

청각(*Codium fragile*) 추출물의 항산화성 및 생리활성

박다빈[†] · 이연지[†] · 노진웅 · 김원석¹ · 박선주^{2*} · 김용태^{*}

군산대학교 식품생명공학전공, ¹신라대학교 제약공학과, ²부경대학교 화학과

Comparison of Antioxidant and Physiological Activities of Different Solvent Extracts from *Codium fragile*

Da-Bin Park[†], Yeon-Ji Lee[†], Jin-Woong Rho, Won-Suk Kim¹, Sun Joo Park^{2*} and Yong-Tae Kim^{*}

Department of Food Science & Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Republic of Korea

¹Department of Pharmaceutical Engineering, Silla University, Busan 46958, Republic of Korea

²Department of Chemistry, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

The present study investigated the chemical composition, and antioxidant and physiological activities of the Korean marine algae, *Codium fragile*. The solvent extracts from *C. fragile* were prepared using 70% ethanol, 80% methanol, and distilled water. Based on the general chemical composition, carbohydrate, crude protein, crude lipid, crude ash, and moisture were 74.22%, 16.73%, 0.66%, 4.39%, and 4.00%, respectively. Calcium, magnesium, sodium and potassium were the main minerals. The extraction yield range of the solvent extracts was 3.51–9.76%. The ranges of total polyphenol and flavonoid contents were approximately 10.97–13.76 mg/g and 8.00–8.69 mg/g, respectively. The ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)] radical scavenging activity, reducing power and FRAP (ferric reducing antioxidant power) activities were the highest in the ethanol extract, while methanol extract exhibited the strongest nitrite oxide scavenging activity. On the other hand, tyrosinase, elastase, and xanthine oxidase inhibitory activities of the ethanol and methanol extracts were higher than those of the water extract. Furthermore, the ethanol extract exhibited the highest β -secretase inhibitory activity. The results indicate that *C. fragile* can be used as an antioxidant and a functional ingredient in food and pharmaceutical products.

Keywords: Antioxidative activity, *Codium fragile*, General component, Marine algae, Physiological activity

서론

최근 코로나바이러스 감염증(COVID-19) 팬데믹(pandemic)이 지속되면서 식품의 소비형태가 관능적 특성뿐만 아니라 면역력 증진을 위한 식품의 기능성을 중요시 하는 경향으로 변화하고 있다. 이에 따라, 항산화 및 생리 기능성을 갖는 건강기능성 식품에 대한 관심이 높아지면서 동·식물을 비롯한 다양한 생물 유래 천연 생리활성물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Lee, 2011; Kim et al., 2021; Choi et al., 2022). 천연물 유래 생리활성물질에 관한 연구의 대부분은 육상생물로부터 많이 이루어져 왔으나 최근에는 특유의 대사과정과 독특한 생육 환경으로 인하여 다양한 생리활성물질을 내포하는 것으로 알려져 있는 해양생물이 주목받고 있다(Byun and Kim, 2005;

Lee et al., 2021). 해조류는 해양환경에서 재생 가능한 자원으로 잠재적인 기능성소재 발견 가능성이 높을 뿐만 아니라 그 종류와 대상 성분도 매우 다양하고 풍부하다(Lee, 2011; Kim et al., 2013). 알칼리 식품인 해조류에는 비타민과 무기질 및 식이 섬유소가 풍부하여 변비 예방에 효과적이고, 육지 식물에 없는 비소화성의 점질성 다당류를 많이 함유하고 있다. 또한 채소류에 비하여 필수아미노산과 불포화지방산이 많고 열량이 매우 낮은 것이 특징이다(Kwak et al., 2005). 청각(*Codium fragile*)은 청각과 청각속에 속하는 해조류로 원통형의 가지가 직립하여 자라며 사슴뿔 모양의 선명한 녹색이다. 가지의 분지는 반복적으로 어긋나게 자라며 몸길이가 5–30 cm인 녹조류(Chlorophyceae)이다. 청각은 주로 여름철에 출현하고, 한국의 모든 연안에 분포하고 있으며 전 세계적으로도 생산 및 이용되고 있다

*Corresponding author: Tel: +82. 63. 469. 1824 Fax: +82. 63. 469. 7448

E-mail address: parksj@pknu.ac.kr; kimyt@kunsan.ac.kr [†]Contributed equally.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0858>

Korean J Fish Aquat Sci 55(6), 858-866, December 2022

Received 31 August 2022; Revised 8 October 2022; Accepted 23 November 2022

저자 직위: 박다빈(대학원생), 이연지(대학원생), 노진웅(대학생), 김원석(교수), 박선주(교수), 김용태(교수)

(Boo and Ko, 2012). 청각에는 특유의 바다 향이 나면서도 생선이나 젓갈의 비린내 및 마늘 냄새를 중화시켜 뒷맛을 개운하게 하므로 우리나라에서는 주로 김치의 부재료로 널리 이용되고 있다(Jun et al., 2019; Lee and Kim, 2019). 예로부터 청각은 정약전의 '자산어보'에서 음식의 맛을 풍부하게 돕는 해초로 소개되고 있으며, 본초강목, 동의보감, 식성본초, 식료본초 등의 고서에 적혀 있는 것들을 보아 오래전부터 청각을 식용으로 이용해 왔음을 알 수 있다(Kim et al., 2018). 지금까지 청각에 대한 연구는 청각 추출물에 항생작용이 있는 acrylic acid, 항응고 활성물질 및 응집소 등이 함유되어 있을 뿐만 아니라 항암 및 항돌연변이 및 항염증 활성 등이 내포되어 있는 것으로 연구되어 있으나, 다양한 생리기능성에 관한 연구는 부족한 실정이다(Kim et al., 2006). 따라서 본 연구에서는 음식의 향과 맛을 풍부하게 도와주는 해조류인 청각의 항산화성 및 다양한 생리활성의 분석을 통해 생리기능성을 탐색하기 위하여 증류수, 에탄올 및 메탄올을 용매로 사용하여 청각 추출물을 제조한 뒤 이화학적 특성, 항산화활성 및 다양한 생리활성을 측정하여 기능성식품 및 의약품 소재로서의 활용가능성을 비교·검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

