

三種褐藻水萃物之抗氧化與免疫活性評估

洪郁嵐·黃培安*·吳純衡

行政院農業委員會水產試驗所水產加工組

摘 要

本研究目的係評估半葉馬尾藻 (*Sargassum hemiphyllum*)、裙帶菜 (*Undaria pinnatifida*) 和海帶 (*Laminaria japonica*) 水萃物之抗氧化與免疫活性。三種褐藻水萃物成分中，半葉馬尾藻的總醣及硫酸根含量高於裙帶菜水萃物和海帶，且半葉馬尾藻水萃物的醣類分子量以 < 504 Da 為主。三種褐藻水萃物之抗氧化活性以還原力、清除 DPPH 自由基能力、螯合亞鐵離子能力及 SOD-like 活性四項方法測定，而免疫活性評估以 HB4C5 及 J774.1 細胞進行。結果顯示：半葉馬尾藻水萃物的四項抗氧化能力均高於裙帶菜和海帶水萃物。且半葉馬尾藻、裙帶菜和海帶水萃物在 500 µg/ml 時能刺激 HB4C5 細胞增生活性 (135%、115%及 129%) 和 IgM 抗體分泌 (133%、129%及 126%) 達最高值。半葉馬尾藻水萃物在 250 µg/ml 下能刺激 J774.1 細胞增生活性及吞噬能力 (142% 及 138%) 達最高值，而裙帶菜和海帶水萃物在 500 µg/ml 下能刺激 J774.1 細胞增生活性 (119% 和 121%) 及吞噬能力 (112% 和 118%) 達最高值。據本研究結果推論半葉馬尾藻水萃物具有開發作為免疫調節新成份之可行性。

關鍵詞：半葉馬尾藻、裙帶菜、海帶、抗氧化活性、免疫活性

前 言

台灣四周藻類種類繁多，目前已知的海藻有 526 種，其中作為食用、醫藥及保健用途者約有 30 多種。其中常見食用褐藻有海帶 (*Laminaria japonica*)、狹葉海帶 (*L. angustata*)、長海帶 (*L. Angustata* var. *longissima*)、裙帶菜 (*Undaria pinnatifida*)、貓腳昆布 (*Arthrothamnus bifidus*) 等 (Fleurence, 1999)，而其他褐藻，如馬尾藻屬 (*Sargassum*) 在醫藥上的利用更有上千年歷史 (Nardella *et al.*, 1996)。由於生長環境的因素，海藻富含與陸上植物不同的特殊多醣體 (黃, 1997)，在過去「本草綱目」、「本草經集注」、「海藥本草」及「本草拾遺」等古醫書都有使用褐藻治療各種疾病的紀載。其中，褐藻中的褐藻醣膠 (Fucoidan) 成份被認為與古醫書上記載的醫療效果有關，所謂

的褐藻醣膠是褐藻類及一些無脊椎動物 (如：海膽或海參) 所含有的特殊物質，為一種由硫酸岩藻糖為主要構成的多醣類 (Li *et al.*, 2008)。目前褐藻醣膠已被證實具有抗凝血、抗血栓、抗腫瘤、抗病毒、調節免疫及抗氧化等功用 (Jhamandas *et al.*, 2005)。

褐藻在傳統中藥常被宣稱主治癭瘤結氣、消潰腫、治惡瘡等功效，而就科學角度評斷，應與免疫調節作用有關。而近年來的研究顯示，免疫系統與自由基有密不可分的關係，自由基會作用於免疫系統或淋巴細胞使其受損，引起人體細胞免疫與體液免疫功能異常。其中生物體內的酵素系統、非酵素系統以及維生素A、維生素C和維生素E12等，均可藉由消除自由基而達到調節免疫力的效果 (Knight, 2000)。相關文獻指出由匍枝馬尾藻 (*S. polycystum*)、鈍凹頂藻 (*Laurencia obtuse*) 及羊栖菜 (*Hizikia fusiforme*) 所萃取出物具有抗氧化及清除超氧陰離子效果 (Anggadiredja *et al.*, 1997; Nagai and Yukimoto, 2003)。Xue *et al.* (1998) 由褐藻所萃取出含 10% 硫酸根之低分子褐藻醣膠，其

*通訊作者 / 基隆市和一路 199 號; TEL: (02) 2462-2101; FAX: (02) 2463-2677; E-mail: pahwang@mail.tfrin.gov.tw

抗氧化力均優於維生素E，另褐藻經蛋白酶或醣解酶水解後，其多酚含量會增加，可使抗氧化能力提昇 (Heo *et al.*, 2005)。免疫調節的相關研究也指出：從鼠尾藻 (*S. thunbergii*) 及微勞馬尾藻 (*S. fulvellum*) 所萃取之褐藻醣膠可活化補體 C3，使補體與巨噬細胞上的接受器結合而活化細胞，進而刺激巨噬細胞增生及增加其吞噬作用能力 (Palkama *et al.*, 1991; Shan *et al.*, 2000)。而裙帶菜所萃取之褐藻酸 (alginic acid) 可增加受愛德華氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染的鯉魚之頭腎巨噬細胞吞噬能力，並提高鯉魚的存活率 (Fujiki *et al.*, 1994)。另外，薛等 (1999) 於小鼠腹腔注射海帶多糖 (laminarin) 可顯著增加小鼠體內的巨噬細胞數量，並提高其吞噬能力，達到抑制小鼠 S180 (sarcoma 180) 腫瘤細胞生長的作用。

有鑑於台灣產褐藻除部分藻種質地較細可作為蔬菜食用外，其餘多因口感不佳被當作肥料或動物飼料。在低度利用的狀況下，常使得船舶、小舢舨被「褐藻海」纏住，不僅造成漁民的不便，也浪費了天然資源。因此，本研究以台灣產半葉馬尾藻 (*S. hemiphyllum*) 及市售裙帶菜和海帶為原料，進行抗氧化及免疫細胞之功能評估，以了解褐藻開發作為醫藥或保健食品之可行性。

材料與方法

一、材料

(一) 褐藻

本試驗所使用之半葉馬尾藻係採自台灣沿岸海域，裙帶菜及海帶購自基隆碧砂漁港，經清水洗淨後以烘箱 (RISEN Co., LTD, RHD-602D) 50 °C 乾燥，後以粉碎機 (D3V-10, YOUQI, Taiwan) 進行粉碎，再經 0.5 mm 孔徑篩網篩洗備用。在傳統中醫藥之藥材多以研末、酒劑或水煎方式服用，而本實驗為貼近傳統中藥之萃取方式，故以熱水進行萃取。取 100 g 半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶粉末加入 50 倍量的去離子水 (v/w)，於 121 °C 加熱 30 mins，後以 5500 rpm、10 mins 離心，將上清液以凍乾機 (EYELA, FDU-1200) 凍乾成粉末。取凍乾粉末以去離子水配製 1.0 g/ml 濃度，供褐藻醣膠成分及醣類分子量分析用，另配製 1.0、2.5、5.0、10.0 和 15.0 mg/ml 等濃度，供抗氧化

活性分析用。另以細胞培養液將凍乾粉末配製成 125、250、500、750 和 1000 µg/ml 等濃度，供細胞實驗用。

(二) 細胞株

本試驗所使用之 HB4C5 免疫細胞 (Human-human hybridoma, HB4C5) 及 J774.1 巨噬細胞 (Mouse macrophage-like cell, J774.1)，購自新竹食品工業研究所菌種中心。

(三) 試藥

化學分析藥品購自 Sigma (St. Louis, USA)，細胞試驗藥品購自 GIBCO BRL (Grand Island, N. Y., USA)。

二、實驗方法

(一) 褐藻水萃物成分分析

參照 Dubois *et al.* (1956) 方法，使用酚硫酸法進行總醣含量測定，以標準物質葡萄糖所得之標準曲線，換算總醣含量。參照 Blumenkrantz 和 Asboe-Hansen (1973) 方法，使用 Blumenkrantz 法進行醣醛酸含量測定，以標準物質葡萄糖醛酸所得之標準曲線，換算醣醛酸含量。參照 Dodgson (1961) 方法，使用硫酸酯法進行硫酸根含量測定，以標準物質硫酸鉀所得之標準曲線，換算硫酸根含量。

