

지누아리(*Grateloupia filicina*) 추출물의 항산화 및 항염능

유미영¹, 이상현^{2*}

¹건국대학교 생물공학과 대학원생, ²건국대학교 생물공학과 교수

Antioxidant and Anti-inflammatory Activity of *Grateloupia filicina* extract

Mi Young Yu¹, Sang Hyun Lee^{2*}

¹Student, Department of Biological Engineering, Konkuk University

²Professor, Department of Biological Engineering, Konkuk University

요약 본 연구에서는 최적의 조건에서 추출된 지누아리 추출물의 항산화능과 항염능을 확인하였다. 다양한 ethanol 수용액으로 지누아리의 유용물질을 추출하여 DPPH, ABTS, nitrite 라디칼 소거능을 측정하고, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 분석하였다. 20% ethanol 수용액으로 추출한 경우에 라디칼 소거능이 가장 우수하였고, 폴리페놀과 플라보노이드의 함량 또한 가장 높았다. 이로부터 20% ethanol 수용액이 지누아리의 항산화 및 항염 물질을 효율적으로 추출하였음을 확인하였다. 한편, RAW 264.7 세포주를 이용하여 지누아리 추출물의 세포독성과 항염능을 확인하였다. 지누아리 추출물은 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 독성을 나타내지 않았고, 이 농도에서 50% 이상의 NO 생성 억제능을 나타냈다. 이러한 결과로 지누아리 추출물은 항산화 및 항염 특성을 지니는 기능성 화장품 원료로 사용 가능함을 확인하였다.

주제어 : 지누아리, 해조류, 항산화, 항염, 피부미백제

Abstract In this study, the antioxidant ability, anti-inflammatory ability and whitening effect of the extracted *Grateloupia filicina* under optimal conditions were confirmed. The useful substances of *Grateloupia filicina* were extracted with various ethanol aqueous solutions to measure DPPH, ABTS, and nitrite radical elimination capabilities, and the polyphenol and flavonoid contents were analyzed. When extracted with a 20% ethanol aqueous solution, the radical elimination ability was the best, and the content of polyphenol and flavonoids was also the highest. From this, it was confirmed that the 20% ethanol aqueous solution efficiently extracted the antioxidant and anti-inflammatory substances of *Grateloupia filicina*. Meanwhile, the cytotoxicity and anti-inflammatory properties of the *Grateloupia filicina* extract were confirmed using RAW 264.7 cell lines. *Grateloupia filicina* extract did not show toxicity at a concentration of 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and showed NO production inhibitory capacity of 50% or more at this concentration. As a result, it was confirmed that the *Grateloupia filicina* extract can be used as a functional cosmetic raw material having antioxidant and anti-inflammatory properties.

Keyword : *Grateloupia filicina*, Algae, Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Skin whitening

*Corresponding Author : Sang Hyun Lee(sanghlee@konkuk.ac.kr)

Received October 6, 2021

Revised November 4, 2021

Accepted January 20, 2022

Published January 28, 2022

1. 서론

조류(algae)는 거대조류(macroalgae)와 미세조류(microalgae)로 나누어지며, 해수에 서식하는 해조류는 다세포 생물에 속하는 거대조류로서 부리, 줄기, 잎으로 명확하게 분화하지 않는 엽상체를 지니는 특징이 있다[1]. 해조류는 광합성 색소의 성분에 따라 녹조류(Chlorophyceae), 갈조류(Phaeophyceae), 홍조류(Rhodophyceae)로 나누어지며, 녹조류의 경우 조간대 상부, 갈조류는 조간대 중하부, 홍조류는 조하대에서 주로 서식하는 것으로 알려져 있다[2]. 영양학적으로 해조류의 열량은 매우 낮으면서 비타민과 무기질, 식이섬유소가 풍부하고, 육지 식물에는 없는 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유하고 있다. 전 세계적으로 약 6,000종의 해조류가 알려져 있고, 약 150여종의 해조류가 전 세계에서 식품으로 이용되고 있다[3]. 해조류는 항염증, 항암, 면역증진 및 항바이러스 등의 다양한 생리활성을 갖는 물질들을 함유하고 있어 새로운 의약품, 화장품 및 기능성 식품을 개발하기 위해 꾸준히 연구되고 있다. 그 중 홍조류는 엽록소 a와 d를 가지고 광합성을 하며, 광합성 색소로서 피코시아닌이나 피코에리트린 또는 카로티노이드를 함유하고 있다. 광합성에 이용되는 엽록소나 광합성 색소는 항산화[5], 항염[6], 항암, 항균 및 항진균[7]과 같은 유용한 특성을 지니고 있다.