본 연구에서 사용한 청각(*C. fragile*)은 전라남도 완도산으로 2020년 2월에 전라북도 군산시 소재 전통시장에서 구입하여 실험실로 운반한 후 흐르는 물로 수세하여 염분과 협잡물을 제거한 다음 자연 건조한 후 전체를 분쇄기(FM700SS; Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄하여 시료의 성분분석 및 추출물 제조에 사용하였다. 항산화활성 및 생리활성을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's reagent, catechin, quercetin, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), vitamin C, mushroom tyrosinase, 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA), kojic acid, allopurinol, porcine pancreatic elastase 및 β -secretase (BACE1) assay kit 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Xanthine oxidase는 Wako Chemical Co. (Kanagawa, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 모든 시약은 분석용 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

일반성분 분석

청각의 일반성분은 AOAC (1990)법에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조회분은 550°C 건식회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법으로 분석하였다. 조단백질은 Kjeldahl법을 개량한 방법인 봉산에 의한 암모니아 포집법에 따라 정량하였다. 탄수화물 함량은 고형분의 총량에서 수분, 회분, 단백질 및 지방의 함량을 뺀 값으로 나타내었다. 모든 분석은 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

무기질 분석

무기질의 분석은 식품공전(MFDS, 2021) 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 분석을 위한 전처리 방법은 테프론 분해용기에 시료 0.3 g을 취하여 10 mL의 황산과 질산 혼합액(1:1)을 가한 다음 시료가 완전히 분해될 때까지 microwave digestion system에서 가열하였다. 가열 분해한 시료를 증류수로 최종 50 mL로 정용한 것을 0.45 μ m syringe filter (PVDF, Futecs)로 여과한 후, 이를 유도결합플라즈마방출 분광기(inductively coupled plasma optical emission spectroscopy, ICP-OES; iCAP-7400DUO; Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)로 분석하였다. 무기질 농도는 아래의 식, Sample mineral contents (mg/100 g)=[(Sample ppm-Blank ppm) \times dilution rate]/10에 의하여 구하여 각 무기질의 농도(mg/100 g sample)로 나타내었다.

청각 추출물의 제조

청각 분말을 3가지 용매(증류수, 70% ethanol, 80% methanol)를 사용하여 청각 추출물을 각각 제조하였다. 증류수를 용매로 사용한 추출은 청각 50 g에 증류수를 시료 대비 20배의 양을 첨가하여 고압증기멸균기(autoclave; ac-11; Jeiotech, Daejeon, Korea) 121°C에서 3시간 동안 가열 추출하였다. 유기 용매를 사용한 추출은 70% ethanol과 80% methanol을 추출 용매로 사용하여 시료 50 g에 각 추출용매를 시료 대비 20배의 양으로 첨가하여 50°C에서 24시간 동안 일반중력대류배양기(shaking incubator; KMC-8480SR-L; Vision Scientific Co., Daejeon, Korea) 120 rpm에서 추출하였다. 각 용매별로 추출한 청각 추출물을 원심분리기(Centrifuge; SUPRA 30K; Hanil, Inchun, Korea)에서 원심분리(1,800 g, 30분)하여 상등액을 여과지(No. 1; Whatman, Maidstone, UK)로 여과한 후 여액을 회수하였다. 얻어진 각각의 추출물을 회전증발농축기(Rotavapor; RE-111; Buchi, Gwangmyeong, Korea)로 유기용매를 제거하여, 동결건조(Freeze Dryer; LP08 (XXX); Ilshinbiobase, Yangu, Korea)한 후에 -20°C 냉동고에 보관하면서 각종 실험에 사용하였다. 모든 추출물은 적절한 양을 저울에 달아 증류수(증류수 추출물) 및 DMSO (EtOH 및 MeOH 추출물)로 용해하여 항산화성 및 생리활성 측정 시료로 사용하였다. 청각 추출물의 수율은 각 추출물의 건량을 시료 건량으로 나누어 백분율로 나타내었다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

청각 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis 법을 약간 변형한 Shetty et al. (1995)의 방법에 준하여 수행하였다. 각 시료(1 mL)에 95% 에탄올 1 mL와 증류수 5 mL를 넣어 혼합한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent 0.5 mL를 넣고 실온에서 5분간 반응시켰다. 여기에 5% Na_2CO_3 1 mL를 가한 후 실온-암소에서 1시간 동안 반응시킨 후 분광광도계(Optizen Pop;

KLAB, Seoul, Korea)를 이용하여 파장 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 catechin을 표준물질로 사용하여 시료의 총 폴리페놀 함량을 산출하였고 catechin equivalents (mg CE/g extract)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno et al. (2000)의 방법을 약간 변형하여 아래와 같이 측정하였다. 각 시료 용액(0.5 mL)에 1.5 mL, 95% 에탄올을 혼합한 다음 0.1 mL, 10% aluminum nitrate와 0.1 mL, 1 M potassium acetate를 차례로 가하여 혼합한 후 실온에서 3분간 반응시킨 다음 증류수 2.8 mL를 가하여 혼합한 후 실온에서 30분간 반응시킨 후 파장 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin을 표준물질로 사용하여 동일한 방법으로 작성된 표준 곡선으로부터 총 플라보노이드 함량으로 환산하였고, quercetin equivalents (mg QE/g extract)로 나타내었다.

항산화 활성 측정

ABTS radical 소거능은 ABTS⁺ radical decolorization assay (Re et al., 1999) 방법을 이용하여 측정하였다. 7.4 mM의 ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 동량 혼합하여 실온·암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시킨 다음 실험 직전에 ABTS 용액을 734 nm에서 흡광도가 1.000±0.030 (mean±SD)가 되도록 phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 추출물 50 µL에 ABTS 용액 950 µL를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 계산식, ABTS⁺ radical scavenging ability (%)=[(Control₇₃₄-Sample₇₃₄)/Control₇₃₄]×100에 의하여 활성을 산출하였다. IC₅₀ value (half maximal inhibitory concentration value)는 50%의 ABTS⁺ radical 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다. IC₅₀ value는 nonlinear regression analysis software (Prism 9; GraphPad, San Diego, CA, USA)를 이용하여 구하였다.

