. 다시 말해 HTS는 시료 준비시간을 줄이기 위한 자동화, 적은 양의 물질을 사용하여 한꺼번에 많은 수의 물질을 검색할 수 있는 소형화, 그 밖에 *in vivo* 및 *in vitro*에서 흡수 동태나 효과를 고속으로 검색하는 모든 방법을 총칭한다. HTS 분야는 1990년부터 지속적으로 발전하고 있고 다양한 연구분야가 융합 되어 새로운 방식의 기술들이 소개되고 있으며, 이런 HTS 기법은 하루에 100,000개 이상의 데이터를 소화해 낼 수 있으며 보편적인 신약개발 도구로 자리잡아가고 있다. 하지만 국내에서는 HTS기법을 통한 생리활성 스크리닝 연구가 미흡한 실정이며 특히 해조류를 이용한 연구는 전혀 이루어지지 않은 실정이다.

이에 본 연구에서는 DPPH 라디칼 소거활성을 HTS 기법을 통하여 알아보고자 실험과정의 제어 및 관리를 위한 자동화 시스템을 구축하고 제주산 해조류 46종을 20℃와 70℃에서 추출하여 92종의 추출물을 이용하여 HTS기법을 통해 DPPH 라디칼 소거활성을 대량 검색하여 항산화 활성 물질을 탐색하고자 하였다.

재료 및 방법

해조류 원료 채취 및 선별

제주지역에서 서식하고 있는 해조류를 채취하여 형태학적으로 분류한 후 흐르는 물에 세척하여 동결건조하였다. 이것을 25 mesh 이하가 되도록 분쇄하여 분말화 하였다.

해조류 추출물의 제조

분말화된 해조류 시료를 이용하여 메탄올 추출을 수행하였다. 즉 해조류에 메탄올을 첨가시켜 상온(20℃)과 70℃ 반응기에서 24시간 동안 추출을 하였고, 추출물은 rotary evaporator를 이용하여 40±1℃ 범위 내에서 감압 농축하여 실험에 사용하였다. 시료들에는 각각 고유의 Lot number를 부여하여 표기하였다.

HTS 시스템 및 개별 기기의 특징 및 용도

HTS 시스템은 단시간에 적은 비용을 들여서 보다 많은 물질을 검색하기 위한 초고속 스크리닝 시스템이다. HTS 시스템은 CO_2 Incubator, Plate Reader, Carousel, Plate heater, Plate Washer와 Minitrak의 개별 장비가 CataLyst Robot System (CRS)의 Robot arm으로 통합되어 있으며 (Fig. 1), 전체 시스템이 CRS 프로그램으로 셋업된 스케줄대로 구동되며 이를 통하여 다양한 후보물질로부터 유용물질을 탐색할 수 있다. Robot arm은 실험 과정을 전자동화하여 대량의 시료를 지속적으로 다룰 수 있도록 디자인 된 시스템으로서 5 부분의 관절로 구성된 Robotic arm과 45개의 Microwell plate를 보관할 수 있는 Hotel이 하나의 시스템으로 구성되어 있으며 Polara 2.0 프로그램에 의해 plate를 Robot arm이 기기에서 기기로 이동을 시킨다. Minitrak은 96, 384, 1536 well plate를 사용할 수 있으며 시료 및 시약을 프로그램된 일정한 양만큼 분주하는 장치이다. CO_2 Incubator는 Robot arm이 이용할 수 있도록 제작되었으며 cell을 이용하는 실험에 사용되며 96/384-well plate 42개까지 배양할 수 있다. Plate Reader는 시료의 형광, 흡광 및 발광을 한 기기 내에서 측정할 수 있으며 1-, 6-, 24-, 48-, 96-, 384-, 1536-well plate 등의 다양한 plate를 사용하여 측정 할 수 있다.

