Gracilaria spp. extract 항산화 활성

강다미¹ · 강상모^{2,*}

¹건국대학교 일반대학원 생물공학과, 대학원생

²건국대학교 생물공학과, 교수

The Antioxidation Effect of *Gracilaria* spp. extract

Da-Mi Kang¹ and Sang-Mo Kang^{2,*}

¹Graduate Student, Department of Bioengineering, Graduate School, Konkuk University

²Professor, Department of Biological Engineering, Konkuk University

This study examined antioxidant activity for use as a cosmetic material *Gracilaria incurvata*, *Gracilaria parvispora*, and *Gracilaria vermiculophylla* among the red algae widely used as edible seaweed. For antioxidant activity measurement, extracts were diluted with 70% ethanol to manufacture extracts. In DPPH radical scavenging activity assays, *Gracilaria vermiculophylla* extract showed the highest figure at 97.27±1.05%. In ABTS radical scavenging activity assays, *Gracilaria vermiculophylla* extract showed the highest figure at 47.67±2.78%. In total phenolic contents measurement results, *Gracilaria vermiculophylla* extract showed the highest figure at 75.60±1.40 mg gallic acid/g, but only in the NO radical scavenging activity assay, the *Gracilaria incurvata* extract showed the highest figure at 95.80±0.33%. As a result, *Gracilaria vermiculophylla* was the most likely to develop as a cosmetic material in the remaining three antioxidant activity measures in addition to NO radical scavenging activity.

Keywords: *Gracilaria incurvata*, *Gracilaria parvispora*, *Gracilaria vermiculophylla*, red algae, seaweed

I. 서 론

해조류는 지구 표면의 약 2/3를 차지하고 있는 해양에서 생산되는 생물자원이다. 서식하는 바다의 깊이와 색에 따라 녹조류, 갈조류, 홍조류 등으로 나뉘며, 예로부터 동아시아 지역에서 식용으로 많이 활용되고 있다(Kwak et al., 2005). 식용 해조로 양식되고 있는 분류군은 6개 속에 국한되어 있는데, 구체적으로는 홍조류에 속하는 김 속(Genus *Porphyra*), 툇 속(Genus *Hizikia*), 꼬시래기 속(Genus *Gracilaria*)과 갈조류에 속하는 다시마 속(Genus *Laminaria*), 미역 속(Genus *Undaria*), 녹조류에 속하는 파래 속(Genus *Ulva*) 등이 식용으로 이용된다(Kim et al., 2013). 이러한 식용 해조류는 영양학적으로 식이섬유소와 비소화성 다당류가 많은 저열량 식품에 속하며, 비타민과 무기질 같은 미량 영양소가 풍부하고, 채소류에 비해 필수 아미노산과 불포화지방산이 많다(Jimenez-Escrig & Cambrodon, 1999).

홍조류는 대부분 연안 해역에 서식하며, 대략 600여 속 7,000여 종이 기재되어 있으나, 현재 매년 신속 및 신종들이 다수 기재되고 있고, 실제 2만 여종이 넘을 것으로 추정하고 있다(Norton et al., 1996). 한국 연안에서는 대략 600여 종이 서식하는 것으로 보고되고 있다(Kim et al., 2013). 홍조류는 엽록소 a와 d를 가지고 광합성을 하며, 광합성 색소로서 피코시아닌이나 피코에리트린 또는 카로티노이드를 함유하고 있다. 광합성에 이용되는 엽록소나 광합성 색소는 항산화(Othman et al., 2018; Wu et al., 2015), 항염(Lee et al., 2017; Zang et al., 2020), 항암, 항균 및 항진균(Afreen & Fatma, 2018)과 같은 유용한 특성을 지니고 있다. 이러한 기능성에도 불구하고 한국의 해조류 산업 구조는 어장개발면적 비율로 보면 김 70.1%, 미역 16.7%, 다시마 2.0%로 전체 중 약 87% 가량이 김과 미역에 편중되어 있다(Kim, 2003). 이러한 구조를 개편하기 위해 여수 지방 해양수산청에서 2000년 이후부터 꼬시래기 양식 산업화를 추진하여 대량 양식 산업화에 성공했다.

Gracilaria spp.는 홍조류에 속하는 해조류로서 홍조식물문 홍조강 꼬시래기목 꼬시래기과에 속하며, 세계적으로는 110종이 알려져 있다. 한국에서는 총 15종이 알려져 있고, 주요

*Corresponding author: Sang-Mo Kang

Tel : +82-2-450-3524

E-mail : kangsm@konkuk.ac.kr

접수일(2020년 11월 9일)/수정일(2020년 12월 3일)/채택일(2021년 5월 3일)

Gracilaria spp.는 5종으로 *Gracilariopsis chorda*(개꼬시래기), *Gracilaria incurvata*(꼬불꼬시래기), *Gracilaria parvispora*(각시꼬시래기), *Gracilaria textorii*(잎꼬시래기), *Gracilaria vermiculophylla*(꼬물꼬시래기)가 있다(Kim, 2003). *Gracilaria* spp.는 지방과 탄수화물의 함량이 낮고 칼슘과 식이섬유를 다량 함유하고 있으며 체내 중금속 배출 등의 효과가 있으며, 식용 기호식품으로 뿐만 아니라 해조류가 가진 보습 및 재생효과, 항산화효능 등을 피부미용에 접목시켜 화장품 산업에서도 많은 응용가능성을 보이는 원료 소재 중 하나이다(Rosemary et al., 2019).

