

미역으로부터 후코산틴 추출 및 후코산틴 안정성

신수철* · 안명원 · 이정식** · 김영숙** · 박권필†

순천대학교 화학공학과
540-742 전남 순천시 매곡동 315
*순천대학교 식품공학과
540-742 전남 순천시 매곡동 315
**(주)해림후코이단
537-801 전남 완도군 완도읍 가용리 1088-8
(2012년 8월 6일 접수, 2012년 9월 5일 채택)

Extraction of Fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* and Stability of Fucoxanthin

Soo Cheol Shin*, Myeong Won Ahn, Jung Shik Lee**, Young Suk Kim** and Kwon Pil Park†

Department of Chemical Engineering, Sunchon National University, 315 Maegok-dong, Suncheon, Jeonnam 540-742, Korea

*Department of Food Engineering, Sunchon National University, 315 Maegok-dong, Suncheon, Jeonnam 540-742, Korea

**Haerim Fucoidan Ltd, 1088-8 Gayong-ri, Wando-eup, Wando-gun, Jeonnam 537-801, Korea

(Received 6 August 2012; accepted 5 September 2012)

요 약

미역에서 후코산틴을 추출하는 공정과 후코산틴의 안정성에 대해 연구하였다. 본 연구에서는 후코산틴 추출물을 기능성 식품에 이용하기 위해 용매를 에탄올을 사용했다. 에탄올 농도가 80%일 때 후코산틴 추출 농도가 최고였다. 50 °C 까지 추출온도가 상승할 때 추출수율이 증가하였다. 원료를 5분간 물세척하여 후코산틴 중 염분농도를 약 94% 감소시켰다. 후코산틴이 70 °C에서 1일 저장 동안 30% 감소해, 70 °C 이상의 온도에서 열에 약함을 나타냈다. 그리고 빛 안정성 실험결과 후코산틴은 빛에도 매우 약함을 보였다.

Abstract – Extraction process of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* and stability of fucoxanthin was studied. In this study, to utilized extracted components as a functional food material, ethanol was used as a solvent. The maximum concentration of fucoxanthin was obtained when 80% ethanol solvent was used. The extraction yield of fucoxanthin increased as extraction temperature raised to 50 °C. Water washing of raw material for 5 minutes reduced the salt content about 94%. From the experiment that fucoxanthin content reduced by 30% for 1 day storage at 70 °C, it was demonstrated that fucoxanthin was thermal-unstable above 70 °C. And experimental result of light- stability showed that fucoxanthin was very unstable with light.

Key words: Fucoxanthin, *Undaria pinnatifida*, Extraction, Stability, Ethanol

1. 서 론

후코산틴은 주로 미역, 다시마 등의 갈조류(brown algae)에 존재하는 일종의 카로티노이드계 화합물이다. 일반적으로 카로티노이드는 지용성이며 공액 이중 결합에 의한 불포화도가 매우 높기 때문에 열, 빛, 화학약품 등에 약하다. 후코산틴은 C₄₂H₅₈O₆의 분자식을 가지며 구조는 Fig. 1과 같다.

카로티노이드는 식물이 빛을 통해 에너지를 생산하는 광합성 과정에서 빛 에너지를 포착하는 핵심적인 역할을 한다[1,2]. 이러한 카로티노이드의 주요한 특성은 산소와 쉽게 결합한다는 것인데, 이 때문에 카로티노이드 성분의 항산화작용이 주목받고 있다. 산소와 결

합하기 쉬운 후코산틴은 우리 신체에서 생성되는 해로운 활성산소와도 결합해 이를 제거시킨다는 것이다[3,4].

Fucoxanthin의 인체 내에서 기능들을 보면 항산화 작용[5,6], 후코이단과 비슷하게 항암작용[7-15] 그리고 항염기능[16]등 다양한 활성을 갖고 있다. 특히 후코산틴이 주목을 받게 된 것은 지방을 태워 비만을 예방해 주는 효과가 있다는 것이다[17-20]. 백색 지방세포, 특히 내장 지방 세포의 생성을 억제하고 이를 감소시키는 역할이다.