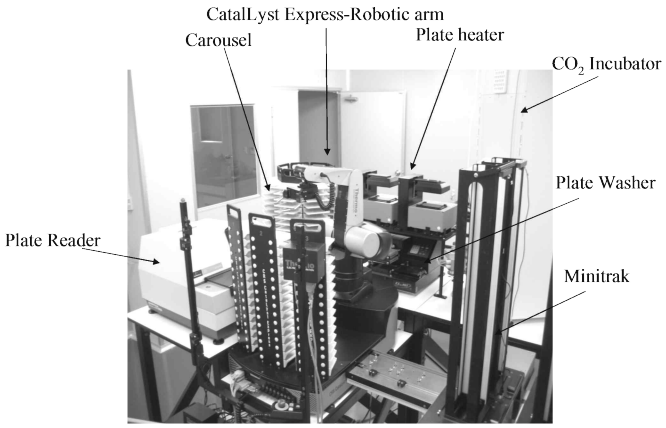

Fig. 1. Composition of high-throughput screening system.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거활성은 Blosis [2] 방법에 맞게 Polara 2.0을 이용하여 프로그램을 만들어 전체적인 작동을 조절하였다 (Fig. 2). 즉, 메탄올에 녹인 여러 농도의 시료는 Liquid Handling System에 의해 96-well plate에 각각 100 μl씩 분주하였다. 시료가 분주된 96-well plate는 Robotic arm에 의해 Mintrack으로 옮겨져 각각의 well에 0.4 mM DPPH 용액을 동량 첨가하였다. DPPH가 처리 된 96-well plate는 Robotic arm에 의해 Carousel에 옮겨져 실온에서 10분간 반응시켰다. 반응 후 Robotic arm에 의해 96-well plate는 Victor3으로 옮겨져 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군으로는 ascorbic acid, butylated hydroxy anisole (BHA), quercertin 및 trolox를 사용하였다. DPPH radical 소거활성은 아래의 식으로 산출하였고, DPPH의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도를 IC_{50}로 표시하였다.

DPPH radical 소거활성(%)=[(Con-Sam)/Con]×100
Sam=시료를 첨가한 반응액의 흡광도
Con=시료 대신 메탄올을 첨가한 반응액의 흡광도

결과 및 고찰

해조류는 항균, 항산화, 항바이러스, 항암활성을 비롯하여 동맥경화, 심근경색, 고혈압, 협심증, 뇌졸중 등의 성인병 예방에 효과적이라고 보고되어지고 있다. 특히 해조류의 항산화 활성에 관한 연구가 많이 이루어지고 있으며 해조류의 높은 항산화 활성이 연구 보고되어지고 있다. 이에 본 연구에서는 다양한 해조류(녹조류 6종, 갈조류 18종 및 홍조류 22종)를 메탄올을 이용하여 20℃와 70℃에서 추출하여 항산화 활성 연구에 많이 사용되어지는 DPPH 라다칼을 이용하여 HTS를 통한 실험과정의 제어 및 관리를 위한 자동화 시스템을 구축하였고 HTS 기법을 통해 DPPH 라디칼 소거활성을 대량 검색하였다.

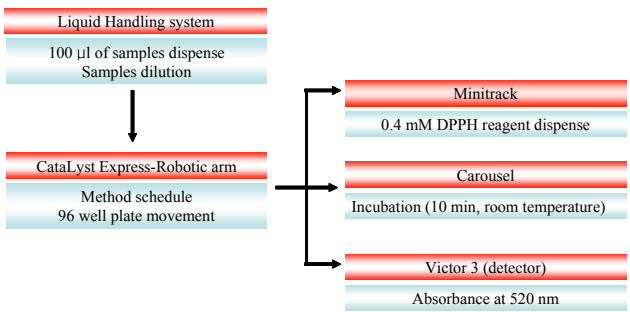

Fig. 2. High-throughput screening system for assessing DPPH radical scavenging activity.

