

불레기말 추출물의 항산화 및 항염효과

조영재¹, 김숙희², 최재영³, 이지복^{4*}

¹(주) 엘파운더 연구원, ²건국대학교 미래지식교육원 학점은행제 K뷰티산업융합학전공 교수,
³연성대학교 호텔외식조리과 호텔조리전공 교수, ⁴(주) 엘파운더 대표이사

Antioxidant and Anti-inflammatory activity of *Colpomenia sinuosa* extract

Young Jae Cho¹, Sook-hee Kim², Jae Young Choi³, Ja-bok Lee^{4*}

¹Researcher, L.FOUNDER INC

²Professor, K-Beauty industry fusion, Konkuk Continuing Education Center, Konkuk University

³Professor, Dept. of Culinary Arts & Hotel Food Service-Major in Culinary Arts, Yeonsung University

⁴CEO, L.FOUNDER INC

요약 본 연구에서는 불레기말 추출물의 항산화능 및 항염활성을 확인하였다. 라디칼 소거능으로서 DPPH, ABTS, nitrite 소거능 실험, FRAP 실험, 항산화 물질 측정으로서 폴리페놀과 플라보노이드 농도 측정을 실시하였다. DPPH 실험에서는 2.821 mg ascorbic acid / g의 항산화능을 나타내었으며, ABTS 실험에서는 3.923 mg ascorbic acid / g의 항산화능을 나타내었으며, nitrite 소거능 실험에서는 17.89 mg ascorbic acid / g의 항산화능을 나타내었다. FRAP에서는 불레기말 추출물의 1 mg이 ascorbic acid 2.062±0.177 µg의 환원력을 보였다. 폴리페놀 농도는 62.85±3.18 mg/g으로 나타났다. 플라보노이드 농도는 10.01±0.24 mg/g으로 나타났다. 한편 세포실험에서는 세포 독성과 항염활성을 알아보았다. 세포독성의 경우 20% 이하의 세포 독성을 보였으며, 100 µg/mL 농도에서 30.93±2.93%의 염증 억제능을 보여 불레기말 추출물의 기능성 화장품 원료로서의 가능성을 확인하였다.

주제어 : 불레기말, 항산화, 항염, 화장품, 해조류

Abstract In this study, the antioxidant and anti-inflammatory properties of *Colpomenia sinuosa* extracts were identified. Antioxidant experiments included DPPH, ABTS, nitrite scavenging experiments, and FRAP, polyphenol concentration measurements, flavonoid concentration measurements. DPPH assay results showed an antioxidant function of 2.821 mg ascorbic acid/g extract. ABTS assay results showed an antioxidant function of 3.923 mg ascorbic acid/g extract. nitrite assay results showed an antioxidant function of 17.89 mg ascorbic acid/g extract. In FRAP, 1 mg of the *Colpomenia sinuosa* extract showed a reduction of 2.062±0.177 µg of ascorbic acid. For polyphenols, 62.85±3.18 mg/g was shown. Flavonoids showed 10.01±0.24 mg/g. In the meantime, cell experiments showed cytotoxicity and anti-inflammatory functions. In cytotoxicity experiments, *Colpomenia sinuosa* extracts showed cytotoxicity of less than 20% and an inflammatory inhibition of 30.93±2.93% at a concentration of 100 µg/mL. These results indicate that *Colpomenia sinuosa* extract is available as functional cosmetic material.

Key Words : *Colpomenia sinuosa*, Antioxidant, Anti-inflammation, Cosmetics, Algae

*Corresponding Author : Ja-Bok Lee(hyunmins1@hanmail.net)

Received October 24, 2021

Revised November 30, 2021

Accepted January 20, 2022

Published January 28, 2022

1. 서론

화장품은 과거 피부를 미적으로 향상시키는 것을 주목적으로 두었으나, 건강에 대한 관심이 증가되면서 화장품은 피부 건강을 관리하는 수단으로 변화하기 시작하였다[1]. 이러한 변화에 따라 기능성 화장품 시장이 증가하기 시작했으며, 동시에 화장품에 사용되는 원료에 대한 관심, 특히 기존 사용되었던 성분에 대한 안전성과 새로운 원료의 기능성에 대한 관심과 연구가 증가하기 시작했다.

화장품법 제4조에서는 기능성 화장품의 특성을 정의하였는데, 피부에 적용되는 화장품 특성으로는 미백, 주름개선, 자외선 차단이 있다. 한편 화장품법 시행규칙에서는 화장품법의 특성을 세분화하는 동시에 여드름 방지와 아토피 방지, 튼살 방지가 추가되어있으며 이러한 특성을 가진 천연물에 대한 연구도 증가하고 있다.