시료의 아질산염 소거활성은 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 소정 농도의 시료 1 mL를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2) 용액을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2로 조정된 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이어서 37°C에서 1시간 반응시켜 얻은 반응용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1로 혼합) 0.5 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 대조구는 Griess시약 대신 증류수를 0.5 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 백분율로 나타내었다. 아질산염 소거활성(%)=[1-(A-C)/B]×100; A, 1 mM nitrite 용액에 시료를 첨가한 흡광도; B, 1 mM nitrite 용액의 흡광도; C, 시료의 흡광도. IC₅₀ value (mg/mL)는 50%의 아질산

염 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

환원력(reducing power)은 Oyaizu et al. (1988)의 방법을 일부 수정한 Lee et al. (2020a)의 방법으로 측정하였다. 각 시료용액(1 mL)에 1 mL의 0.2 M sodium phosphate 완충액(pH 6.6)과 1 mL의 1% (w/v) potassium ferricyanide을 차례로 가하여 혼합한 후, 50°C의 항온수조에서 20분 동안 반응시켰다. 이 반응액에 1 mL의 10% (w/v) trichloroacetic acid (TCA)를 가하여 반응을 정지시킨 후, 원심분리(1,890 g, 10분)하였다. 상층액 1.5 mL에 1.5 mL의 증류수와 0.3 mL의 0.1% (w/v) ferric chloride 용액을 혼합하여, 10분 동안 실온에서 정지한 후, 파장 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력으로 나타내었으며, 흡광도가 높을수록 환원력이 큰 것을 의미한다. EC₅₀ value (half maximal effective concentration value)는 흡광도 값이 0.5를 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

FRAP (ferric reducing antioxidant power)에 의한 환원력 측정은 Benzie and Strain (1996)의 방법을 사용하여 측정하였다. 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine 및 20 mM FeCl₃·6H₂O를 각각 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 혼합하여 FRAP 시약을 제조하였다. 이어서 여러 가지 농도의 시료액 0.15 mL와 3.0 mL의 FRAP 시약을 혼합하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. FeSO₄·7H₂O를 표준물질로 사용하여 동일한 방법으로 얻은 표준 검량선으로부터 FRAP value (mM)를 계산하였다. 모든 항산화 활성 측정의 표준 물질은 ascorbic acid를 사용하였다.

Tyrosinase 저해활성 측정

각 시료의 tyrosinase 저해활성은 Iida et al. (1995)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 300 µL의 시료용액은 900 µL의 mushroom tyrosinase (50 Unit/mL)와 1.5 mL의 50 mM phosphate buffer (pH 6.8)을 혼합하여 실온에서 30분 동안 전 단계 반응을 실시한 후, 300 µL의 10 mM L-DOPA 용액을 가하여, 파장 475 nm에서 20분 동안 1분 간격으로 생성되는 dopachrome의 흡광도를 모니터링하면서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성(%)은 다음 식, Tyrosinase inhibitory activity (%)=[(Control₄₇₅-Sample₄₇₅)/Control₄₇₅]×100을 통하여 계산하였다. 여기서 대조구(Control₄₇₅)는 시료 대신 증류수를 가하여 측정된 흡광도를 의미하였다.

Elastase 저해활성 측정

각 시료의 elastase 저해활성은 Lee et al. (2021)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. Porcine pancreatic elastase를 반응용액(50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.2)에 녹여 1 U/mL로 제조하여 효소용액으로 사용하였고, 기질용액은 N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (0.5 mM)을 동일한 반응용액에 녹여서 제조하였다. 100 µL의 시료용액은 125 µL의 elastase (1 U/mL)와 650 µL의 반응용액을 혼합하여 실온에서 10분 동안 전 단

계 반응을 실시한 후, 125 µL의 0.5 mM 기질용액을 가하여 405 nm에서 0분에서의 흡광도를 측정하고 후 다시 25°C에서 10 분간 반응한 후의 흡광도를 측정하였다. 대조군(C)은 시료 대신 buffer 용액을 사용하였다. Elastase 저해 활성도는 계산식은 $Elastase\ inhibitory\ activity\ (\%) = [1 - \{S(OD\ 10\ min - OD\ 0\ min) / C(OD\ 10\ min - OD\ 0\ min)\}] \times 100$ 에 의하여 산출하였다.

Xanthine Oxidase 저해활성 측정

각 시료용액의 xanthine oxidase 저해활성은 Kwon and Youn (2017)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 50 µL의 시료용액에 300 µL의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)와 50 µL의 xanthine oxidase (0.2 U/mL)를 혼합하여 실온에서 5분 동안 정치한 다음, 100 µL의 2 mM xanthine 용액을 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후, 500 µL의 1 N HCl을 넣어 반응을 정지시킨 다음 292 nm에서 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성(%)은 다음 식, $Xanthine\ oxidase\ inhibitory\ activity\ (\%) = [1 - (Sample_{292} - Sample\ Blank_{292}) / Control_{292}] \times 100$ 을 통하여 계산하였다. 여기서 대조군(Control₂₉₂)는 시료 대신 증류수를 가하여 측정된 흡광도를 의미하였다.

BACE 1 저해 활성 측정

각 시료의 BACE1 (β-secretase) 효소활성은 fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based β-secretase (BACE1) assay kit (Sigma-Aldrich)을 사용하여 측정하였다. 일반적인 저해활성은 black 96-microwell plate에 fluorescent assay buffer (78-X µL, 50 mM sodium acetate, pH 4.5), BACE1 substrate (20 µL, 50 µM MOCAC-SEVNLDAEFRK(Dnp)RR), 시료용액(X µL) 및 BACE1 효소(2 µL, 0.3 unit/µL)를 순서대로 첨가하여 섞은 후 37°C에서 2 시간 반응시킨 다음 microplate reader (Infinte F200; Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 Ex 320/Em 405 nm에서 형광강도를 측정하였다. BACE1 활성의 저해정도는 다음 식, $BACE1\ inhibitory\ activity\ (\%) = [1 - (SF/CF)] \times 100$ 과 같이 산출하였다(SF, 시료 존재하의 형광강도; CF, 시료 무첨가구의 형광강도).