피부 노화의 원인으로는 다양한 인자가 있으나 크게 내인성 노화와 외인성 노화로 나누어지며, 내인성 노화는 대사산물과 유전자, 호르몬 등 체내의 요소와 관련되어 있으며, 대사산물의 과생산, 유전자 결함, 호르몬 불균형에 의해 생성된 활성산소종이 DNA와 단백질, 세포막 등과 반응하여 노화과정을 일으킨다(Lee, 2002). 한편 외인성 노화는 자외선, 공기의 오염 등 체외의 요소와 관련되어 있으며, 이로 인해 자외선으로 인한 DNA 결손, 오염물질 침입에 의한 염증 반응 등으로 일어난 활성산소종 및 염증반응이 세포 조직의 손상을 유도하게 된다(Poljšak et al., 2012). 이러한 이유로 피부 건강 및 노화방지를 위해 노화의 중간 매개체인 활성산소종을 소거하고자 화장품에 다양한 생물에서 얻어진 항산화 물질을 첨가한다(Ahn et al., 2011).

최근 천연식물 유래 물질이 다양한 방법으로 활용되면서, 해조류의 생리활성에 대한 기초 연구 또한 증가하고 있으며, 이를 응용하여 의약품, 화장품, 건강기능성식품 등 다양한 산업 분야에 접목 시키려는 노력이 증가하고 있다.

본 논문에서는 *Gracilaria* spp.가 화장품 원료 소재로서 노화방지를 위한 항산화 활성에 대해 알아보기 위하여 국내 주요 *Gracilaria* spp. 5종 중 *G. incurvata*, *G. parvispora*, *G. vermiculophylla*를 사용하여 항산화 활성 정도를 알아보았다.

II. 재료 및 방법

1. 사용 시료 및 추출물

2,2'-다이페닐-1-피크릴하이드라질(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) assay에 사용된 DPPH는 Sigma(USA)에서 구입하여 사용하였다.

2,2'-아지노 - 비스 (3- 에틸벤조싸이아졸린 -6- 설프로닉 에씨드) (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS) assay에 사용된 ABTS, ascorbic acid, manganese dioxide는 Sigma(USA)에서 구입하여 사용하였다.

Total phenolic contents assay에 사용된 Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, sodium carbonate, trichloroacetic acid는 Sigma(USA)

에서 구입하여 사용하였다.

니트릭옥사이드(Nitric oxide, NO) assay에 사용된 sulfanilamide, naphthylethylenediamine dihydrochloride는 TCI(Japan)에서, phosphoric acid는 Junsei(Japan)에서 구입하여 사용하였다.

실험에 사용된 *G. incurvata*, *G. parvispora*, *G. vermiculophylla* 추출물은 해양수산부의 해양생명자원 정보 표준화 및 통합 데이터베이스 시스템인 해양생명자원 정보시스템(Marine Bio-Resource Information System, MBRIS)를 통해 분양받아 사용하였다.

2. DPPH radical scavenging activity 측정

DPPH assay에서 실험방법은 Blois(1958)의 방법을 변형해 사용하였다. 시료는 1.25, 2.5, 5, 10, 20 mg/mL의 농도가 되도록 70% ethanol로 희석하여 520 nm에서 흡광도가 0.5가 되도록 조정하여 사용하였다. 시료 0.20 mL와 DPPH 용액 1.80 mL를 test tube에 주입 후 혼합하여 30분간 반응시켰다. 반응물은 UV-vis spectrophotometer(Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가한 경우는 실험군, 첨가하지 않은 경우는 대조군으로 하였다. DPPH radical scavenging activity는 실험군과 대조군의 흡광도를 이용해 아래와 같이 백분율로 표시하였다.

DPPH radical scavenging activity(%) =

$$\left(\frac{\text{OD}_{520\text{nm}} \text{ of sample}}{\text{OD}_{520\text{nm}} \text{ of blank}} \right) \times 100$$

3. ABTS radical scavenging activity 측정

ABTS assay에서 실험방법은 Re et al.(1999)의 방법을 변형해 사용하였다. 시료는 1.25, 2.5, 5, 10, 20 mg/mL의 농도가 되도록 70% ethanol로 희석하여 사용하였다. ABTS는 2.5 mM 농도로 pH 7.40인 5 mM PBS에 희석한 뒤 oxidizing agent로서 manganese dioxide를 첨가하여 발색시켰다. 740 nm에서 흡광도가 0.6 이상이 되도록 발색이 되면 Whatman no. 2 filter paper를 이용하여 manganese dioxide를 제거한 후 흡광도가 0.5가 되도록 pH 7.40인 5 mM PBS으로 희석하였다. 시료 0.20 mL와 ABTS 용액 1.80 mL를 test tube에 주입 후 혼합하여 30분간 반응시켰다. 반응물은 UV-vis spectrophotometer(Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 740 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical scavenging activity는 실험군과 대조군의 흡광도를 이용해 아래와 같이 백분율로 표시하였다.

