

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.4.467

JCCT 2019-11-59

해조류 청각(*Codium fragile*) 에탄올 추출물의 항산화에 관한 연구

A Study on Seaweed Sea Staghorn(*Codium fragile*) Ethanol Extract for Antioxidant

이주희*, 김보애**

Ju-Hee Lee*, Bo-Ae Kim**

요약 해조류는 무기질, 비타민, 단백질, 섬유소가 풍부하며 녹조류에 속하는 청각(*Codium fragile*)은 청각과이며, 우리나라, 동아시아, 오세아니아 등 해안에 분포해 있고 우리나라와 각국에서 식재료 뿐만 아니라 건강기능소재로 사용되고 있다. 본 연구에서는 청각을 주성분으로 추출하고 농축하여 DPPH 라디칼 소거능, SOD 활성, FRAP과 ABTS 양이온 라디칼 소거능을 확인하였다. 그 결과 DPPH 소거능 측정 결과 6.25, 12.50, 25, 50, 100 µg/mL 농도에서 0.83, 22.83, 38.27, 40.93, 45.60%의 소거능을 나타냈으며, SOD 유사활성 측정 결과 23.13, 33.63, 33.93, 44.07, 59.07%의 유사활성능을 보였다. FRAP과 ABTS도 앞에서 했던 실험 결과와 마찬가지로 농도의존적으로 항산화 활성을 보였다. 따라서 본 연구결과에서는 천연 소재인 청각을 이용하여 화장품 소재로서 활용할 수 있음을 확인하였다.

주요어 : 해조류, 청각, 에탄올 추출물, 항산화

Abstract Seaweeds are rich in in minerals, vitamins, proteins, and fiber, and are classified as green algae, and they are distributed on the coasts of Korea, East Asia, Oceania, etc. and are used as a health function material as well as food ingredients in our countries and countries. In this study, *Codium fragile* was extracted from ethanol and concentrated to confirm DPPH radical scavenging activity, SOD activity, FRAP and ABTS cation radical scavenging ability. As a result, DPPH scavenging activity was 0.83, 22.83, 38.27, 40.93, 45.60% at 6.25, 12.50, 25, 50 and 100 µg/mL, SOD-like activity were 23.13, 33.63, 33.93, 44.07 and 59.07%. FRAP and ABTS showed antioxidant activity in a concentration-dependent manner, as in the previous experiment. Therefore, this study confirmed that it can be used as a cosmetic material using *Codium fragile*, a natural material.

Key words : Seaweeds, *Codium Fragile*, Ethanol Extract, Anti-oxidant

1. 서론

우리나라는 삼면이 바다로 둘러싸여 있으며 750여종

의 해조류(seaweeds)가 서식을 하며 갈조류(brown algae), 녹조류(green algae), 홍조류(red algae)로 나누

*준회원, 목원대학교 일반대학원 화학과 화장품전공 대학원생
**정회원, 목원대학교 생의약화장품학부 조교수(교신저자)
접수일: 2019년 10월 14일, 수정완료일자: 2019년 11월 5일
게재확정일자: 2019년 11월 11일

Received: October 14, 2019 / Revised: November 5, 2019
Accepted: November 11, 2019
*Corresponding Author: kba@mokwon.ac.kr
Dept. of Sciences & Technology, Division of Biomedicinal & Cosmetics, Mokwon Univ, Korea