천연물의 기능성 화장품 원료로서 사용 가능성을 확인하는 대표적인 실험으로는 항산화능 측정이 있다. 항산화능이란 다른 분자를 산화시키기 쉬운 반응성이 높은 분자를 제거하는 성질로 일반적으로 자유 라디칼의 소거능을 통해 항산화능을 측정한다[2]. 활성산소는 이러한 자유 라디칼의 일종으로 다른 단백질, DNA, RNA 등의 생체분자를 산화시켜 변성을 일으키는 원인이지만, 면역반응과 물질 합성, 세포 분화 등 세포내에서 필수적인 대사과정에 사용되기도 한다[3]. 이들은 크게 효소적 항산화 기전과 비효소적 항산화 기전을 통해 일정하게 유지된다[4]. 하지만 과도하게 생성될 경우 생체분자를 산화시키는 반응이 과도하게 일어나게 되며, 그 결과 효소적 항산화 반응이 정지되며, 결과적으로 줄기세포의 감소, 자가 면역 질환, 암 발생, 세포 노화 등 부정적 영향을 준다[5].

이러한 피부의 산화적 손상을 피부 노화라고 한다[6]. 피부 노화의 대표적인 증상으로는 피부의 주름, 착색, 탄력 저하 등이 있으며[7], 기능성 화장품에서 요구되는 특징은 이러한 피부노화를 막는다는 공통점을 가지고 있다. 피부 노화에서 주름과 탄력 저하는 피부내의 콜라겐과 엘라스틴의 분해 및 변성에 의해 생성되며, 그 원인으로는 자외선 노출, 활성 산소종, 염증성 사이토카인 등이 있다[8]. 피부 착색은 피부 내의 멜라노사이트의 멜라닌 생성에 의해 발생하며, 그 원인 역시 자외선 노출, 활성 산소종 등이 있다[9]. 이와 같이 활성 산소종은 다방면에서 피부의 미적 가치와 건강함

을 손상시키며, 기능성 화장품을 이러한 활성 산소종을 막기 위해 여러 방법을 사용한다. 대표적인 방법으로는 항산화 물질을 화장품에 첨가하는 것이다. 항산화 물질은 피부의 콜라겐과 엘라스틴을 직접 손상하는 활성 산소를 줄이는 동시에 콜라겐 분해효소인 MMP의 합성을 감소시킨다[8]. 한편 피부 착색에서 주요 역할을 하는 tyrosinase는 tyrosine을 활성 산소를 이용하여 산화시켜 melanin을 생성하는데 이때 항산화제를 통해 멜라닌 생성을 억제할 수 있다[10].

한편 피부는 염증반응에 의해서도 노화가 촉진된다. 이를 inflammaging이라 하며 염증을 의미하는 inflammation과 ageing의 합성어로 염증 반응과 관련된 세포신호 전달과 염증 반응의 결과로서 생성된 활성 산소가 세포의 노화에 큰 작용을 한다는 것을 의미한다[11]. 이러한 손상 역시 활성 산소의 증가와 관련되어 있으며[12], 항산화제를 이용해 염증에 의한 손상 역시 방지가 가능하다[13].

이러한 이유로 많은 피부 노화 억제 화장품의 주요 성분 중 하나는 얼마나 효과적인 항산화 물질을 피부에 부여하는가이다. 그 중에서도 비교적 안전성이 뛰어난 천연 추출물을 항산화제로 사용하는 제품이 많이 발매되고 있다. 많은 제품은 지상의 식물 유래 추출물을 중심으로 사용되고 있었지만, 해양생물에 대한 관심이 증가하며, 해조류에 대한 연구도 진행되기 시작했다.

해조류는 크게 그 크기에 따라 거대조류와 미세조류로 나누어지며, 거대조류는 함유하고 있는 색소의 종류에 따라 갈조류, 홍조류, 녹조류로 나누어진다. 그 중에서도 갈조류는 다른 해조류에 비해 높은 항산화능을 가지고 있다고 알려져 있다[14]. 갈조류의 성분 중 유용하게 사용되는 성분으로는 polysaccharide, phenolic contents, phlorotannin, terpenoid, steroid 등이 있다[15]. 이 중 polysaccharide는 fucoidan이라는 독특한 특징을 가진 황화다당류로, 프리바이오틱스로 작용할 수 있어 장내의 프리바이오틱스의 비율을 증가시키는 효과가 있다[16]. 동시에 동물세포에서도 항암작용, 항염작용 등 다양한 작용을 나타낸다[17,18].

