

## 투스 추출물의 경구투여가 흰쥐의 항산화효소 활성과 비타민 E 농도에 미치는 영향

김향숙<sup>1,2</sup> · 최은옥<sup>1,2</sup> · 박 철<sup>3</sup> · 최영현<sup>3,4</sup> · 현숙경<sup>1,4</sup> · 황혜진<sup>1,2,4\*</sup>

<sup>1</sup>동의대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>한방식품연구소  
<sup>3</sup>동의대학교 한의학과, <sup>4</sup>블루바이오소재개발센터

### Effect of *Hizikia fusiforme* Extracts on Antioxidant Enzyme Activity and Vitamin E Concentration in Rats

Hyang-Suk Kim<sup>1,2</sup>, Eun-Ok Choi<sup>1,2</sup>, Cheol Park<sup>3</sup>, Yung-Hyun Choi<sup>3,4</sup>,  
Sook-Kyung Hyun<sup>1,4</sup>, and Hye-Jin Hwang<sup>1,2,4\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, <sup>2</sup>Donggeui Food Research Institute, <sup>3</sup>Dept. of Oriental Medicine, and  
<sup>4</sup>Blue-Bio Industry Regional Innovation Center, Donggeui University, Busan 614-714, Korea

#### Abstract

The purpose of this study was to investigate antioxidant enzyme activity and vitamin E concentration in Sprague-Dawley rat after being fed various extracts of *Hizikia fusiforme*. There were six experimental groups: control group (C), *H. fusiforme* ethanol extract group (EtOH), *H. fusiforme* dichloromethane fraction group (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), *H. fusiforme* ethylacetate fraction group (EtOAc), *H. fusiforme* butanol fraction group (n-BuOH), *H. fusiforme* water fraction group (H<sub>2</sub>O). *H. fusiforme* extracts (400 mg/kg B.W) were orally administrated to the rats every day for 4 weeks. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px), and concentrations of malondialdehyde (MDA) and vitamin E in the liver and blood were measured. The activity of SOD in the liver was significantly higher in the CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O groups (p<0.05) than in the control and other extract groups. The SOD activity in serum increased significantly in all *H. fusiforme* groups (p<0.05) compared to the control group and it was also significantly higher in the EtOH and H<sub>2</sub>O groups (p<0.05) than in other extract groups. The serum catalase activity increased significantly in the n-BuOH group (p<0.05) compared to the control and other extract groups. The plasma MDA concentration decreased significantly in the n-BuOH and H<sub>2</sub>O group (p<0.05) compared to the control group. Serum concentration of α-tocopherol showed no significant differences in most of the experimental groups, but it was significantly higher in the EtOAc group (p<0.05). The α-tocopherol concentrations in the liver showed a significant increase in the CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O groups (p<0.05) compared to the control and other extract groups. The liver γ-tocopherol concentrations in *H. fusiforme* extract groups showed a tendency to increase compared to the control group and it was significantly higher in the H<sub>2</sub>O group (p<0.05) than in other extract groups. These results suggest that supplementation of water extracts of *H. fusiforme* extract could be effective in improving the antioxidant system.

**Key words:** *Hizikia fusiforme*, SOD, catalase, GSH-Px, MDA, α-tocopherol, γ-tocopherol

#### 서 론

최근 건강과 노화에 대한 관심이 증대되면서 천연물을 이용한 기능성소재의 생리활성물질에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있다. 특히 자유라디칼을 생성시키는 환경인자와 독성물질의 노출이 점차적으로 증가되면서 체내 활성산소의 발생 가능성이 높아지고 있다. 자유라디칼은 superoxide anion과 hydroxyl radical 같은 활성산소종의 산화적 대사산물로, 생체막의 지질과산화물을 일으켜 생체막을 변질시킴으로써 세포의 노화와 유해물질의 생성을 촉진하며, 심혈관계 질환과 암 발병 등 여러 가지 질병의 주요 원인으로 알려져 있다(1). 다행히 우리 체내에는 생성된 자유라디칼을 제거하

는 항산화 효소나 항산화 물질을 이용한 생체 방어시스템이 발달하였다. 체내의 항산화계로는 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase(GSH-Px)와 비효소적 항산화계인 glutathione(GSH), vitamin E, vitamin C, β-carotene, Se, Cu, Fe, Zn, Mn 등을 들 수 있다(2). 생체 방어기전 증진을 위해서는 항산화 물질이 함유된 식품을 공급함으로써 자유라디칼에 대한 생체 방어계를 계속적으로 유지할 수 있어야 한다(3). 천연물질 중에는 여러 가지 산화방지 작용을 가진 물질이 많이 존재하며, 특히 해양생물은 육상생물에 없는 특유의 대사과정과 독특한 환경으로 인하여 다양한 신규 생리활성물질의 탐색 가능성을 가지고 있다. 또한 육상생물은 이미 많은 연구가 진행되었으나