통계처리

실험 결과는 SPSS 22.0 package program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)으로 통계처리 하여 3회 측정값의 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료 간의 유의성 검정은 분산분석(ANOVA)을 한 후 P<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 따라 분석하여 시료 간 유의적 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

청각의 일반성분 및 무기질 함량

청각의 일반성분 분석 결과는 Table 1과 같다. 시료는 시중

에서 판매하는 전라남도 완도에서 채취한 청각을 구매하여 수세한 다음 자연 건조 후 분쇄기로 곱게 분쇄하여 일반성분 분석에 사용하였다. 그 결과, 청각의 수분함량은 4.00%, 조단백질은 16.73%, 조지방은 0.66%, 조회분은 4.39%, 탄수화물은 74.22%로 나타났다. Jung et al. (2005)의 연구 결과에 의하면 청각은 채취시기에 따라 일반성분의 함량이 달라지며, 조단백질은 5.0~6.5%, 조지방은 2.2~2.7%, 조회분은 53.1~56.8%로 알려져 있다. 한편, Lym (2010)의 자연건조 한 청각의 일반성분 분석결과에 의하면 수분은 8.58%, 조단백질은 16.55%, 조지방 3.10% 및 조회분 8.01%로 보고하였다. 이들의 연구 결과와 본 연구에서 확인한 청각의 일반성분의 차이는 시료의 채취 시기, 채취장소, 채취 후 소금처리 및 수세 방법 등의 차이에서 오는 결과라고 생각된다. 청각의 무기질 함량을 분석한 결과는 Table 2에 나타내었다. 청각의 나트륨(Na), 마그네슘(Mg), 칼륨(K), 칼슘(Ca), 망간(Mn), 철(Fe), 구리(Cu) 및 아연(Zn)의 함량을 각각 분석한 결과, 칼슘이 506.33 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타냈으며, 그 다음으로 마그네슘 274.46 mg; 나트륨 86.20 mg; 칼륨 25.18 mg; 철 18.45 mg; 아연 1.66 mg; 망간 1.15 mg; 구리 0.51 mg 순으로 나타났다. 해조류는 다세포성 원생생물로 수용성 식이섬유 및 무기질이 다량 함유되어 있는 것으로 밝혀져 있다. Kwak et al. (2010)은 해조류의 종류에

Table 1. Proximate composition of *Codium fragile* (%; dry weight basis)

Sample	<i>Codium fragile</i>
Moisture	4.00±0.29 ¹
Crude protein	16.73±0.14
Crude lipid	0.66±0.28
Crude ash	4.39±0.06
Carbohydrate ¹	74.22±0.35

¹Carbohydrate contents are calculated as the differences between total weight and the sum of crude protein, crude lipid, moisture, and ash. Values are mean±SD (n=3).

Table 2. Mineral contents of *Codium fragile* (mg/100 g)

Sample	<i>Codium fragile</i>
Na	86.20±14.26 ¹
Mg	274.46±5.92
K	25.18±1.68
Ca	506.33±6.23
Mn	1.15±0.02
Fe	18.45±1.52
Cu	0.51±0.01
Zn	1.66±0.07

¹Values are mean±SD (n=3).

따라 미네랄 함량 차이가 크지만, 대부분의 해조류에서 칼슘과 마그네슘 함량이 다른 무기질 함량에 비하여 비교적 높은 함량을 내포하고 있는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 확인한 청각의 무기질 함량은 Kwak et al. (2010)의 보고와 유사하게 칼슘, 마그네슘 및 나트륨 함량이 다른 무기질 함량에 비해 월등히 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었다.

청각 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

청각에 함유되어 있는 생리활성물질 및 유용성분을 대량 획득하기 위하여 70% EtOH, 80% MeOH 및 증류수를 추출 용매로 사용하여 각각의 청각 추출물을 제조하였다. 청각 추출물의 수율 측정 결과는 Table 3에 나타내었다. 청각의 각 용매 추출물의 수율은 EtOH를 사용한 추출물은 3.64%, MeOH를 사용한 경우에는 3.51%, 증류수를 사용한 고온고압 추출조건에서는 9.76%로 나타났다. 따라서 각 용매에 따른 청각 추출물의 수율을 비교하면 증류수 > EtOH > MeOH 추출물 순으로 수율이 높은 것으로 확인되었다. 해조류의 추출용매에 따른 추출물에 대한 수율을 비교한 연구보고에 의하면 톳의 고온고압 증류수 추출물의 수율은 45.62%이고(Lee et al., 2020b), 대황의 고온고압 증류수 추출물의 수율은 55.21%로 알려져 있어(Kim et al., 2016), 본 연구에서 확인한 청각 증류수 추출물의 수율은 위의 톳과 대황과 비교하여 상당히 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 시료의 종류 및 추출 방법 등의 차이에서 오는 결과

라고 생각된다.

청각 추출물들의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정할 결과는 Table 3과 같다. EtOH을 용매로 사용한 추출물의 총 폴리페놀 함량은 13.76 mg/g, MeOH 추출물은 12.65 mg/g, 증류수 추출물은 10.97 mg/g로 확인되었다. 한편, 청각 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정할 결과, EtOH 추출물은 8.69 mg/g, MeOH 추출물은 8.00 mg/g, 증류수 추출물은 8.18 mg/g으로 확인되어 청각 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량은 추출용매에 따른 유의적인 차이는 거의 없는 것으로 나타났다. Kwak et al. (2005)의 한국산 해조류 5종의 총 폴리페놀 및 플라보노이드에 관한 연구보고에 의하면 김은 각각 3.81 및 0.67 mg/g이고, 다시마는 1.17 및 1.95 mg/g, 톳은 1.44 및 2.68 mg/g, 파래는 8.97 및 4.65 mg/g, 미역은 2.43 및 11.33 mg/g의 폴리페놀과 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 보고되어 있다. 한편, Lee et al. (2020b)의 추출용매에 따른 톳의 특성에 관한 연구에서 톳의 추출용매에 따라 총 폴리페놀 함량은 6.91–24.06 mg/g이고, 총 플라보노이드 함량은 7.99–8.43 mg/g 함유되어 있다고 보고하였다. 따라서 해조류의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 시료의 종류, 채취 시기, 채취 장소 및 추출방법 등에 의하여 각 성분의 함량 차이가 발생하는 것으로 생각된다.