본 연구에서는 불레기말(*Colpomenia sinuosa*) 추출물의 화장품 천연 소재로서 기능성을 확인하였다. 불레기말은 남해안 및 제주도에서 자생하는 갈조류로 주로 간조선에 가까운 바위 위에 붙어 불규칙한 모양으로 증식하며, 전 세계에 분포하여 다양한 특징을 가진 갈조

류가 발견되고 있다[19]. 한편 상업적으로 이용되고 있지 않아 신규성을 지니고 있는 블레기말 추출물을 기능성 화장품 원료로서 사용할 수 있을지 확인하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1 추출물

본 실험에 사용한 블레기말 추출물은 대한민국 전라북도 완도군에서 채취된 블레기말을 70% ethanol로 추출하여 동결건조를 통해 제조하였다. 제조된 추출물은 정량을 통해 일정한 농도로 사용되었다. 항산화능 실험의 경우에는 70% ethanol을 용매로 하여 재용해 시켜 실험을 진행하였으며, 세포실험에서는 dimethyl sulfoxide (DMSO, sigma)를 용매로 하여 재용해 시킨 뒤 불용성 성분을 원심분리기(3000 × G, 15 min)로 제거하고 실험에 사용하였다.

2.2 DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 소거능 측정은 DPPH 라디칼이 항산화제에 의해 소거되며 원래의 보라색이 사라지는 것을 이용한다[20]. DPPH 용액은 70% ethanol을 용매로 DPPH를 1%(w/v)가 되도록 녹인 뒤 filter paper를 이용해 불용된 DPPH를 제거하였다. 그 후 이 용액의 517 nm 흡광도가 1.00이 되도록 70% ethanol로 다시 희석하여 사용하였다. 4 mg/mL를 기준으로 2 배씩 희석하여 만들어진 다양한 농도의 블레기말 추출물 1.0 mL와 DPPH 용액 1.0 mL를 혼합 후 30 분간 반응시켰다. 그 후 517 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때 추출물 및 환원된 DPPH 용액의 흡광도를 측정하여 실험결과에서 제외했다.

실험결과는 ascorbic acid의 EC₅₀을 측정 후 비교하여 항산화능을 측정하였다.

2.3 ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 소거능 측정은 ABTS 라디칼이 항산화제에 의해 소거되며 원래의 청색이 사라지는 것을 이용한다[21]. ABTS 용액은 증류수를 용매로 7 mM ABTS를 녹인 뒤 2.45 mM potassium persulfate를 녹여 12 시간 동안 ABTS의 발색이 일어나도록 하였다. 발색이 끝난 ABTS 용액의 734 nm 흡광도가 0.7이 되도록 희석하여 사용하였다. 4 mg/mL를 기준으로 2 배씩 희석

하여 만들어진 다양한 농도의 블레기말 추출물 1.0 mL와 ABTS 용액 1.0 mL를 혼합 후 30 분간 반응시켰다. 그 후 734 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때 추출물 및 환원된 ABTS 용액의 흡광도를 측정하여 실험결과에서 제외했다.

실험결과는 ascorbic acid의 EC₅₀을 측정 후 비교하여 항산화능을 측정하였다.

2.4 Nitrite 라디칼 소거능 측정

Nitrite assay는 Griess reagent가 nitrite와 반응하여 붉은색을 띠는 것을 이용한다[22]. Griess reagent를 만들기 위해 5% phosphoric acid에 sulfanilamide를 녹여 1% sulfanilamide 용액을 만들었으며, 이 용액 50 mL를 0.1% naphthyl ethylenediamine dihydrochloride 수용액 50 mL와 혼합하여 Griess reagent를 만들었다. Nitrite의 기준 시약으로는 0.1M sodium nitrite 용액을 사용하였으며, 이를 희석하여 실험 조건과 동일하게 Griess reagent와 반응하였을 때 흡광도가 1.0이 되도록 희석하여 사용하였다.

Sodium nitrite 용액 0.5 mL와 4 mg/mL를 기준으로 2 배씩 희석하여 만들어진 다양한 농도의 블레기말 추출물 0.5 mL를 혼합 후 30 분간 실온에서 반응시켰다. 그 후 상층액 0.1 mL와 griess reagent 0.1 mL를 섞어 15 분간 반응시켰다. 그 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

실험결과는 ascorbic acid의 EC₅₀을 측정 후 비교하여 항산화능을 측정하였다.

2.5 FRAP 측정

실험에는 0.5 mg/mL 농도로 희석한 블레기말 추출물을 사용하였다. 블레기말 추출물 2.5 mL과 0.2 M 인산염 완충용액 (pH 6.6) 2.5 mL를 혼합하여 일정한 pH가 나타나도록 한 뒤, 10% 페리시안화 칼륨용액 2.5 ml를 주입하여 50°C에서 20 분 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 시료는 10% trichloroacetic acid 2.5 ml를 넣은 뒤 원심분리(3000 × G, 15 min)하여 침전물을 제거하였다. 침전물이 제거된 용액 1 mL와 0.1% ferric chloride 용액 0.2 mL를 혼합시켰다. 그 후 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력을 평가하였다.

FRAP은 ascorbic acid를 기준으로 standard

curve를 작성하여 측정하였다.