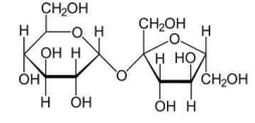
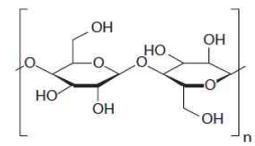
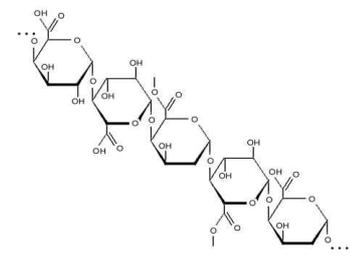
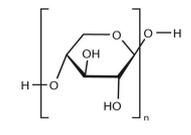
어진다[1]. 갈조류는 미역, 다시마, 툇, 녹조류는 파래, 청각, 모자반이 있으며, 홍조류는 김, 매생이, 우뚝가사리 등이 식용으로 쓰이고 있다[2,3]. 해조류는 무기질, 단백질, 비타민, 섬유소 등이 풍부하여 유용 식용으로 이용되며, 지방함유량이 낮아 저열량 식품이다. 해조류와 채소를 비교해본 결과, 필수아미노산, 불포화지방산의 함유량이 높아 영양제품, 염장품 및 조미 등으로 이용하거나 다른 식품의 부재료로 첨가되고 있다[4]. 최근에는 해조류의 다양한 건강 기능성 제품이 알려지면서 가공제품으로 출시되고 있다. 해조류는 고지혈증[5], 항암[6], 항산화, 항균, 당뇨[7], 항혈전 완화 효과[8] 등 다양한 생리활성이 있다는 것이 알려지면서 건강 기능성 식품 소재로서 많은 관심을 받고 있다.

청각(*Codium fragile*)은 청각과에 속하는 녹조류로 우리나라, 동아시아, 오세아니아 등 해안에 분포해 있으며[9], 우리나라에서는 김장할 때 배추 속재료로 사용을 하거나 일부 지역에서는 나물 등의 음식 재료로 사용되고 중국과 일본은 물론 필리핀과 하와이에서 식용으로 널리 이용되고 있다[10]. 그리고 예로부터 청각은 정약전 ‘자산어보’에서 음식의 맛을 풍부하게 해주는 해초로 소개되고 있으며, 본초강목, 동의보감, 식성본초, 식료본초 등의 고서에 적혀 있는 것들을 보아 오래전부터 청각을 식용으로 사용해 왔다는 것을 알 수 있다[11]. 또한 민간요법으로 비뇨기 질환 및 수종치료에 이용되어 왔으며, 기생충에 의한 감염, 배변장애, 수종 등을 치료하기 위해 전통의학 치료제인 구충제로 사용되어져 왔다. 청각 추출물은 항염증, 항산화, 그리고 항암 및 항 돌연변이 효과와 면역 활성을 가지고 있다고 보고되고 있으며, 여러 분야에서 응용할 수 있는 유용한 해조류임을 알 수 있다[12-15]. 녹조류인 청각은 탄수화물, cellulose, pectin, mannan 및 xylan 등의 다당류를 포함하고 있다[16].

기존 연구에서는 청각 메탄올, 물 추출하여 활성을 평가하였으며 대부분 메탄올에서 높은 항산화 활성을 나타내었다. 그러나 화장품에서 메탄올을 용매로 하여 추출하는 것이 사용되기 어렵기에 본 연구에서는 청각을 주정 에탄올을 이용하여 DPPH 라디칼 소거능, SOD 활성, FRAP과 ABTS 양이온 라디칼 소거능을 통해 항산화능을 확인하여 화장품의 천연소재로 활용할 수 있음을 확인하고자 한다.

표 1. 청각의 구성성분

Table 1. Constituents of *Codium fragile*(Source: Organic Chemistry)

Contents	Chemical structure
Carbohydrate	
Cellulose	
Pectin	
Xylan	

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료 및 추출

본 실험에서 사용한 청각(*Codium fragile*)은 다음과 같이 추출하였다. 건조된 청각을 분쇄한 다음 주정 에탄올(주정판매월드, Koea)를 가하여 상온에서 6시간 동안 침지 추출하였고 농축기(EYELA, N-1000)를 이용하여 감압 농축을 하였다. 추출물을 동결건조하여 사용하였다. DPPH와 Ascorbic acid, ABTS는 sigma-aldrich Co.(Saint Louis, USA), SOD like activity-kit는 DOGEN Bio Co.(seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

2. DPPH 라디칼 소거능 측정

청각 추출물을 각 농도별로 용해시키고 96-well plate에 추출물을 농도별로 분주하고 DPPH를 methanol을 용매로 하여 0.20 mM로 추출물에 처리하였다. 교반 후 27°C에서 30분간 반응하고 microplate reader(Sunnyvale, CA, USA)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. radical 소거능은 시료 첨가군과 시료 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었으며, DPPH 라디칼 소거능 실험을 포함한 모든 실험에서 ascorbic acid 25 µg/mL를 양성대조군으로 사용하였다.