(二) 醣類分子量分析

參照 Shu and Lung (2004) 方法加以修改。以 Pullulan (Shodex Standard P82; Showa Denko K. K., Tokyo) 為標準品，標準品之分子量自大至小依次為 788、404、212、112、47.3、22.8、11.8、5.9、1.32 KDa 及 504 Da。以高效能液相層析儀 (High performance liquid chromatography; HPLC) (Pu-2089 plus, JASCO Corp., Japan)，配合折射率偵測器 (Series 200 refractive index detector, Perkin-Elmer, Norwalk, C. T., USA)，並採用 OHpak SB-G 保護管柱 (6 mm × 50 mm)、OHpak SB-802 HQ (8 mm × 300 mm) 及 OHpak SB-804 HQ (8 mm × 300 mm) 管柱 (Shodex, Showa Denko K. K., Japan) 串聯進行醣類分子量分佈分析。分析條件之移動相為去離子水，流速為 0.8 ml/min。將標準

品及樣品以 0.45 μm 濾膜過濾後，取 20 μl 進行分子量之測定，分析後之圖譜先以 EC 2000 GPC 軟體 (Analab Corp., Taiwan) 計算出標準品分子量對滯留時間之標準曲線。再將樣品中各波峰滯留時間帶入標準曲線換算分子量，並以面積推算樣品中各分子量物質所占百分比。

(三) 抗氧化活性測定

1. 還原力測定

參照 Oyaizu (1988) 比色法。取 1 ml 樣品溶於 1 ml 0.2 M 磷酸緩衝溶液 (Phosphate-buffer saline, PBS, pH 6.6)，再加入 1 ml 1% 鐵氰化鉀 (Potassium ferricyanide)，於 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反應 20 mins，迅速冷卻後，再加入 1 ml 10% 三氯醋酸 (Trichloroacetic acid) 溶液均勻混合。而後取出 1 ml 混合液，加入 1 ml 去離子水及 0.2 ml 0.1% 氯化鐵 (Ferric chloride) 溶液，混合均勻並於室溫放置 10 mins 後，測定 700 nm 吸光值。吸光值愈高表示還原力愈強。100 ppm 維生素 C (L-ascorbic acid) 作為對照組，以去離子水取代樣品作為控制組。

2. 清除 DPPH (α, α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl) 自由基能力測定

參照 Shimada *et al.* (1992) 比色法。取 1 ml 樣品，加入 1 ml 之 0.1 mM DPPH (溶於 95% 乙醇)，於暗處反應 30 mins 後，測定 517 nm 吸光值。吸光值愈低表示清除能力愈強。清除能力 (%) = [(控制組吸光值 - 樣品組吸光值) / 控制組吸光值] \times 100%。以 100 ppm 之維生素 C 作為對照組，以去離子水取代樣品作為控制組。

3. 螯合亞鐵離子測定

參照 Boyer 和 McCleary (1987) 方法加以修改。取 0.25 ml 樣品，加入 3.7 ml 甲醇及 0.1 ml 之 2 mM 的氯化亞鐵 (Ferrous chloride) 溶液，混合均勻 30 sec 後，再加入 0.2 ml 之 5 mM 菲洛嗪 (Ferrozine)，反應 10 mins 後，測定 562 nm 的吸光值，吸光值越低表示樣品螯合亞鐵的能力越強。螯合亞鐵離子能力 (%) = [(控制組吸光值 - 樣品組吸光值) / 控制組吸光值] \times 100%。以 100 ppm EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid

disodium salt) 作為對照組，以去離子水取代樣品作為控制組。

4. SOD-like (Superoxide dismutase-like) 活性測定

參照 Yamamoto *et al.* (2003) 以 SOD Assay Kit-WST 方法測定。取樣品 0.02 ml，加入 0.02 ml 去離子水或 0.02 ml Enzyme working solution，及 0.2 ml WST (Water-soluble tetrazolium salt) 混合後，於 37 $^{\circ}\text{C}$ 靜置 20 mins，測定 450 nm 吸光值。SOD-like 活性 (%) = [($A_h - A_0$) - ($A_s - A_b$)] / ($A_h - A_0$) \times 100%。以 100 ppm 之維生素 C 作為對照組，以去離子水取代樣品作為控制組。

A_h 為控制組 (不含樣品，含 Enzyme working solution) 之吸光值； A_0 為空白組 (不含樣品及 Enzyme working solution) 之吸光值； A_s 為樣品組 (含樣品及 Enzyme working solution) 之吸光值； A_b 為空白組 (含樣品，不含 Enzyme working solution) 之吸光值。

(四) 細胞實驗

1. 細胞培養

(1) HB4C5 細胞培養 (懸浮型細胞)

將 HB4C5 細胞以含 5% FBS (Fetal bovine serum) 之 eRDF 培養基於 37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO_2 培養。HB4C5 細胞是一種人類融合瘤免疫細胞株，屬於淋巴球細胞，為專一性的免疫系統，其具有分泌抗體的功能 (如：IgM) (Ramesh *et al.*, 2002)。

(2) J774.1 細胞培養 (附著型細胞)

J774.1 細胞以 DMEM (Dulbecco's modified eagle medium) 及 MEME (Minimum essential medium eagle's) 培養基於 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培養箱。J774.1 細胞是一種類似老鼠巨噬細胞的免疫細胞株，其中巨噬細胞屬於非專一性的免疫系統，可以吞噬入侵體內聚感染力的微生物，而後分解病原體 (Masuda *et al.*, 2006)。

2. 細胞增生活性試驗

參照 Ferrari *et al.* (1990) 方法測定。細胞離心收集後調整為 2×10^5 cell/ml，以 100 μl /well 加入 96 well 培養盤中，並加入 20 μl 不同濃度 (125、250、500、750 和 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的樣品，於 37 $^{\circ}\text{C}$ 、

5% CO₂ 培養 48 h 後，於各 well 分別加入 50 μl MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] 和 50 μl YLP (Yolk lipoprotein)，置於 37 °C 反應 4 h，於 570 nm 測定吸光值。細胞增生率 (cell proliferation) (%) = [(樣品組吸光值 - 空白組吸光值) / 控制組吸光值] × 100%。以培養液取代樣品作為控制組，視為 100%，另空白組為不含細胞及樣品之培養液。

3. HB4C5 細胞 IgM 抗體分泌測定

參照 Shinmoto *et al.* (1986) 所述的方法測定。將 HB4C5 細胞調整為 5×10^4 cell/ml，以 100 μl/well 加入 96 well 培養盤中，加入等量的 eRDF 培養液或不同濃度 (125、250、500、750 和 1000 μg/ml) 的樣品，於 37 °C、5% CO₂ 培養 24 h 後，離心收集細胞上清液。另取 96 well 培養盤分別加入 100 μl 稀釋 1000 倍之 Goat anti-human κ light chain Ab 及 Goat anti-human λ light chain Ab，置於 4 °C 隔夜。以 TPBS (含有 0.05% Tween 20 之 PBS) 清洗後，於培養盤中加入 50 μl 細胞上清液，置於 37 °C 反應 1 h。加入 100 μl 稀釋 2500 倍之 HRPO (horseradish peroxidase) conjugate goat anti-human IgM 抗體，於 37 °C 放置 1 h，以 TPBS 清洗，加入 100 μl ABTS [2,2-Azino-di-(3-ethyl-benethiazolinesulfonate) diammonium salt] 顯色劑，置於 37 °C 反應 15 mins，再加入 100 μl 1.5% 草酸 (oxalic acid) 終止反應，於 410 nm 測定吸光值。IgM 抗體分泌量 (IgM secretion) (%) = [(樣品組吸光值 - 空白組吸光值) / 控制組吸光值] × 100%。以不加樣品之控制組 IgM 抗體分泌量為 100%。以培養液取代樣品作為控制組，視為 100%，另空白組為不含細胞及樣品之培養液。