2.6 폴리페놀 함량 측정

폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu reagent를 이용하여 실시하였다[23]. 불레기말 추출물 1.0 mL와 증류수로 10 배 희석된 Folin-Ciocalteu reagent 0.1 mL를 혼합한 뒤 5 분 동안 실온에서 방치하였다. 그 후 CaCO_3 (5%, w/v) 1.0 mL를 주입하였다. 그 후 반응을 위해 30 분 간 방치 후 760 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

폴리페놀 농도는 gallic acid를 이용한 standard curve를 이용해 환산하였다.

2.7 플라보노이드 함량 측정

플라보노이드 함량 측정은 플라보노이드와 알루미늄 이온의 결합에 따른 발색 차이를 통해 측정하였다[23]. 불레기말 추출물 1.0 mL에 NaNO_2 (5%, w/v) 0.3 mL를 주입한 뒤 5 분 동안 실온에서 방치하였다. 그 후 AlCl_3 (2%, w/v) 0.5 mL를 주입한 뒤 6 분 간 방치하였다. 1 M NaOH 0.5 mL를 주입하여 중화시킨 뒤 510 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

플라보노이드 농도는 quercetin을 이용한 standard curve를 이용해 환산하였다.

2.8 세포 독성 측정

세포 독성 실험에는 RAW 264.7 cell을 사용하였다. 세포 배양 배지로는 DMEM broth (Dulbecco's Modified Eagle Medium, GE healthcare, USA)를 사용하였으며 FBS (fetal bovine serum, Sigma, USA) 10%를 첨가하여 제조하였다. 항생물질로는 Penicillin-Streptomycin (100X) (Sigma, USA)을 사용하였다. 추출물은 DMSO에 용해시켜 처리하였다.

세포 독성의 측정에는 MTT assay를 실시하였다. 전 배양된 RAW 264.7을 96 well plate에 well 당 1×10^4 cell을 주입하여 24 시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 기준으로 2 배 다단희석을 통해 다양한 농도로 희석한 불레기말 추출물을 처리하여 48 시간 동안 배양하였다. 2차 배양 후 상층액을 제거하고 MTT 용액(5 mg/mL)를 가해준 뒤 온도 37°C, CO_2 농도 5%의 환경에서 MTT를 결정화시켰다. 각 well에 생성된 결정이 제거되지 않도록 상층액을 제거한 뒤 결

정을 DMSO로 녹여 540 nm 파장에서의 흡광도를 측정하였다.

2.9 NO 생성 억제능 측정

NO 생성 억제능을 확인하기 위해 RAW 264.7 세포를 사용하였다. 세포의 배양에는 세포 독성 측정에 사용된 배양액과 동일하게 사용되었으며, 추출물과 염증 유도 물질인 LPS (lipopolysaccharide, Sigma, USA)는 DMSO에 용해시켜 처리하였다.

NO 농도의 측정에는 griess reagent를 사용하였다. 전배양된 RAW 264.7을 96 well plate에 well 당 1×10^4 cell을 주입하여 24 시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 기준으로 2 배 다단희석을 통해 다양한 농도로 희석한 불레기말 추출물과 LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하여 48 시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나며 배양액 100 μL 와 Griess reagent 100 μL 를 혼합하여 불레기말 추출물의 NO 농도를 측정하였다.

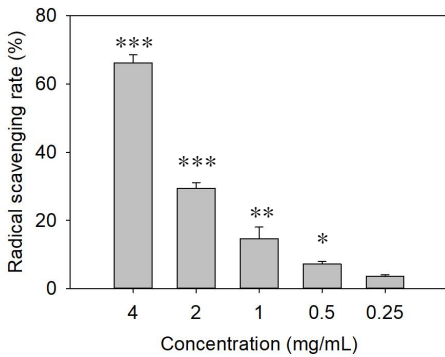
3. 실험 결과

3.1 DPPH 라디칼 소거능

Figure 1는 불레기말 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 계산한 결과이다. 실험에 앞서 비교대상으로 사용된 ascorbic acid의 EC_{50} 수치를 측정하였다. 각 농도는 3.125-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도 범위로 반응시켜 ascorbic acid의 EC_{50} 수치는 3.79 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 임을 확인했다[24].