후코산틴은 일반적으로 아세톤으로 추출했으나 Wang 등[21]은 dimethyl sulfoxide가 아세톤보다 효과적인 용매라고 보고하였다. Kanazawa 등[22]은 후코산틴 추출 시 가열하면 추출수율이 상승하고 물 세척에 의해 염분 농도가 감소한다고 하였다. Rho 등[23]은 이산화탄소와 에탄올을 용매로 사용한 초임계추출에 의해 최적 후

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: parkkp@sunchon.ac.kr

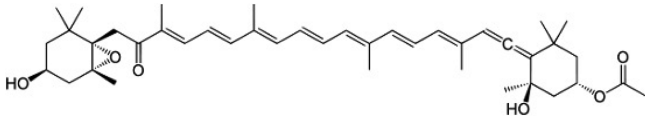


Fig. 1. Structure of fucoxanthin.

후코산틴 추출조건을 찾았다. Shang 등[24]은 기압액상방법(pressurized liquid method)에 의해 후코산틴을 추출하는 것을 모사하여 온도와 에탄올 농도가 추출수율에 제일 많은 영향을 주는 인자라 하고, 90% 에탄올 110 °C 온도가 최적조건이라고 하였다.

본 연구에서는 에탄올을 용매로 사용해 미역으로부터 후코산틴을 추출하는 최적조건을 찾는 실험을 하였다. 그리고 후코산틴의 안정성에 대해 보고된 내용이 거의 없는데 본 연구에서 후코산틴의 추출과 저장에 관련해 후코산틴의 안정성에 대해 연구하였다.

2. 실험

2-1. 후코산틴 추출

건조 미역으로부터 후코산틴 추출 과정은 분쇄, 체질, 추출, 여과, 농축과정으로 이뤄진다. 분쇄되지 않은 미역은 무게에 비해 부피가 크므로 에탄올에 잠기게 하려면 미역 무게의 약 10배의 많은 에탄올이 필요해, 에탄올 양을 감소시키기 위해 분쇄하는 것이 효과적이다. 입자가 작으면 작을수록 좋지만 분쇄의 어려움 등을 고려해 입자크기가 250 μm 이하인 미역을 체질에 의해 분리해 사용하였다.

준비한 미역 분말을 이용하여 최적의 후코산틴 수율을 얻는 조건에 관하여 실험하였다. 미역의 입자크기는 250 μm 이하로 하고 추출 온도(4~50 °C), 추출시간(0.5~40 hr), 추출용매 농도(70~99.5%), 추출압력(1~500 bar) 등의 추출조건에 따른 후코산틴의 수율을 측정하였다.

2-2. 분석

후코산틴 시약(Aldrich)을 99.5% 에탄올에 녹여 UV 분광광도계(Simadzu UV-1650PC)를 사용하여 최대 흡광도를 조사하였는데 454 nm에서 최대 흡광도를 나타내었다(Fig. 2). 그래서 후코산틴 표준시약 2.5 ppm에서 16 ppm까지 농도별로 454 nm에서 흡광도를 측정하여 검량곡선을 작성하였는데 검량곡선의 R^2 값이 0.99999로 매우 정확한 곡선을 얻고 이 검량 곡선에 의해 후코산틴의 농도 및 함량을 측정하였다. 후코산틴은 빛에 불안정하므로 후코산틴의 분석은 암실에서 진행되었다. 후코산틴 용액 중의 Na^+ 이온 농도는 ICP로 분석하였다.

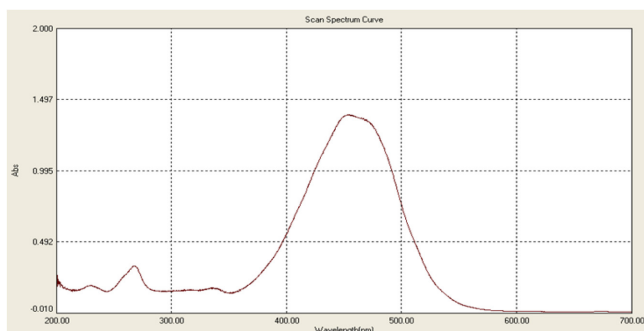


Fig. 2. UV spectra of fucoxanthin.

2-3. 안정성 실험

미역에서 추출한 후코산틴 추출액을 이용하여 후코산틴의 열안정성, 빛 안정성 및 산안정성에 대해 실험하였다. 에탄올 용액중에서 안정성을 파악하기 위해 후코산틴을 99.5% 에탄올에 의해 추출한 다음 각 온도(4~70 °C)에서 시간 경과에 따른 후코산틴 함량 변화를 측정하였다.