4. J774.1 細胞吞噬能力測定

以 CytoSelect™ 96-Well Phagocytosis Assay kit (Cell Biolabs, Inc. San Diego, CA, USA) 測定。將 J774.1 細胞調整為 2×10^5 cells/ml，以 100 μl/well 加入 96 well 培養盤中，靜置 24 h 使細胞貼附後，移去上層液，再加入等量的 DMEM 培養液或不同濃度 (125、250、500、750 和 1000 μg/ml) 的樣品，靜置 24 h，加入 10 μl 酵母聚糖 (Zymosan)，於 37 °C 作用 2 h，以 4 °C DMEM 培養液清洗後，加入 100 μl 的 3.2% 福馬林溶液

(Formaldehyde solution) 固定置於室溫反應 5 mins，以 PBS 清洗，加入 100 μl 稀釋 100 倍之阻斷試劑 (Blocking reagent) 置於室溫作用 1 h，以 PBS 清洗，加入 100 μl 稀釋 10 倍之通透溶液 (Permeabilization solution) 置於室溫反應 5 mins，以 PBS 清洗，分別加入 100 μl 稀釋 250 倍之偵測試劑 (Detection reagent) 於室溫放置 1 h，以 PBS 清洗，加入 50 μl 呈色原稀釋劑 (Detection Buffer) 於室溫下放置 10 mins，再加入 100 μl 顯色劑 (substrate) 置於 37 °C 反應 20 mins 後，分別加入 50 μl 終止劑 (Stop solution) 終止反應，於 405 nm 測定吸光值。吞噬能力 (Phagocytosis) (%) = [(樣品組吸光值 - 空白組吸光值) / 控制組吸光值] × 100%。以培養液取代樣品作為控制組，視為 100%，另空白組為不含細胞及樣品之培養液。

(五) 統計分析

實驗數據以 SPSS 12.0 套裝軟體進行單因子變異係數分析，並以鄧肯式多變域測驗 (Duncan's multiple range test) 測定各處理組間之差異，顯著水準訂為 0.05。

結果與討論

一、褐藻水萃物成分及醣類分子量分析

褐藻所含的多醣主要有褐藻酸、海帶多糖以及褐藻醣膠三種。其中，褐藻酸是由 β-1,4-鍵結的甘露糖醛酸 (D-mannuronic acid; M) 及 α-1,4-鍵結的古羅糖醛酸 (L-guluronic acid; G) 所組成之直鏈分子，而因褐藻種類來源的不同及萃取之部位的不同，故有三種形式 GG·MM·MG，其中也會因 M/G 比例不同，而導致膠體黏度有所不同 (Draget *et al.*, 1997)。海帶多糖是由葡萄糖所組成，其主結構為 β-1,3-葡聚糖 (Glucan)，為褐藻代謝之儲存產物 (Barry, 1941)。褐藻醣膠其主要結構式為硫酸化的 L-岩藻糖，而褐藻醣膠已被證實具有許多生理活性，但其結構、分子量及硫酸化程度，會依不同藻類而有差異 (Berteau and Mulloy, 2003)。因此本實驗先分析半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶之水萃物成分及醣類分子量分布之差異。

Table 1 Compositions, molecular weights and weight percentages of water extracts from *S. hemiphyllum*, *U. pinnatifida* and *L. japonica*¹

Species	Total sugars (mg/g)	Sulphates (mg/g)	Uronic acids (mg/g)	Molecular weight	Weight percentage
<i>S. hemiphyllum</i>	483.2±5.78	513.04±40.99	54.01±1.73	750 KDa	11.7±2.8%
				<504 Da	88.3±3.2%
<i>U. pinnatifida</i>	292.6±1.80	397.10±20.50	62.92±2.07	630 KDa	84.7±4.8%
				2600 Da	15.4±3.1%
<i>L. japonica</i>	268.0±0.72	404.35±51.24	20.10±0.87	540 KDa	9.3±1.5%
				2100 Da	50.3±3.5%
				<504 Da	41.0±3.6%

¹Each value was expressed as mean ± SEM from triplicate independent experiments.

褐藻醣膠為含有硫酸根的雜聚多醣，其中醣組成主要有岩藻糖、醣醛酸和少量的單醣（如：半乳糖、木糖、甘露糖、葡萄糖等）(Li, 2008)。因此取半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物進行總醣、硫酸根及醣醛酸含量分析。結果顯示 (Table 1)，馬尾藻水萃物在總醣、硫酸根及醣醛酸含量分別為 483.2 ± 5.78 mg/g、513.04 ± 40.99 mg/g 及 54.01 ± 1.73 mg/g，裙帶菜水萃物為 292.6 ± 1.80 mg/g、397.10 ± 20.50 mg/g 及 62.92 ± 2.07 mg/g，海帶水萃物則為 268.0 ± 0.72 mg/g、404.35 ± 51.24 mg/g 及 20.10 ± 0.87 mg/g。本研究三種褐藻中，以半葉馬尾藻水萃物所含有的總糖及硫酸根比例最高。

將半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物之溶液經過濾後進行 HPLC 分析。分析 788、404、212、112、47.3、22.8、11.8、5.9、1.32 KDa 及 504 Da 等分子量之醣類標準品，得各標準品之滯留時間分別為 11.12、11.49、11.92、12.60、13.33、14.17、14.79、15.41、17.11 及 17.51 mins。再以 EC 2000 GPC 軟體計算出滯留時間對多醣分子量之標準曲線。從醣類分子量分布圖的結果顯示半葉馬尾藻水萃物之醣類分子量分佈主要在 17.81 mins，此滯留時間之平均分子量為 < 504 Da 為主，約占 88.3 ± 3.2%；裙帶菜水萃物分佈主要在 11.16 mins，其平均分子量以 630 KDa 為主，約占 84.7 ± 4.8%；而海帶水萃物分佈主要在 17.09 mins 及 17.63 mins，其平均分子量以 2100 Da 及 < 504 Da 為主，分別約占 50.3 ± 3.5% 及 41.0 ± 3.6% (Table

1)，結果顯示半葉馬尾藻與海帶水萃物主要以低分子量為主，而裙帶菜水萃物則以高分子量為主。

Nardella *et al.* (1996) 分析泡葉藻 (*Ascophyllum nodosum*) 褐藻醣膠之總醣、硫酸根及醣醛酸含量，分別為 313 mg/g、261 mg/g 及 57 mg/g。另 Rioux *et al.* (2007) 以酒精萃取泡葉藻之褐藻醣膠，其總醣、硫酸根、醣醛酸含量及分子量，分別為 454 mg/g、221 mg/g、99 mg/g 及 417 kDa；進而以 0.01 M 鹽酸萃取得之褐藻醣膠，其總醣、硫酸根、醣醛酸含量及分子量，分別為 465 mg/g、223 mg/g、93 mg/g 及 1323 KDa。故 Rioux *et al.* (2007) 認為不同的藻種、生長環境及褐藻醣膠萃取方式均會影響其總醣、硫酸根、醣醛酸及分子量組成。研究指出海藻多醣的分子量大小及其硫酸根含量皆會影響其功能性 (Qi *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2004)，所以本研究進一步探討半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物之抗氧化活性及對免疫細胞株功能的影響。

二、抗氧化活性分析

將半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物進行四項抗氧化能力分析，包括還原力、清除 DPPH 自由基能力、螯合亞鐵離子能力及 SOD-like 活性。結果顯示，於 15 mg/ml 濃度下，半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物的還原力分別為 2.50 ± 0.11、0.22 ± 0.02 及 0.25 ± 0.05，其中半葉馬尾藻水萃物隨著添加樣品的劑量增加，其還原力也隨之增