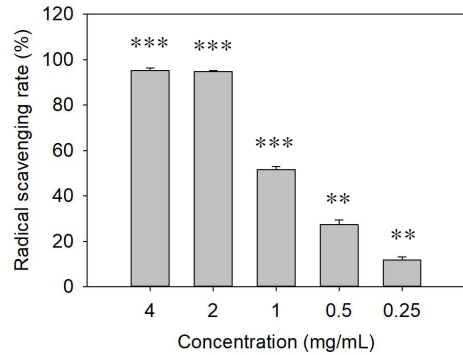
한편 불레기말 추출물의 경우 0.25-4 mg/mL로 희석하여 실험을 진행하였다. 실험 결과 4 mg/mL 농도에서 $66.24 \pm 2.31\%$, 2 mg/mL 농도에서 $29.45 \pm 1.63\%$, 1 mg/mL 농도에서 $14.18 \pm 3.39\%$, 0.5 mg/mL 농도에서 $7.24 \pm 0.72\%$, 0.25 mg/mL 농도에서 $3.62 \pm 0.50\%$ 의 DPPH 라디칼 소거능이 나타났다. 한편 이를 바탕으로 EC_{50} 을 계산하였으며, 3.116 mg/mL란 결과를 얻었다.

갈조류 중 긴불레기말, 털비말, 반주름말에 대한 선행연구에서 1.25 mg/mL에서 실험한 결과에서 반주름말이 가장 높은 항산화능을 나타내었으며 9.34%의 라디칼 소거능을 나타내었다. 한편 본 연구에서는 동일 조건으로 1.25 mg/mL에서 실험한 결과 16.31%로 반주름말에 비해 1.74 배 높은 항산화능을 보였다[25].



(* p<.05, ** p<.01, *** p<.001)

Fig. 1. DPPH radical scavenging rate of *Colpomenia sinuosa* extract



(** p<.01, *** p<.001)

Fig. 2. ABTS radical scavenging rate of *Colpomenia sinuosa* extract

3.2 ABTS 라디칼 소거능

Figure 2는 블레기말 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 계산한 결과이다. 실험에 앞서 비교대상으로 사용된 ascorbic acid의 EC₅₀ 수치를 측정하였다. 각 농도는 3.125-50 μg/mL 농도 범위로 반응시켜 ascorbic acid의 EC₅₀ 수치는 3.79 μg/mL임을 확인했다.

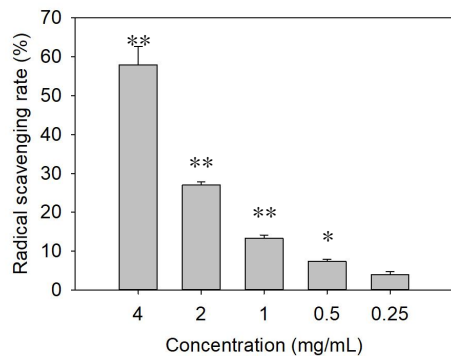
한편 블레기말 추출물의 경우 0.25-4 mg/mL로 희석하여 실험을 진행하였다. 실험 결과 4 mg/mL 에서 95.30±0.94%, 2 mg/mL 에서 94.86±0.41%, 1 mg/mL 에서 51.64±1.35%, 0.5 mg/mL 에서 27.24±2.17%, 0.25 mg/mL 에서 11.71±1.42%의 ABTS 라디칼 소거능이 나타났다. EC₅₀ 계산 결과 0.966 mg/mL란 결과를 얻었다[24].

갈조류 중 긴블레기말, 털비말, 반주름말에 대한 선행연구에서 1.25 mg/mL에서 실험한 결과에서 털비말이 가장 높은 항산화능을 나타내었으며 4.34%의 라디칼 소거능을 나타내었다. 한편 본 연구에서는 동일 조건으로 1.25 mg/mL에서 실험한 결과 61.23%로 털비말에 비해 14 배 높은 항산화능을 보였다[25].

3.3 Nitrite 라디칼 소거능

Figure 3은 블레기말 추출물의 항산화능 측정을 위해 NO 라디칼 소거능을 계산한 결과이다. 실험에 앞서 비교대상으로 사용된 ascorbic acid의 EC₅₀ 수치를 측정하였다. 각 농도는 6.25- 100 μg/mL 농도 범위로 반응시켜 EC₅₀ 수치를 얻어내었다. 이를 통해 얻어진 ascorbic acid의 EC₅₀ 수치는 62.62 μg/mL였다.

한편 블레기말 추출물의 경우 0.25-4 mg/mL로 희석하여 실험을 진행하였다. 실험 결과 4 mg/mL 에서 57.95±4.70%, 2 mg/mL 에서 27.02±0.81%, 1 mg/mL 에서 13.31±0.86%, 0.5 mg/mL 에서 7.39±0.55%, 0.25 mg/mL 에서 3.90±0.82%의 nitrite 생성 억제율이 나타났다. EC₅₀ 계산결과 3.500 mg/mL란 결과를 얻었다.