\*Corresponding author. E-mail: hhj2001@deu.ac.kr  
Phone: 82-51-890-1594, Fax: 82-51-890-1579

해양생물은 아직 제한된 연구로 인하여 미지의 천연물질의 개발에 대한 기대가 높은 편이다(4). 해조류는 오래 전부터 우리나라를 비롯한 극동지역에서 중요한 식품자원으로 이용되어 왔는데, 식용해조류는 육상식물과는 다른 환경으로 인하여 생체 내 2차 대사산물의 화학구조가 매우 독특하며, 해양천연물의 2차 대사산물은 생리기능이나 생태계의 제어에 매우 중요한 생리활성물질들을 함유하고 있다(5). 해조류의 성분 조성을 보면 일반성분 중 40~65% 정도가 탄수화물로 이루어져 있고(6), 이들 탄수화물 대부분은 육상식물에서는 분포가 적은 독특한 구조로 이루어진 점질성 다당류이다(7).

뚝(*Hizikia fusiforme*)은 갈조식물(*Phaeophyta*) 모자반과의 바닷말로 우리나라의 서해안, 남해안 및 제주도에 서식하는 천연자원식물이다(8). 뚝은 식이섬유소가 풍부하고 면역개선작용 등의 생체조절 기능성이 있는 것으로 알려진 라미나란(laminaran)과 함황산성 다당류인 푸코이단(fucoidan)이 다량 함유되어있다(9,10). 뚝에 대한 연구는 미생물번식 억제 효과(11), 혈액응고 저해(12,13), 지질대사 개선 효과(14) 및 항산화 효과(15-17), 항암효과(18,19) 등에 대한 보고가 있으나, 추출용매에 따른 체내대사에 미치는 영향을 본 연구는 희박하다. 따라서 본 연구에서는 천연자원 식용 해조류인 뚝의 에탄올 추출물을 용매의 극성에 따라 분획하여 흰쥐에 경구투여한 후 항산화체계 및 비타민 E 농도에 미치는 영향을 알아보려고 연구하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물 및 식이섭취

실험동물은 생후 6주령의 수컷 Sprague-Dawley를 구입하여 고형기초사료로 일정한 조건(온도 22±2°C, 습도 45~55%, 명암: 12시간 light/dark cycle)에서 일주일간 적응시킨 후, 난괴법으로 대조군(C), 뚝 에탄올(EtOH)층 분획물 투여군, 뚝 다이클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)층 분획물 투여군, 뚝 에틸아세테이트(EtOAc)층 분획물 투여군, 뚝 노르말부탄(n-BuOH)층 분획물 투여군, 뚝 수(H<sub>2</sub>O)층 분획물 투여군의 6군으로 나누었다(n=8). 뚝 추출물은 건조된 뚝을 감압추출농축장치로 에탄올 추출물을 얻어 계층 분획한 뒤 여과 후 회전진공농축기로 45°C에서 감압농축 하여 각각의 분획물을 얻었고(Fig. 1), 뚝 추출물은 0.9% 생리식염수로 희석한 후 동물실험에 사용하였다. 뚝 추출물 투여량은 Ko 등(17)의 연구에 근거하여 400 mg/kg B.W./day의 농도가 되도록 하였고 1일 1회 일정한 시간에 Magen sonde를 이용하여 1 mL 씩 경구투여 하였다.

#### 시료채취

모든 실험동물은 채혈 12시간 전 금식시킨 뒤 마취제 에틸에테르를 이용하여 마취시켜 희생하였다. 마취된 실험동물은 해부판에 사지를 고정시키고, 70% 알코올 분무기로 복부

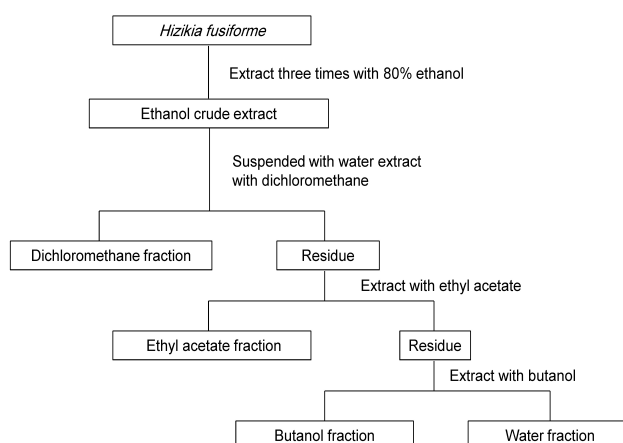


Fig. 1. Fractionation procedure of *Hizikia fursiforme*.

를 분무한 뒤 심장 천자법으로 채혈하였다. 채혈 후에는 실험동물을 개복하여 간을 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정 후 -70°C deep freezer에서 냉동 보관하였다.