ABTS radical scavenging activity(%) =

$$\left(\frac{\text{OD}_{740\text{nm}} \text{ of sample}}{\text{OD}_{740\text{nm}} \text{ of blank}} \right) \times 100$$

4. Total phenolic contents 측정

Total phenolic contents 측정은 Folin-Denis(1912) 방법을 변형하여 사용하였다. Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 페놀성 화합물과 반응하여 환원되면서 몰리브덴청색으로 바뀌는 원리를 적용하여 측정하였다(Gutfinger, 1981). 시료는 1.0 mg/mL의 농도가 되도록 70% ethanol로 희석하여 사용하였다. NaCO₃ 포화용액은 증류수에 과량의 sodium carbonate를 용해시킨 뒤, Whatman no. 2 filter paper를 이용하여 녹지 않은 sodium carbonate를 제거하였다. 시료 0.02 mL와 Folin-Ciocalteu reagent 0.01 mL, sodium carbonate 포화용액 0.06 mL를 micro tube에 주입한 뒤 15분간 반응시킨 후 증류수 0.20 mL를 주입하여 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 반응물은 UV-vis spectrophotometer(Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 740 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 사용했다.

5. NO radical scavenging activity 측정

NO assay에서 실험방법은 Jagetia & Baliga(2004)의 방법을 변형하여 사용하였다. 시료는 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20 mg/mL의 농도가 되도록 70% ethanol로 희석하여 사용하였다. NO는 griess reagent를 이용하여 측정하였다. Griess reagent는 1% sulfanilamide를 5% phosphoric acid에 녹인 것과 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride 수용액을 1 : 1 비율로 혼합한 것을 사용하였다. NO 반응 생성 물질로는 0.1M sodium nitrite 용액을 사용하였으며, 이를 희석하여 흡광도가 1.0이 되도록 조정하여 사용하였다.

Sodium nitrite 용액 0.9 mL와 시료 0.1 mL를 혼합 후 30분간 실온에서 반응시켰다. 반응이 끝난 용액 중 상층액 0.1 mL와 griess reagent 0.1 mL를 혼합하여 15분간 반응시켰다. 반응물은 UV-vis spectrophotometer(Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO radical scavenging activity는 실험군과 대조군의 흡광도를 이용해 아래와 같이 백분율로 표시하였다.

NO radical scavenging activity(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{OD}_{540\text{nm}} \text{ of sample}}{\text{OD}_{540\text{nm}} \text{ of blank}}\right) \times 100$$

III. 결과 및 고찰

1. DPPH radical scavenging activity

DPPH assay는 천연물의 수용성 혹은 유기용매 추출물의 항

Table 1. Mean and standard deviation of DPPH radical scavenging activity of *Gracilaria* spp. extract

Sample	Concentration	RSA (%)	S.D
G1	1.25 mg / mL	8.47 ± 5.49	
	2.5 mg / mL	13.67 ± 7.20	
	5 mg / mL	13.13 ± 1.82	
	10 mg / mL	26.27 ± 4.08	
	20 mg / mL	46.13 ± 3.60	
G2	1.25 mg / mL	5.13 ± 3.14	
	2.5 mg / mL	11.33 ± 7.51	
	5 mg / mL	6.60 ± 1.98	
	10 mg / mL	13.93 ± 4.23	
	20 mg / mL	21.67 ± 4.65	
G3	1.25 mg / mL	14.00 ± 5.07	
	2.5 mg / mL	23.87 ± 6.15	
	5 mg / mL	38.33 ± 4.98	
	10 mg / mL	69.53 ± 3.64	
	20 mg / mL	97.27 ± 1.05	

Abbreviations: RSA, radical scavenging activity; G1, *G. incurvata* extract; G2, *G. parvispora* extract; G3, *G. vermiculophylla* extract.

산화 활성 측정법으로(Choi & Shin, 2012), 안정한 상태의 활성 산소종을 이용하여 항산화력을 검증하는데 널리 사용하는 방법이다. 여기서 free radical은 인체의 지질 또는 단백질과의 반응을 통해 노화의 원인이 되는 것으로 알려져 있다(Lee, 2019).

G. incurvata, *G. parvispora*, *G. vermiculophylla* 각 추출물의 DPPH radical scavenging activity를 보기 위해 추출물을 희석하여 DPPH radical solution에 반응시켜 측정하였다(Table 1, Fig. 1).

G. incurvata 추출물은 1.25 mg/mL에서 8.47±5.49%, 2.5 mg/mL에서 13.67±7.20%, 5 mg/mL에서 13.13±1.82%, 10 mg/mL에서 26.27±4.08%, 20 mg/mL에서 46.13±3.60%의 DPPH radical scavenging activity를 보였다.

Figure 1. DPPH radical scavenging activity of *Gracilaria* spp. extract. Abbreviations were the same as Table 1.