60 W 전등을 후코산틴 용액 전방 1 m 두고 시간 별로 후코산틴 함량 변화를 분석하여 후코산틴의 빛 안정성을 측정하였다.

후코산틴 에탄올 용액에 구연산을 가해 pH를 2~4로 맞춘 후 시간경과에 따른 후코산틴 함량 변화를 측정해 후코산틴의 산안정성을 측정하였다. 후코산틴의 열안정성과 산안정성 실험은 모두 암실에서 이뤄졌다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 후코산틴 추출

시료 무게 3배의 에탄올과 시료를 추출기에 넣고 2시간 동안 정지상태에서 후코산틴을 각 온도에서 추출하면서 후코산틴 농도를 측정한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 25 °C에서 40 °C까지 온도상승에 따라 후코산틴 추출수율이 급증하다, 40~50 °C에서 서서히 증가해 일정해 지는 경향을 보이고 있다. 온도 상승에 따른 물질 전달 계수의 증가에 의한 것으로 보인다. 에탄올의 비점이 78.3 °C이고 후코산틴이 열에 약하므로 50 °C에서 추출하는 것이 적합함을 확인하였다.

미역과 다시마 등 해조류는 알긴산, 후코이단 등 다당 물질을 함유하고 있는데 이 수용성 다당이 고분자로 점성이 강해 수용성 물질을 추출하는 공정을 어렵게 한다. 즉 산추출이나 열수로 해조류에서 수용성 물질을 추출 시 점성이 강해 물질 전달이 잘 안되어 추출과 여과 공정이 어려우므로 점성을 감소시키기 위해 가열이나 산을 첨가해야 한다. 고분자인 다당을 저분자화시켜 점성을 낮추는 것이다. 해조류에서 기능성 물질을 에탄올 등 유기용매로 추출 시는 이들 점성 물질이 빠져 나오지 않으므로 가열하거나 산분해를 하지 않고 상온에서 추출이 가능하다. 상온에서 추출할 경우에 추출시간을 정하기 위해 상온에서 후코산틴을 추출하면서 농도변화를 분석하였다(Fig. 4). 초기 6시간까지 후코산틴 농도가 빠르게 상승하다 이후 24시간까지 서서히 변하고 24시간에 정점에 도달한 이후 농도 변화가 없음을 보이고 있다. 50 °C에서 2시간 추출했을 때 0.35 mg/g (Fig. 3) 보다 높은 0.45 mg/g을 보여 상온 24시간 정지 추출 방법이 공정 시간은 길지만 효과적인 방법임을 확인하였다.

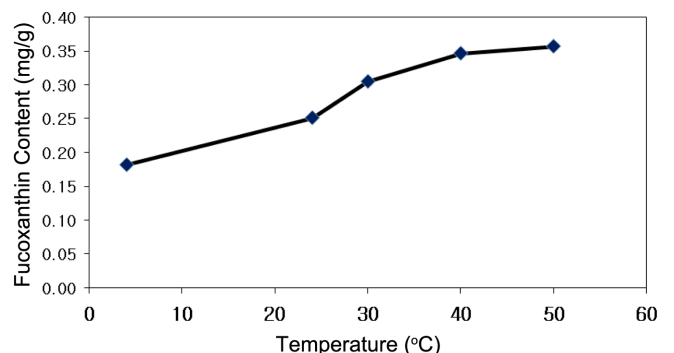


Fig. 3. Effect of temperature on the extraction yield of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* for 2 hours.

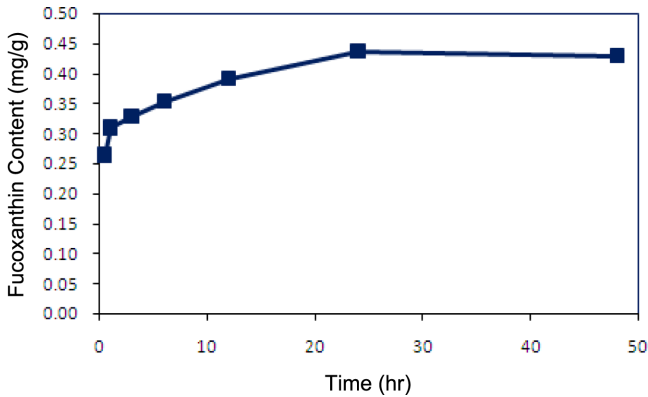


Fig. 4. Change of extraction yield of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* with time at room temperature.