#### 항산화효소 활성과 지질과산화물 측정

**간조직과 혈액 준비:** 간조직은 PBS[(phosphate buffered saline) 137 mM NaCl, 10 mM Phosphate, 2.7 mM KCl, pH 7.4]로 혈액 제거 후 lysis buffer[250 mM Tris-Cl(pH 7.5), 250 mM NaCl, 5 mM EDTA, 1% NP-40, 1 mM phenyl-methylsulfonyl fluoride(PMSF), 5 mM dithiothreitol(DDT)]를 첨가하여 균질화 시킨 다음, 4°C에서 14,000 rpm으로 20분간 원심분리 하여 그 상층액을 분리하였다. 분석 전까지 -70°C deep freezer에서 냉동 보관하였다. 채혈된 혈액을 원심분리관에 넣어 실온에서 30분간 응고시킨 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였다. 혈장은 혈액을 EDTA(ethylene diamintetraacetate)가 들어있는 conical tube에 담아 잘 섞은 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리기로 분리하여 분석 전까지 -70°C deep freezer에서 냉동 보관하였다.

**항산화효소 활성 측정:** 샘플 분석을 위해 동결시킨 혈청과 간 조직 분쇄액을 실온에서 서서히 녹인 후 분석하였다. 혈청은 샘플버퍼로 1:5로 희석시켜 사용하였다. Superoxide dismutase(SOD) 활성은 superoxide dismutase assay kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA)를 이용하여 측정하였다. Standard well과 sample well에 희석된 radical detector 200 µL를 첨가한 후 각 well에 SOD standard 10 µL 및 sample 10 µL씩 넣었다. 모든 well에 xanthine oxidase 20 µL를 신속하게 혼합하여 plate를 3~4초 동안 흔들어진 후 plate cover를 덮고 실온에서 20분간 배양시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청과 간조직의 catalase 활성은 catalase assay kit (Cayman Chemical Company)를 사용하여 분석하였다. Standard well, control well과 sample well에 각각 assay buffer

100  $\mu$ L, methanol 30  $\mu$ L을 첨가한 후 각 샘플 20  $\mu$ L을 첨가하였다. 이후 hydrogen peroxide 20  $\mu$ L을 신속하게 혼합하여 plate를 실온에서 20분간 섞어주고 potassium hydroxide 30  $\mu$ L을 첨가하여 반응시킨 후 purpald 30  $\mu$ L을 각 well에 넣고 실온에서 10분간 배양하고, potassium periodate 10  $\mu$ L을 넣은 후 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.

혈장과 간조직의 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성은 glutathione peroxidase assay kit(Cayman Chemical Company)를 이용하여 측정하였다. Glutathione이 cumene hydroperoxide 혹은  $H_2O_2$ 와 반응하여 산화형 glutathione(GSSG)이 형성되고 GSSG가 NADPH를 산화시키면서 GSH로 환원되므로 340 nm에서 NADPH 환원량을 측정하여 계산하였다. 샘플 분석을 위해 동결시킨 혈장과 간 조직 분쇄액을 실온에서 서서히 녹인 후 분석하였다. Sample well에 assay buffer 100  $\mu$ L, co-substrate mixture 50  $\mu$ L 및 sample 20  $\mu$ L를 첨가한다. 이후 cumene hydroperoxide 20  $\mu$ L를 신속하게 첨가한 후 몇 초간 섞어 96 well plate를 이용하여 340 nm에서 1분 간격으로 5차례 측정하였다.

**Malondialdehyde(MDA) 농도 측정:** 혈장과 간조직 분쇄액을 malondialdehyde kit(Oxis research)를 이용하여 측정하였다. Probuco 10  $\mu$ L을 각 튜브에 넣고 샘플을 200  $\mu$ L 첨가한 후 reagent R1(N-methyl-2-phenylindole, in acetonitrile)을 640  $\mu$ L을 첨가하여 3~4초 동안 회전시켰다. 이후 reagent R2(concentrated hydrochloric acid)를 150  $\mu$ L 첨가하여 혼합시킨 후 60분 동안 45°C에 배양하고 원심분리기를 이용하여 상층액을 얻은 후 큐벳으로 옮겨 586 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.

#### 비타민 E 농도 측정

**Chemical reagents:** 모든 유기용매는 HPLC grade를 사용하였으며, 사용 전에 organic solvent용인 0.5  $\mu$ L membrane filter(Waters, Millipore, MA, USA)로 여과한 후 degasing하여 사용하였다. Tocopherol은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Tocopherol은 -70°C에서 보관하였으며, 자외선이 차단된 상태에서 취급하였다.