G. parvispora 추출물은 1.25 mg/mL에서 $5.13 \pm 3.14\%$, 2.5 mg/mL에서 $11.33 \pm 7.51\%$, 5 mg/mL에서 $6.60 \pm 1.98\%$, 10 mg/mL에서 $13.93 \pm 4.23\%$, 20 mg/mL에서 $21.67 \pm 4.65\%$ 의 DPPH radical scavenging activity를 보였다.

G. vermiculophylla 추출물은 1.25 mg/mL에서 $14.00 \pm 5.07\%$, 2.5 mg/mL에서 $23.87 \pm 6.15\%$, 5 mg/mL에서 $38.33 \pm 4.98\%$, 10 mg/mL에서 $69.53 \pm 3.64\%$, 20 mg/mL에서 $97.27 \pm 1.05\%$ 의 DPPH radical scavenging activity를 보였다.

3가지 추출물 중 가장 높은 DPPH radical scavenging activity를 보인 것은 20 mg/mL 농도에서 *G. vermiculophylla* 추출물로 다른 2가지와 달리 농도 증가에 따라 차이가 커지는 DPPH radical scavenging activity를 보였으며, 이 수치는 *G. parvispora* 추출물에 비해 4.49배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 2.10배 높았다. 그리고 *G. incurvata* 추출물은 *G. parvispora* 추출물에 비해 2.13배 높은 DPPH radical scavenging activity를 보였으나 두 개의 차이는 상대적으로 적었다.

Cho et al.(2012)의 홍조류 에탄올 추출물에 대한 DPPH radical scavenging activity를 측정한 선행연구에서 *Symphyclocladia latiuscula*(참보라색우무)의 경우 1 mg/mL의 농도에서 반응시켰을 때 19.2%의 DPPH radical scavenging activity를 보였다.

이 실험에서 가장 높은 DPPH radical scavenging activity를 보인 것은 *G. vermiculophylla*로 Cho et al.(2012)과 동일한 실험 조건과 실험방법으로 실험한 결과 $53.8 \pm 2.6\%$ 의 DPPH radical scavenging activity를 보여 선행논문의 *S. latiuscula*의 DPPH radical scavenging activity보다 2.80배 더 높은 DPPH radical scavenging activity를 보였다.

2. ABTS radical scavenging activity

ABTS assay는 천연물 추출물의 항산화 활성 측정법으로 널리 사용하는 방법이다(Rajurkar & Hande, 2011). ABTS assay는 DPPH assay와 radical scavenging activity에 의한 항산화능 측정법이라는 점에서는 같지만 화학 반응을 통해 free radical이 유발된 용액에 시료를 넣어 항산화를 측정한다는 점에서 다르다(Seo et al., 2010). 또한 DPPH assay는 pH, 빛 그리고 온도에 영향을 받는 반면에 ABTS assay는 pH의 변화에 민감하게 작용하지 않는 장점이 있다(Yoo et al., 2007).

G. incurvata, *G. parvispora*, *G. vermiculophylla*의 각 추출물의 ABTS radical scavenging activity를 보기 위해 추출물을 희석하여 ABTS radical solution에 반응시켜 측정하였다(Table 2, Fig. 2).

G. incurvata 추출물은 1.25 mg/mL에서 $2.67 \pm 1.95\%$, 2.5 mg/mL에서 $4.33 \pm 2.12\%$, 5 mg/mL에서 $7.00 \pm 0.85\%$, 10 mg/mL에서 $14.87 \pm 1.06\%$, 20 mg/mL에서 $32.07 \pm 2.04\%$ 의 ABTS radical scavenging activity를 보였다.

Table 2. Mean and standard deviation of ABTS radical scavenging activity of *Gracilaria* spp. extract

Sample	Concentration	RSA (%)	S.D
G1	1.25 mg / mL	2.67 ± 1.95	
	2.5 mg / mL	4.33 ± 2.12	
	5 mg / mL	7.00 ± 0.85	
	10 mg / mL	14.87 ± 1.06	
	20 mg / mL	32.07 ± 2.04	
G2	1.25 mg / mL	1.47 ± 2.00	
	2.5 mg / mL	0.67 ± 1.27	
	5 mg / mL	2.60 ± 1.61	
	10 mg / mL	6.60 ± 2.21	
	20 mg / mL	11.67 ± 1.20	
G3	1.25 mg / mL	2.40 ± 1.18	
	2.5 mg / mL	5.07 ± 1.52	
	5 mg / mL	11.33 ± 1.91	
	10 mg / mL	24.07 ± 2.37	
	20 mg / mL	47.67 ± 2.78	

Abbreviations were the same as Table 1.

Figure 2. ABTS radical scavenging activity of *Gracilaria* spp. extract. Abbreviations were the same as Table 1.

G. parvispora 추출물은 1.25 mg/mL에서 $1.47 \pm 2.00\%$, 2.5 mg/mL에서 $0.67 \pm 1.27\%$, 5 mg/mL에서 $2.60 \pm 1.61\%$, 10 mg/mL에서 $6.60 \pm 2.21\%$, 20 mg/mL에서 $11.67 \pm 1.20\%$ 의 ABTS radical scavenging activity를 보였다.