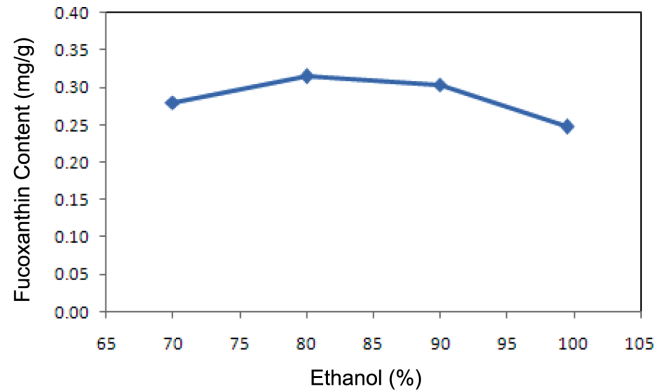


Fig. 6. Effect of ethanol concentration on the extraction yield of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* for 2 hours at room temperature.

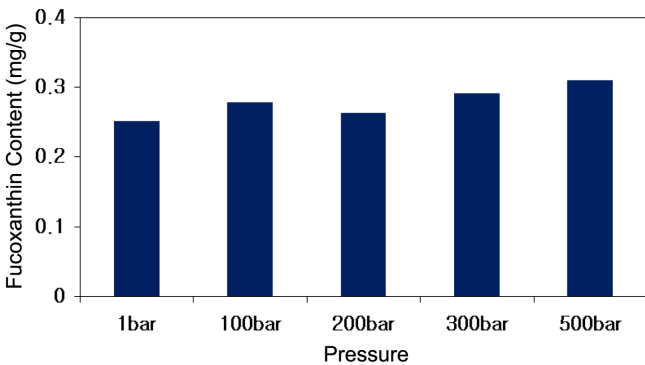


Fig. 5. Effect of pressure on the extraction yield of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* for 2 hours.

정치법에 의한 추출수율을 높이고 추출시간을 단축하기 위한 방법으로 압력을 높여 추출하는 가압 침지 추출법을 실험한 결과 Fig. 5와 같다. 후코산틴 추출을 25 °C에서 압력을 변화시키면서 2시간 후 추출농도를 측정하였다. 초임계상태에서 이산화탄소를 용매로 후코산틴을 추출한 연구가 보고되었는데[23], 본 연구에서는 미역시료와 에탄올을 넣은 비닐 팩을 액상가압기 내에 투입해 압력을 올리는 방법으로 일종의 PLE (pressurised liquid extraction) 방식이다. 이 결과에 의하면 100 bar에서 500 bar까지 압력을 가하면서 추출하였을 때 추출 수율은 1 bar를 기준으로 100 bar 가압추출 시 10.7%, 500 bar 가압추출 시 23.6%가 증가되었다. 온도 25 °C에서 50 °C로 25 °C 올렸을 때 40% 추출 수율 증가를 보인 반면 압력은 1 bar에서 500 bar로 500배 올렸지만 23.6%밖에 증가하지 않아 압력에 의한 추출영향은 온도에 비해 매우 작음을 확인하였다.

후코산틴의 추출용매로 dimethyl sulfoxide, acetone, methanol, hexane 등을 이용하여 높은 추출 수율을 얻을 수 있었으나[21], 가공식품 또는 기능성 식품의 제조와 생산과정에서는 식용 가능한 용매를 사용하여야 하며, 생산 공장의 현장에서는 높은 인화성이나, 폭발성이 있는 용매들은 안전성의 문제로 선택성이 매우 낮고 이용이 되지 못하고 있는 실정이다. 그래서 식용 가능한 에탄올을 선택하여 추출 공정 개선의 추출용매로 사용하였다.

에탄올의 농도에 따라 25 °C에서 2시간 추출하여 후코산틴의 추출 수율을 비교한 결과는 Fig. 6과 같다. 에탄올 70%에서 80%로 농도가 증가할 때 추출 농도가 상승하여 최고점에 도달한 이후 추출 농도가 감소하는 경향을 보이고 있다. 에탄올 100%에서 최고 추출

수율이 아닌 80~90%에서 최고 추출수율을 보인 경향은 다른 연구자들에 의한 결과에서도 보이는데, Shang 등은 PLE로 90% 에탄올 농도에서 최고점을[24]보인다고 모사했는데 이들은 후코산틴의 안정성에 대한 고려는 하지 않았기 때문에 약간의 차이가 있는 것으로 생각된다. Rho 등[23]의 연구에서는 86% 에탄올에서 최고 추출 수율을 보여 본 실험과 비슷하였다. Lee 등[25]은 주목나무에서 항암물질 (paclitaxel)을 에탄올로 추출할 때, 에탄올 농도가 90%에서 최고 수율을 보인 것이 후코산틴 추출과 유사하다. 해조류에는 지용성 성분보다 수용성인 다당(알긴산, 후코이단 등)이 더 많이 존재하는데 10~20% 정도의 물이 다당의 용매로 작용해 세포벽 등 단단한 조직을 형성하는 다당을 추출함으로써 지용성인 후코산틴이 추출될 수 있는 출구를 확보해 주기 때문이라고 사료된다.