**혈청과 간조직의 tocopherol 추출:** 200  $\mu$ L의 혈청에 internal standard인 tocol과 echinenone을 150  $\mu$ L 넣고, absolute ethanol 2.5 mL을 가하여 잘 섞은 후, 70°C water bath에서 2분간 가열하였다. 이 혼합액에 항산화 영양소인 25% Na-ascorbate 0.5 mL과 5% NaOH 1 mL을 가한 후 70°C water bath에서 30분간 가열한다. 가열이 끝나면 식힌 후에 증류수 0.5 mL과 hexane 5 mL을 가하고 2분간 vortex하였다. 3200 rpm, 35분간 원심 분리하여 상층액(hexane층)을 3.5 mL을 취하여 질소가스를 이용해 40°C에서 건조시켰다. 직사광선을 피한 상태에서 HPLC용 ethanol 100  $\mu$ L를 가하여 vortex mixer로 잘 섞은 후, 그중 30  $\mu$ L를 취하여 HPLC system에 주입하여 분석하였다. 이 모든 실험 과정은 자외

선이 차단된 상태에서 실시하였다. 간조직은 0.4 g의 간 조직을 e-tube에 넣고 잘게 chopping한 후, homogenate을 하여 균질액을 만들어 0.5 mL을 취한 후 혈청과 같은 방법으로 전 처리하였다.

**High performance liquid chromatography(HPLC):** HPLC system은 reverse phase system으로써 2개의 Waters 510 pumps(Waters), WISP 710 auto sampler, Waters 991 photodiode array detector, C18 Novapark 3.9 $\times$ 15 cm column(Waters)으로 구성하였고, mobile phase는 solvent A( $CH_3CN$ : THF : d- $H_2O$ =50:20:30, v/v/v)와 solvent B( $CH_3CN$ : THF : d- $H_2O$ =50:44:6, v/v/v)를 이용하였다. Flow rate는 1.2 mL/min이었으며, gradient procedure는 처음 10분 동안 100% solvent A에서 100% solvent B로 전환시키고 그 후 6분 동안 solvent B를 통과시키고 난 후, 4분 동안 100% solvent A로 전환하였다. 그리고 2분 동안 solvent A를 통과시키면서 equilibrium을 유지시켰다. Waters 991 photodiode array detector는 tocopherol 분석을 위해서 292nm에 setting하여 분석하였다.

Tocopherol의 peak 규명을 위해 이들 각각의 standard를 HPLC로 분석하여 retention time을 구하였고, serum extract로부터 이들 각각의 retention time에 대응되는 peak에는 standard를 첨가하여 동일 peak임을 확인하였다. 또한 UV spectrum을 이용하여 각각의 peak에 대한 maximum absorbance를 측정하여 각각의 물질을 재확인하였다.

#### 자료처리

본 실험의 모든 결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS(ver. 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program을 이용하였다. 각 군에 따른 유의성 검증은 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 한 후,  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

#### 툇 추출물 투여에 따른 항산화효소 활성 변화

흰쥐에 용매에 따른 툇 분획물을 4주간 경구투여 후 간과 혈청에서 SOD 활성을 측정하여 Table 1에 나타내었다. 간에서의 SOD 활성은 대조군에 비해 툇 추출물 투여군에서 높게 나타났고, 툇 추출물 투여군 중  $CH_2Cl_2$ 군과  $H_2O$ 군의 활성이 다른 군보다 유의적으로 높게 나타났다( $p<0.05$ ). 혈청에서의 SOD 활성도 역시 대조군에 비해 툇 추출물 투여군에서의 SOD 활성은 유의적으로 높았고( $p<0.05$ ), 특히 EtOH군과  $H_2O$ 군이 높은 활성을 나타냈다. SOD는 반응성이 높으며 독성을 유발하는 라디칼인 superoxide anion radical을 과산화수소로 전환시키는 역할을 담당하는 매우 효과적인 항산화 효소이고 catalase는 지방의 자동산화와 유기물의 산화 및 SOD에 의해 생성된 과산화수소를 GSH-Px와 함께

Table 1. Superoxide dismutase (SOD) and catalase activities of the liver and serum in the experimental groups (U/mL)

Groups <sup>1)</sup>	SOD		Catalase	
	Liver	Serum	Liver	Serum
Control	2.67±0.98 <sup>2)bc3)</sup>	6.58±0.73 <sup>c</sup>	120.64±7.84 <sup>NS4)</sup>	75.44±12.69 <sup>b</sup>
EtOH	3.73±1.40 <sup>ab</sup>	16.12±2.91 <sup>a</sup>	116.64±10.26	73.61±16.12 <sup>b</sup>
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	4.59±1.59 <sup>a</sup>	13.06±3.42 <sup>ab</sup>	117.38±11.94	77.35±9.37 <sup>b</sup>
EtOAc	4.33±1.58 <sup>ab</sup>	11.77±3.29 <sup>b</sup>	120.39±10.85	65.43±21.20 <sup>b</sup>
n-BuOH	3.33±0.74 <sup>ab</sup>	11.20±1.47 <sup>b</sup>	116.55±5.34	98.23±23.05 <sup>a</sup>
H <sub>2</sub> O	4.55±1.31 <sup>a</sup>	14.42±2.34 <sup>a</sup>	120.51±10.22	83.09±11.52 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Control: control, EtOH: ethanol extract of *Hizikia fusiforme*, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: dichloromethane fraction of *Hizikia fusiforme*, EtOAc: ethyl acetate fraction of *Hizikia fusiforme*, n-BuOH: n-butanol fraction of *Hizikia fusiforme*, H<sub>2</sub>O: water fraction of *Hizikia fusiforme*.