G. vermiculophylla 추출물은 1.25 mg/mL에서 $2.40 \pm 1.18\%$, 2.5 mg/mL에서 $5.07 \pm 1.52\%$, 5 mg/mL에서 $11.33 \pm 1.91\%$, 10 mg/mL에서 $24.07 \pm 2.37\%$, 20 mg/mL에서 $47.67 \pm 2.78\%$ 의 ABTS radical scavenging activity를 보였다.

3가지 추출물 중 가장 높은 ABTS radical scavenging activity를 보인 것은 20 mg/mL 농도에서 *G. vermiculophylla* 추출물로 다른 2가지와 달리 농도 증가에 따라 차이가 커지는 ABTS radical scavenging activity를 보였으며, 이 수치는 *G. parvispora* 추출물에 비해 4.08배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 1.49

배 높았다. 그리고 *G. incurvata* 추출물은 *G. parvispora* 추출물에 비해 2.75배 높은 ABTS radical scavenging activity를 보였다.

Cho et al.(2012)의 홍조류 에탄올 추출물에 대한 ABTS radical scavenging activity를 측정한 선행연구에서 *S. latiuscula*의 경우 1 mg/mL의 농도에서 반응시켰을 때 16.2%의 ABTS radical scavenging activity를 보였다.

이 실험에서 가장 높은 ABTS radical scavenging activity를 보인 것은 *G. vermiculophylla*로 Cho et al.(2012)과 동일한 실험 조건과 실험방법으로 실험한 결과 14.4±1.2%의 ABTS radical scavenging activity를 보여, Cho et al.(2012)의 *S. latiuscula*의 ABTS radical scavenging activity보다 1.8% 낮은 ABTS radical scavenging activity를 보였다.

3. Total phenolic contents

천연물 추출물에는 다양한 antioxidant가 포함되어 있으며, 천연물의 종류에 따라 차이가 있으나 total phenolic contents가 차지하는 비율이 높다. 이러한 이유로 total phenolic contents의 양을 측정하여 추출물의 항산화능을 유추할 수 있다(Wang et al., 2019). 일반적으로 총 폴리페놀 함량이 증가할수록 항산화 등의 생리활성이 증가하는 경향으로 보고된다(Lee et al., 2012).

G. incurvata, *G. parvispora*, *G. vermiculophylla*의 각 추출물의 총 폴리페놀 함량을 알아보기 위해 total phenolic contents를 측정하였다(Table 3, Fig. 3).

G. incurvata 추출물은 1 mg/mL에서 72.32±1.53 mg gallic acid/g의 total phenolic contents를 보였다. *G. parvispora* 추출물은 1 mg/mL에서 56.87±1.73 mg gallic acid/g의 total phenolic contents를 보였다. *G. vermiculophylla* 추출물은 1 mg/mL에서 75.60±1.40 mg gallic acid/g의 total phenolic contents를 보였다.

3가지 추출물 중 가장 높은 total phenolic contents를 보인 것은 1 mg/mL에서 *G. vermiculophylla* 추출물로 이 수치는 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.33배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 1.05배 높았다. 그리고 *G. incurvata* 추출물은 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.27배 높은 total phenolic contents 함량을 보였다.

Cho et al.(2012)의 홍조류 에탄올 추출물에 대한 total phenolic contents를 측정한 선행연구에서 *S. latiuscula*의 경우 1

Figure 3. Total phenolic contents of *Gracilaria* spp. extract (gallic acid used as standard). Abbreviations were the same as Table 1.

mg/mL에서 15 mg gallic acid/g의 total phenolic contents 함량을 보였으며, Kwak et al.(2005)의 한국산 5종 해조류의 total phenolic contents를 측정한 선행연구에서 *Porphyra terera*(김)의 경우 1 mg/mL에서 3.81 mg gallic acid/g total phenolic contents 함량을 보였다.

이 실험에서 가장 높은 total phenolic contents 함량을 보인 것은 *G. vermiculophylla*로 Cho et al.(2012)에서 *S. latiuscula*의 total phenolic contents 함량 보다 5.04배 더 높은 total phenolic contents 함량을 보였으며, Kwak et al.(2005)에서 *P. terera*의 total phenolic contents 함량 보다 19.84배 더 높은 total phenolic contents 함량을 보였다.

4. NO radical scavenging activity

NO는 다양한 생리적 기능을 조절하는 중요한 신호분자로서 혈액응고 및 혈압조절, 면역기능 등의 이로운 기능도 있지만, 과다하게 존재하게 되면 인체에 유해한 영향을 미치게 되어 세포 손상뿐 아니라 염증 반응을 야기하기도 한다(Amaeze et al., 2011; Bhaskar & Balakrishnan, 2009).

NO는 nitrite가 산화되면서 생산되는 물질로 nitrite는 nitrate가 nitrate reductase에 의해 환원되면서 독성을 가지게 되며(Walker, 1990), 과도하게 체내로 유입되었을 경우 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하여 암을 유발하므로 nitrite 소거는 항산화능에서 중요한 의미가 있다(Rorald, 1975).

G. incurvata, *G. parvispora*, *G. vermiculophylla*의 각 추출물의 NO radical scavenging activity를 보기 위해 추출물을 희석하여 griess reagent에 반응시켜 측정하였다(Table 4, Fig. 4).