3-2. 후코산틴 정제

해조류에는 많은 NaCl이 함유되어 있어 기능성 물질을 추출하면 Na⁺ 이온이 많아 이를 감소시키는 공정이 매우 중요하다. 그래서 본 연구에서는 에탄올로 후코산틴을 추출하기 전에 물로 미역을 세척하여 염분을 감소시키고자 하였다. 물 세척과정에서 후코산틴이 불안정하여 추출량이 감소하는 문제가 있어 최적의 세척시간을 구하는 실험이 필요했다.

건미역의 12배 물을 넣고 교반시간에 따른 후코산틴 추출 수율을 측정하였다(Fig. 7). 10분 교반하였을 때 후코산틴 수율이 약 절반으로 감소하였고 그 이후 수율 감소폭은 작음을 보이고 있다. 세척한 미역으로 후코산틴을 추출하여 ICP로 Na⁺ 농도를 측정된 결과 Fig. 7처럼 염분세척 효과가 나타남을 확인하였다. 세척 전 4.0%였던 농도가 5분 세척 후 0.24% 이하로 감소하였다. 5분간 세척하면 Na⁺ 농도는 94% 감소한 반면 후코산틴은 4% 감소한 것이다. Kanazawa 등[22]도 염분 제거를 위해 가열-세척-절단-냉동과 같은 복잡한 과정을 거쳐, Na⁺ 농도는 95%, 후코산틴은 3.2% 감소시켰다고 보고하였는데, 본 실험방법과 같이 간단한 방법에 의해서도 비슷한 결과를 얻었다. 초기 5분 세척 중에 Na⁺ 농도는 94% 감소한 반면 후코산틴은 4% 감소한 것은 Na⁺는 후코산틴에 비해 용해속도도 빠르고 분자량이 작아 이동 속도도 빨라 미역 안에서 밖으로 빨리 빠져 나올 수 있었기 때문이라고 본다. 특히 건조 미역은 건조과정 중에 미역 표면에 묻은 바닷물이 증발하면서 겉에 소금이 많기 때문에 이 소금이 초기에 용해된 효과가 크다고 본다.

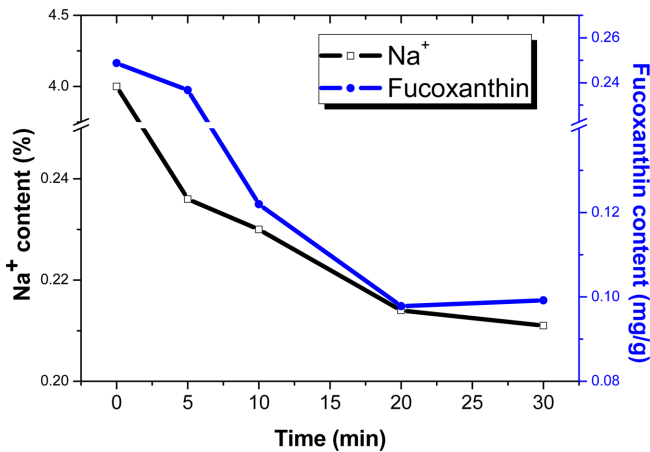


Fig. 7. Effect of time of water washing on the content of Na⁺ ion and content of fucoxanthin in fucoxanthin solution.

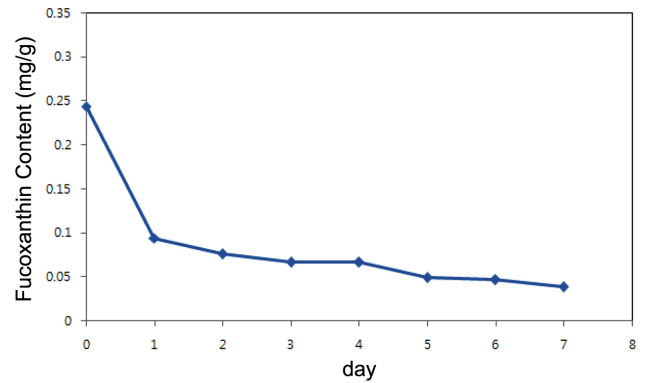


Fig. 9. Change of fucoxanthin content in fucoxanthin solution under 60W lamp.