녹조류 추출물의 DPPH 라디칼의 소거활성은 Fig. 3과 4에 나타내었다. 납작파래 (20G6)의 20℃ 추출물에서는 약 60%의 가장 우수한 소거활성을 나타냈으며, 참홑파래 (20G11)에서는 약 49%의 DPPH 라디칼 소거활성을 보였다. 납작파래와 참홑파래를 제외한 다른 녹조류 추출물 (1 mg/ml)에서는 대체적으로 10% 미만의 낮은 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었다. 녹조류 70℃ 추출물에서는 청각 (70G1)과 구멍갈파래 (70G5)에서 약 40%의 DPPH 라디칼 소거활성만을 보였으며 다른 녹조류 70℃ 추출물에서는 30% 미만이 소거활성을 보였다. 허 등 [7]에 의해 녹조류 추출물이 갈조류 추출에 비해 total polyphenol 함량이 낮다고 보고되어지고 있는데 이런 poly-

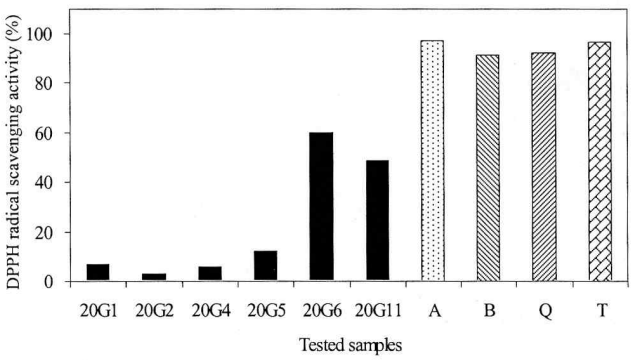

Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of 20℃ MeOH extract (1 mg/ml) from Jeju green seaweeds.

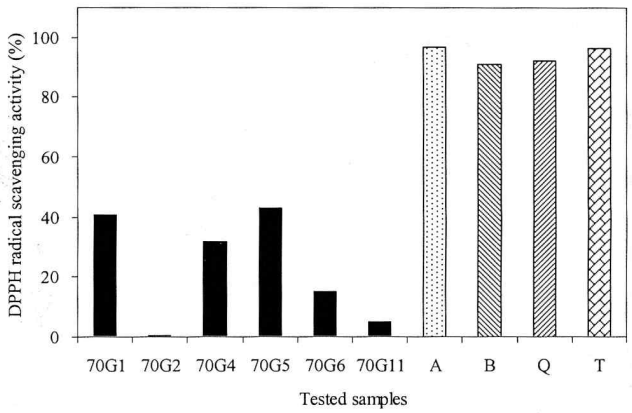

Fig. 4. DPPH radical scavenging activity of 70℃ MeOH extract (1mg/ml) from Jeju green seaweeds.

phenol 성분은 hydroxyl group을 많이 가지고 있어 자유라디칼 소거활성이 높다고 보고되어지고 있다 [5]. 또한 polyphenol 성분이 DPPH 라디칼 소거활성에 관여한다는 보고 [13,14,16]로 볼 때 녹조류 추출물이 DPPH 라디칼 소거활성이 갈조류에 비해 낮은 이유가 total polyphenol 함량이 낮아서 소거활성이 낮은 것으로 생각되어진다.

갈조류 추출물에 대한 DPPH 라디칼 소거활성은 Fig. 5과 6에 나타내었다. 갈조류의 20℃ 추출물 (1 mg/ml)들 중에서는 꽈배기모자반 (20B17)에서 약 96%의 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 보였는데, 이 수치는 실험에 사용된 시판되는 항산화제들(100 μg/ml)과 비교했을 때 비슷하거나 높은 수치를 나타내었다. 불레기말 (20B12)에서도 60% 이상의 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었고 꽈배기모자반과 불레기말 추출물을 제외한 추출물들에서는 40% 미만의 낮은 소거활성을 나타내었다. 갈조류 70℃ 추출물에서도 꽈배기모자반 (70B17)에서 약 95% 소거활성을 보이며 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었고, 참그물바탕말 (70B1), 큰잎모자반 (70B16), 감태 (70B26) 에서도 80% 이상의 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과는 허 등 [7]의 보고에서 꽈배기모자반, 참그물바탕말, 큰잎모자반과 감태의 메탄올 추출물에서 높은 DPPH 라디칼 소거활성을 보인 결과와 일치하는 결과이다. 갈조류의 경우 phlorotannin이 많이 함유 되어 있는 것으로 알려져 있는데 phlorotannin은 높은 항산화 활성을 보인다고 보고되고 있다 [10,11,13,14]. 이와 같이 갈조류의 DPPH 라디칼 소거활성이 높은 이유는 갈조류에 많이 함유되어 있는 phlorotannin과 chlorophyll에 의한 것으로 생각되어진다.