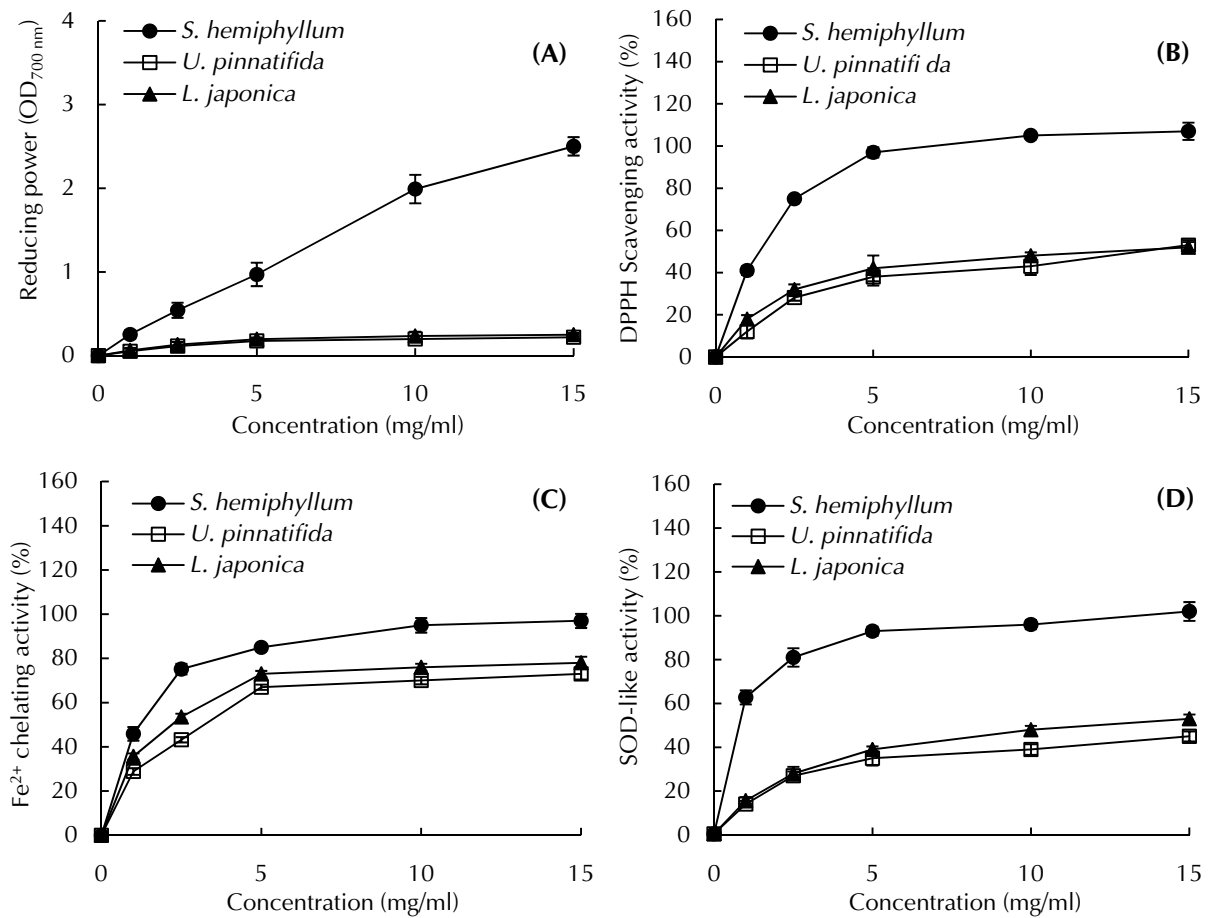


Fig. 1 The dose-related antioxidative activity of water extracts from *S. hemiphyllum*, *U. pinnatifida* and *L. japonica* was evaluated by reducing power (A), DPPH free radicals scavenging activity (B), Fe²⁺ chelating activity (C) and SOD-like activity (D) tests. Each value was expressed as mean \pm SEM from triplicate independent experiments.

大，具有濃度依存性。而裙帶菜及海帶水萃物在還原力的效果並不顯著，顯示半葉馬尾藻水萃物具有較強的還原力，而裙帶菜及海帶水萃物的還原力均在 0.25 以下 (Fig. 1A)，對照組 100 ppm 維生素C 之還原力為 1.76 ± 0.12 。

在清除 DPPH 自由基能力方面，半葉馬尾藻水萃物在 2.5 mg/ml 濃度下，清除 DPPH 自由基能力即大於 IC₅₀，達 $75.3 \pm 1.4\%$ ，而在相同濃度下裙帶菜及海帶萃取物分別為 $28.1 \pm 1.5\%$ 及 $32.0 \pm 2.4\%$ 。三種水萃物於 5 mg/ml 以上濃度，其清除 DPPH 自由基能力變化均趨緩，於 15 mg/ml 濃度下半葉馬尾藻水萃物、裙帶菜及海帶水萃物清除 DPPH 自由基能力分別為 $107.5 \pm 4.1\%$ 、 $53.6 \pm 2.4\%$ 及 $52.1 \pm 2.5\%$ (Fig. 1B)，對照組 100 ppm 維生素C 之清除 DPPH 自由基能

力為 $98.7 \pm 3.9\%$ 。

在螯合亞鐵離子能力方面，半葉馬尾藻水萃物在 2.5 mg/ml 濃度下，螯合亞鐵離子能力即大於 IC₅₀，達 $75.1 \pm 3.1\%$ ，而在相同濃度下裙帶菜及海帶萃取物僅分別為 $43.2 \pm 1.2\%$ 及 $53.5 \pm 1.5\%$ 。在 5 mg/ml 濃度後即呈現平緩，於 15 mg/ml 濃度下半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物螯合亞鐵離子的能力分別為 $97.1 \pm 3.2\%$ 、 $73.6 \pm 2.2\%$ 及 $78.0 \pm 2.8\%$ (Fig. 1C)，對照組 100 ppm EDTA 之螯合亞鐵離子能力為 $95.2 \pm 1.4\%$ 。

在 SOD-like 活性方面，半葉馬尾藻水萃物在 1.0 mg/ml 濃度下，SOD-like 活性即大於 IC₅₀，達 $62.77 \pm 3.2\%$ ，而在相同濃度下裙帶菜及海帶萃取物僅分別為 $14.0 \pm 1.6\%$ 及 $15.6 \pm 1.5\%$ 。同樣於 5 mg/ml 濃度後呈現平緩，於 15 mg/ml 濃度下半

葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物 SOD-like 活性分別為 $102.0 \pm 4.3\%$ 、 $45.7 \pm 2.0\%$ 及 $53.8 \pm 2.3\%$ (Fig. 1D)，對照組 100 ppm 維生素 C 之 SOD-like 活性為 $91.8 \pm 2.9\%$ 。由抗氧化能力分析可知半葉馬尾藻水萃物較裙帶菜及海帶水萃物具有較好的抗氧化能力。