청각 추출물의 항산화 활성

청각 추출물의 추출용매에 따른 항산화 활성을 비교하기 위하여 EtOH, MeOH 및 증류수를 용매로 사용한 청각 추출물의 ABTS, nitrite 소거활성, 환원력 및 FRAP를 측정할 결과를 Table 4에 나타내었다. 청각 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성(IC₅₀)을 측정할 결과, EtOH 추출물은 2.42 mg/mL, MeOH 추출물은 3.43 mg/mL, 증류수 추출물은 3.47 mg/mL로 나타나 청각의 ABTS 라디칼 소거활성은 EtOH > MeOH > 증류수 순으로 높은 것으로 확인되었다. 양성 대조군인 ascorbic acid의 ABTS 라디칼 소거활성(IC₅₀)은 0.06 mg/mL로 청각 추출물에 비하여 약 40–60배 높은 활성(낮은 IC₅₀값)을 나타내었다. 다양한 해조류 중에서 검둥감태와 감태 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성(IC₅₀)은 각각 0.07 mg/mL, 0.08 mg/mL로 양성 대조군인 ascorbic acid와 유사하였고, 톳은 0.90 mg/mL, 파배기모자

Table 3. Comparison of the extraction yields and total polyphenolic and flavonoid contents of *Codium fragile* extract with various solvents

Sample	Yield (%)	Total polyphenolic content (mg CE/g) ¹	Total flavonoid content (mg QE/g) ²
EtOH extract	3.64	13.76±0.27 ^{a,3,4}	8.69±0.69 ^a
MeOH extract	3.51	12.65±0.88 ^a	8.00±0.55 ^a
Water extract	9.76	10.97±0.68 ^b	8.18±0.65 ^a

¹CE, catechin equivalent mg/g. ²QE, quercetin equivalent mg/g. ³Value are mean±SD (n=3). ⁴Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 4. Antioxidant activities of *Codium fragile* extract with various solvents

Sample	ABTS (IC ₅₀ , mg/mL) ¹	NSA (IC ₅₀ , mg/mL)	Reducing power (EC ₅₀ , mg/mL) ²	FRAP value (mM)
EtOH extract	2.42±0.18 ^{b,3,4}	3.63±0.16 ^a	1.57±0.07 ^c	0.15±0.00 ^a
MeOH extract	3.43±0.26 ^a	3.48±0.10 ^a	3.00±0.08 ^a	0.15±0.00 ^a
Water extract	3.47±0.18 ^a	ND	1.90±0.04 ^b	0.14±0.00 ^b
Ascorbic acid	0.06±0.00	0.69±0.01	0.01±0.00	11.67±0.68

¹The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values (mg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. ²EC₅₀ value for reducing power is expressed as the effective concentration at which the absorbance is 0.5. ³Values are mean±SD (n=3). ⁴Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. ABTS, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt; NSA, Nitrite scavenging activity; FRAP, Ferric reducing antioxidant power; ND, Not detected.

반은 1.46 mg/mL, 알송이모자반은 2.67 mg/mL, 가시뼈대그 물말은 5.36 mg/mL, 미역은 18.37 mg/mL, 바위수염은 40.46 mg/mL로 해조류의 종류에 따라 ABTS 라디칼 소거활성은 많은 차이가 나지만, 청각은 해조류 중에서 ABTS 라디칼 소거활성이 높은 부류에 속하는 것으로 확인되었다(Son et al., 2016; Lee et al., 2020b).

청각 추출물의 nitrite 소거활성(IC₅₀)을 측정한 결과, EtOH 추출물은 3.63 mg/mL, MeOH 추출물은 3.48 mg/mL이었으나, 증류수 추출물에서는 활성을 나타내지 않는 것으로 확인되었다. 청각의 EtOH 및 MeOH 추출물은 양성대조군인 ascorbic acid의 활성(IC₅₀, 0.69 mg/mL)에 비하여 약 1/5의 nitrite 소거활성을 나타내는 것으로 확인되었다. Do (1992)는 볶은 보리의 물 및 메탄올 추출물의 아질산염 소거작용은 메탄올 추출물에서 높게 나타났는데 그 이유는 메탄올에 용해되어진 방향족 화합물의 함량이 높았기 때문인 것으로 보고하였다.

한편, 각 추출용매에 따른 청각 추출물의 환원력(EC₅₀)을 분석한 결과, EtOH 추출물은 1.57 mg/mL, MeOH 추출물은 3.00 mg/mL, 증류수 추출물은 1.90 mg/mL로 확인되어 청각 추출물의 환원력은 EtOH>증류수>MeOH 순으로 높은 것으로 확인되었다. ascorbic acid의 환원력은 0.01 mg/mL로 청각 EtOH 추출물에 비하여 약150배 높은 것으로 나타났다. 청각 추출물의 FRAP value 분석에서는 EtOH 및 MeOH 추출물은 0.15 mM로 동일한 값을 보였으나, 증류수 추출물은 0.14 mM로 약간 낮은 것으로 확인되었다. 청각 추출물의 FRAP value는 양성 대조군인 ascorbic acid의 11.67 mM에 비하여 매우 낮은 것으로 확인되었다. 이상의 청각의 항산화 활성 결과를 종합해보면 ABTS 라디칼 소거 활성은 EtOH 추출물; nitrite 소거활성은 MeOH 추출물; 환원력은 EtOH 추출물; FRAP value는 추출용매에 따른 항산화 활성의 차이는 크지 않은 것으로 확인되었다.