이러한 기능성을 바탕으로 해조류는 기능성 화장품 원료로 각광받고 있다. 화장품법 제2조에 의하면 기능성 화장품은 피부의 미백에 도움을 주는 제품, 피부의 주름개선에 도움을 주는 제품, 피부를 곱게 태워주거나 자외선으로부터 피부를 보호하는 데에 도움을 주는 제품, 모발의 색상 변화·제거 또는 영양공급에 도움을 주는 제품, 피부나 모발의 기능 약화로 인한 건조함, 갈라짐, 빠짐, 각질화 등을 방지하거나 개선하는 데에 도움을 주는 제품으로 크게 5가지로 나눌 수 있다. 이러한 기능성의 기반에는 항산화능이 존재한다.

피부의 색은 melanin에 의해서 결정되며, melanocyte에서 tyrosinase를 통해 tyrosine을 산화시켜 L-DOPA와 melanin을 합성하여 melanosome을 생성한다. 이 때 항산화제를 처리하는 것으로 tyrosine의 산화과정을 억제하여 미백효과를 기대할 수 있다[8]. 한편, 피부의 노화 및 주름의 생성은 활성산소와 큰 연관이 있으며, 이를 효과적으로 제거할 수 있는 항산화제의 적용이 필요하다. 피부의 주름은 자외선 및 노화, 세

포내 활성산소 제거 효소의 감소 등의 이유로 생성된 활성산소가 collagen을 분해하는 효소인 MMP(matrix metalloproteinase)의 생성을 증가시키고, 그 결과 피부의 collagen을 분해함으로써 생성된다[9].

본 연구에서는 기능성 화장품 소재를 탐색하고자 지누아리(*Grateloupia filicina*)를 선정하였다. 지누아리는 동해안에 주로 서식하며, 식용으로 이용되는 해조류로 홍조류에 속한다. 선행연구로 지누아리의 소수성 물질의 추출 및 항산화능에 대한 연구가 보고되었다[10]. 하지만 지누아리의 유용물질 중 하나인 피코에리트린은 항산화능을 지닌 수용성 물질로[11], 지누아리의 유용물질을 추출하기 위한 최적화 연구가 필요하다. 본 연구에서는 ethanol 수용액을 이용하여 지누아리의 유용물질을 효율적으로 추출할 수 있는 추출용매를 개발하고, 추출액의 항산화, 세포독성, 항염 특성을 연구하였다.

2. 실험 방법

2.1 추출물

본 연구에 사용한 지누아리는 2020년 10월에 강원도 강릉시에서 구입한 것을 사용하였으며, 실험실로 옮겨와 이물질을 제거하고 음건한 후 분쇄하였다. 잘 분쇄한 각각의 해조류 10 g과 다양한 농도의 ethanol 300 mL를 혼합하여 상온에서 12 시간동안 추출한 후, 6000 g로 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 실험 샘플로서 사용하였다.

해조류 조추출물에 대한 건조중량을 측정하기 위해 건조한 칭량접시의 무게를 측정한 뒤, 추출물 1 mL를 주입하고, 48시간 60도로 설정된 드라이오븐에 방치하여 수분이 충분히 제거되도록 하였다. 그 후 그릇의 질량을 재어 전과 후의 무게차이를 통해 건조중량을 측정하였다.

2.2 DPPH 라디칼 소거능 측정

지누아리 추출물의 항산화능을 측정하기 위해 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 먼저 70% ethanol을 용매로 DPPH (Sigma, USA)를 녹여 0.4 mM DPPH solution을 제조하였다. 이를 희석하여 용액이 517 nm 파장에서 흡광도가 1.0이 되도록 70% ethanol로 희석하였다. 농도를 조정하여 DPPH

solution 3 mL에 각각의 시료 1 mL를 첨가한 후 30분간 실온에 방치하였다가 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 감소율을 계산하여 DPPH radical 소거능으로 변환하였다.