홍조류 추출물 (1 mg/ml)에 대한 DPPH 라디칼 소거활성은 Fig. 7과 8에 나타내었다. 홍조류의 20℃ 추출물에서는 왜떨기나무붉은실 (20R24)에서 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었고 (약 95%), 갈래잎 (20R17), 굵은참우뭇가사리 (20R18), 부채분홍잎 (20R23) 에서도 약 94%의 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었는데 이 값은 시판되는 항산화제 (100 μg/ml)들과 비교했을 때, 비슷하거나 더 우수한 소거활성을 나타내는 것이다. 70℃ 추출물의 경우에서도 왜떨기나무붉은실 (20R24)과 부채

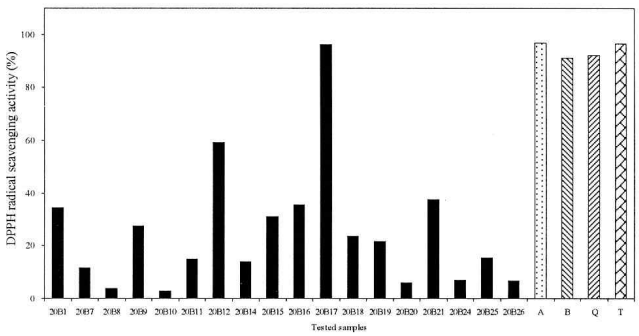

Fig. 5. DPPH radical scavenging activity of 20℃ MeOH extract (1 mg/ml) from Jeju brown seaweeds.

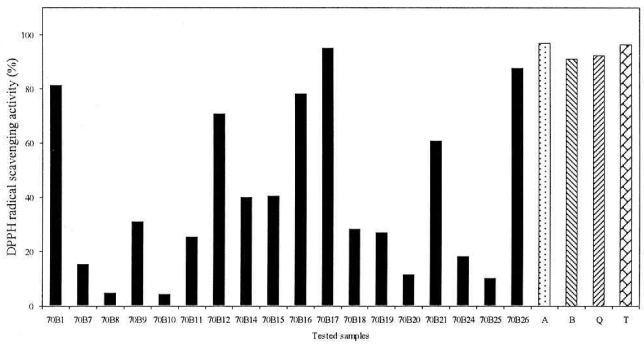

Fig. 6. DPPH radical scavenging activity of 70℃ MeOH extract (1 mg/ml) from Jeju brown seaweeds.

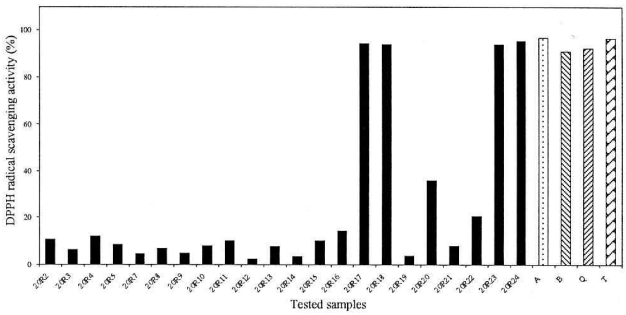

Fig. 7. DPPH radical scavenging activity of 20℃ MeOH extract (1 mg/ml) from Jeju red seaweeds.