<sup>2)</sup>All values are mean±SD, n=8.

<sup>3)</sup>Values with the different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range at p<0.05

산소나 물로 분해하여 배설시킴으로써 유리기로부터 조직의 손상을 방어하는 효소이다(20,21). 간 조직에서의 catalase 활성은 대조군과 뚝 추출물 투여군 간의 유의적인 차이는 보이지 않았으며, 혈청의 catalase 활성도는 n-BuOH군에서의 활성이 유의적으로 높았다(p<0.05).

Table 2에 나타난 간 조직의 GSH-Px 활성은 대조군보다 뚝 추출물 투여군(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>> EtOAc> n-BuOH, H<sub>2</sub>O, EtOH)에서 유의하게 증가하였다(p<0.05). 혈장에서는 대조군과 비교했을 때 뚝 추출물 투여군에서 증가하는 경향은 보였으나 유의한 차이는 보이지 않았다. 뚝 에탄올 추출물의 항산화 효소 활성에 관한 연구를 보면, 뚝 추출물이 알코올을 투여한 흰쥐의 간조직 손상에 미치는 영향을 알아본 결과 뚝 에탄올 추출물은 에탄올에 의해 증가된 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성을 낮추었다고 보고하여 본 실험결과와 상반된 결과를 보였다(17). 또한 강력한 항산화 물질로 잘 알려져 있는 비타민 C와 뚝의 분획물의 항산화력을 분석한 결과(22), 뚝 추출물은 비타민 C의 양에 대비하여 1.958 nmol의 높은 활성을 나타냈으며, 뚝의 각 분획층에서는 부탄올 층이 2.858 nmol의 높은 효과를 나타내었다고 보고하였다. 추출 용매에 따른 항산화효과의 차이를 본 연구를 보면 Cho 등(23)은 고콜레스테롤 흰쥐에 민들레잎 추출물을 분획별로 나누어 급여하고 간조직의 SOD 활성을 대조군과 비교 시 추출물 급여에 의하여 유의적으로 감소되었으나 분획간의 차이가 없었다고 보고하였는데, 본 연구에서는 대조군에 비

해 뚝 추출물 투여군에서 유의적으로 활성이 증가한 것은 유사하나 뚝 추출물 투여군 간의 차이가 있었다. Kwon 등(24)은 밤 껍질의 용매 분획별 항산화성을 연구한 결과 ethyl acetate 및 diethyl ether 획분이 α-tocopherol보다 우수한 활성을 보여 천연 항산화제로서 이용성이 크다고 보고한 바 있다. Yan 등(25)도 DPPH 라디칼 소거능 실험에서 일본의 10여 종류의 해조류 중 뚝의 활성이 65%로 가장 우수하여 뚝이 뛰어난 항산화활성 해조류임이 보고되었다. 또한 뚝으로부터 분리한 대식세포 활성화 물질에 관한 연구에 의하면 해조류 7종(뚝, 모자반, 다시마, 미역, 돌김, 곰피, 파래)에 대한 대식세포 활성을 검색한 결과 100 µg/mL의 농도에서 뚝이 180%로 가장 높은 활성을 보였다고 보고하였다(26). 뚝에 관한 연구는 주로 일본에서 많이 이루어졌으며, 과거 한국에서의 뚝에 대한 연구는 양식을 위한 배양 조건이나 화학적 특성에 미치는 연구(27,28), 식이섬유소 함량 조사 등(29)의 실험이 행해져 왔으나 최근에는 뚝의 생리활성 기능에 대한 연구로 항산화활성이나 항암활성 및 면역능력 조절 등 다방면에서 연구가 진행되고 있다.

뚝 추출물 투여에 따른 지질과산화 농도 변화

지질과산화 반응은 자유기에 의해 세포막지질의 불포화 지방산들이 산화적 분해를 일으키는 것으로 MDA 농도가 그 지표가 되고 있다(30). Table 3에 제시된 간 조직에서의 MDA 농도는 대조군과 뚝 추출물 투여군 간에 유의한 차이가 없었고, 혈장에서의 MDA 농도는 대조군과 비교하여 뚝

Table 2. Glutathione peroxidase (GSH-Px) activities of the liver and plasma in the experimental groups (nmol/min/mL)

Groups <sup>1)</sup>	Liver	Plasma
Control	126.12±47.35 <sup>2)bc3)</sup>	27.95±17.84 <sup>NS4)</sup>
EtOH	240.95±65.93 <sup>b</sup>	44.42±5.96
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	346.55±25.65 <sup>a</sup>	41.60±13.35
EtOAc	305.99±90.75 <sup>ab</sup>	40.04±16.30
n-BuOH	255.57±26.92 <sup>b</sup>	44.77±7.89
H <sub>2</sub> O	243.66±48.21 <sup>b</sup>	35.96±4.43

<sup>1)</sup>Group: Refer to Table 1.