2.3 ABTS 라디칼 소거능 측정

해조류 추출물의 ABTS radical 소거능을 측정하기 위해 734 nm에서 흡광도를 측정하여, 흡광도의 감소율을 radical 소거능으로서 기록하였다. Phosphate buffer saline을 용매로 7 mM ABTS solution을 제조한 후, 2.45 mM potassium persulfate 용액을 100:1 비율로 혼합한 뒤 16 시간동안 실온 암실에 두어 반응을 유도하였다. 이 용액이 734 nm 파장에서 대조군의 흡광도가 1.0이 되도록 농도를 조정하였다. 농도를 조정한 ABTS solution 3 mL에 각각의 시료 1 mL를 첨가한 후 30분간 실온에 방치하였다가 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 감소율을 계산하여 ABTS radical 소거능으로 변환하였다.

2.4 Nitrite 라디칼 소거능 측정

Griess reagent는 5% phosphoric acid (TCI, Japan) 용액에 1% sulfanilamide (TCI, Japan)를 녹인 용액과 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride (TCI, Japan)용액을 혼합하여 제조하였다.

추출액 1 mL와 1 mM NaNO₂ (Sigma, USA) 용액 1 mL를 혼합한 뒤 pH 3의 0.2 M citrate buffer (Junsei, Japan) 8 mL를 넣어 혼합한다. 그 후 용액을 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝나면 반응이 끝난 용액 1 mL와 2% acetic acid 용액 2 mL, Griess reagent 0.4 mL를 반응시켰다. 그 후 잘 혼합하여 실온에서 15분간 반응시킨 뒤 520 nm에서의 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도는 감소율을 계산하여 NO radical 소거능으로 변환하였다.

2.5 총 폴리페놀 함량 측정

추출된 시료 1 mL에 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL를 첨가하여 30분 간 방치하고, Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 실온에서 15분 간 방치하고 15분간 원심분리 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank는 시료추출에 사용한 추출용매를 동일하게 처리하여 사용하였으며, gallic acid를 표준곡선으로 하여 흡광

도를 측정한 후 나타내었다.

2.6 총 플라보노이드 함량 측정

시료 100 μL와 1 M potassium acetate 20 μL, 10% aluminum nitrate 20 μL, ethanol 860 μL를 혼합하여 실온에서 40분간 반응시켰다. 40분간 반응 후 원심분리하여 부유물을 가라앉힌 후, 415 nm 파장에서 상층액의 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 quercetin을 이용하였다.

2.7 세포 독성 측정

세포 독성을 측정하기 위해 MTT assay를 시행하였다. 세포주는 RAW 264.7 cell line을 사용하였다. 세포 배양에 사용된 배지는 Dulbecco's Modified Eagle Medium, fetal bovine serum, penicillin-streptomycin solution을 사용하였다. DMEM 445 mL, FBS 50 mL, penicillin-streptomycin solution 5 mL를 혼합하여 배지를 제조하였다. 추출물을 첨가한 배지는 DMEM 용액을 용매로 하여 0.1 mg/mL 농도로 제조하였다.

96 well plate에 각 well 당 3.0×10⁴ cell을 분주하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24시간 동안 세포를 배양하였다. 배양 후 상층액을 제거한 뒤 DMEM 배지 0.18 mL와 추출물을 첨가한 배지를 0.02 mL를 주입하여 다시 48시간 동안 배양하였다. 배양 후 추출물을 첨가한 배지를 제거한 뒤, MTT solution을 0.1 mL씩 처리하여 4시간 동안 결정화시켰다. 그 후 MTT solution을 다시 제거한 뒤, dimethyl sulfoxide (DMSO) 0.1 mL를 처리하여 결정화된 MTT를 다시 용해시켜 UV-vis spectrophotometer를 이용하여 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

2.8 세포내에서의 NO 생성 억제능 측정

96 well plate에 각 well 당 5.0×10⁴ cell을 seeding하여 1일간 37°C, 5% CO₂ 조건에서 RAW 264.7 세포를 배양하였다. 배양 후 상층액을 회수한 뒤 LPS가 1 μg/mL 농도로 첨가된 DMEM 배지 0.18 mL와 20% ethanol로 추출한 지누아리 추출물을 첨가한 배지를 0.02 mL 주입하여 다시 2 일간 배양하였다. 배양 후 지누아리 추출물을 첨가한 배지의 상층액 0.1 mL를 회수한 뒤 griess reagent를 0.1 mL씩 처리하여 15분간 동안 반응시켰다. 그 후 540 nm 흡광도를

측정하였다.

2.9 통계 분석

통계분석은 IBM SPSS stastics 20.0 (IBM, USA)에서 2 sample t test를 통해 검증하였다.