G. incurvata 추출물은 1.25 mg/mL에서 11.23±1.28%, 2.5 mg/mL에서 22.33±1.76%, 5 mg/mL에서 42.87±2.09%, 10 mg/mL에서 82.00±1.67%, 20 mg/mL에서 95.80±0.33%의 NO radical scavenging activity를 보였다.

G. parvispora 추출물은 1.25 mg/mL에서 5.57±0.86%, 2.5

Table 3. Mean and standard deviation of total phenolic contents of *Gracilaria* spp. extract(gallic acid used as standard)

Sample	Concentration (mg gallic acid/ g)	S.D
G1	72.32	± 1.53
G2	56.87	± 1.73
G3	75.60	± 1.40

Abbreviations were the same as Table 1.

Table 4. Mean and standard deviation of NO radical scavenging activity of *Gracilaria* spp. extract

Sample	Concentration	RSA (%)	S.D
G1	1.25 mg / mL	11.23 ± 1.28	
	2.5 mg / mL	22.33 ± 1.76	
	5 mg / mL	42.87 ± 2.09	
	10 mg / mL	82.00 ± 1.67	
	20 mg / mL	95.80 ± 0.33	
G2	1.25 mg / mL	5.57 ± 0.86	
	2.5 mg / mL	9.43 ± 0.62	
	5 mg / mL	19.23 ± 1.06	
	10 mg / mL	38.83 ± 2.41	
	20 mg / mL	74.53 ± 2.33	
G3	1.25 mg / mL	8.83 ± 1.23	
	2.5 mg / mL	15.37 ± 1.58	
	5 mg / mL	30.37 ± 1.33	
	10 mg / mL	58.77 ± 1.56	
	20 mg / mL	83.63 ± 1.84	

Abbreviations were the same as Table 1.

Figure 4. NO radical scavenging activity of *Gracilaria* spp. extract. Abbreviations were the same as Table 1.

mg/mL에서 $9.43 \pm 0.62\%$, 5 mg/mL에서 $19.23 \pm 1.06\%$, 10 mg/mL에서 $38.83 \pm 2.41\%$, 20 mg/mL에서 $74.53 \pm 2.33\%$ 의 NO radical scavenging activity를 보였다.

G. vermiculophylla 추출물은 1.25 mg/mL에서 $8.83 \pm 1.23\%$, 2.5 mg/mL에서 $15.37 \pm 1.58\%$, 5 mg/mL에서 $30.37 \pm 1.33\%$, 10 mg/mL에서 $58.77 \pm 1.56\%$, 20 mg/mL에서 $83.63 \pm 1.84\%$ 의 NO radical scavenging activity를 보였다.

3가지 추출물 중 가장 높은 NO radical scavenging activity를 보인 것은 20 mg/mL 농도에서 *G. incurvata* 추출물로 다른 2가지와 달리 농도 증가에 따라 차이가 커지는 NO radical scavenging activity를 보였으며, 이 수치는 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.29배 높았고, *G. vermiculophylla* 추출물에 비해

1.15배 높았다. 그리고 *G. vermiculophylla* 추출물은 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.12배 높은 NO radical scavenging activity를 보였다.

Ahn et al.(2011)의 해조류 추출물의 항산화 및 nitrite 소거활성을 측정한 선행연구에서 *Porphyra yezoensis* Ueda(방사무늬김)의 경우 0.1 mg/mL에서 $80.82 \pm 0.07\%$ 의 NO radical scavenging activity를 보였다.

이 실험에서 가장 높은 NO radical scavenging activity를 보인 것은 *G. incurvata*로 Ahn et al.(2011)과 동일한 실험조건과 실험방법으로 실험한 결과 $85.80 \pm 0.60\%$ 의 NO radical scavenging activity를 보여 Ahn et al.(2011)의 *P. yezoensis* Ueda의 NO radical scavenging activity보다 1.06배 더 높은 NO radical scavenging activity를 보였다.

화장품 원료가 가진 항산화능은 피부 건강을 증진 시킬 뿐만 아니라 화장품의 보존에도 큰 영향을 주는 요소이다. DPPH assay와 ABTS assay의 경우 radical activity에 따라 흡광 파장이 달라지는 물질을 이용하여 항산화능을 측정하는 방법으로, 활성산소와 유사하게 radical로서 작용을 한다(Floegel et al., 2011). 한편 total phenolic contents 측정은 항산화능을 나타내는 것으로 알려진 polyphenol의 농도를 측정하여 항산화능을 간접적으로 측정하는 방법이며 주로 식물 추출물에 이용된다(Scalzo et al., 2005). 마지막으로 NO assay는 추출물이 nitrite 염에 의해 만들어진 활성질소종을 소거시키는 것을 측정하는 방법이다(Karmakar et al., 2011).

화장품에서는 간접적인 total phenolic content 측정과 NO assay보다 광범위한 항산화능을 측정할 수 있는 DPPH assay와 ABTS assay가 선호되며, DPPH assay와 ABTS assay 간 측정 수치의 차이가 있어 두 방법을 모두 시행하는 것이 추천된다(Floegel et al., 2011).