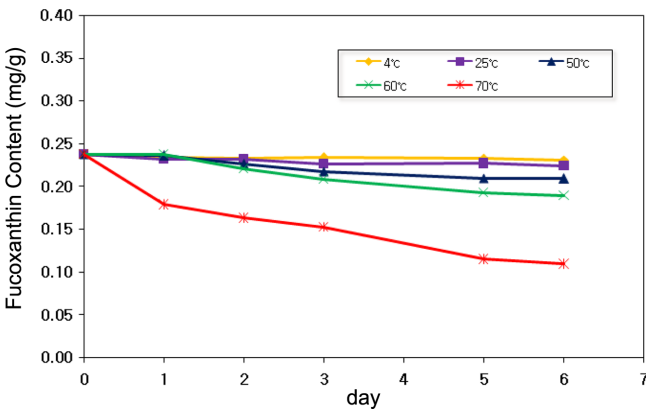


Fig. 8. Change of fucoxanthin content in fucoxanthin at various temperature.

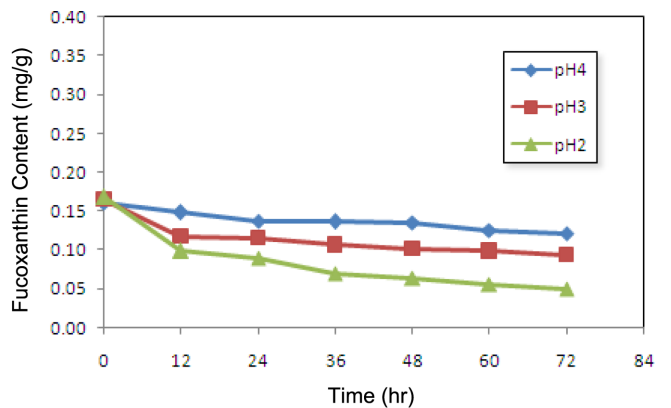


Fig. 10. Change of fucoxanthin content in fucoxanthin solution with various pH.

3-3. 후코산틴 안정성

후코산틴은 Fig. 1의 구조에서 알 수 있듯이 주쇄(backbone)에 이 중결합이 많아 불안정한 물질로 열과 빛에 약하므로 제조과정과 저장 과정에서 열과 빛에 조심하여야 한다. 에탄올 용액중의 후코산틴의 열 안정성 실험 결과를 Fig. 8에 나타냈다. 온도 60 °C까지는 1일 동안 안정함을 보이나 70 °C에서 후코산틴이 1일 동안에 약 30% 감소함을 보였다. 후코산틴 제조과정은 60 °C 이하에서 진행되어야 안정함을 보인 것이다. 6일 동안 저장기간 동안에 25 °C에서도 약간 후코산틴이 감소해 4 °C 정도의 저온 저장이 안전함을 확인하였다.

후코산틴의 빛 안정성을 확인하기 위해 60 W 전구를 1m의 거리에 두고 시간 경과에 따른 에탄올 용액중의 후코산틴 농도 변화를 측정하였다(Fig. 9). 1일 지난 후 60% 감소해 후코산틴이 빛에 매우 약함을 확인하였다. 60 W의 빛이 70 °C의 열보다 약 2배 후코산틴을 감소시키므로 후코산틴 저장 시 빛 차단이 중요함을 보였다.

후코산틴의 산 안정성을 pH 2~4 범위에서 측정하였다(Fig. 10). 에탄올 용액 중에 구연산을 가해 pH를 맞췄다. 산성이 강해질수록 후코산틴 함량이 감소해 후코산틴이 산에 약함을 보였다. pH 4 정도에서는 감소 속도가 느리나 pH 2에서는 12시간 만에 후코산틴 함량이 37% 감소하므로 후코산틴을 다른 원료와 혼합해 제품을 만들 때 산성이 되지 않아야 후코산틴의 기능이 유지될 수 있음을 확인하였다.

4. 결 론

미역에서 후코산틴을 추출하는 공정과 후코산틴의 안정성에 대해 연구한 결과를 정리하면 다음과 같다.