研究指出 2.0 mg/ml 的銅藻 (*S. horneri*) 萃取物對清除過氧化氫作用能力可達 90% 以上 (Heo *et al.*, 2005)。而 25 $\mu\text{g/ml}$ 的鼠尾藻酵素萃液即具有 90% 以上的清除 DPPH 自由基能力，且清除自由基的效果也具有濃度依存性 (Park *et al.*, 2005)。但於濃度 1.0 mg/ml 之海帶萃取物在清除自由基及還原力的效果僅約 19 ~ 50% 及 0.079 ~ 0.106 之間 (Wang *et al.*, 2008)。另比較相同濃度之海帶和裙帶菜水萃物之總抗氧化能力則分別為 54% 和 31%，顯示海帶水萃物之抗氧化能力較裙帶菜水萃物佳 (Ismail and Hong, 2002)，上述文獻結果與本研究有相似之結果，因此推測馬尾藻屬具有強抗氧化力。另，由海帶水萃物經分子篩層析所得的低分子物質，與高分子物質相較之下具有較佳的清除超氧陰離子及次氯酸的能力，且具有抑制由銅離子所引起的低密度脂蛋白膽固醇氧化作用 (Zhao, 2005)。而硫酸根的含量也與清除超氧陰離子具有正相關 (Wang, 2008)。另 Qi *et al.* (2005) 探討不同硫酸根含量的石蓴多醣抗氧化能力，結果顯示硫酸根含量越多，其在清除超氧自由基及螯合亞鐵離子的能力也較強，學者認為石蓴多醣具有抗氧化的能力，是因為其含有氫氧基及硫酸根，且其中若有部分的氫氧基被硫酸根取代，則抗氧化能力則更佳，因此顯示硫酸根是影響抗氧化能力的關鍵要素。所以推測馬尾藻水萃物因其低分子量醣類及硫酸根含量較多，所以使其抗氧化能力較佳。除了含硫酸根比例不同的多醣物質會影響抗氧化能力外，海藻萃取物的抗氧化能力也會因萃取方法不同而有差異，如海帶和裙帶菜酒精萃取物的總抗氧化能力則為 3% 及 57% (Ismail and Hong, 2002)。另外，裙帶菜及微勞馬尾藻的酒精萃取物在清除 DPPH 自由基能力分別為 51% 及 36% (Yan *et al.*, 1999)，因此推測本研究中所使用的水萃取方式造成裙帶菜及海帶水萃物在抗氧化能力表現不佳。

除此之外，文獻指出裂葉馬尾藻 (*S.*

siliquastrum) 的萃取物不僅具有清除 DPPH 自由基能力，也具有抑制紅血球溶血作用、脂質過氧化作用及清除過氧化自由基等能力 (Lim *et al.*, 2002)。而匍枝馬尾藻萃取物中含有某種特殊物質，可藉由提升抗氧化防禦機制以維持胃液酸度及改善胃黏膜。而其中所含的硫酸多醣成分也可改善小鼠肝臟粒線體的酵素活性，使檸檬酸循環 (TCA Cycle) 中的超氧化物歧化酵素、過氧化氫酵素及非抗氧化酵素穀胱甘肽等抗氧化酵素的活性增加，且過氧化脂質也有減少的現象，因此可減輕過氧化物對肝臟的損傷 (Raghavendran *et al.*, 2005)，顯示馬尾藻萃取物在體外及體內試驗中均能表現其抗氧化能力。

三、免疫活性分析

在海藻多醣的生理功能研究中，以免疫活性及抗腫瘤部分最為廣泛，當中又以褐藻的研究最為深入 (Yamamoto *et al.*, 1974)。另一方面，一般認為褐藻在傳統中藥具有調節免疫之功效，且有學者認為抗氧化物質可以藉由消除自由基進而調節免疫力 (Knight, 2000)。故本研究進一步以免疫細胞作為評估半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物是否具有調節免疫功能之前期評估。

將半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物分別與 HB4C5 免疫細胞共同培養 24 及 48 h，觀察半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物對 HB4C5 增生活性的影響。結果顯示在濃度 125 ~ 500 $\mu\text{g/ml}$ 之間，隨著萃取物的濃度增加，對 HB4C5 增生活性也較高，有劑量依存現象，且於 500 $\mu\text{g/ml}$ 濃度下，其刺激 HB4C5 增生活性達最大值。但培養 48 h 之增生活性則與培養 24 h 之增生活性差異不大。培養 24 h 時，在 500 $\mu\text{g/ml}$ 濃度下半葉馬尾藻水萃物刺激 HB4C5 增生活性為 135%，刺激 IgM 抗體分泌達 133%。裙帶菜水萃物的 HB4C5 增生活性及 IgM 抗體分泌分別為 115% 及 122%，而海帶水萃物的 HB4C5 增生活性及 IgM 抗體分泌分別為 129% 及 130% (Figs 2, 3)。結果顯示，半葉馬尾藻及海帶水萃物在細胞實驗中，除可增加先天性的細胞免疫活性，且具有促進抗體分泌之功能，然裙帶菜水萃物雖可促進抗體分泌，但在增加細胞免疫活性方面與控制組無顯著差異。

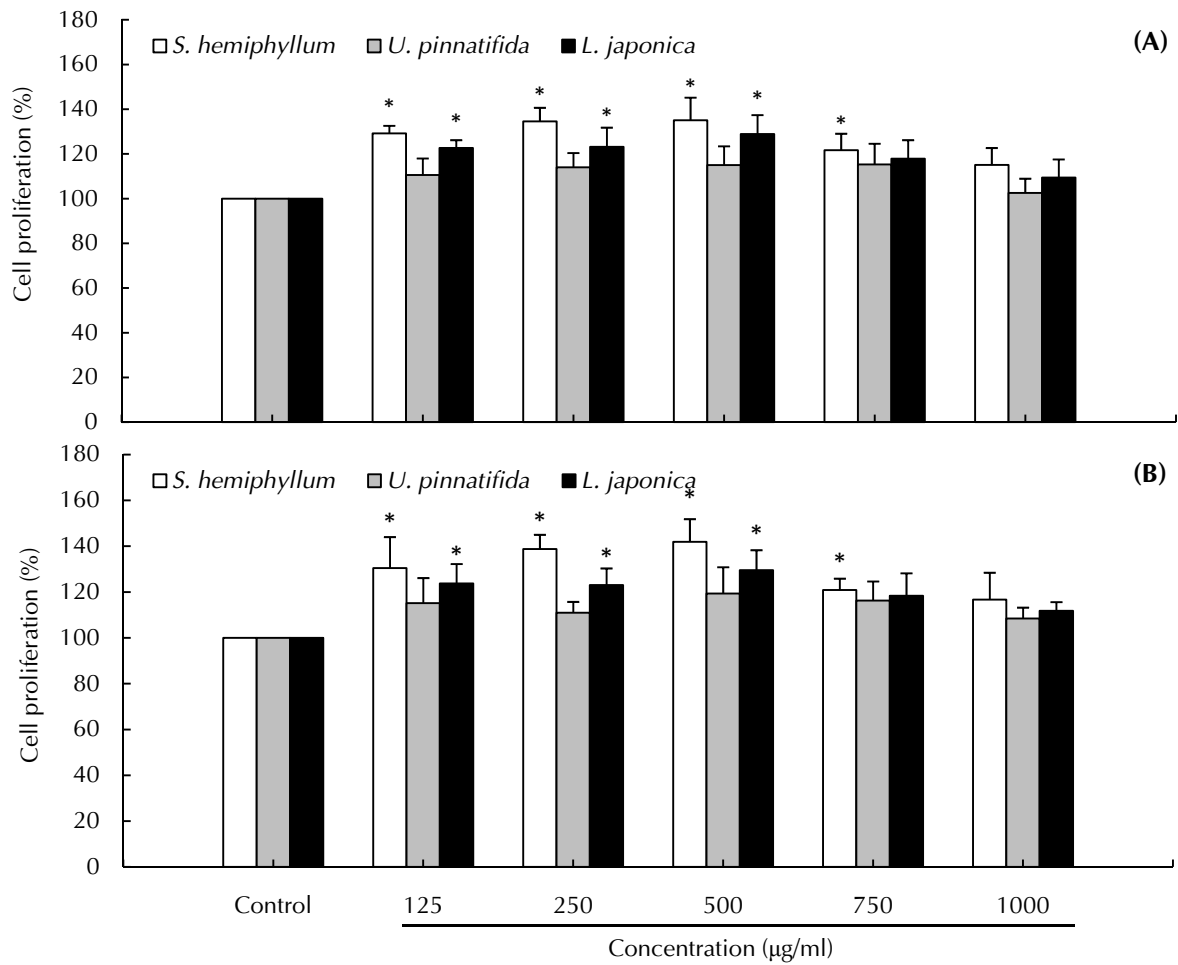


Fig. 2 The effects of water extracts from *S. hemiphyllum*, *U. pinnatifida* and *L. japonica* on cell proliferation in HB4C5 cells for 24 (A) and 48 (B) h. Each value was expressed as mean \pm SEM from triplicate independent experiments. The "*" means significant difference ($p < 0.05$) when compared to the control group.