3. 실험 결과

3.1 건조 중량

Table 1은 추출 수율을 측정한 결과이다. 천연물의 추출에 사용할 수 있는 용매는 크게 친수성 용매와 소수성 용매로 분류되며, 극성 용매는 극성 용질을, 소수성 용매는 비극성 용질을 추출하는데 유리하다. 극성 용매로는 대표적으로 물을 많이 사용하고, 소수성 용매로는 hexan을 많이 사용한다. 극성 용매인 물의 소수성 특징을 높여주기 위해서는 ethanol이나 methanol을 혼합할 수 있으며, 이러한 방법으로 물에서 잘 추출하기 힘든 비극성 용질의 추출 효율을 높일 수 있다.

본 실험에서는 물과 20%, 40%, 60%, 70%, 80%, 100% 농도의 ethanol로 지누아리의 유용물질을 추출하였다. 실험 결과, ethanol의 농도가 증가할수록 추출 수율은 감소하였으며, 이는 추출 용매의 친수성이 높을수록 유용물질의 추출에 유리하다는 것을 의미한다.

Table 1. Dry weight of *Grateloupia filicina* extract

Ethanol concentration (%)	Extracted weight (g per 100 g seaweed, %)
0	27.0
20	12.0
40	7.2
60	5.4
70	5.1
80	3.9
100	0.6

3.2 DPPH 라디칼 소거능

DPPH는 비교적 안정적인 radical이며 radical 활성에 따라 색을 나타내는 분자로, 항산화 물질의 활성을 나타내는데 사용된다.

본 실험에서는 다양한 ethanol 농도로 추출된 지누아리 조추출물의 항산화 활성을 측정하였다. Fig. 1은 DPPH를 통해 지누아리 조추출물의 항산화를 실험한 결과이다. 물로 추출한 결과 $60.4 \pm 0.5\%$, 20% ethanol로 추출한 결과 $62.3 \pm 0.3\%$, 40% ethanol로

추출한 결과 $59.5 \pm 0.3\%$, 60% ethanol로 추출한 결과 $54.9 \pm 0.6\%$, 70% ethanol로 추출한 결과 $52.5 \pm 0.8\%$, 80% ethanol로 추출한 결과 $49.7 \pm 1.4\%$, 100% ethanol로 추출한 결과 $28.3 \pm 0.3\%$ 의 DPPH 라디칼 소거능을 보였으며, 항산화 활성은 20% ethanol로 추출한 경우 가장 높게 측정되었다. 즉, 20% ethanol은 물보다 조추출물의 추출 수율은 낮았지만 지누아리의 항산화 물질의 추출에는 더욱 효과적이었다.

한편 국내산 해조류의 항산화능을 연구한 선행논문과 비교를 위해 20% ethanol로 추출한 추출물 분말을 제조하여 선행연구와 동일한 조건인 6 mg/mL 농도로 시약을 제조한 후 항산화능을 분석한 결과 89.3%의 항산화능을 보였으며, 이는 선행 연구에서 총 7개의 해조류 중 가장 높은 항산화능을 보인 팽새이모자반 추출물의 84.0% 항산화능 보다 좋은 값을 보였다[12].

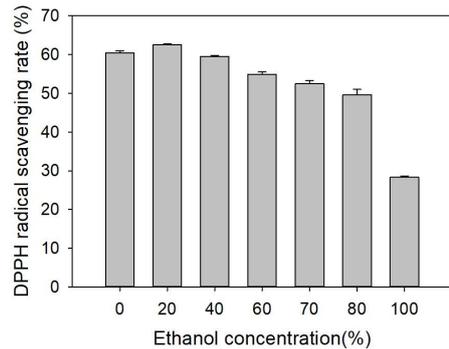


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *Grateloupia filicina* extract

3.3 ABTS 라디칼 소거능

ABTS 역시 비교적 안정적인 radical이며 radical 활성에 따라 색을 나타내는 분자로, 항산화 물질의 활성을 나타내는데 사용된다. DPPH와 비교하여 ABTS는 더 다양한 종류의 친수성 물질, 소수성 물질, 색소의 항산화 활성 측정에 용이한 것으로 보고되어 있다.