청각 추출물의 tyrosinase 및 elastase 저해 활성

청각 추출물의 피부 미백 및 노화에 관련이 있는 것으로 알려진 tyrosinase 및 elastase 저해활성에 대한 비교·분석 결과는 Table 5와 같다. Tyrosinase는 피부의 표피 기저층에 존재하는 멜라노사이트에서 tyrosine을 산화시켜 멜라닌의 생성을 촉진시키는 효소로서 이들의 활성 억제는 피부 미백과 노화 방지에

에 매우 중요한 것으로 알려져 있다(Choi et al., 2011). 따라서 피부의 멜라닌 색소 침착 제어 및 억제와 밀접한 관련 있는 청각 유래 tyrosinase 저해제를 탐색하기 위하여 각 추출용매 별 청각 추출물의 tyrosinase 저해활성을 측정하였다. 청각 추출물의 tyrosinase 저해활성(IC₅₀)을 측정한 결과, EtOH 추출물은 0.76 mg/mL이며, MeOH 추출물은 1.06 mg/mL로 확인되었으나 증류수 추출물은 저해활성을 나타내지 않았다. 해조류 추출물의 tyrosinase 저해활성에 관한 연구에 따르면 녹조류인 구멍갈파래, 떡청각 및 잎파래의 MeOH 추출물(1 mg/mL)에서 각각 0%, 24% 및 36%의 tyrosinase 저해활성이 있는 것으로 보고되었다(Seo and Yoo, 2003). 따라서 청각은 녹조류 중에서 높은 tyrosinase 저해활성을 가지고 있는 것으로 판단된다.

Elastase는 피부의 진피 내 피부 탄력을 유지하는 기질 단백질인 elastin의 분해에 관여하여 elastin을 분해하는 백혈구 과립 효소 중의 하나로 이상 조직에서는 활성이 높아져 조직 파괴의 직접적인 원인이 되며, 피부의 주름 및 탄력성 소실 등을 유발하는 단백질 가수분해효소이다(Lee, 2014). 본 연구에서는 청각 추출물의 elastase 저해활성을 측정하여 피부의 주름 개선 및 기능성 화장품 원료로서 사용 가능성을 검토하였다. 그 결과, 청각 EtOH 추출물의 IC₅₀는 0.41 mg/mL이고, MeOH 추출물은 1.12 mg/mL, 증류수 추출물은 1.26 mg/mL로 확인되어 EtOH>MeOH>증류수 순으로 elastase 저해활성이 높은 것으로 나타났다. 다양한 해조류의 생리활성에 관한 연구에서 매생이, 갈매 및 툯 추출물은 1 mg/mL 농도에서 각각 19%, 44% 및 54-74%의 elastase 저해활성이 있는 것으로 보고되어 있다(Cho and Choi, 2010; Cho et al., 2011; Kwon and Youn, 2017). 따라서, 청각 추출물은 해조류 중에서 elastase 저해활성이 높은 부류에 속하는 것으로 판단된다. 한편, 청각 추출물의 피부노화 및 주름생성 억제력을 확인하기 위하여 collagenase 저해활성을 측정하였으나 청각 추출물에서는 collagenase 저해활성을 명확히 확인할 수 없었다.

청각 추출물의 xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase (XO)는 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 효소로써 hypoxanthine 및 xanthine을 산화하여 최종적으로 uric acid와 산소를 생성하며 산소 유리기와 수소 과산화기가 이산

Table 5. Physiological activities of *Codium fragile* extract with various solvents

Sample	Tyrosinase (IC ₅₀ , mg/mL) ¹	Elastase (IC ₅₀ , mg/mL)	Xanthine oxidase (IC ₅₀ , mg/mL)
EtOH extract	0.76±0.01 ^{b,2,3}	0.41±0.03 ^b	0.22±0.01 ^a
MeOH extract	1.06±0.06 ^a	1.12±0.16 ^a	0.16±0.00 ^b
Water extract	ND	1.26±0.02 ^a	ND
Positive control ^{4,5}	2.12±0.08	1.25±0.07	0.19±0.01

¹The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values (mg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. ²Values are mean±SD (n=3).

³Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. ⁴Positive controls for tyrosinase, elastase, and xanthine oxidase were used kojic acid, quercetin, and allopurinol, respectively. ⁵The IC₅₀ values for all positive control were represented in µg/mL. ND, not detected.

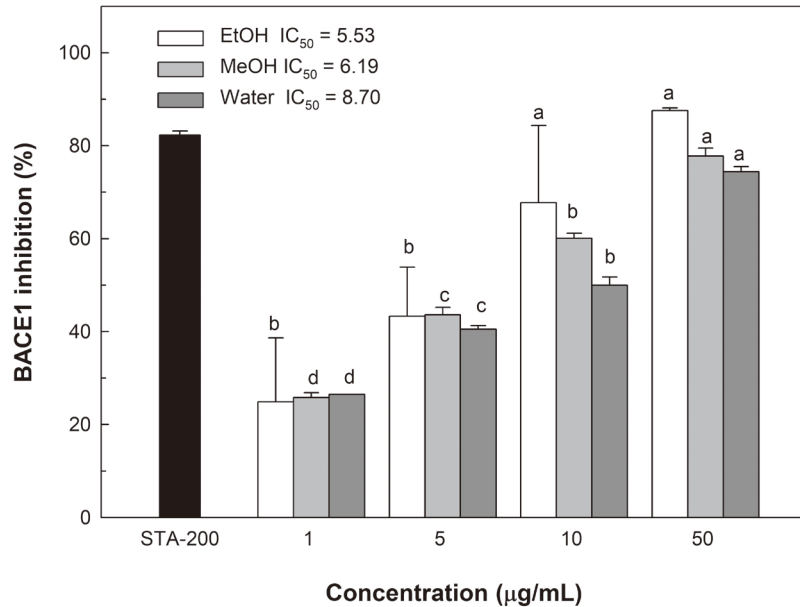


Fig 1. BACE1 inhibitory activities of *Codium fragile* extract with various solvents. STA-200 (H-Lys-Thr-Glu-Glu-Ile-Ser-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-Phe-OH; final concentration at 200 µM) was used as a positive control. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. Values are mean±SD (n=3). Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

소로부터 발생하게 된다(Ko, 2005). 이 효소의 저해제는 통풍, 신장결석, 허혈, 심근증을 일으키는 고요산혈증에 대한 치료제로 사용되어 왔으며, allopurinol 및 alloxanthine 등은 통풍 치료제로 알려져 있다(Ko, 2005). 청각 유래 XO의 저해제를 탐색하기 위하여 각 청각 추출물의 XO 저해활성을 측정하여 그 결과를 Table 5에 나타내었다. 각 청각 추출물의 XO 저해활성을 다양한 농도에서 측정한 결과, EtOH 추출물의 저해활성(IC₅₀)은 0.22 mg/mL이고, MeOH 추출물은 0.16 mg/mL로 확인되었다. 다양한 해조류 MeOH 추출물(0.5 mg/mL)의 XO 저해작용에 관한 연구에 의하면 감태는 76.1%, 곰피 63.9%, 청각 32.9%, 다시마 27.9%, 모자반 10.7%의 저해활성을 보고하였다(Kim et al., 1996). 따라서 본 연구에서 수행한 청각 추출물의 XO 저해활성과 다양한 해조류의 저해활성을 비교해보면, 청각 EtOH 및 MeOH 추출물의 XO 저해활성은 해조류 중에서 높은 부류에 속하는 것으로 확인되었다.