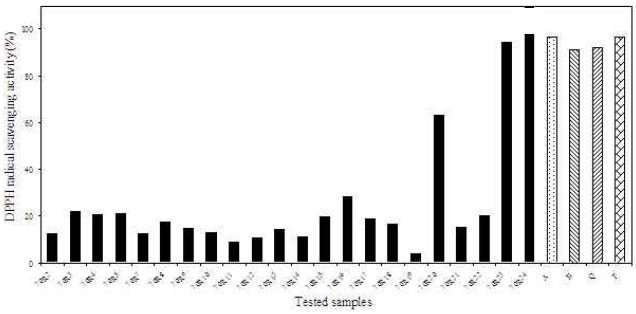

Fig. 8. DPPH radical scavenging activity of 70℃ MeOH extract (1 mg/ml) from Jeju red seaweeds.

분홍잎 (70R23)에서 각각 98%와 94%의 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었고, 흑돌잎 (70R20)에서도 약 65%의 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내는 것을 확인하였다. 최근 많은 연구들에서 해조류에 의한 DPPH 라디칼 소거활성이 보고되어지고 있으며 [1,8,9], 특히 허 등 [6]은 홍조류가 DPPH 라디칼 소거활성이 높음을 보고한바 있다.

DPPH 라디칼에 대한 녹조류, 갈조류 및 홍조류 추출물이 갖는 IC_{50} 값은 Table 2에 나타내었다. DPPH 라다칼에 대한 녹조류 추출물의 IC_{50} 값은 70℃

Table 1. Jeju seaweeds used in this study

Scientific name	Korean name	Lot number	
		20℃ MeOH ext.	70℃ MeOH ext.
Green seaweeds			
Codium fragile	청각	21G1	70G1
Codium contractum	뭉우리청각	20G2	70G2
Ulva conglobata	모란갈파래	20G4	70G4
Ulva pertusa	구멍갈파래	20G5	70G5
Enteromorpha compressa	납작파래	20G6	70G6
Monostroma nitidum	참홑파래	20G11	70G11
Brown seaweeds			
Dictyota dichotoma	참그물바탕말	20B1	20B1
Peltaronia bighamiae	미역쇠	20B7	20b7
Undaria pinnatifida	말미역	20B8	20B8
Hizikia fusif orme	톳	20B9	20B9
Laminaria ochotensis	다시마	20B10	20B10
Sargassum thunbergii	지충이	20B11	20B11
Colpomenia sinuosa	불레기말	20B12	20B12
petrospongium rugosum	바위주름	20B14	20B14
Sargassum horneri	괭생이모자반	20B15	20B15
Sargassum coreanum	큰잎모자반	20B16	20B16
Sargaasum siliquastrum	꽈배기모자반	20B17	20B17
Myagropsis myagroides	외톨개모자반	20B18	20B18
Padina arborescens	부챗말	20B19	20B19
Sargassum piluliferum	구슬모자반	20B20	20B20
Pachydictyon sp.	참가죽그물바탕말	20B21	20B21
Scytosiphon lomentaria	고리매	20B24	20B24
Desmarestia tabacoides	담배산말	20B25	20B25
Ecklonia cava	감태	20B26	20B26
Red seaweeds			
Gracilaria verrucosa	꼬시래기	20R2	70R2
Crateloupia elliptica	참도박	20R3	70R3
Grateloupia lanceolate	가는개도박	20R4	70R4
Sinkoraena lancifolia	털지누아리	20R5	70R5
Grateloupia filicina	빈참지누아리	20R7	70R7
Capopeltis affinis	참까막살	20R8	70R8
Laurencia okamurae	쌍발이서실	20R9	70R9
Chondria cassicaulis	개서실	20R10	70R10
Ahnfeltiopsis flabelliformis	부챗살	20R11	70R11
Lomentaria catenata	마디잘록이	20R12	70R12
Pteroclasdiella capillacea	큰개우미	20R13	70R13
Prionitis cornea	붉은까막살	20R14	70R14
Gloiopeltis furcata	불등풀가사리	20R15	70R15
Chondrophycus undulatus	혹서실	20R16	70R16
Schizymenia dubyi	갈래잎	20R17	70R17
Gelidium amansii	굵은참우뭇가사리	20R18	70R18
Scinaia okamurae	매끈껍질	20R19	70R19
Lithophyllum okamurai	흑돌잎	20R20	70R20
Chondrus crispus	주름진두발	20R21	70R21
Martensia denticulata	비단망사	20R22	70R22
Acrosorium flabellatum	부채분홍잎	20R23	70R23
Polysiphonia japonica	왜떨기나무붉은실	20R24	70R24