3. SOD 유사활성 측정

SOD kit를 이용하여 청각 추출물을 각 농도별로 용해하여 96-well plate에 분주하고 WST를 모든 well에 분주하였다. 그 후 xanthine oxidase를 시료에 첨가하여 37°C에서 20분간 반응하고 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 첨가군과 무첨가군의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

4. FRAP(Ferric-reducing antioxidant potential) 측정

FRAP assay은 0.3 M sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) solution, 그리고 20 mM FeCl₃ solution을 사용하였다. sodium acetate buffer(pH 3.6), TPTZ solution 및 FeCl₃ solution을 각각 10 : 1 : 1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C에서 10분간 incubation 시켜 준비한다. 각 well당 시료 50 µL에 혼합하여 37°C에서 10분간 방치한 후 592 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. ABTS+ 라디칼 소거능 측정

7 mM ABTS와 2.4 mM potassium persulfate를 1:1로 혼합 후 실온에서 24 시간 동안 반응시키고, 에탄올로 희석시킨 ABTS 용액을 734 nm에서 흡광도 측정을 하였다. 시료를 well 당 50 µL를 처리한 후 ABTS와 potassium sulfate 혼합액 950 µL를 첨가하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 통계 분석

본 연구의 실험에 대한 결과를 각각 3회 실시하여 평균과 표준편차로 나타내었다.

III. 실험 결과 및 고찰

1. DPPH 라디칼 소거능 측정 결과

DPPH는 수용성 물질로, 항산화 물질과 반응시 유리기가 소거되어 보라색이 탈색되어 흡광도가 감소되는 원리를 이용하여 항산화를 측정하는데 이용된다[17]. 이러한 원리에 따라 청각 에탄올 추출물을 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 농도별로 측정하였으며 결과는 다음과 같다. 양성 대조군인 ascorbic acid는 75.63%의 radical 소거능을 보였으며, 청각 에탄올 추출물은 6.25 µg/mL에서 0.83%, 12.5 µg/mL에서 22.83%, 25 µg/mL는 38.27%, 50 µg/mL에서 40.93%, 100 µg/mL는 45.60%의 radical 소거능을 확인할 수 있었다. 모두 농도 의존적인 활성을 보였다.

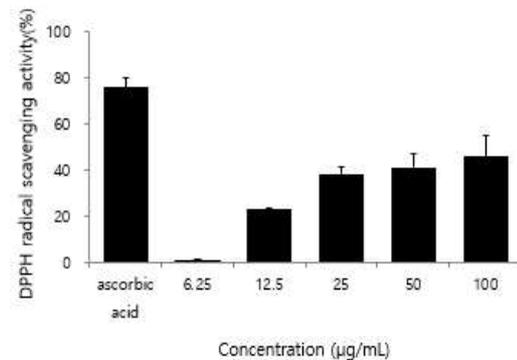


그림 1. 청각 추출물의 DPPH 라디칼 소거능
Figure 1. DPPH radical scavenging activity(%) of *Codium fragile* extract with ethanol.

2. SOD-like activity에 측정 결과

Superoxide anion을 산소와 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 중요한 항산화 효소로서 Xanthine oxidase에 의해 발생한 Superoxideanion이 사용된 시료에 의해 제거된 비율로 항산화를 평가하는 방법이다 [18]. 청각 에탄올 추출물을 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 농도별로 처리 후에 흡광도를 측정된 결과, 대조군인 ascorbic acid는 80.10% 항산화 활성을 보였으며, 청각 에탄올 추출물은 6.25 µg/mL에서 23.13%, 12.5 µg/mL에서 33.63%, 25 µg/mL는 33.93%, 50 µg/mL에서 44.07%, 100 µg/mL는 59.07%의 SOD 유사활성능을 확인할 수 있었다.