본 실험에서는 다양한 ethanol 농도로 추출된 지누아리 조추출물의 항산화 활성 또한 측정하였다. Fig. 2는 ABTS를 통해 지누아리 조추출물의 항산화를 실험한 결과이다. 물로 추출한 결과 $64.2 \pm 0.5\%$, 20% ethanol로 추출한 결과 $66.6 \pm 0.9\%$, 40% ethanol로 추출한 결과 $58.2 \pm 0.6\%$, 60% ethanol로 추출한 결과

52.3±1.1%, 70% ethanol로 추출한 결과 50.2±1%, 80% ethanol로 추출한 결과 44.3±0.6%, 100% ethanol로 추출한 결과 9.7±0.5%의 ABTS 라디칼 소거능을 보였으며, 항산화 활성은 20% ethanol로 추출한 경우 가장 높게 측정되었다. 즉, ABTS를 통한 항산화 활성 측정 결과에서도 20% ethanol은 지누아리의 항산화 물질의 추출에 물 보다 더욱 효과적이었다.

DPPH와 ABTS를 통한 항산화능 측정 결과를 통하여 지누아리의 항산화물질의 추출에는 일반적으로 사용되는 70% ethanol 이나 물보다 20% ethanol이 더욱 효과적이라는 것을 확인하였다. 유사한 선행연구로 홍조류를 6개의 용매로 추출한 선행연구에서도서도 비슷한 결과를 얻었는데, ethanol 추출물은 물 추출물에 비해 낮은 항산화능을 나타내었다[13].

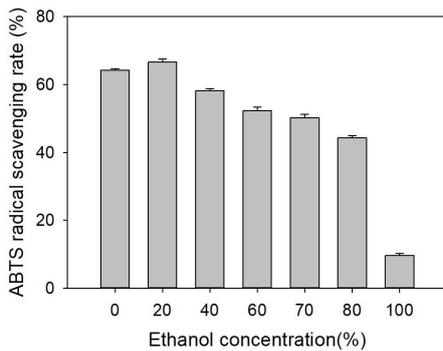


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of *Grateloupia filicina* extract

3.4 Nitrite 라디칼 소거능

본 실험에서는 다양한 ethanol 농도로 추출된 지누아리 조추출물의 nitrite 소거능을 통한 항산화능을 측정하였다. Fig. 3은 nitrite를 통해 지누아리 조추출물의 항산화를 실험한 결과이다. 물로 추출한 결과 61.7±2.5%, 20% ethanol로 추출한 결과 66.6±1.9%, 40% ethanol로 추출한 결과 57.1±2.7%, 60% ethanol로 추출한 결과 30.9±2.3%, 70% ethanol로 추출한 결과 22.6±2.3%, 80% ethanol로 추출한 결과 15.8±4.0%, 100% ethanol로 추출한 결과 7.4±2.9%의 nitrite 라디칼 소거능을 보였으며, 최종적으로 nitrite 라디칼 소거능은 20% ethanol로 추출한 경우 가장 높게 측정되었다.

측정 결과 항산화 활성은 20% ethanol로 추출한 경

우 가장 높게 측정되었다. 즉, 20% ethanol은 물보다 조추출물의 추출 수율은 낮았지만 지누아리의 항산화 물질의 추출에는 더욱 효과적이었다.

국내산 해조류 35종의 methanol 추출물에 대한 nitrite 소거능 연구에서 갈조류의 소거능은 40% 이상인 것에 비해 홍조류는 40% 미만의 낮은 소거능을 나타내었다[14]. 본 연구에서도 ethanol 비율이 높은 경우 선행연구와 유사하게 낮은 nitrite 소거능을 나타내었지만, 물로 추출한 추출물의 경우 갈조류와 유사한 수준의 nitrite 소거능을 보였다. 이를 통해 홍조류의 추출에서 ethaol보다 물을 이용한 추출법이 더 효율적이라고 판단된다.

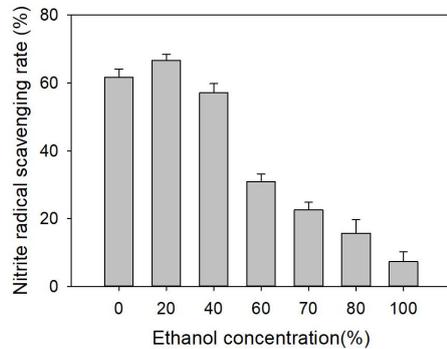


Fig. 3. Nitrite radical scavenging activity of *Grateloupia filicina* extract

3.5 폴리페놀&플라보노이드 농도 측정

폴리페놀은 다양한 식물에서 주로 발견되는 가장 보편적인 항산화 물질로, 벤젠구조에 다수의 하이드록시기가 붙어있는 구조를 띠고 있다. 이러한 구조를 띠는 물질로는 녹차의 카테킨, 포도주의 레스베라트롤, 양파의 퀘세틴, 플라보노이드 등이 해당된다. Table 2는 지누아리 조추출물의 폴리페놀과 플라보노이드를 측정할 결과이다.