G. vermiculophylla 추출물은 DPPH radical scavenging activity 측정의 경우, 20 mg/mL 농도에서 *G. parvispora* 추출물에 비해 4.49배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 2.10배 높았다. 또한 ABTS radical scavenging activity 측정의 경우, 20 mg/mL 농도에서 *G. parvispora* 추출물에 비해 4.08배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 1.49배 높았다. 그리고 total phenolic contents 측정 결과, 1 mg/mL에서 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.33배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 1.05배 높았다. 다만 NO radical scavenging activity 측정 결과에서만, *G. incurvata* 추출물이 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.29배 높았고, *G. vermiculophylla* 추출물에 비해 1.15배 높았다.

이와 같이 *G. vermiculophylla* 추출물은 DPPH assay와 ABTS assay에서 radical scavenging activity가 가장 높아 항산화능을 가진 화장품 원료로서 더 유용한 물질로 판단된다. 또한 부수적으로 total phenolic contents도 가장 높은 장점을 가지고 있다.

IV. 결 론

본 연구에서는 홍조류 중 *Gracilaria* spp.에 속하는 *G. incurvata*, *G. parvispora*, *G. vermiculophylla* 3가지 추출물의 화장품 원료로서의 항산화 활성을 알아보기 위해 DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, total phenolic contents, NO radical scavenging activity를 측정하였다.

DPPH assay를 통한 radical scavenging activity 측정 결과, 20 mg/mL 농도에서 *G. incurvata* 추출물은 46.13±3.60%, *G. parvispora* 추출물은 21.67±4.65%, *G. vermiculophylla* 추출물은 97.27±1.05%의 radical scavenging activity를 보였다. 가장 높은 DPPH radical scavenging activity를 보인 것은 *G. vermiculophylla* 추출물로 *G. parvispora* 추출물에 비해 4.49배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 2.10배 높은 항산화력을 보였다.

ABTS assay를 통한 radical scavenging activity 측정 결과, 20 mg/mL 농도에서 *G. incurvata* 추출물은 32.07±2.04%, *G. parvispora* 추출물은 11.67±1.20%, *G. vermiculophylla* 추출물은 47.67±2.78%의 radical scavenging activity를 보였다. 가장 높은 ABTS radical scavenging activity를 보인 것은 *G. vermiculophylla* 추출물로 *G. parvispora* 추출물에 비해 4.08배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 1.49배 높은 항산화력을 보였다.

Total phenolic contents 측정 결과, 1 mg/mL에서 *G. incurvata* 추출물은 72.32±1.53 mg gallic acid/g, *G. parvispora* 추출물은 56.87±1.73 mg gallic acid/g, *G. vermiculophylla* 추출물은 75.60±1.40 mg gallic acid/g의 total phenolic contents를 함유하고 있었다. 가장 높은 total phenolic contents를 함유한 것은 *G. vermiculophylla* 추출물로 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.33배 높았고, *G. incurvata* 추출물에 비해 1.05배 높은 total phenolic contents 함량을 나타내었다.

다만 NO radical scavenging activity 측정 결과에서만 20 mg/mL 농도에서 *G. incurvata* 추출물은 95.80±0.33%, *G. parvispora* 추출물은 74.53±2.33%, *G. vermiculophylla* 추출물은 83.63±1.84%의 NO radical scavenging activity를 나타내었다. 가장 높은 NO radical scavenging activity를 보인 것은 *G. incurvata* 추출물로 *G. parvispora* 추출물에 비해 1.29배 높았고, *G. vermiculophylla* 추출물에 비해 1.15배 높은 항산화력을 보였다.

여기서 화장품에서는 간접적인 항산화능 측정방법인 NO assay보다는 광범위한 항산화능을 측정할 수 있는 DPPH assay와 ABTS assay가 더 유용한 방법이므로(Floegel et al., 2011), *G. vermiculophylla* 추출물이 항산화능을 가진 화장품 원료로서 더 유용한 물질로 판단된다.

References

Afreen, S., & Fatma, T. (2018). Extraction, purification and charac-

terization of phycoerythrin from *Michrochaete* and its biological activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 84-89.

Ahn, S. M., Hong, Y. K., Kwon, G. S., & Son, H. Y. (2011). Evaluation of Antioxidant and Nitrite Scavenging Activity of Seaweed Extracts. *Journal of Life Science*, 21(4), 576-583

Amaze, O. U., Ayoola, G. A., Sofidiya, M. O., Adepoju-Bello, A. A., Adegoke, A. O., & Coker, H. A. B. (2011). Evaluation of antioxidant activity of *Tetracarpidium conophorum* (Müll. Arg) Hutch & Dalziel leaves. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, 1-7.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

Bhaskar, H., & Balakrishnan, N. (2009). In vitro antioxidant property of laticiferous plant species from western ghats Tamilnadu, India. *International Journal of Health Research*, 2(2), 163-170.

Cho, M. L., Lee, D. J., & You, S. G. (2012). Radical Scavenging Activity of Ethanol Extracts and Solvent Partitioned Fractions from Various Red Seaweeds. *Ocean and Polar Research*, 34(4), 445-451.