(* p<.05, ** p<.01)

Fig. 3. Nitrite scavenging rate of *Colpomenia sinuosa* extract

3.4 FRAP

블레기말 추출물과 ascorbic acid의 철 이온에 대한 환원력인 FRAP을 측정하여 비교하였다. 블레기말 추출물의 FRAP 측정 결과 0.083 ± 0.004 으로 나타났으며, ascorbic acid의 경우 0.423 ± 0.009 로 나타났다. 이를 바탕으로 블레기말 추출물의 1 mg의 FRAP은 ascorbic acid $2.062 \pm 0.177 \mu\text{g}$ 의 FRAP과 같음을 알 수 있었다.

3.5 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

Table 1은 블레기말 추출물의 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량을 계산한 결과이다. 폴리페놀의 경우 $62.85 \pm 3.18 \text{ mg/g}$ 으로 나타났다. 한편 플라보노이드의 경우 $10.01 \pm 0.24 \text{ mg/g}$ 으로 나타났다.

갈조류 중 긴블레기말, 털비말, 반주름말에 대한 선행연구에서 반주름말이 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었으며 47.19 mg/g 의 폴리페놀 함량을 나타내었다. 한편 본 연구에서는 $62.85 \pm 3.18 \text{ mg/g}$ 로 반주름말에 비해 1.33배 높은 항산화능을 보였다[25].

한편 여러 식용해조류의 플라보노이드 함량을 측정한 연구에서 가장 높은 플라보노이드 함량을 보인 해조류는 미역이었다. 미역 추출물의 플라보노이드 농도는 11.33 mg/g 이었으며, 블레기말의 플라보노이드 농도는 미역의 88.34%이었다. 하지만 그 외의 김, 파래, 다시마, 툇에 비해서는 적게는 2 배, 많게는 15 배의 폴리페놀 함량을 가지고 있었다[26].

Table 1. Polyphenol and flavonoid content in *Colpomenia sinuosa* extract

	Concentration (mg/g)
Polyphenol	62.85 ± 3.18
Flavonoid	10.01 ± 0.24

3.6 세포 독성

블레기말 추출물이 세포에 미치는 독성을 평가하기 위해서 MTT assay를 이용한 세포 생존률을 측정하였다. 블레기말 추출물은 배지에서의 최종농도가 12.5-100 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 배합하여 배양을 진행하였다.

실험 결과는 Table 2와 같으며 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 $94.74 \pm 0.39\%$, 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 $98.06 \pm 0.92\%$, 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 $99.82 \pm 0.98\%$, 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 $100.31 \pm 0.75\%$ 의 세포 생존률이 나타났다.

ISO 10993-5 및 식품의약품안전처 고시 제 2014-115호의 기준에서 20% 이상의 세포 독성을 나타내었을 때 독성이 있는 것으로 간주하며, 이러한 기준으로는 모든 실험 농도에서 세포독성이 나타나지 않은 것으로 나타났다.

Table 2. Cytotoxicity of RAW 264.7 of *Colpomenia sinuosa* extract

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Cell survival rate (%)
Cont.	100.00 ± 1.50
12.5	100.31 ± 0.75
25	99.82 ± 0.98
50	98.06 ± 0.92
100	94.74 ± 0.39

3.7 NO 생성 억제능

블레기말 추출물이 macrophage의 염증반응에 미치는 영향을 측정하기 위해 griess reagent로 NO 생성량 측정하여 염증반응의 감소를 측정하였다. 블레기말 추출물은 배지에서의 최종농도가 12.5-100 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 배합하여 배양을 진행하였다.

Table 3는 염증과 관련된 지표인 NO의 생성률을 계산한 결과이다. 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 $30.93 \pm 2.93\%$, 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 $12.24 \pm 0.97\%$, 25 $\mu\text{g/mL}$ 에서 $6.02 \pm 2.27\%$, 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 에서 $4.87 \pm 1.48\%$ 의 염증억제율이 나타났다.

갈조류의 세포벽에는 fucoidan이라는 물질이 있으며, 이 fucoidan은 갈조류의 황화다당류로 염증을 억제하는 효과있다[27]. 이러한 이유로 갈조류중 하나인 뜸부기의 경우 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 26.94% NO 생성 억제능을 보였으며, 블레기말은 이에 비해 1.14 배 높은 NO 생성 억제능을 보였다[28].

Table 3. NO concentration rate of RAW 264.7 of *Colpomenia sinuosa* extract

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	NO production rate (%)
Cont. w/o LPS	10.36 ± 0.64
Cont. w LPS	100.00 ± 1.46
12.5	$95.13 \pm 1.48^*$
25	$93.98 \pm 2.27^*$
50	$87.76 \pm 0.97^{**}$
100	$69.07 \pm 2.93^{**}$

(* p<.05, ** p<.01)

4. 결론

블레기말 추출물의 화장품 원료로서 안전성과 기능성을 확인하기 위하여 항산화능 실험과 항염능 실험, 세포독성 실험을 실시하였다.