본 실험에서는 다양한 ethanol 농도로 추출된 지누아리 조추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 측정 결과 폴리페놀 함량은 20% ethanol로 추출한 경우 가장 높게 측정되었다. 지누아리로부터 추출된 8.82 mg/g의 폴리페놀 함량은 국내산 7종의 해조류 폴리페놀 함량을 측정할 선행논문 보다 높은 값을 보였다[12].

식물이나 균류의 이차대사산물인 플라보노이드는 폴

리페놀에 속하는 물질로 항산화 특성을 가지는 물질이다.

본 실험에서는 다양한 ethanol 농도로 추출된 지누아리 조추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 20% ethanol로 추출한 경우 가장 높게 측정되었다. 이때 60% ethanol로 추출한 경우에 40% ethanol로 추출한 경우보다 다소 높은 플라보노이드 함량이 측정되었는데, 이는 극성과 비극성의 플라보노이드가 같이 존재하여 60% ethanol에서 최적의 추출 수율을 보였을 것으로 판단된다.

동일하게 김과 미역 등의 식용 해조류의 플라보노이드 함량을 측정한 선행연구에 따르면 갈조류 및 녹조류는 플라보노이드가 함유량이 많은 편에 속하였으나, 홍조류인 김은 0.67 mg/g으로 낮은 수치를 나타내었다 [15]. 본 연구에서 선행연구와 동일한 조건의 추출 방법인 80% ethanol로 추출을 한 결과 0.402 mg/g으로 김보다 낮은 플라보노이드 함량을 나타냈지만, 물을 이용한 추출을 통해 최대 0.939 mg/g으로 추출 수율을 증가시킬 수 있었다.

이러한 결과를 통하여 20% ethanol은 지누아리에서 총 폴리페놀과 총 플라보노이드의 추출하는데 가장 적합하고, 이렇게 추출된 항산화 물질이 DPPH, ABTS, NO 라디칼에 대한 가장 높은 소거능과 직접적으로 연관이 있다는 것을 확인할 수 있었다.

Table 2. Total polyphenol and flavonoid contents of *Grateloupia filicina* extract

Ethanol concentration (%)	Total polyphenols (mg/g)	Total flavonoids (mg/g)
0	8.16	0.837
20	8.82	0.939
40	8.38	0.786
60	8.18	0.807
70	6.88	0.606
80	5.25	0.402
100	0.70	0.351

3.5 세포 독성

지누아리 추출물의 세포 독성 측정을 위해 MTT assay를 이용한 세포독성을 측정하였다. 20% ethanol로 추출한 지누아리 추출물은 최종농도가 25-200 μ g/mL가 되도록 희석하여 실험을 진행하였다.

Table 3은 세포 생존율을 통해 지누아리 조추출물의 세포독성을 실험한 결과이다. 실험 결과 200 μ g/mL 농도에서 93.1 \pm 2.3%, 100 μ g/mL 농도에서 103.3 \pm 2.3%, 50 μ g/mL 농도에서 101.1 \pm 1.4%, 25 μ g/mL 농도에서 97.3 \pm 1.3%의 세포 생존율이 나타났다.

200 μ g/mL 농도에서 통계적으로 유의미한 독성을 나타냈지만, 일반적으로 사용되는 ISO 10993-5와 식품의약품안전처의 '의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통기준규격'에서 80% 이상의 세포 생존율을 나타낸 경우 독성이 없음으로 판단한다고 명시되어 있으며, 이러한 기준으로는 200 μ g/mL 이하의 농도에서 세포독성이 나타나지 않은 것으로 나타났다.

Table 3. Cell survival rate of RAW 264.7 with *Grateloupia filicina* extract

Concentrate (μ g/mL)	Cell survival rate (%)
0	100.0 \pm 1.0
25	97.3 \pm 1.3
50	101.1 \pm 1.4
100	103.3 \pm 2.3
200	93.1 \pm 2.3*

*, p < 0.05

3.6 세포내에서 NO 생성 억제능

지누아리 추출물의 염증 억제능 측정을 위해 griess reagent를 이용한 NO 생성량 측정을 실시하였다. 지누아리 추출물은 최종농도가 25-200 μ g/mL가 되도록 희석하여 실험을 진행하였다.