<sup>2)</sup>All values are mean±SD, n=8.

<sup>3)</sup>Values with the different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range at p<0.05.

<sup>4)</sup>Not significant.

Table 3. Malondialdehyde concentrations of the liver and plasma in the experimental groups (µM)

Groups <sup>1)</sup>	Liver	Plasma
Control	3.78±0.58 <sup>2)NS3)</sup>	2.84±0.59 <sup>a4)</sup>
EtOH	3.65±1.17	2.49±0.09 <sup>ab</sup>
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3.62±0.65	2.61±0.10 <sup>ab</sup>
EtOAc	4.20±1.29	2.77±0.32 <sup>a</sup>
n-BuOH	3.66±1.05	2.30±0.38 <sup>b</sup>
H <sub>2</sub> O	3.77±0.90	2.22±0.37 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Group: Refer to Table 1.

<sup>2)</sup>All values are mean±SD, n=8.

<sup>3)</sup>Not significant.

<sup>4)</sup>Values with the different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range at p<0.05.

Table 4. Vitamin E concentrations of the serum and liver in the experimental groups

Groups <sup>1)</sup>	Serum (µg/mL)		Liver (µg/g)	
	α-Tocopherol	γ-Tocopherol	α-Tocopherol	γ-Tocopherol
Control	21.22±7.50 <sup>2)bc3)</sup>	6.20±3.60 <sup>ab</sup>	29.67±2.73 <sup>2)bc3)</sup>	4.98±1.84 <sup>b</sup>
EtOH	29.89±7.97 <sup>b</sup>	4.34±1.29 <sup>b</sup>	18.37±3.12 <sup>b</sup>	5.46±2.0 <sup>b</sup>
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	28.97±13.76 <sup>b</sup>	7.03±1.54 <sup>ab</sup>	48.37±20.95 <sup>a</sup>	9.05±0.07 <sup>ab</sup>
EtOAc	46.04±18.01 <sup>a</sup>	11.61±7.55 <sup>ab</sup>	27.27±2.18 <sup>b</sup>	13.98±6.51 <sup>ab</sup>
n-BuOH	33.29±1.80 <sup>b</sup>	9.34±5.64 <sup>ab</sup>	16.19±3.08 <sup>b</sup>	5.43±1.52 <sup>b</sup>
H <sub>2</sub> O	22.60±5.60 <sup>b</sup>	13.78±11.31 <sup>a</sup>	48.72±15.22 <sup>a</sup>	16.93±5.39 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Group: Refer to Table 1.

<sup>2)</sup>All values are mean±SD, n=8.

<sup>3)</sup>Values with the different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range at p<0.05.

추출물 투여 시 감소하는 경향을 보였으며, n-BuOH군과 H<sub>2</sub>O군에서는 유의적으로 낮았다(p<0.05). 톳 에탄올 추출물에 따른 간에서의 지질과산화물의 농도를 본 Ko 등(17)의 연구에서는 체중당 200 mg, 400 mg 투여한 결과 간에서 각각 34%, 56%의 감소되었음이 관찰된 바 있고, Jung 등(14)의 연구에서도 톳 추출물의 투여 시 대조군에 비해서 간의 지질과산화물 농도가 낮게 나타나 본 연구와 차이를 나타내었다. 본 연구에서는 간에서는 톳 추출물에 따른 지질과산화물의 영향을 받지 않았지만 혈장에서는 그 농도를 감소되는 것으로 나타났고, 톳 추출물 중에서도 특히 n-BuOH과 H<sub>2</sub>O 분획물이 지질과산화 억제 효과가 두드러짐을 알 수 있었다.