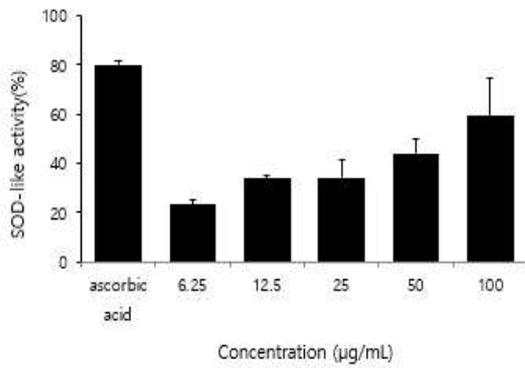


그림 2. 청각 추출물의 SOD 유사활성
Figure 2. SOD-like activity(%) of *Codium fragile* with ethanol.

3. FRAP 측정 결과

항산화능을 측정하는 방법으로 낮은 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine(Fe^{3+} -TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine(Fe^{2+} -TPTZ)으로 환원되는 원리를 이용한 방법이다[19]. 청각 에탄올 추출물을 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 농도별로 측정할 결과, 양성 대조군인 ascorbic acid는 4.62%를 보였으며, 청각 에탄올 추출물은 6.25 µg/mL에서 0.56%, 12.5 µg/mL에서 1.04%, 25 µg/mL는 1.85%, 50 µg/mL에서 2.05%, 100 µg/mL는 3.13%라는 항산화 활성을 확인할 수 있었다.

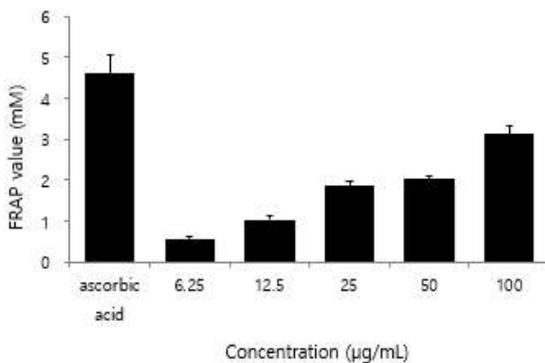


그림 3. 청각 추출물의 FRAP 활성
Figure 3. Ferric-reducing antioxidant potential value of *Codium fragile* with ethanol.

4. ABTS+ radical scavenging activity 측정 결과

ABTS+소거능은 ABTS와 potassium persulfate을 혼합하여 암소에 두면 ABTS 양이온이 생성되는데 추출물의 항산화 물질과 반응하여 양이온이 소거됨으로써 특유의 청록색이 탈색되며 이의 흡광도를 측정하여 항

산화 능력을 측정할 수 있다[20]. 청각 에탄올 추출물을 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 농도와 대조군 ascorbic acid 25 µg/mL를 well 당 50 µL를 처리한 후 ABTS와 potassium sulfate 혼합액 950 µL를 첨가하고 흡광도를 측정할 결과이다. 대조군인 ascorbic acid는 100%를 보였으며, 청각 에탄올 추출물은 6.25 µg/mL에서 10.43%, 12.5 µg/mL에서 11.10%, 25 µg/mL는 23.10%, 50 µg/mL에서 39.63%, 100 µg/mL는 54.57%의 소거 활성을 확인하였다.

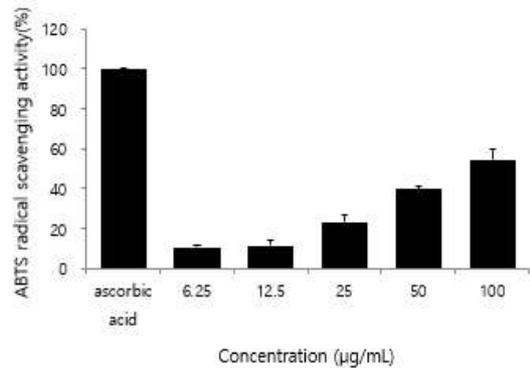


그림 4. 청각 추출물의 ABTS+ 라디칼 소거능
Figure 4. ABTS+ radical scavenging activity (%) of *Codium fragile* with ethanol.