항산화능 실험에는 4 종의 라디칼 소거능 실험과 2 종의 항산화물질 정량 실험을 실시하였다. DPPH 실험에서는 2.821 mg ascorbic acid / g와 같은 항산화능을 보였으며, ABTS 실험에서는 3.923 mg ascorbic acid / g와 같은 항산화능을 보였으며, nitrite 소거능 실험에서는 17.89 mg ascorbic acid / g extract와 같은 항산화능을 보였다. FRAP에서는 블레기말 추출물 1 mg의 환원력과 ascorbic acid 2.062±0.177 μg의 환원력이 같음을 확인하였다. 폴리페놀 농도는 62.85±3.18 mg/g이었고, 플라보노이드 농도는 10.01±0.24 mg/g이었다.

한편 세포실험에서는 세포 독성 실험과 항염활성을 측정했다. 실험 농도 범위에서 80% 이상의 세포가 생존하여 블레기말 추출물은 낮은 독성을 가지고 있음을 확인하였고, 항염활성 실험에서도 농도에 따라 염증반응을 감소시키는 동시에 100 μg/mL에서 30.93±2.93%의 염증 억제능을 보였다.

갈조류 추출물에서 가장 대표적으로 사용되는 유효 성분은 세포벽을 이루는 polysaccharide 중 하나인 fucoidan이다. Fucoidan은 동물세포를 이용한 실험에서 항염효과를 보였으며[18], interleukin-1β, interleukin 6, tumor necrosis factor-α, nitric oxide와 같은 염증과 관련된 신호 전달 물질을 조절 또는 감소시키는 효과가 있다고 보고되어졌다[29]. 본 실험에서 항산화 및 항염효과가 다른 해조류에 비해 우수한 이유는 이러한 fucoidan의 농도가 높으며 에탄올 70%라는 추출 조건에 가장 적합한 해조류이기 때문으로 보인다.

REFERENCES

[1] K. M. Kim & J. D. Kim. (2004). A Study on Requirement and Degree of the Satisfaction about Cosmeceuticals of Women. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 30(4), 571-582.

[2] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier & C. L. W. T. Berset. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

DOI : 10.1016/S0023-6438(95)80008-5

[3] A. A. Alfadda & R. M. Sallam. (2012). Reactive oxygen species in health and disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 14. DOI : 10.1155/2012/936486

[4] J. S. Jeeva, J. Sunitha, R. Ananthalakshmi, S. Rajkumari, M. Ramesh & R. Krishnan. (2015). Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 7(2), S331. DOI : 10.4103/0975-7406.163438

[5] M. Schieber & N. S. Chandel. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 24(10), R453-R462. DOI : 10.1016/j.cub.2014.03.034

[6] A. Kammeyer & R. M. Luiten. (2015). Oxidation events and skin aging. *Ageing research reviews*, 21, 16-29. DOI : 10.1016/j.arr.2015.01.001

[7] N. A. Vashi, M. B. D. C. Maymone & R. V. Kundu. (2016). Aging differences in ethnic skin. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 9(1), 31.

[8] H. Masaki. (2010). Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *Journal of dermatological science*, 58(2), 85-90. DOI : 10.1016/j.jdermsci.2010.03.003

[9] J. Bonaventure, M. J. Domingues & L. Larue. (2013). Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of melanocytes and melanoma cells. *Pigment cell & melanoma research*, 26(3), 316-325. DOI : 10.1039/c4fo00970c

[10] J. P. Ebanks, R. R. Wickett & R. E. Boissy. (2009). Mechanisms regulating skin pigmentation: the rise and fall of complexion coloration. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(9), 4066-4087. DOI : 10.3390/ijms10094066

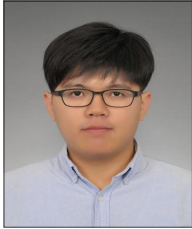
[11] E. Cevenini, D. Monti & C. Franceschi. (2013). Inflamm-aging. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 16(1), 14-20. DOI : 10.1097/MCO.0b013e32835ada13

[12] E. S. Chambers & M. Vukmanovic-Stejic. (2020). Skin barrier immunity and ageing. *Immunology*, 160(2), 116-125. DOI : 10.1111/imm.13152

[13] F. A. Wagener, C. E. Carels & D. Lundvig. (2013). Targeting the redox balance in inflammatory skin conditions. *International journal of*

