

납작파래(*Enteromorpha compressa*) 추출물의 항산화성 및 생리활성

최지원[†] · 박선아[†] · 김원석¹ · 김용태^{*}

군산대학교 식품생명공학전공, ¹신라대학교 제약공학과

Comparison of the Antioxidant and Physiological Activities of Different Solvent Extracts Derived from *Enteromorpha compressa*

Ji-Won Choi[†], Sun-A Park[†], Won-Suk Kim¹ and Yong-Tae Kim^{*}

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

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

In this study, we investigated the antioxidant and physiological activities of the Korean marine algae, *Enteromorpha compressa*. Solvent extracts of *E. compressa* were prepared using 70% ethanol, 80% methanol, and water, with extraction yields ranging from 9.55% to 25.67%. The total polyphenol and flavonoid contents ranged from 20.76–28.41 mg/g and 2.56–18.59 mg/g, respectively. Compared with the water extract, the ethanol and methanol extracts were found to have higher antioxidant activities. All three extracts were found to promote alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase activities in a concentration-dependent manner, whereas the methanol and ethanol extracts were established to have the highest angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity ($IC_{50}=1.40 \mu\text{g/mL}$) and β -secretase inhibitory activity ($IC_{50}=0.17 \mu\text{g/mL}$), respectively. These findings thus indicate that *E. compressa* could have beneficial application as a supplementary antioxidant and functional constituent in food and pharmaceutical materials.

Keywords: Anti-dementia, Anti-hypertensive, Antioxidative activity, *Enteromorpha compressa*, Marine algae

서 론

해조류는 소화 흡수율이 낮고 영양가가 낮아 영양학적 측면에서 관심을 끌지 못하였으나, 무기질, 비타민 및 식이섬유소가 풍부하고, 다양한 생리활성 물질들이 함유되어 있는 것으로 알려지면서 새로운 개발자원으로서 인식되어 이를 이용한 높은 부가가치를 지닌 기능성 소재를 개발할 수 있을 것으로 사료된다(Choi, 2016; Shin, 2018; Lee et al., 2019). 특히, 해조류에는 육상 식물체보다 더욱 다양하고 항산화 활성이 우수한 phytochemicals이 함유되어 있어 해조류 추출물을 이용하여 생리활성을 돕는 바이오 소재에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Kim and Jeong, 2014; Baek et al., 2020). 해조류는 색소의 구성 및 조성에 따라 녹조류(Chlorophyceae), 갈조류(Phaeophyceae), 홍조류(Rhodophyceae)로 구분되며 영양학적 특성으로는 칼륨, 요오드, 칼슘 등 각종 무기염류와 비타민 A와 C

등의 함량이 높아 혈액 속의 콜레스테롤 함량 저하, 항균 작용 및 생체 내 활성산소 소거 등 항산화 작용에 의한 항동맥경화, 당뇨병 합병증 억제작용 등에 탁월한 효과가 있음이 밝혀져 있다(Kim et al., 2013a). 그 중 녹조류는 가장 넓게 분포되어 있는 조류로 다당류, 페놀성 물질, terpene 등 다양한 성분을 포함하고 있고 이러한 성분들은 항균, 항산화 및 항암 효과 등 다양한 생리활성을 가지고 있다고 알려져 있다(Song and Lee, 2023). 납작파래(*Enteromorpha compressa*)는 갈파래과(Ulvaceae)에 속하는 녹조류(Chlorophyceae)이다. 녹색의 얇은 막으로 된 나팔모양이고 위로 갈수록 조금씩 넓어지면서 납작하게 눌러지며 식물체의 아래 부분에서 가지를 낸다(Lee, 2008). 크기는 보통 10–40 cm까지 성장하고 지름은 1–5 cm이며 우리나라 전 연안에 분포하는 종으로 조간대의 암반이나 다른 해조류의 엽체, 소라 등에 부착하여 살아가기도 한다(Kim et al., 2013b). 파래류에는 칼슘 및 철의 함량이 각각 652.0 mg%, 17.2 mg%로 성

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

E-mail address: 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.2024.0137>

Korean J Fish Aquat Sci 57(2), 137-144, April 2024

Received 5 February 2024; Revised 27 March 2024; Accepted 19 April 2024

저자 직위: 최지원(대학원생), 박선아(대학원생), 김원석(교수), 김용태(교수)