#### 톳 추출물 투여에 따른 비타민 E 농도 변화

비타민 E(tocopherols)는 대표적인 항산화 비타민으로 반응성이 크고 유해한 활성산소와 같은 유리기와 먼저 반응하여 안정성을 유지하는데 중요한 역할을 하며 생체 내 다른 주요한 화합물이 유리되는 연쇄반응을 차단하는 역할을 한다(31). 이는 singlet oxygen과 반응하여 생체막을 효과적으로 보호할 수 있고, hydroxyl radical과도 빠르게 반응하며, 생체막에서 peroxy radical이나 alkoxy radical과 반응하여 수소원자를 제공함으로써 지질과산화의 연쇄 반응을 종결시켜 항산화 작용을 하는데 이러한 항산화 효과는 구조에 따라 다르다(32,33). Table 4에 나타난 혈청의 α-tocopherol 농도 값은 EtOAc군에서 유의적으로 높았고(p<0.05) 나머지 그룹 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 혈청 γ-tocopherol 농도 값은 H<sub>2</sub>O군에서 증가되는 경향을 나타내었으며 EtOH군과는 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 간 조직의 α-tocopherol 농도는 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>군과 H<sub>2</sub>O군에서는 유의적으로 높았으나(p<0.05), 나머지 그룹 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았고, γ-tocopherol 농도는 대조군에 비해 톳 추출물 투여군(H<sub>2</sub>O> EtOAc> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>> EtOH> n-BuOH)에서 증가하는 경향을 보였고, H<sub>2</sub>O군에서 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 이상의 결과로 볼 때 톳 추출물 투여에 따른 비타민 E의 농도 변화는 항산화효소의 경우처럼 대조군과의 차이가 뚜렷이 나타나지는 않았으나, 톳의 추출용매에 따라서는 서로 다른 변화를 나타내었으며, 특히 H<sub>2</sub>O군에서 대조군에 비해 비타민 E의 농도가 증가되어 항산화체계

를 증진시키는 것으로 나타났다.

#### 요 약

본 연구는 용매의 극성에 따른 톳 분획물을 흰쥐에게 4주간 경구투여한 후 톳의 항산화효소 활성 및 비타민 E 농도 차이를 평가하여 톳 추출물이 체내의 항산화체계에 미치는 영향을 평가하였다. 간에서의 SOD 활성은 대조군에 비해 톳 추출물 투여군에서 높게 나타났으며, 톳 추출물 투여군 중 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>군과 H<sub>2</sub>O군의 활성이 유의하게 높았다(p<0.05). 혈청에서의 SOD 활성은 대조군에 비해 톳 추출물 투여군에서 유의적으로 높으며(p<0.05). 특히 EtOH 군과 H<sub>2</sub>O군에서 높은 활성을 보였다. 간에서의 catalase 활성은 대조군과 톳 추출물 투여군 간의 유의적인 차이가 없었고 혈청에서는 대조군과 톳 추출물 투여군 간의 비슷한 경향을 보였지만 톳 추출물을 투여한 n-BuOH 군에서는 유의적으로 효소 활성이 높았다(p<0.05). 간에서의 GSH-Px 활성을 측정된 결과 대조군보다 톳 추출물 투여군에서 유의하게 증가하였으나(p<0.05), 간에서의 MDA 농도는 대조군과 톳 추출물 투여군 간에 유의한 차이가 없었으며 혈장에서의 MDA 농도는 대조군과 비교하여 톳 추출물 투여군에서 감소하는 경향을 보였고, n-BuOH군과 H<sub>2</sub>O군에서는 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 혈청 α-tocopherol 농도 값은 EtOAc군에서 유의적으로 높았으나(p<0.05) EtOAc군을 제외하고는 그룹 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 혈청 γ-tocopherol 농도 값은 H<sub>2</sub>O군에서 증가되는 경향을 나타내었고 EtOH 군과는 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 간 조직의 α-tocopherol 농도 값은 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>군과 H<sub>2</sub>O군에서는 유의적으로 높았으나(p<0.05), 나머지 그룹 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간 조직 γ-tocopherol 농도는 대조군에 비해 톳 추출물 투여군에서 증가하는 경향을 보였고, 특히 H<sub>2</sub>O군에서 유의적으로 높은 농도를 나타내었다(p<0.05). 이상의 결과로 볼 때 톳 추출물 중 특히 H<sub>2</sub>O 분획물의 효과가 두드러졌으며, 톳 추출물의 투여가 항산화체계에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

## 감사의 글

이 연구는 지식경제부·부산광역시 지원 지역혁신센터사업(RIC08-06-07) 동의대학교 블루바이오 소재 개발 및 실용화 지원 센터의 지원으로 이루어졌습니다.