- molecular sciences*, 14(5), 9126-9167.
DOI : 10.3390/ijms14059126
- [14] E. M. Balboa, E. Conde, A. Moure, E. Falqué & H. Domínguez. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food chemistry*, 138(2-3), 1764-1785.
DOI : 10.1016/j.foodchem.2012.11.026
- [15] E. M. Balboa, E. Conde, A. Moure, E. Falqué & H. Domínguez. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food chemistry*, 138(2-3), 1764-1785.
DOI : 10.1016/j.foodchem.2012.11.026
- [16] L. O'Sullivan, B. Murphy, P. McLoughlin, P. Duggan, P. G. Lawlor, H. Hughes & G. F. Gardiner. (2010). Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Marine drugs*, 8(7), 2038-2064.
DOI : 10.3390/md8072038
- [17] A. M. Gamal-Eldeen, E. F. Ahmed & M. A. Abo-Zeid. (2009). In vitro cancer chemopreventive properties of polysaccharide extract from the brown alga, *Sargassum latifolium*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1378-1384.
DOI : 10.1016/j.fct.2009.03.016
- [18] S. Ananthi, H. R. B. Raghavendran, A. G. Sunil, V. Gayathri, G. Ramakrishnan & H. R. Vasanthi. (2010). In vitro antioxidant and in vivo anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from *Turbinaria ornata* (Marine Brown Alga). *Food and chemical toxicology*, 48(1), 187-192.
DOI : 10.1016/j.fct.2009.09.036
- [19] C. Kim, Y. S. Kim, H. G. Choi & K. W. Nam. (2014). Variations of seaweed community structure and distribution of crustose coralline algae at Gallam, Samchuk, eastern coast of Korea. *Korean Journal of Environment and Ecology*, 28(1), 10-23.
DOI : 10.13047/KJEE.2014.28.1.10
- [20] M. S. Blois. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- [21] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang & C. Rice-Evans. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
DOI : 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- [22] G. C. Jagetia & M. S. Baliga. (2004). The evaluation of nitric oxide scavenging activity of certain Indian medicinal plants in vitro: a preliminary study. *Journal of Medicinal Food*, 7(3), 343-348.
DOI : 10.4014/kjmb.1409.09006
- [23] A. Pękal & K. Pyrzynska. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776-1782.
DOI : 10.1007/s12161-014-9814-x
- [24] B. Alexander, D. J. Browse, S. J. Reading & I. S. Benjamin. (1999). A simple and accurate mathematical method for calculation of the EC50. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 41(2-3), 55-58.
DOI : 10.1016/S1056-8719(98)00038-0
- [25] S. H. Shin & S. M. Kang. (2021). The Antioxidation Effect of Brown Algae Extract. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 27(4), 851-858.
DOI : 10.52660/JKSC.2021.27.4.851
- [26] C. S. Kwak, S. 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
- [27] A. Cumashi, N. A. Ushakova, M. E. Preobrazhenskaya, A. D'Incecco, A. Piccoli, L. Totani & N. E. Nifantiev. (2007). A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, 17(5), 541-552.
DOI : 10.1093/glycob/cwm014
- [28] K. S. Kim & S. H. Kim. (2021). Antioxidant and Anti-inflammatory activity of *Silvetia siliquosa* extract. *Journal of Convergence for Information Technology*, 11(8), 232-239.
DOI : 10.22156/CS4SMB.2021.11.08.232
- [29] E. Apostolova, P. Lukova, A. Baldzhieva, P. Katsarov, M. Nikolova, I. Iliev & V. Kokova. (2020). Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of fucoidan: a review. *Polymers*, 12(10), 2338.
DOI : 10.3390/polym12102338

조 영 재(Young Jae Cho) [정회원]



- 2018년 2월: 건국대학교 생물공학과(석사)
- 2021년 2월: 건국대학교 생물공학과(박사)
- 관심분야 : 기능성화장품, 식품공학, 발효, 미생물공학, 화장품
- E-mail : skinhaircosme@naver.com

김 숙 희(Sookhee Kim) [정회원]



- 1998년 3월 : 일본 국립나라여자대학교 인간문화연구과(학술박사)
- 1999년 8월~2001년 8월 : 일본 리츠메이칸대학교 공학부 Jsps post-doc
- 2002년 9월~2003년 8월 : 건국대학교 디자인문화 대학 연구원
- 2008년 3월~현재 : 건국대학교 미래지식교육원 학점은 행제 K부티산업융합학전공 교수
- 관심분야 : 피부미용, 화장품, 뷰티테라피, 기능성화장품 신소재, 미용교육
- E-mail : shkim33@konkuk.ac.kr

최 재 영(Jae Young Choi) [정회원]



- 2021년 2월 : 건국대학교 생물공학과(공학박사)
- 2018년 4월 ~ 현재 : 연성대학교 호텔외식조리과 호텔조리전공 교수
- 관심분야 : 미생물학, 식품학
- E-Mail : juynay@yeonsung.ac.kr

이 자 복(Ja-bok Lee) [정회원]



- 2018년 2월 : 건국대학교 생물공학과(이학박사)
- 2017년 9월 ~ 현재 : ㈜엘파운더 대표이사
- 관심분야 : 피부과학, 유산균, 기능성화장품, 생물학, 발효
- E-Mail : hyunmins1@hanmail.net