Table 2. IC_{50} values of methanol extract from Jeju seaweed on DPPH radical scavenging activity

Scientific name	Korean name	Lot number	IC_{50} (μg/ml)	Lot number	IC_{50} (μg/ml)
Green seaweeds					
Codium fragile	청각	20G1	>1000	70G1	>1000
Codium contractum	뭉우리청각	20G2	>1000	70G2	>1000
Ulva conglobata	모란갈파래	20G4	>1000	70G4	>1000
Ulva pertusa	구멍갈파래	20G5	>1000	70G5	>1000
Enteromorpha compressa	납작파래	20G6	914	70G6	>1000
Monostroma nitidum	참홑파래	20G11	>1000	70G11	>1000
Brown seaweeds					
Dictyota dichotoma	참그물바탕말	20B1	>1000	20B1	500
Peltaronia bighamiae	미역쇠	20B7	>1000	20b7	>1000
Undaria pinnatifida	말미역	20B8	>1000	20B8	>1000
Hizikia fusif orme	톳	20B9	>1000	20B9	>1000
Laminaria ochotensis	다시마	20B10	>1000	20B10	>1000
Sargassum thunbergii	지충이	20B11	>1000	20B11	>1000
Colpomenia sinuosa	불레기말	20B12	644	20B12	436
petrospongium rugosum	바위주름	20B14	>1000	20B14	>1000
Sargassum horneri	괭생이모자반	20B15	>1000	20B15	>1000
Sargassum coreanum	큰잎모자반	20B16	>1000	20B16	459
Sargaasum siliquastrum	꽈배기모자반	20B17	117	20B17	215
Myagropsis myagroides	외톨개모자반	20B18	>1000	20B18	>1000
Padina arborescens	부챗말	20B19	>1000	20B19	>1000
Sargassum piluliferum	구슬모자반	20B20	>1000	20B20	>1000
Pachydictyon sp.	참가죽그물바탕말	20B21	>1000	20B21	603
Scytosiphon lomentaria	고리매	20B24	>1000	20B24	>1000
Desmarestia tabacoides	담배산말	20B25	>1000	20B25	>1000
Ecklonia cava	감태	20B26	>1000	20B26	40
Red seaweeds					
Gracilaria verrucosa	꼬시래기	20R2	>1000	70R2	>1000
Crateloupia elliptica	참도박	20R3	>1000	70R3	>1000
Grateloupia lanceolate	가는개도박	20R4	>1000	70R4	>1000
Sinkoraena lancifolia	털지누아리	20R5	>1000	70R5	>1000
Grateloupia filicina	빈참지누아리	20R7	>1000	70R7	>1000
Capopeltis affinis	참까막살	20R8	>1000	70R8	>1000
Laurencia okamurae	쌍발이서실	20R9	>1000	70R9	>1000
Chondria cassicaulis	개서실	20R10	>1000	70R10	>1000
Ahnfeltiopsis flabelliformis	부챗살	20R11	>1000	70R11	>1000
Lomentaria catenata	마디잘록이	20R12	>1000	70R12	>1000
Pteroclasdiella capillacea	큰개우미	20R13	>1000	70R13	>1000
Prionitis cornea	붉은까막살	20R14	>1000	70R14	>1000
Gloiopeltis furcata	불등풀가사리	20R15	>1000	70R15	>1000
Chondrophycus undulatus	혹서실	20R16	>1000	70R16	>1000
Schizymenia dubyi	갈래잎	20R17	120	70R17	>1000
Gelidium amansii	굵은참우뭇가사리	20R18	47	70R18	>1000
Scinaia okamurae	매끈껍질	20R19	>1000	70R19	>1000
Lithophyllum okamurai	혹돌잎	20R20	>1000	70R20	651
Chondrus crispus	주름진두발	20R21	>1000	70R21	>1000
Martensia denticulata	비단망사	20R22	>1000	70R22	>1000
Acrosorium flabellatum	부채분홍잎	20R23	126	70R23	94
Polysiphonia japonica	왜떨기나무붉은실	20R24	34	70R24	61
Control	Ascorbic acid	A	7		
	BHA	B	8		
	Quercertin	Q	5		
	Trolox	T	11		