## 문헌

- Hammond B, Kontos A, Hess ML. 1985. Oxygen radicals in the adult respiratory distress syndrome in myocardial ischemia and reperfusion injury, and in cerebral vascular damage. *Can J Physiol Pharmacol* 63: 173-187.
- Cao GHM, Culter RG. 2002. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biol Med* 14: 303-311.
- Chung SY. 1997. Antioxidant nutrients and related biological activities of green yellow juice. *PhD Dissertation*. Yonsei University, Seoul, Korea.
- Park JC, Choi JW. 1996. Screening of marine natural products on inhibitory effect of the formation of lipid peroxidation. *Kor J Pharmacogn* 27: 117-122.
- Oh KL. 1997. Screening for the antioxidants from marine algae and separation of effective compounds from *Hizikia fusiforme*. *MS Thesis*. Jeju National University, Jeju, Korea.
- Amano H. 1991. Biochemistry and biotechnology of seaweed. In *Marine Biochemistry*. Yamaguchi K, ed. Tokyo University Press, Tokyo, Japan. p 170-171.
- Mackie W, Preston RD. 1974. Cell wall and intercellular region poly-accharides. In *Algal Physiology and Biochemistry*. Stewart WD, ed. Blackwall Scientific Publications Ltd., Oxford, UK. p 58-75.
- JS Cho. 1988. *Food materials*. Gijeon. Seoul, Korea, p 336-336.
- Hurch FC, Meade JB, Treanor RE, Whinna HC. 1989. Antithrombotic activity of fucoidin with heparin cofactor II, antithrombin III and thrombin. *J Biol Chem* 6: 361-375.
- Kim KI, Seo HD, Lee HS, Jo HY, Yang HC. 1998. Studies on the blood anticoagulant polysaccharide isolated from hot water extracts of *Hizikia fusiforme*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1204-1210.
- Lim SB, Kim SH, Ko YH, Oh CK. 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.
- Koo JG, Choi YS, Kwak JK. 2001. Blood-anticoagulant activity of fucoidans from sporophylls of *Unbaria pinnatifida*, *Laminaria religiosa*, *Hizikia fusiforme* and *Sargassum fulvellum* in Korea. *J Fish Soc* 34: 515-520.
- Yoon JA, Yu KW, Jun WJ, Cho HY, Son YS, Yang HC. 2000. Screening of anticoagulant activity in the extracts of edible seaweeds and optimization of extraction condition. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1098-1106.
- Jung BM, Ahn CB, Kang SJ, Park JH, Chung DH. 2001. Effects of *Hizikia fusiforme* extraction lipid metabolism and liver anti-oxidative enzyme activities in triton-induced hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1184-1189.
- Ryu BH, Kim DS, Cho KJ, Sin DB. 1989. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korean J Food Sci Technol* 21: 595-600.
- Park KE, Jang MS, Lim CW, Kim YK, Seo YG, Park HY. 2005. Anti-oxidant activity on ethanol extract from boiled-water of *Hizikia fusiformis*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 435-439.
- Ko MS, Shin KM, Lee MR. 2002. Effect of *Hizikia fusiformis* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 87-91.
- Bea SJ. 2004. Anticarcinogenic effects of *Sargassum fulvellum* fractions on several human cell lines in vitro. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 480-486.
- Kim SA, Kim J, Woo MK, Kwak CS, Lee MS. 2005. Anti-mutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 451-459.
- Keen CL, Amura T, Lonnerdal B, Hurlry LS, Halsted CH. 1985. Changes in hepatic superoxide dismutase activity in alcoholic monkey. *Am J Clin Nutr* 41: 929-932.
- Deisseroth A, Dounce AL. 1970. Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol Rev* 50: 319-375.
- Kim JY. 2004. Studies on the biological activity and estrogenicity of *Hizikia fusiforme*. *MS Thesis*. Silla University, Busan, Korea.
- Cho SY, Oh YJ, Park JY, Lee MK, Kim MJ. 2003. Effect of dandelion (*Taraxacum officinale*) leaf extracts on hepatic antioxidative system in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 458-463.
- Kwon EJ, Kim YC, Kwon MS, Kim CS, Kang WW, Lee JB, Chung SK. 2001. Antioxidative activity of solvent fraction and isolation of antioxidant compound from chestnut husk. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 726-731.
- Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hizikia fusiformis* a common edible seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 605-607.
- Lee EY. 1998. The research about the macrophage activation substance separated from the *Hizikia fusiformis*. *MS Thesis*. Korea University, Seoul, Korea.
- Hwang EK, Park CS, Son CH. 1997. Conditions on the early growth of *Hizikia fusiformis*. *Bull Fisheries Soc* 10: 199-211.
- Koo JG, Jo JS, Do JR, Park JH, Yang CB. 1995. Chemical properties of fucoidans from *Hizikia fusiformis* and *Sargassum fulvellum*. *Bull Fisheries Soc* 28: 659-666.
- Do JR, Kim EM, Koo JG, Jo KS. 1997. Dietary fiber contents of marine algae and extraction condition of the fiber. *Bull Fisheries Soc* 30: 291-296.
- Sumida S, Tanaka K, Kotao H, Nakadomo F. 1989. Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int J Biochem* 21: 835-838.
- Papas AM. 1996. Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids* 31: S77-S82.
- Buring JE, Hennekens CH. 1997. Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. *Nutrition Review* 55: S53-S60.
- Charleux JL. 1996. Beta-carotene, vitamin C, and vitamin E, the prospective micronutrients. *Nutrition Review* 54: S109-S114.

(2011년 9월 23일 접수; 2011년 11월 1일 채택)