에탄올을 용매로 후코산틴을 추출할 때 에탄올 80%에서 후코산틴 수율이 최고였다. 추출 온도가 상승할수록 추출수율이 증가해 50 °C에서 최고수율에 도달했다. 추출압력이 상승할수록 추출수율은 증가하였으나 온도에 비해 그 영향력은 약하였다. 미역무게 12배의 물로 상온에서 5분 세척한 미역에서 후코산틴을 추출하면 후코산틴은 4% 감소하면서 후코산틴 내 Na⁺이온이 94%가 세척되었다.

온도 60 °C까지는 1일 동안 후코산틴이 안정함을 보이나 70 °C에서 후코산틴이 1일 동안에 30% 감소해 열에 약함을 나타냈다. 60 W 전구를 1m의 거리에 두고 후코산틴이 1일 지난 후 농도가 초기의 40%로 감소해 후코산틴이 빛에 매우 약함을 확인하였다.

감 사

본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2011년도 산학연공동기술개발사업(No: 00047086)의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

참고문헌

- Nina, G., Sergiu, A., Kathi, G., Anja, B., Claudia, B. and Josef

- W., "Oligomerization and Pigmentation Dependent Excitation Energy Transfer in Fucoxanthin-chlorophyll Proteins," *Biochimica et Biophysica Acta*, **1797**, 543-549(2010).
2. Thomas, V., Jan, B., Wolfram, W., Maria, M. and Claudia, B., "Identification of a Specific Fucoxanthin-chlorophyll Protein in the Light Harvesting Complex of Photosystem I in the Diatom *Cyclotella Meneghiniana*," *Biochimica et Biophysica Acta*, **1787**, 905-912(2009).
 3. Lavanya, P., Bruno, R., Anja, B. and Claudia, B., "Pigment Organization in Fucoxanthin Chlorophyll a/c2 Proteins (FCP) Based on Resonance Raman Spectroscopy and Sequence Analysis," *Biochimica et Biophysica Acta*, **1797**, 1647-1656(2010).
 4. Nina, G., Julia, H., Kathi, G., Claudia, B. and Josef, W., "The Excitation Energy Transfer in the Trimeric Fucoxanthin-chlorophyll Protein from *Cyclotella Meneghiniana* Analyzed by Polarized Transient Absorption Spectroscopy," *Chem. Phys.*, **373**, 104-109 (2010).
 5. Liu, C. L., Liang, A. L. and Hu, M. L., "Protective Effects of Fucoxanthin Against Ferric Nitrosyltriacetate-induced Oxidative Stress in Murine Hepatic BNL CL.2 Cells," *Toxicol. Vitro*, **25**, 1314-1319(2011).
 6. Heo, S. J. and Jeon, Y. J., "Protective Effect of Fucoxanthin Isolated from *Sargassum Siliquastrum* on UV-B Induced Cell Damage," *J. Photochem. Photobiol. B-Biol.*, **95**, 101-107(2009).
 7. Hosokawa, M., Kudo, M., Maeda, H., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K., "Fucoxanthin Induces Apoptosis and Enhances the Antiproliferative Effect of the PPA γ Ligand, Troglitazone, on Colon Cancer Cells," *Biochim. Biophys. Acta*, **1675**, 113-119 (2004).
 8. Das, S. K., Hashimoto, T., Shimizu, K., Yoshida, T., Sakai, T., Sowa, Y., Komoto, A. and Kanazawa, K., "Fucoxanthin Induces Cell Cycle Arrest at G0/G1 Phase in Human Colon Carcinoma Cells Through Up-regulation of p21WAF1/Cip1," *Biochim. Biophys. Acta*, **1762**, 328-335(2005).
 9. You, S. G., Yang, C., Lee H. Y. and Lee, B. Y., "Molecular Characteristics of Partially Hydrolyzed Fucoidans from Sporophyll of *Undaria Pinnatifida* and Their In Vitro Anticancer Activity," *Food Chem.*, **119**, 554-559(2010).
 10. Kim, K. N., Heo, S. J., Kang, S. M., Ahn, G. and Jeon, Y. J., "Fucoxanthin Induces Apoptosis in Human Leukemia HL-60 Cells Through a ROS-mediated Bcl-xL Pathway," *Toxicol. Vitro*, **24**(6), 1648-54(2010).
 11. Hosokawa, M., Kudo, M., Maeda, H., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K., "Fucoxanthin Induces Apoptosis and Enhances the Antiproliferative Effect of the PPAR γ Ligand, Troglitazone, on Colon Cancer Cells," *Biochimica et Biophysica Acta*, **1675**, 113-119(2004).
 12. Satomi, Y. and Nishino, H., "Implication of Mitogen-Activated Protein Kinase in the Induction of G1 Cell Cycle Arrest and Gadd45 Expression by the Carotenoid Fucoxanthin in Human Cancer Cells," *Biochimica et Biophysica Acta*, **1790**, 260-266 (2009).