기존연구에 의하면 청각을 다양한 용매를 이용하여 추출한 결과, 열수 추출과 주정 추출하여 항균 및 항산화 결과를 보았을 때 주정 추출물은 항균력이 있고 47%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈다. 천연보존제 및 천연 항산화제로의 이용가능성을 확인한 연구가 있으며[21], 청각을 80% 메탄올의 추출물을 이용하여 DPPH 라디칼 소거능의 경우 활성산소 소거능을 보였 다[22]. 또, 헥산, 에틸아세테이트, 메탄올 추출물은 DPPH, ABTS의 항산화능을 확인해본 결과 모두 메탄올 추출물에서 항산화능이 뛰어났으며, 메탄올 다음은 에틸아세테이트, 헥산 순으로 나열되었다[23]. 또한 B16F10 세포에서 α-MSH와 UVB로 유도된 멜라닌 생성 효소인 tyrosinase 및 TRP-1의 발현 억제에 대한 활성이 나타내는 것으로 알려져 있다[24]. 그리고 혈액응고 저해기작 결과 청각의 항응고 활성은 factor assay와 thrombin의 저해능을 고려해볼때 antithrombin III의 활성을 증가시켜 혈액응고 인자 중 serine proteinase의 활성을 저해시킴으로써 항응고 활성을 나타내는 연구가 있었다[25]. 이처럼 청각 추출물은 다

양한 유효성을 나타내며, 에탄올을 이용한 항산화 실험에서는 높은 활성을 나타낸 바 화장품 유효성분으로 활용도가 높다고 할 수 있다.

IV. 결론

본 연구는 주정 에탄올 추출 방법을 이용해 해조류 중 녹조류에 속하는 청각의 항산화 활성을 측정하였다. 우선, 주정에 청각을 상온에서 6시간 동안 침지한 후에 농축을 시키고 동결건조를 한 시료를 사용하였다. 항산화 실험 중에서 DPPH 라디칼 소거능은 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 농도에서 각각 0.83, 22.83, 38.27, 40.93, 45.60%의 소거능을 나타냈다. SOD 유사 활성능 측정 결과는 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 농도에서 23.13, 33.63, 33.93, 44.07, 59.07% 활성을 나타내었다. FRAP 측정 결과 ascorbic acid는 4.62%를 보였으며, 청각 에탄올 추출물은 6.25 µg/mL에서 0.56%, 12.5 µg/mL에서 1.04%, 25 µg/mL는 1.85%, 50 µg/mL에서 2.05%, 100 µg/mL는 3.13%의 FRAP value가 나타났다. ABTS+ radical 소거능 측정결과 ascorbic acid는 100%를 보였으며, 청각 에탄올 추출물은 6.25 µg/mL에서 10.43%, 12.5 µg/mL에서 11.10%, 25 µg/mL는 23.10%, 50 µg/mL에서 39.63%, 100 µg/mL는 54.57%의 소거 활성을 확인하였다.

따라서 항산화 활성이 있는 청각은 화장품 소재로서의 활용할 수 있음을 기대해볼 수 있다.

References

[1] K. Kim, C. Kim, "Studies on the Manufacture of *Undaria pinnatifida* Laver and Its Physicochemical Properties-. Chemical Composition", Korean Society of Food Science and Technology, Vol. 15, No. 3, pp. 277-281, 1983.
[2] J. W. Sohn, "A study on Korean seaweed foods by literature review". Korean J. Food Nutr. Vol. 22, No. 1, pp. 75-85, 2009.
[3] N. Lee, "Quality Characteristics of Jeolpyeon by Different Ratios of Green Laver Powder", JCCT, Vol. 4, No. 4, pp. 295-300, 2018.
[4] S. Gupta and N. Abu-Ghannam, "Recent

developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods", *Inno. Food Sci. Emerg. Technol.*, Vol. 12, No. 4, pp. 600-609, 2011.
[5] A. Bocanegra, S. Bastida, J. Benedi, "Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds". *J. Med. Food*, Vol. 12, No. 2, pp. 236-258, 2009.
[6] A. Cumashi, N. Ushakova, A. Preobrazhenskaya and L. Totani, "A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds", *Glycobiol.* Vol. 17, No. 5, pp. 541-542, 2007.
[7] M. Ciancia, I. Quintana and A. S. Cerezo, "Overview of anticoagulant activity of sulfated polysaccharides from seaweeds in relation to their structures, focusing on those of green seaweeds" *Curr. Med. Chem.* Vol. 17, No. 23, pp. 2503-2529, 2010.
[8] H. Lee, J. Kim, J. H. Lee, C. H. Kim, J. S. and B. H. Lee, "Inhibitory activities of sea weeds on prolyl endopeptidase, tyrosinase and coagulation", *Korean J. Pharmacog.* Vol. 30, No. 3, pp. 231-237, 1999.
[9] J. B. Lee, Y. Ohta, K. T. Hayashi, "Immunostimulating effects of sulfated galactan from *Codium fragile*", *Carbohydr Res.* Vol. 345, No. 10, pp. 1452-1454, 2010.
[10] Y. S. Oh, I. K. Lee, and S. M. Boo, "An annotated account of Korean economic seaweeds for food, medical and industrial uses", *Korean J. Phycol.* Vol. 5, No. 1, pp. 57-71, 1990.
[11] Z. Chengkui, C. K. Tseng, Z. Junfu, and C. F. Chang, "Chinese seaweeds in herbal medicine" *Hydrobiologia*, Vol. 116, No. 117, pp. 152-154, 1984.
[12] C. Kang, H., Y. H. Choi, S. Y. Park, and G. Y. Kim, "Antiinflammatory effects of methanol extract of *Codium fragile* in lipopolysaccharide -stimulated RAW 264.7 cells", *J. Med. Food*, Vol. 15, No. 1, pp. 44-50, 2012.
[13] K. J. Cho, Y. S. Lee, and B. H. Ryu, "Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180", *Korean J. Fish. Aqua. Sci.* Vol. 23, No. 5, pp. 345-352, 1990.
[14] D. J. Rogers, K. M. Jurd, G. Blunden, S. Paoletti, and F. Zanetti, "Anticoagulant activity of a proteoglycan in extracts of *Codium Fragile* sp. *atlanticum*", *J. Appl. Phycol.* Vol. 2, No. 4, pp. 357-561, 1990.

- [15] D. J. Rogers and R. W. Loveless, "Electron microscopy of human erythrocytes agglutinated by lectin from *Codium fragile* sp. *tomentosoides* and pseudo-haemagglutinin from *Ascophyllum nodosum*", *J. Appl. Phycol.* Vol. 3, pp. 83-86, 1991.
- [16] J. Y. Kim, "Properties and Industrial Applications of Seaweed Polysaccharides-degrading Enzymes from the Marine Microorganisms", *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 39, No. 3, pp. 189-199, 2011.
- [17] S. Shin, C. Lee, "Antioxidant effects of the methanol extracts obtained from aerial part and rhizomes of ferns native to Korea", *Korean J. Plant Res.* Vol. 23, No. 1 pp. 38-46, 2010.
- [18] J. M. McCord, I. Fridovich, "The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen", *J. Biol. Chem.* Vol. 244, No. 22 pp. 6053, 1963.
- [19] J. Choi, Y. Kim, "Antioxidant Activities of the Extract Fractions from *Suaeda japonica*", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol. 38, No. 2, pp. 131-135, 2009.
- [20] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radic Biol Med.* Vol. 26, No. 9-10, pp. 1231-1237, 1999.
- [21] M. K. Kim, D. Han, "Antibacterial Activity and other Functions of *Codium fragile* and *Chaenomeles sinensis* Extracts by Extraction Method", *Korean S. Bio Journal*, Vol. 33, No. 2, pp. 89-94, 2018.
- [22] D. Shin, E. Han, "Cytoprotective Effects of Phaeophyta Extracts from the Coast of Jeju Island in HT-22 Mouse Neuronal Cells", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol. 42, No. 2, pp. 224-230, 2014.
- [23] R. Kolsi, H. Salah, A. Hamza, "Characterization and evaluating of antioxidant and antihypertensive properties of green alga (*Codium fragile*) from the coast of Sfax", *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, Vol. 6, No. 2, pp. 186-191, 2017.
- [24] C. Lee, J. Jang1, E. Ahn, "Inhibitory Effects of Marine Natural Products on Melanogenesis in B16 Melanoma Cells", *Kor. J. Herbology*, Vol. 27, No. 4, pp. 73-80, 2012.
- [25] Y. Shim, J. An, "Inhibitory Mechanism of Blood Coagulation and in vivo Anticoagulant Activities of Polysaccharides Isolated from *Codium fragile*", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* Vol. 31, No. 5, pp. 917-923, 2002.