Choi, M. H., & Shin, H. J. (2015). Anti-oxidative and Anti-mellogenesis Effects of Buleberry Extract. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetics Society*, 13(2), 261-266.

Folin, O., & Denis, W. (1912). On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *Journal of Biological Chemistry*, 12(2), 239-243.

Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043-1048.

Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58(11), 966-968.

Jagetia, G. C., & Baliga, M. S. (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.

Jimenez-Escrig, A., & Cambrodon, I. G. (1999). Nutritional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 49(2), 114-120.

Karmakar, I., Dolai, N., Saha, P., Sarkar, N., Bala, A., & Haldar, P. K. (2011). Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 11(4), 221-228.

Kim, H. S., Boo, S. M., Lee, I. K., & Son, C. H. (2013). *National list of species of Korea : marine algae*. Incheon : Ministry of Environment's National Bio-Resource Center.

Kim, S. J., Lee, K. S., Moh, S. H., Park, J. B., Auh, C. K., Chung, Y. J., Ryu, T. K., & Lee, T. K. (2013). Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Six Edible Seaweeds. *Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society*, 14(6), 3081-3088.

Kim, Y. N. (2003). *Studies on the technology development for the cultivation of gracilaria chorda*. Jeollanam-do Province : Jangheung Fisheries Technology Management Office, Yeosu Regional Maritime Affairs and Fisheries Administration.

Kim, Y. S., Lee, S. J., Hwang, J. W., Kim, E. H., Park, P. J., & Jeon, B. T. (2011). Antioxidant Activity and Protective Effects of

- Extracts from *Helianthus tuberosus* L. Leaves on t-BHP Induced Oxidative Stress in Chang Cells. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40(11), 1525-1531.
- Kwak, C. S., Kim, S. A., & Lee, M. S. (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.
- Lee, D., Nishizawa, M., Shimizu, Y., & Saeki, H. (2017). Anti-inflammatory effects of dulse (*Palmaria palmata*) resulting from the simultaneous water-extraction of phycobiliproteins and chlorophylla. *Food Research International*, 100, 514-521.
- Lee, M. H. (2019). The antioxidation effect of *Passiflora edulis* f. *edulis* rind extract and its influence on cell bioactivity. Master's thesis, Kunkuk University, Seoul.
- Lee, M. Y., Yoo, M. Y., Whang, Y. J., Jin, Y. J., Hong, M. H., & Pyo, Y. H. (2012). Vitamin C, Total Polyphenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Capacity of Several Fruit Peels. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 44(5), 540-544.
- Lee, Y. P. (2002). *catalogue of the seaweeds in Korea*. Jeju: Jeju National University Press.
- Norton, T. A., Melkonian, M., & Andersen, R. A. (1996). Algal biodiversity. *Phycologia*, 35, 308-326.
- Othman, R., Amin, N., Sani, M., Fadzillah, N., & Jamaludin, M. A. (2018). Carotenoid and chlorophyll profiles in five species of Malaysian seaweed as potential halal active pharmaceutical ingredient (API). *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol*, 8(4-2), 1610-1616.
- Poljšak, B., Dahmane, R. G., & Godić, A. (2012). Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*, 21(2), 33-36.
- Rajurkar, N. S., & Hande, S. M. (2011). Estimation of phytochemical contents and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(2), 146.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1975). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26, 1231-1237.
- Rorald, W. (1975). Naturally occurring nitrate in food. *J. Jpn. Soc. Food Agric* 26, 1735-1742.
- Rosemary, T., Arulkumar, A., Paramasivam, S., Mondragon-Portocarrero, A., & Miranda, J. M. (2019). Biochemical, micronutrient and physicochemical properties of the dried red seaweeds *Gracilaria edulis* and *Gracilaria corticata*. *Molecules*, 24(12), 2225.
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., & Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21(2), 207-213.
- Seo, K. Y., Lee, S. W., Park, S. J., Kim, S. C., Son, I. C., Hwang, S. Y., & Ahn, S. H. (2010). Biological Activities of Hominis Placenta Herbal Acupuncture prepared by Hydrochloric Acid Hydrolysis. *Journal of Pharmacopuncture*, 13(2), 5-12.
- Walker, R. (1990). Nitrates, nitrites and N-nitroso compounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food additives and Contaminants*, 7(6), 717-768.
- Wang, L., Cui, Y. R., Yang, H. W., Lee, H. J., Ko, J. Y., & Jeon, Y. J. (2019). A mixture of seaweed extractions and glycosaminoglycans from sea squirts inhibits α -MSH-induced melanogenesis in B16F10 melanoma cells. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22(1), 1-8.
- Wu, Q., Fu, X. P., Sun, L. C., Zhang, Q., Liu, G. M., Cao, M. J., & Cai, Q. F. (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.
- Yoo, K. M., Kim, D. O., & Lee, C. Y. (2007). Evaluation of Different Methods of Antioxidant Measurement. *Food Science and Biotechnology*, 16(2), 177-182.
- Zang, F., Qin, S., Ma, C., Li, W., & Lin, J. (2020). Structure, function and applications of phycoerythrin: a unique light harvesting protein in algae. *Chinese Science Bulletin*, 65(7), 565-576.