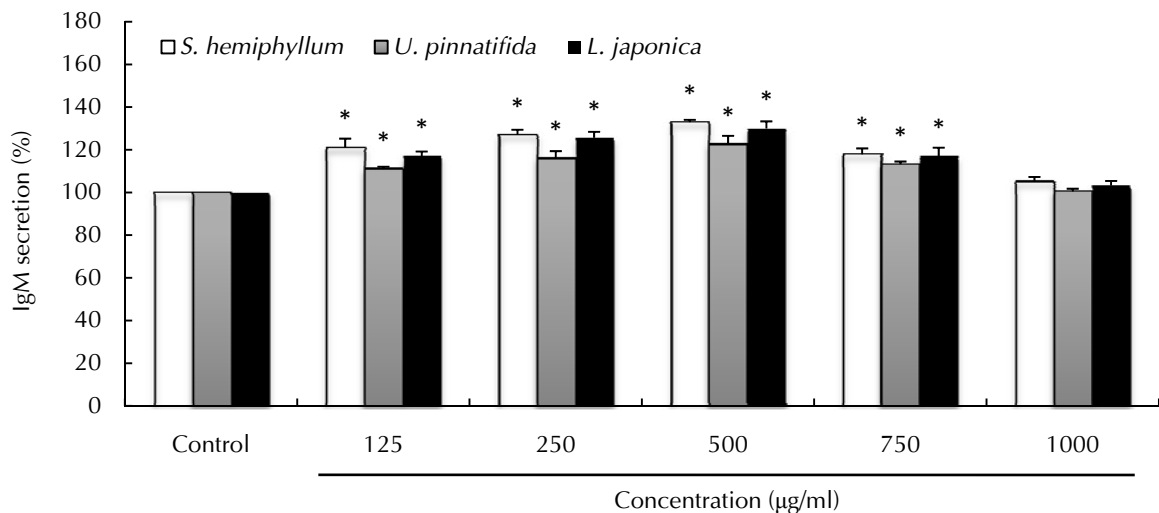


Fig. 3 The effects of water extracts from *S. hemiphyllum*, *U. pinnatifida* and *L. japonica* on IgM secretion in HB4C5 cells. Each value was expressed as mean \pm SEM from triplicate independent experiments. The "*" means significant difference ($p < 0.05$) when compared to the control group.

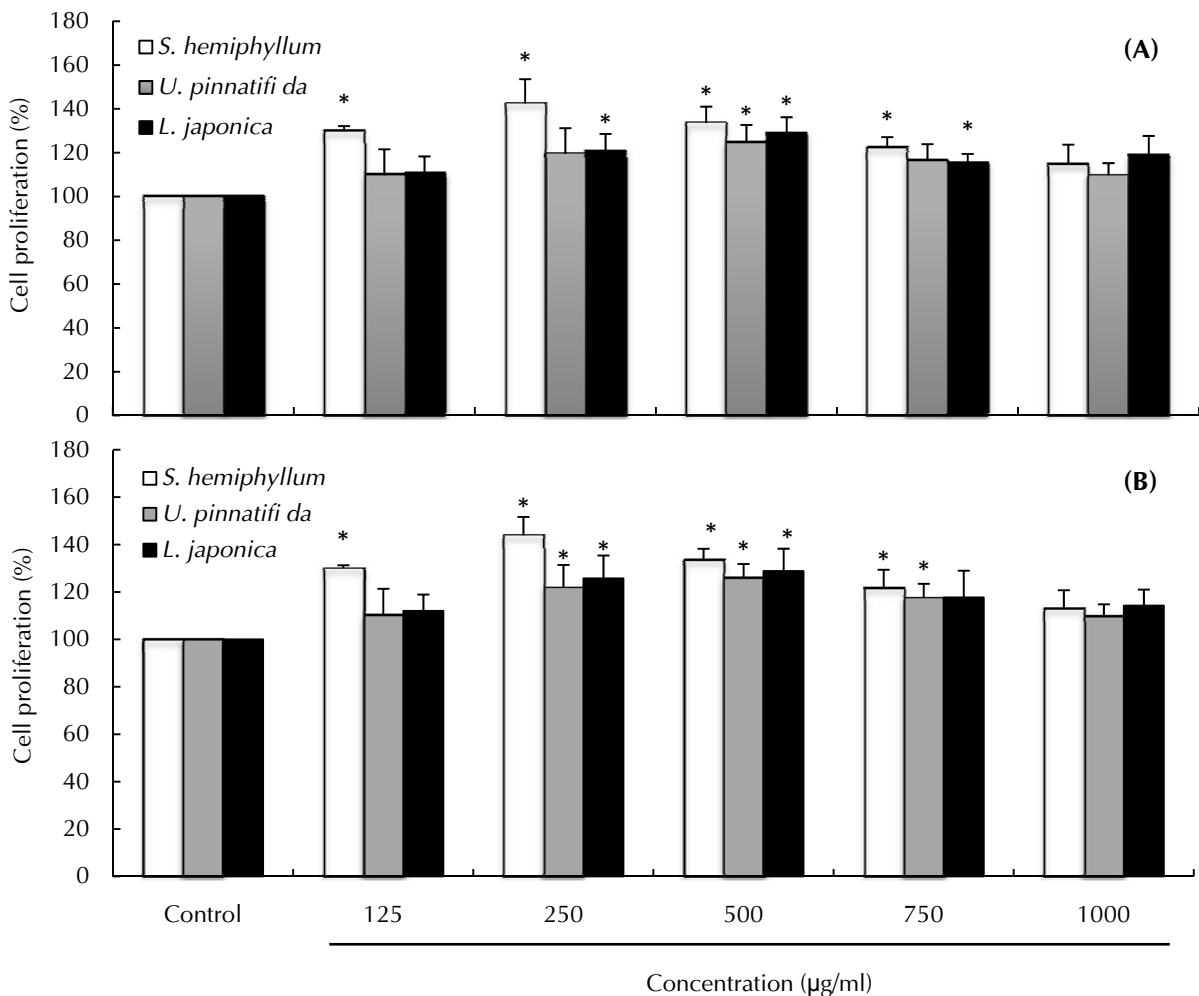


Fig. 4 The effects of water extracts from *S. hemiphyllum*, *U. pinnatifida* and *L. japonica* on cell proliferation in J774.1 cells for 24 (A) and 48 (B) h. Each value was expressed as mean \pm SEM from triplicate independent experiments. The "*" means significant difference ($p < 0.05$) when compared to the control group.

另取半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物分別與 J774.1 巨噬細胞共同培養 24 及 48 h。結果顯示，48 h 之增生活性則與培養 24 h 之增生活性差異不大。培養 24 h 時，半葉馬尾藻水萃物在 250 $\mu\text{g/ml}$ 濃度下刺激 J774.1 增生活性達最大值，其刺激增生活性達 142%，吞噬能力達 138%。裙帶菜及海帶水萃物則在 500 $\mu\text{g/ml}$ 濃度下刺激 J774.1 增生活性達最大值，分別為 124% 及 128%，且可使吞噬能力分別達 115% 及 126% (Figs. 4, 5)。文獻指出以 10 ~ 100 mg/ml 褐藻醣膠與巨噬細胞共同培養，可以增加吞噬作用的能力及微粒分解酶的活性 (Choi *et al.*, 2005)。而裙帶菜的水萃物可以增加小鼠自然殺手細胞的細胞溶解

能力及 T 細胞干擾素- γ (Interferon- γ) 的產生 (Maruyama *et al.*, 2003)。在體內試驗中也證實重緣葉馬尾藻 (*S. duplicatum*) 及羊棲菜馬尾藻 (*S. fusiforme*) 的熱水萃取物可提升白蝦的總血球數、酚氧化酵素活性、呼吸爆發 (respiratory burst) 及細菌抵抗力而增加其免疫能力 (Yeh *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2006)。另有研究指出由鼠尾藻、裙帶菜、海帶屬 (*Laminaria* spp.) 所萃取之褐藻醣膠可刺激吞噬細胞及干擾素活性增強，間接誘發細胞蛋白質的免疫反應及影響淋巴細胞活性 (Itoh and Hitoshi, 1995; Teas *et al.*, 1984)。因此推測半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物可藉以促進免疫細胞增生及增加其吞噬能力而達到提高免疫細胞作用