청각 추출물의 BACE1 저해 활성

청각 추출물에 대한 BACE1 (β-secretase) 저해 활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 알츠하이머의 병인 중 하나인 이상단백질 축적설은 β-amyloid peptide (Aβ)가 과도하게 만들어져 뇌세포에 축적되어 발생하는 신경퇴행성 뇌질환으로 Aβ는 amyloid precursor protein이 β-와 γ-secretase라는 효소에 의해 절단되어 생성되는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2002) 본 연구에서는 청각 추출물의 Aβ 생성 억제능을 확인하기 위하여 청

각 추출물의 BACE1 저해 활성을 측정하여 알츠하이머병의 예방 효과를 탐색하였다. 그 결과, 청각 EtOH 추출물의 BACE1 저해활성(IC₅₀)은 5.53 µg/mL이고, MeOH 추출물은 6.19 µg/mL, 증류수 추출물은 8.70 µg/mL로 확인되어, 청각의 BACE1 저해활성은 EtOH>MeOH>증류수 추출물 순으로 높은 저해활성을 나타내었다. Fig. 1에 나타난 것과 같이 청각 추출물들의 BACE1 저해활성은 각 추출물의 농도 의존적인 경향을 나타낼 뿐만 아니라 각 청각 추출물 50 µg/mL에서 양성 대조군인 STA-200 (200 µM)과 유사한 BACE1 저해활성 보였다. 따라서, 청각은 알츠하이머병의 예방을 위한 생리기능성 물질이 함유되어 있을 가능성이 높을 것으로 생각된다. 감태, 검둥 감태 및 툯 등의 해조류 추출물(0.5–1.0 mg/mL)에서 약 80% 이상의 높은 BACE1 저해활성이 확인되었고(Son et al., 2016; Lee et al., 2020b), 염생식물인 모래지치(0.5 mg/mL) 및 갯사상자(20 µg/mL)의 추출물에서도 약 80%의 높은 BACE1 저해활성을 내포하고 있는 것으로 보고되어 있다(Lee et al., 2021; Kim et al., 2022). 따라서 치매 예방 및 치료제 개발을 위한 청각 유래 BACE1의 저해물질 탐색을 비롯한 생리학적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 해조류인 청각의 이화학적 특성을 분석하고 다양한 추출물을 제조하여 항산화 활성 및 생리활성을 살펴보았다. 추출 용매에 따른 청각 추출물의 총 폴리페놀 함량은 10.97–13.76 mg CE/g, 총 플라보노이드 함량은 8.00–8.69 mg QE/g 이었다. 청각의 항산화 활성 측정 결과, ABTS 라디칼 소거 활성

은 EtOH 추출물; nitrite 소거활성은 MeOH 추출물; 환원력은 EtOH 추출물에서 가장 높은 항산화 활성이 검출되었다. 한편, 각 추출물의 생리활성을 측정된 결과, EtOH 추출물에서 tyrosinase 및 elastase 저해활성이 가장 높았으나, xanthine oxidase 저해활성은 MeOH 추출물에서 가장 높은 것으로 확인되었다. 이상의 연구 결과에서 청각은 추출용매에 따른 항산화 활성을 내포하고 있을 뿐만 아니라 tyrosinase, elastase, xanthine oxidase 및 BACE1 저해활성을 포함한 다양한 생리기능성 물질이 존재할 가능성이 높은 것으로 판단된다. 따라서 청각 추출물은 의학 및 식품소재 분야에서 활용 가능성이 높을 것으로 사료되어 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2021년)에 의하여 연구되었습니다.