Table 4는 NO 소거율을 통해 지누아리 조추출물의 항염활성을 실험한 결과이다. 실험 결과 200 μ g/mL 농도에서 50.4 \pm 2.5%, 100 μ g/mL 농도에서 52.1 \pm 2.1%, 50 μ g/mL 농도에서 73.5 \pm 3.3%, 25 μ g/mL 농도에서 88.7 \pm 2.2%로 NO 생성이 감소되었다. 즉 농도에 비례하여 항염능이 증가하는 것을 보였다.

본 연구와 유사하게 홍조류인 잎꼬시래기 추출물의 항염능을 연구한 선행연구에서는 100 μ g/mL 농도에서 약 40% 내외의 항염능을 보였다 [16]. 본 연구에서는 동일 농도에서 47.9%의 항염능을 나타내었다.

홍조류는 카라기난의 함유에 의해 염증을 유도하는 경향이 있다고 알려져 왔다 [17]. 하지만 카라기난의 경우 일반적인 물이나 에탄올에 녹지 않으며 60 $^{\circ}$ C 이상으로 가열한 물이나 알칼리 용액을 통해서 녹일 수 있다 [18]. 본 연구에서도 물을 이용한 상온 추출을 이용하여

카라기난이 녹아나오지 않으면서도 홍조류의 유효 항산화 및 항염 물질을 추출할 수 있었다.

Table 4. NO production rate of RAW 264.7 with *Grateloupia filicina* extract

Concentrate (μg/mL)	NO production rate (%)
0	100.0±4.0
25	88.7±2.2*
50	73.5±3.3**
100	52.1±2.1***
200	50.4±2.5***

*, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001

4. 결론

본 연구에서는 ethanol 수용액을 이용하여 추출한 지누아리 추출물의 항산화능 및 항염능을 확인하였다. 지누아리 추출물의 DPPH, ABTS, nitrite 라디컬 소거능을 측정된 결과, 20% ethanol을 이용한 경우에 가장 높은 라디컬 소거능을 보였다. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드를 측정된 결과에서도 20% ethanol로 추출한 경우에 가장 높은 함량을 나타냈다. 이러한 결과로 20% ethanol은 지누아리의 유용물질을 가장 효과적으로 추출하였으며, 높은 항산화능과 항염능은 높은 폴리페놀과 플라보노이드 함량과 직접적인 관계를 나타냈다. 선행결과와 비교한 결과, 지누아리 추출물은 다른 종류의 조류에 비하여 높은 폴리페놀 함량을 나타내고, 항산화능도 높은 것을 확인하였다. 지누아리 추출물을 이용한 세포독성과 항염능 결과에서는 일반적으로 화장품에 첨가하여 사용할 수 있는 200 μg/mL의 농도에서도 독성이 나타나지 않았다. 또한, 지누아리 추출물은 LPS로 유도된 염증을 억제할 수 있었다. 이러한 결과를 통하여 지누아리 추출물은 항산화 및 항염능을 가진 화장품 기초원료로서 사용 가능성을 확인하였다.

REFERENCES

[1] J. W. Back & K. H. Lee. (2014). The Present of Convention on Biological Diversity Maritime Agenda. *Korean journal of environmental biology*, 32(4), 397-402. DOI : 10.11626/KJEB.2014.32.4.397

[2] J. S. Lee. (2008). Chemistry and Utilization of Algae. pp. 16-45. Hyoil, Seoul, Korea.

[3] S. J. Kim, K. S. Lee, S. H. Mo, J. B. Park, J. G. Oh,

Y. J. Jeong, T. G. Kwon & T. G. Lee. (2013). Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Six Edible Seaweeds. *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 14(6), 3081-3088. DOI : 10.5762/KAIS.2013.14.6.3081

[4] C. Deville, M. Gharbi, G. Dandrifosse & O. Peulen. (2007). Study on the effects of laminarin, a polysaccharide from seaweed, on gut characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(9), 1717-1725. DOI : 10.1002/jsfa.2901

[5] Q. Wu, X. P. Fu, L. C. Sun, Q. Zhang, G. M. Liu, M. J. Cao & Q. F. Cai. (2015). Effects of physicochemical factors and in vitro gastrointestinal digestion on antioxidant activity of R-phycoerythrin from red algae *Bangia fusco-purpurea*. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(6), 1445-1451. DOI : 10.1111/ijfs.12775

[6] D. Lee, M. Nishizawa, Y. Shimizu & H. Saeki. (2017). Anti-inflammatory effects of dulse (*Palmaria palmata*) resulting from the simultaneous water-extraction of phycobiliproteins and chlorophyll a. *Food Research International*, 100, 514-521. DOI : 10.1016/j.foodres.2017.06.040