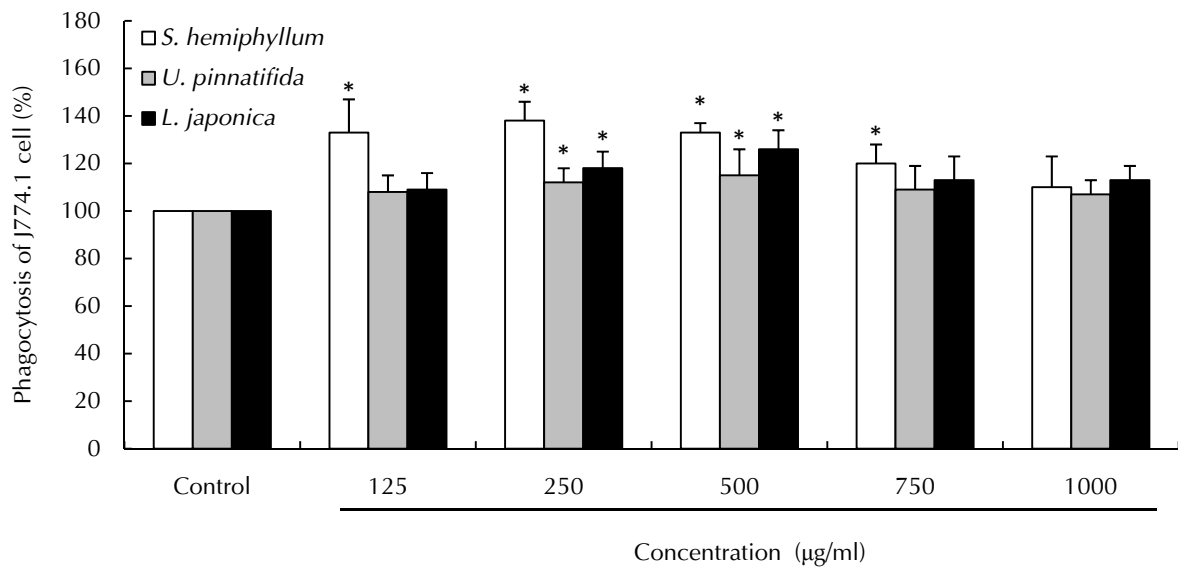


Fig. 5. The effects of water extracts from *S. hemiphyllum*, *U. pinnatifida* and *L. japonica* on phagocytosis in J774.1 cells. Each value was expressed as mean \pm SEM from triplicate independent experiments. The "*" means significant difference ($p < 0.05$) when compared to the control group.

之機制，而其增強免疫作用的活性物質可能為褐藻醣膠。而Chen *et al.* (2008) 指出硫酸化的鹿角菜膠可以結合在巨噬細胞膜上的TLR-4 (Toll-like receptor 4) 上，活化巨噬細胞產生細胞激素，因此認為硫酸多醣可能是藉著結合在巨噬細胞的模式辨識受體 (pattern recognition receptors) 上 (如：TLR-4)，進而活化先天免疫反應。此外，Ferraández *et al.* (1999) 指出N-乙醯基半胱氨酸、維生素C、維生素E等抗氧化劑可增加老化老鼠的免疫活性，另 Yuan *et al.* (2009) 研究指出茶薦子木層孔菌 (*Phellinus ribis*) 的多醣類物質其抗氧化力越強，免疫能力也相對的提高，而抗氧化劑可以提升免疫活性並不僅僅與其抗氧化酵素-氧化平衡 (antioxidant/oxidant balance) 有關，也與維持免疫細胞的膜脂質、細胞內蛋白質及核酸的完整性與功能性有關 (Meydani *et al.*, 1995)，因此推測本研究中三種褐藻可能藉由硫酸化的褐藻醣膠及高抗氧化力達到增強免疫作用之效果。

結 論

由體外試驗評估半葉馬尾藻、裙帶菜及海帶水萃物之抗氧化活性及免疫細胞株試驗，結果顯示半葉馬尾藻水萃物在四項抗氧化能力均高於裙

帶菜及海帶水萃物，其中半葉馬尾藻及海帶水萃物具有刺激 HB4C5 免疫細胞增生及抗體分泌的作用，且可增加 J774.1 巨噬細胞增生及吞噬活性，但裙帶菜水萃物效果則較不顯著。據本研究結果推論半葉馬尾藻水萃物具有開發作為免疫調節新成份之可行性。

參考文獻

- 黃淑芳 (1997) 台灣的海藻資源及利用. 台灣博物, 15: 76-87.
- 薛靜波, 劉希英, 張鴻芬 (1999) 海帶多糖對小鼠腹腔巨噬細胞的激活作用. 中國海洋藥物雜誌, 18: 23-25.
- Anggadiredja, J. R. Andyani, Hayati and Muawanah (1997) Antioxidant activity of *Sargassum polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia obtusa* (Rhodophyta) from Seribu Islands. J. appl. Phycol., 9: 477-479.
- Barry, V. C. (1941) Hydrolysis of laminarin: Isolation of a new glucose disaccharide. Sci. Proc. Roy. Dublin. Soc., 22: 423- 429.
- Berteau, O. and B. Mulloy (2003) Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. Glycobiology, 13: 29-40.

- Blumenkrantz, N. and G. Asboe-Hansen (1973) New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.*, 54: 484-489.
- Boyer, R. F. and C. J. McCleary (1987) Superoxide ion as a primary reductant in ascorbate-mediated ferritin iron release. *Free Radic. Biol. Med.*, 3: 389-395.
- Chen, D., X. Z. Wu and Z. Y. Wen (2008) Sulfated polysaccharides and immune response: promoter or inhibitor? *Panminerva. Med.*; 50: 177-183.
- Choi, E. M., A. J. Kim, Y. O. Kim and J. K. Hwang (2005) Immunomodulating activity of arabinogalactan and fucoidan in vitro. *J. Med. Food*, 8: 446-453.
- Dodgson K. S. (1961) Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters. *Biochem. J.*, 78: 312-319.
- Draget, K. I., G. Skjåk-Bræk and O. Smidsrod (1997) Alginate based new materials. *Inter. J. Biol. Macro.*, 21: 47-55.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith (1956) Colorimetric method for determination of Sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- Ferrández, M. D., R. Correa, M. Del Rio and M. De la Fuente (1999) Effects in vitro of several antioxidants on the natural killer function of aging mice. *Exp. Gerontol.*, 34: 675-685.
- Ferrari, M., M. C. Fornasiero and A. M. Isetta (1990) MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *J. Immunol. Methods*, 131: 165-172.
- Fleurence, J. (1999) Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends Food Sci. Technol.*, 10: 25-28.
- Fujiki, K., H. Matsuyama and T. Yano (1994) Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Fish Dis.*, 17: 349-355.
- Heo, S. J., E. J. Park, K. W. Lee and Y. J. Jeon (2005) Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresour. Technol.*, 96: 1613-1623.
- Huang, X., H. Zhou and H. Zhang (2006) The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish Shellfish Immunol.*, 20: 750-757.
- Ismail A. and T. S. Hong (2002) Antioxidant activity of selected commercial seaweeds. *Mal. J. Nutr.*, 8: 167-177.
- Itoh, H. and I. Hitoshi (1995) Immunological analysis of inhibition of lung metastases by fucoidan (GIV-A) prepared from brown seaweed *Sargassum thunbergii*. *Anticancer Res.*, 15: 1937-1947.
- Jhamandas, H., M. B. Wie, K. Harris, D. MacTavish and S. Kar (2005) Fucoidan inhibits cellular and neurotoxic effects of β -amyloid ($A\beta$) in rat cholinergic basal forebrain neurons. *Eur. J. Neurosci.*, 21: 2649-2659.
- Knight, J. A. (2000) Review: Free radicals, antioxidants, and the immune system. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 30: 145-158.
- Li, B., F. Lu, X. Wei and R. Zhao (2008) Fucoidan: Structure and Bioactivity. *Molecules*, 13: 1671-1695.
- Lim, S. N., P. C. K. Cheung, V. E. C. Ooi and P. O. Ang (2002) Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 3862-3866.
- Maruyama, H., H. Tamauchi, M. Hashimoto and T. Nakano (2003) Antitumor activity and immune response of Mekabu fucoidan extracted from Sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *In Vivo*, 17: 245-249.
- Masuda, Y., N. Kodama and H. Nanba (2006) Macrophage J774.1 cell is activated by MZ-Fraction (Klasma-MZ) polysaccharide in *Grifola frondosa*. *Mycoscience*, 47: 360-366.
- Meydani, S. N., D. Wu, M. S. Santos and M. Hayek (1995) Antioxidants and immune response in aged persons: overview of present evidence. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62: 1462-1476.
- Nagai, T. and T. Yukimoto (2003) Preparation and functional properties of beverages made from sea algae. *Food Chem.*, 81: 327-332.
- Nardella, A., F. Chaubet, C. Boisson-Vidal, C. Blondin, P. Durand and J. Jozefonvicz (1996) Anticoagulant low molecular weight fucans produced by radical process and ion exchange chromatography of high molecular weight fucans extracted from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Carbohydr. Res.*, 289: 201-208.
- Oyaizu, M. (1988) Antioxidative activities of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 35: 771-775.
- Palkama, T. (1991) Induction of interleukin-1 production by ligands binding to the scavenger receptor in human monocytes and the THP-1 cell line. *Immunol.*, 74: 432-438.