References

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official methods of analysis. In: Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Arlington, VA, U.S.A., 777-788.
- Barrantes E and Guinea M. 2003. Inhibition of collagenase and metalloproteinases by aloins and aloe gel. *Life Sci* 72, 843-850. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(02\)02308-1](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(02)02308-1).
- Benzie IFF and Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239, 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Boo SM and Ko YD. 2012. Marine Plants from Korea. Jung-haeng-Sa, Seoul, Korea, 22.
- Byun HG and Kim SK. 2005. Development of physiological activity and health functional materials of seaweed. *Susan-yeon-gu* 22, 1-10.
- Cho EK and Choi YJ. 2010. Physiological activities of hot water extracts from *Ecklonia cava* Kjellman. *J Life Sci* 20, 1675-1682. <https://doi.org/10.5352/JLS.2010.20.11.1675>.
- Cho EK, Yoo SK and Choi YJ. 2011. Inhibitory effects of mae-saengi (*Capsosiphon fulvescens*) extracts on angiotensin converting enzyme and α -glucosidase. *J Life Sci* 21, 811-818. <https://doi.org/10.5352/JLS.2011.21.6.811>.
- Choi JH, Kim JS, Jo BS, Kim JH, Park HJ, An BJ, Kim MU and Cho YJ. 2011. Biological activity in functional cosmetic purple sweet potato extracts. *Kor J Food Preserv* 18, 414-422. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2011.18.3.414>.
- Choi JW, Lee YJ, Moon SK and Kim YT. 2022. Physicochemical properties of bokbunja jelly containing fermented sea tangle *Saccharina japonica* powder. *Korean J Fish Aquat Sci* 55, 408-416. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0408>.
- Do JR. 1992. Biochemical functions of the components of traditional tea materials in Korea. Ph.D. Dissertation, National Fisheries University of Pusan, Busan, Korea.
- Iida K, Hase K, Shimomura K, Sudo S, Kadota S and Namba T. 1995. Potent inhibitors of tyrosinase activity and melanin biosynthesis from *Rheum officinale*. *Planta Med* 61, 425-428. <https://doi.org/10.1055/s-2006-958129>.
- Jun EB, Choi MS and Park SY. 2019. Quality and antioxidant effects of the Korean traditional rice wine makgeolli supplemented with *Codium fragile* during fermentation. *Korean J Fish Aquat Sci* 52, 224-231. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0224>.
- Jung KJ, Jung CH, Pyeun JH and Choi YJ. 2005. Changes of food components in mesangi (*Capsosiphon fulvecense*), gashiparae (*Enteromorpha prolifera*), and cheonggak (*Codium fragile*) depending on harvest times. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34, 687-693. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2005.34.5.687>.
- Kim JH, Park LY and Lee SH. 2016. Antioxidant and digestive enzyme inhibitory effects of *Eisenia bicyclis* extracted by different methods. *Kor J Food Preserv* 23, 97-103. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2016.23.1.97>.
- Kim JS, Lee YJ, Kim JY, Choi JW, You SJ and Kim YT. 2021. Comparison of antioxidant and physiological activities in various solvent extracts of *Ixeris repens*. *Korean J Fish Aquat Sci* 54, 742-750. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0742>.
- Kim JY, Lee YJ, Kim WS, Moon SK and Kim YT. 2022. Antioxidant and physiological activities of different solvent extracts of *Cnidium japonicum*. *Korean J Fish Aquat Sci* 55, 310-318. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0310>.
- Kim MS, Kim KM, Han DH, Ko KW and Kim SY. 2018. Antibacterial activity and other functions of *Codium fragile* and *Chaenomeles sinensis* extracts by extraction method. *Korean Soc Biotech Bioengin J* 33, 89-94. <https://doi.org/10.7841/ksbj.2018.33.2.89>.
- Kim OK, Lee TG, Park YB, Park DC, Lee YW, Yeo SG, Kim IS, Park YH and Kim SB. 1996. Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25, 1069-1073.
- Kim SJ, Lee GS, Moh SH, Park JB, Auh CK, Chung YJ, Ryu TK and Lee TK. 2013. Phenolic contents and antioxidant activities of six edible seaweeds. *J Korea Acad-Ind coop Soc* 14, 3081-3088. <https://doi.org/10.5762/kais.2013.14.6.3081>.
- Kim YJ, Jung IS, Choi IS, Gal SW and Choi YJ. 2006. Studies on antioxidant activity and inhibition of nitric oxide synthesis from *Codium fragile*. *J Life Sci* 16, 788-793. <https://doi.org/10.5352/JLS.2006.16.5.788>.
- Kim YT, Downs D, Wu S, Dashti A, Pan Y, Zhai P, Wang X, Zhang X and Lin X. 2002. Enzymic properties of recombinant BACE2. *Eur J Biochem* 269, 5668-5677. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.03277.x>.
- Ko SY. 2005. HPLC analysis and antioxidant effect of flavonoids extracted from citrus peels. M.S. Thesis, National University of Jeju, Jeju, Korea.

- Kwak CS, Kim SA and Lee MS. 2005. The correlation of anti-oxidative effects of 5 Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34, 1143-1150. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2005.34.8.1143>.
- Kwak YH, Bai SC and Kim DJ. 2010. Estimated availability and major minerals (Ca, P and Mg) contents bound neutral detergent fiber (NDF) of seaweeds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39, 1073-1077. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.7.1073>.
- Kwon YR and Youn KS. 2017. Antioxidant and physiological activities of *Hijikia fusiforme* by extraction methods. *Korean J Food Prese* 24, 631-637. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.5.631>.
- Lee JH and Kim BA. 2019. A study on seaweed sea staghorn (*Codium fragile*) ethanol extract for antioxidant. *J Con Cult Tech* 5, 467-472. <https://doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.4.467>.
- Lee SH. 2011. Current status and prospect of nutraceuticals from marine algae. *Bull Food Tech* 24, 165-175.
- Lee SY. 2014. Analysis of skin mechanism and an application for functional cosmetic from red bean (*Phaseolus angularis*) shell extract. Ph.D. Dissertation, Hoseo University, Asan, Korea.
- Lee YJ, Jeon YJ and Kim YT. 2020b. Comparison of antioxidant and physiological activities of various solvent extracts from *Hizikia fusiformis*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 886-893. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0886>.
- Lee YJ, Kim JY, Kim WS and Kim YT. 2021. Antioxidant and physiological activities of different solvent extracts from *Messerschmidia sibirica*. *Korean J Fish Aquat Sci* 54, 938-947. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0938>.
- Lee YJ, Kim WS, Jeon YJ and Kim YT. 2020a. Physicochemical properties and antioxidant activities of the yanggaeng containing *Hizikia fusiformis* powder. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 588-596. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0588>.
- Lym HJ. 2010. The changes of nutritional constituents in *Codium fragile* with drying methods. M.S. Thesis, Chonnam National University, Gwangju, Korea.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2021. Food Code. 8. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/food-code/01_03.jsp?idx=304 on Oct 26, 2022.
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR and Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71, 109-114. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-0).
- Oyaizu N, Yasumizu R, Miyama-Inaba M, Nomura S, Yoshida H, Miyawaki S, Shibata Y, Mitsuoka S, Yasunaga K and Morii S. 1988. (NZWxBXSB) F1 mouse. A new animal model of idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Exp Med* 167, 2017-2022. <https://doi.org/10.1084/jem.167.6.2017>.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Bio Med* 26, 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- Seo YW and Yoo JS. 2003. Screening for antioxidizing and tyrosinase-inhibitory activities of the extracts of marine algae from Busan coastal area. *Ocean Polar Res* 25, 129-132. <https://doi.org/10.4217/OPR.2003.25.1.129>.
- Shetty K, Curtis OF, Levin RE, Witkowsky R and Ang V. 1995. Prevention of vitrification associated with *in vitro* shoot culture of oregano. (*Origanum vulgare*) by *Pseudomonas* spp. *J Plant Physiol* 147, 447-451. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)82181-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)82181-4).
- Son HJ, Um MY, Kim IH, Cho SM, Han DS and Lee CH. 2016. *In vitro* screening for anti-dementia activities of seaweed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45, 966-972. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2016.45.7.966>.