추출물에서는 모든 추출물이 1000 μg/ml 이상의 값을 보였고 20℃ 추출물의 경우 납작파래 (20G6)에서 914 μg/ml의 IC_{50} 값을 보였고 납작파래 추출물을 제외한 다른 추출물들은 1000 μg/ml 이상의 값을 보였다. 갈조류의 경우 20℃ 추출물의 IC_{50} 값은 블레기말 (20B12)에서 644 μg/ml를 보였고 꽈배기모자반 (20B17)에서 117 μg/ml의 낮은 IC_{50} 값을 보였다. 갈조류의 70℃ 추출물의 IC_{50} 값은 참가죽그물바탕말 (70B21), 참그물바탕말 (70B1), 큰잎모자반 (70B16), 블레기말 (70B12) 및 꽈배기모자반 (70B17)에서 각각 603, 500, 459, 436과 215 μg/ml이 IC_{50} 값을 보였고 특히 감태 (70B26)에서 가장 낮은 IC_{50}값 (40 μg/ml)을 보였다. 이는 감태 추출물이 정제되지 않은 것을 감안할 때 감태 추출이 시판되는 항산화제들과 비교하여 비슷하거나 높은 DPPH 라디칼 소거활성을 보일 것으로 생각되어진다. DPPH 라디칼에 대한 홍조류 20℃ 추출물의 IC_{50} 값은 갈래잎 (20R17)과 부채분홍잎 (20R23)에서 각각 120과 126 μg/ml이 IC_{50} 값을 보였고 굵은참우뭇가사리 (20R18)와 왜떨기나무붉은실 (20R24)에서는 각각 47과 34 μg/ml이 매우 낮은 IC_{50} 값을 나타내었다. 홍조류 70℃ 추출물의 경우 흑돌잎 (70R20), 부채분홍잎 (70R23)과 왜떨기나무붉은실 (70R24)에서 각각 651, 94 및 61 μg/ml이 낮은 IC_{50} 값을 보였으며 그 외의 추출물에서는 1000 μg/ml 이상의 IC_{50} 값을 보였다. 이와 같이 감태, 굵은참우뭇가사리와 왜떨기붉은실 추출물에서 정제되지 않았음에도 50 μg/ml 미만이 낮은 IC_{50} 값을 보였는데 이 추출물들을 이용하여 정제하게 되면 시판되는 항산화제들과 비슷한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타낼 것으로 생각되어지며 보다 안전한 천연항산화제 개발에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 제주산 해조류의 생리활성을 대량검색하기 위해 HTS 기법을 이용한 실험과정의 제어 및 관리를 위한 자동화 시스템을 구축하고자 DPPH 라디칼을 이용하여 HTS를 이용한 자동화 시스템을 구축하고 제주산 해조류의 DPPH 라디칼 소거활성을 대량 검색하고자 하였다. 그 결과 HTS를 위한 효율적인검색방법을 개발하였고 DPPH 라디칼 소거활성이 높은 해조류를 검색하게 되었다. 녹조류의 경우 납작파래 (20G6)의 20℃ 추출물(1 mg/ml)에서 약 60%이 DPPH 라디칼 소거활성을 보였을 뿐 나머지 해조류에서는 40% 미만이 낮은 활성만을 보였다. 갈조류의 경우 꽈배기 모자반 (20B17), (70B17), 참그물바탕말 (70B1), 큰잎모자반 (70B16)과 감태 (70B26)에서 DPPH 라디칼 소거활성이 우수하였다. 홍조류 중에서는 왜떨기나무붉은실 (20R24)에서 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었고 갈래잎 (20R17), 굵은참우뭇가사리 (20R18), 부채분홍잎 (20R23) 또한 높은 소거활성을 보였다. 따라서 우수한 효과를 나타내었던 해조류를 대상으로 용매분획 및 활성물질의 분리, 정제를 통해 해조류 유래의 기능성 신소재를 개발한다면, 해조류의 고부가가치화 및 HTS기술의 보편화에 큰 영향을 미칠 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 마린바이오21사업의 해양바이오프로세스연구단 연구비 지원(과제 관리번호 P-2004-03)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Athukorala, Y, Lee, K. W., Shahidi, F., Heo, M. S., Kim, H. T., Lee, J. S. and Jeon, Y. J. 2003. Antioxidant efficacy of extract of an edible red alga (*Grateloupia filicina*) in linoleic acid and fish oil. *J. Food Lipids* **10,** 313-327.
2. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **26,** 1199-1200.
3. Chen, C. Y. and Chou, H. N. 2002. Screening of red algae filaments as a potential alternative source of eicosapentaenoic acid. *Mar. Biotechnol.* **4,** 189-192.
4. Frlich, I., Riederer, P. 1995. Free radical mechanisms in dementia of Alzheimer type and the petential for antioxidant treatment. *Drug Res.* **45,** 443-449.
5. Hatano, T., Edamatsu, R., Mori, A., Fujita, Y. and Yasuhar, E. 1989. Effect of interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on DPPH radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37,** 2016-2021.
6. Heo, S. J., Cha, S. H., Lee, K. W. and Jeon, Y. J. 2006. Antioxidant activities of red algae from Jeju Island. *Algae* **21,** 149-156.
7. Heo, S. J., Cha, S. H., Lee, K. W., Cho, S. K. and Jeon, Y. J. 2005. Antioxidant activities of chlorophyta and phaeophyta from Jeju Island. *Algae* **20,** 251-260.
8. Heo, S. J., Park, E. J., Lee, K. W. and Jeon, Y. J. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown

seaweeds. *Bioresource Technol.* **96,** 1613-1623.
9. Heo, S. J., Park, P. J., Park, E. J., Kim, S. K. and Jeon, Y. J. 2005. Antioxidant activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Ecklonia cava* by electron spin resonance spectrometry and comet assay. *Eur. Food Res. Technol.* **221,** 41-47.
10. Kang, K. A., Lee, K. H., Chae, S., Koh, Y. S., Yoo, B. S., Kim, J. H., Ham, Y. M., Baik, J. S., Lee, N. H. and Hyun, J. W. 2005. Triphlorethol-A from *Ecklonia cava* protects V79-4 lung fibroblast against hydrogen peroxide induced cell damage. *Free Radic. Res.* **39,** 883-92.
11. Kang, K. A., Lee, K. H., Chae, S., Zhang, R., Jung, M. S., Lee, Y., Kim, S. Y., Kim, H. S., Joo, H. G., Park, J. W., Ham, Y. M., Lee, N. H. and Hyun, J. W. 2005. Eckol isolated form *Ecklonia cava* attenuates oxidative stress induced cell damage in lung fiblroblast cells. *FEBS Lett.* **579,** 6295-304.
12. Lopaczysk,i W. and Zeisel S. H. 2001. Antioxidants, programmed cell death, and cancer. *Neur. Res.* **21,** 295-307.
13. Nagayama, K., Iwamura, Y., Shibata, T., Hirayama, I. and Nakamura, T. 2002. Bartericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. *J. Antimicrob. Chemoth.* **50,** 889-893.
15. Okai, Y., Higashi-Okai, K., Ishizaka, S., Ohtani, K., Matsui-Yuasa, I. and Yamashita, U. 1998. Possible immunodulation activities in an extract of edible brown alga, *Hijikia fusiforme* (Hijiki). *J. Sci. Food Agric.* **76,** 56-62.
16. Shibata, T., Fujimoto, K., Yamaguchi, K., Nagayama, K. and Nakamura, T. 2002. Inhibitory activity of brown alga l phlorotannins against hyaluronidase. *Int. J. Food Sci. Technol.* **37,** 703-709.
17. Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human disease. *Chem. Phys. Lipids* **45,** 337-341.