- Park, P. J., S. J. Heo, E. J. Park, S. K. Kim, H. G. Byun, B. T. Jeon and Y. J. Jeon (2005) Reaction oxygen scavenging effect of enzymatic extracts from *Sargassum thunbergii*. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 6666-6672.
- Qi, H., Q. Zhang, T. Zhao, R. Chen, H. Zhang, X. Niu and Z. Li (2005) Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. *Int. J. Biol. Macromol.*, 37: 195-199.
- Raghavendran, H. R. B., A. Sathivel and T. Devaki (2005) Antioxidant effect of *Sargassum polycystum* (Phaeophyceae) against acetaminophen induced changes in hepatic mitochondrial enzymes during toxic hepatitis. *Chemosphere*, 61: 276-281.
- Ramesh, H. P., K. Yamaki and T. Tsushida (2002) Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) galactomannan fractions on phagocytosis in rat macrophages and on proliferation and IgM secretion in HB4C5 cells. *Carbohydr. Polym.*, 50: 79-83.
- Rioux, L. E., S. L. Turgeon and M. Beaulieu (2007) Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydr. Polym.*, 69: 530-537.
- Ruperez, P., O. Ahrazem and J. A. Leal (2002). Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *J. Agric. Food Chem.*, 50(4), 840-845.
- Shan, B. E., Y. Yoshida, E. Kuroda and U. Yamashita (2000) Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes in vitro. *Int. J. Immunopharmacol.*, 21: 59-70.
- Shimada, K., K. Fujikawa, K. Yahara and T. Nakamura (1992) Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, 40: 945-948.
- Shinmoto, H., H. Murakami, S. Dosako, K. Shinohara and H. Omura (1986) Human-human hybridomas secreting IgM-like immunoglobulin with α and μ heavy chains. *Agric. Biol. Chem.*, 50: 2217-2223.
- Shu C. H. and M. Y. Lung (2004) Effect of pH on the production and molecular weight distribution of exopolysaccharide by *Antrodia camphorata* in batch cultures. *Process. Biochem.*, 39: 931-937.
- Teas J, M. L. Harbison and R. S. Gelman (1984) Dietary seaweed (*Laminaria*) and mammary carcinogenesis in rats. *Cancer Res.*, 44: 2758-2761.
- Wang, J., Q. Zhang, Z. Zhang and Z. Li (2008) Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 42: 127-132.
- Xue C. H., G. L. Yu, T. Hirata, J. Terao and H. Lin (1998) Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in a phosphatidylcholine-liposomal suspension and organic solvents. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 62: 206-209.
- Xue, C. H., Y. Fang, H. Lin, L. Chen, Z. J. Li and D. Deng (2001) Chemical characters and antioxidative properties of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica*. *J. Appl. Phycol.*, 13: 67-70.
- Yamamoto, I., T. Nagumo, K. Yagi, H. Tominaga and M. Aoki (1974) Antitumor effect of seaweeds, I. antitumor effect of extracts from *Sargassum* and *Laminaria*. *Jpn. J. Exp. Med.*, 44: 543-546.
- Yamamoto, T., S. Hsu, J. Lewis, J. Wataha, D. Dickinson, B. Singh, W. B. Bollag, P. Lockwood, E. Ueta, T. Osaki and G. Schuster (2003) Green tea polyphenol causes differential oxidative environments in tumor versus normal epithelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 307: 230-236.
- 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.
- Yeh, S. T., C. S. Lee and J. C. Chen (2006) Administration of hot water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.*, 20: 332-345.
- Yuan, C., X. Huang, L. Cheng, Y. Bu, G. Liu, F. Yi, Z. Yang and F. Song (2009) Evaluation of antioxidant and immune activity of *Phellinus ribis* glucan in mice. *Food Chem.*, 115: 581-584.
- Zhao, X., C. H. Xue, Y. P. Cai, D. F. Wang and Y. Fang (2005) The study of antioxidant activities of fucoidan from *Laminaria japonica*. *High Tech. Lett.*, 11: 91-94.
- Zhao, X., C. H. Xue, Z. J. Li, Y. P. Cai, H. Y. Liu and H. T. Qi (2004) Antioxidant and hepatoprotective activities of low molecular weight sulfated polysaccharide from *Laminaria japonica*. *J. Appl. Phycol.*, 16: 111-115.

Evaluation of Antioxidative and Immune Activity of Water Extracts from Three Brown Seaweeds

Yu-Lan Hung, Pai-An Hwang* and Chwen-Herng Wu

Seafood Technology Division, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

This study was aimed to examine the antioxidative and immune activity of the water extracts from brown seaweed *Sargassum hemiphyllum*, *Undaria pinnatifida* and *Laminaria japonica*. The water extract from *S. hemiphyllum* was characterized by higher percentages of total sugar and sulphate, and low molecular weights (<504 Da as major). The antioxidative activity of three water extracts was evaluated using four different methods, including reducing power, DPPH free radicals scavenging activity, Fe⁺² chelating activity and SOD-like activity, and the immune activity was evaluated using HB4C5 and J774.1 cells. It was found that antioxidative activity of *S. hemiphyllum* water extract was higher than *U. pinnatifida* and *L. japonica*. In immune activity, HB4C5 cells showed the maximum cell proliferation (135%, 115% and 129%) and IgM secretion (133%, 129% and 126%) at 500 µg/ml of water extracts from *S. hemiphyllum*, *U. pinnatifida* and *L. japonica*, respectively. At 250 µg/ml, J774.1 cells showed the maximum cell proliferation (142%) and phagocytosis (138%) of water extract from *S. hemiphyllum*. And at 500 µg/ml, J774.1 cells showed the maximum of cell proliferation (119% and 121%) and phagocytosis (112% and 118%) of water extracts from *U. pinnatifida* and *L. japonica*. The results suggested that water extract from *S. hemiphyllum* may be used as a new substance for immunomodulatory.

Key words: *Sargassum hemiphyllum*, *Undaria pinnatifida*, *Laminaria japonica*, antioxidative activity, immune activity

*Correspondence: 199, Hou-lh Rd., Keelung 202, Taiwan, TEL: (02) 2462-2101; Fax: (02) 2462-3306; E-mail: pahwang@mail.tfrin.gov.tw