[7] S. Afreen & T. Fatma. (2018). Extraction, purification and characterization of phycoerythrin from *Microchaete* and its biological activities. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 13, 84-89. DOI : 10.1016/j.bcab.2017.11.012

[8] U. Panich, T. Onkoksoong, K. Kongtaphan, K. Kasetsinsombat, P. Akarasereenont & A. Wongkajornsilp. (2011). Inhibition of UVA-mediated melanogenesis by ascorbic acid through modulation of antioxidant defense and nitric oxide system. *Archives of pharmacal research*, 34(5), 811-820. DOI : 10.1007/s12272-011-0515-3

[9] E. Kohl, J. Steinbauer, M. Landthaler & R. M. Szeimies. (2011). Skin ageing. *Journal of the European academy of dermatology and venereology*, 25(8), 873-884. DOI : 10.1111/j.1468-3083.2010.03963.x

[10] Y. Athukorala, K. W. Lee, C. Song, C. B. Ahn, T. S. Shin, Y. J. Cha ... & Y. J. Jeon. (2003). Potential antioxidant activity of marine red alga *Grateloupia filicina* extracts. *Journal of Food Lipids*, 10(3), 251-265. DOI : 10.1111/j.1745-4522.2003.tb00019.x

- [11] R. R. Sonani, N. K. Singh, J. Kumar, D. Thakar & D. Madamwar. (2014). Concurrent purification and antioxidant activity of phycobiliproteins from *Lyngbya* sp. A09DM: An antioxidant and anti-aging potential of phycoerythrin in *Caenorhabditis elegans*. *Process Biochemistry*, 49(10), 1757-1766.
DOI : 10.1016/j.procbio.2014.06.022
- [12] B. M. Kim, J. Y. Jeon, Y. B. Park & I. H. Jeong. (2006). Antioxidative Activity of Methanolic Extracts from Seaweeds. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 35(8), 1097-1101.
- [13] M. R. Jo, D. J. Lee & S. G. Yu. (2012). Radical Scavenging Activity of Ethanol Extracts and Solvent Partitioned Fractions from Various Red Seaweeds. *Ocean and Polar Research*, 34(4), 445-451.
DOI : 10.4217/OPR.2012.34.4.445
- [14] S. M. Ahn, Y. K. Hong, G. S. Kwon & H. Y. Sohn. (2011). Evaluation of antioxidant and nitrite scavenging activity of seaweed extracts. *Journal of Life Science*, 21(4), 576-583.
DOI : 10.5352/JLS.2011.21.4.576
- [15] C. S. Kwak, S. A. Kim & M. S. Lee. (2005). The Correlation of Antioxidative Effects of 5 Korean Common Edible Seaweeds and Total Polyphenol Content. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 34(8), 1143-1150.
DOI : 10.3746/jkfn.2005.34.8.1143
- [16] C. Park & H. Yoon. (2019). Anti-Inflammatory and Antioxidative Effects of Gracilaria textorii Ethanol Extract in LPS-PG-Stimulated Human Gingival Fibroblast-1 Cells. *Journal of The Korean Society of Integrative Medicine*, 7(4), 61-69.
DOI : 10.15268/ksim.2019.7.4.061
- [17] D. Salvemini, Z. Q. Wang, P. S. Wyatt, D. M. Bourdon, M. H. Marino, P. T. Manning & M. G. Currie. (1996). Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *British journal of pharmacology*, 118(4), 829-838.
DOI : 10.1111/j.1476-5381.1996.tb15475.x
- [18] A. S. Michel, M. M. Mestdagh & M. A. V. Axelos. (1997). Physico-chemical properties of carrageenan gels in presence of various cations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 21(1-2), 195-200.
DOI : 10.1016/S0141-8130(97)00061-5

유 미 영 (Mi Young Yu)

[정회원]



- 2016년 2월 : 동국대학교 문화예술대학원 향장예술학(석사)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 구미대학교의료뷰티맞춤화장품과 겸임 교수
- 관심분야 : 피부미용, 화장품
- E-mail : aldud0526@hanmail.net

이 상 현 (Sang Hyun Lee)

[정회원]



- 2005년 8월 : POSTECH 화학공학과(공학박사)
- 2009년 3월 ~ 현재 : 건국대학교 생물공학과 교수
- 관심분야 : 화장품, 헤어
- E-mail : sanghlee@konkuk.ac.kr