 13. Nakazawa, Y., Sashima, T., Hosokawa, M. and K. Miyashita, "Comparative Evaluation of Growth Inhibitory Effect of Stereoisomers of Fucoxanthin in Human Cancer Cell Lines," *Journal of Functional Foods*, **1**, 88-97(2009).
 14. Swadesh, K. D., Hashimoto, T. and Kanazawa, K., "Growth Inhibition of Human Hepatic Carcinoma HepG2 Cells by Fucoxanthin is Associated with Down-regulation of Cyclin D," *Biochimica et Biophysica Acta* **1780**, 743-749(2008).
 15. Bae, J. S., Lee, J. S., Kim, Y. S., Sim, W. J., Lee, H., Chun, J. Y. and Park, K. P., "Depolymerization of Fucoidan by Contact Glow Discharge Electrolysis (CGDE)," *Korean Chem. Eng. Res. (HWA-HAK KONGHAK)*, **46**(5), 886-891(2008).
 16. Heo, S. J., Yoon, W. J., Kim, K. N., Ahn, G. N., Kang, S. M., Kang, D. H., Affan, A., Oh, C., Jung, W. K., and Jeon, Y. J., "Evaluation of Anti-inflammatory Effect of Fucoxanthin Isolated from Brown Algae," *Food Chem. Toxicol.*, **48**, 2045-2005(2010).
 17. Woo, M. N., Jeon, S. M., Kim, H. J., Lee, M. K., Shin, S. K., Shin, Y. C., Park, Y. B. and Choi, M. S., "Fucoxanthin Supplementation Improves Plasma and Hepatic Lipid Metabolism and Blood Glucose Concentration in High-fat Fed C57BL/6N Mice," *Chemico-Biological Interactions*, **186**, 316-322(2010).
 18. Hosokawa, M., Miyashita, T., Nishikawa, S., Emi, S., Tsukui, T. and Beppu, F., "Fucoxanthin Regulates Adipocytokine mRNA Expression in White Adipose Tissue of Diabetic/obese KK-Ay mice," *Arch. Biochem. Biophys.*, **504**(1), 17-25(2010).
 19. Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T. and Miyashita, K., "Dietary Combination of Fucoxanthin and Fish Oil Attenuates the Weight Gain of White Adipose Tissue and Decreases Blood Glucose in Obese/diabetic KK-Ay Mice," *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 7701-7706(2007).
 20. Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Funayama, K. and Miyashita, K., "Fucoxanthin from Edible Seaweed, *Undaria Pinnatifida*, Shows Antiobesity Effect Through UCP1 Expression in White Adipose Tissues," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **332**(2), 392-397(2005).
 21. Wang, W. J., Wang, G. C., Zhang, M. and Tseng, C. K., "Isolation of Fucoxanthin from the Rhizoid of *Laminaria Japonica* Aresch," *J. Integr. Plant Biol.*, **47**, 1009-1015(2005).
 22. Kanazawa, K., Ozaki, Y., Hashimoto, T., Das, S. K., Matsushita, S., Hirano, M., Okada, T., Komoto, A., Mori, N. and Nakatsuka, M., "Commercial-scale Preparation of Biofunctional Fucoxanthin from Waste Parts of Brown Sea Algae *Laminaria Japonica*," *Food Sci. Technol. Res.*, **14**, 573-582(2008).
 23. Rho, M. K., Uddin, M. S., and Chun, B. S., "Extraction of Fucoxanthin and Polyphenol from *Undaria Pinnatifida* Using Supercritical Carbon Dioxide with Co-solvent," *Biotechnol. Bio-process E.*, **13**, 724-729(2008).
 24. Shang, Y. F., Kim, S. M., Lee, W. J. and Um, B. H., "Pressurized Liquid Method for Fucoxanthin Extraction from *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell," *J. Biosci. Bioeng.*, **111**(2), 237-241 (2011).
 25. Lee, J. Y. and Kim, J. H., "Effect of Water Content of Organic Solvent on Microwave-assisted Extraction Efficiency of Paclitaxel from Plant Cell Culture," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**(7), 1561-1565(2011).