인 남성의 일일 섭취 권장량을 초과할 정도로 다량 함유되어 있으며 비타민 중 비타민 A와 C가 가장 많이 함유되어 있어 비타민에 의한 건강 기능성 효과가 대단히 기대되는 해조류이다 (Lim, 2006). 파래가 갖는 독특한 향기는 dimethylsulfide에 의한 것이며, 클로로필 -a와 -b 외에 베타 카로틴 등의 몇가지 색소를 가지고 있다(Lim, 2006). 현재까지 납작파래에 대한 연구로는 DPPH 라디칼 소거능(Kim et al., 2006), 항응고 활성(Lim, 2006), 배아 성장 및 지방산 조성에 관한 연구(Lee et al., 2004) 등이 보고되어 있으나, 다양한 항산화 활성 및 생리기능성에 대한 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 납작파래를 증류수, 에탄올, 메탄올을 용매로 사용하여 추출물을 제조하여 항산화 활성, 항고혈압 및 항치매 활성 등을 측정하여 기능성식품, 의약품 소재로서의 활용 가능성을 비교·검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

본 연구에서 사용된 납작파래(*E. compressa*)는 제주도에서 2022년 4월에 채취한 것을 (주)파라제주(Jeju, Korea)에서 구입하여 흐르는 물로 수세하여 염분과 혐잡물을 제거한 다음 자연 건조한 후 전체를 분쇄기(FM700SS; Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄하여 시료의 성분분석 및 추출물 제조에 사용하였다. 항산화 및 생리활성을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, quercetin, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), vitamin C, N-[3-(2-furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala, alcohol dehydrogenase (ADH), aldehyde dehydrogenase (ALDH), β -nicotinamide adenine dinucleotide (β -NAD), captopril 및 β -secretase (BACE1) assay kit 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 항고혈압 활성을 측정하기 위한 Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition potential evaluation kit는 Dojindo Laboratories Co. (Kumamoto, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 모든 시약은 분석용 등급 시약을 구입하여 사용하였다.

납작파래 추출물의 제조

납작파래 추출물은 Kim et al. (2023)의 방법에 따라 3가지 용매(증류수, 70% ethanol, 80% methanol)를 사용하여 추출물을 각각 제조하였다. 증류수를 용매로 사용한 추출은 납작파래 50 g에 증류수를 시료 대비 20배의 양을 첨가하여 고압증기멸균기 (autoclave; ac-11; Jeiotech, Daejeon, Korea) 121°C에서 3시간 동안 가열 추출한 후 50°C에서 24시간 동안 추출하였다. 유기용매를 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., Dae-

jeon, Korea) 120 rpm에서 추출하였다. 각 용매별로 추출한 납작파래 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 농축하여 동결건조(Freeze Dryer; LP08 (XXX); Ilshinbiobase, Yangu, Korea)한 후에 -20°C 냉동고에 보관하면서 각종 실험에 사용하였다. 모든 추출물은 증류수(증류수 추출물) 혹은 DMSO (EtOH 및 MeOH 추출물)로 용해하여 실험에 사용하였다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

납작파래 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis법을 약간 변형한 Lee et al. (2020)의 방법에 준하여 수행하였다. 각 시료(1 mL)에 95% 에탄올 용액 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 gallic acid를 표준물질로 사용하여 시료의 총 폴리페놀 함량을 산출하였고 gallic acid equivalents (mg GAE/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% ethanol을 혼합한 다음 0.1 mL, 10% aluminum nitrate와 0.1 mL, 1 M potassium acetate를 차례로 가한 후 혼합하였다. 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 \pm SD)가 되도록 phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 추출물 50 μL 에 ABTS 용액 950 μL 를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 계산식, ABTS⁺ radical scavenging ability (%) = $[(\text{Control}_{734} - \text{Sample}_{734}) / \text{Control}_{734}] \times 100$ 에 의하여 활성을 산출하였다. EC₅₀ (effective concentration)은 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 유효농도로 nonlinear regression analysis software (Prism 9; GraphPad, CA, USA)를 이용하여 구하였다. EC₅₀은 낮을수록 ABTS⁺ 라디칼 소거능이 뛰어난 것을 의미한다.

아질산염 소거활성은 Lee et al. (2021)의 방법으로 측정하였다. 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 조정한다. 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 소거 작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 백분율로 나타내었다. 아질산염 소거 활성 (%)=[1-(A-C)/B] × 100; (A, 1 mM nitrite 용액에 시료를 첨가한 흡광도; B, 1 mM nitrite 용액의 흡광도; C, 시료의 흡광도). EC₅₀ value (mg/mL)는 50%의 아질산염 소거 활성을 나타내는 시료의 유효농도(mg/mL)를 나타낸다.

환원력(reducing power)은 Lee et al. (2021)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 정치한 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.

ADH 활성 측정

납작파래 추출물의 alcohol dehydrogenase (ADH) 활성은 Racker (1950)의 방법을 약간 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 시험구의 반응액은 증류수 0.45 mL, 1 M Tris-HCl buffer (pH 8.8) 0.25 mL, 20 mM NAD⁺ 0.1 mL, ethanol 0.1 mL 및 시

료 50 µL를 첨가하여 실온에서 5분간 반응시킨 후 ADH (0.16 U/mL) 50 µL를 가하여, 340 nm에서 10분 동안 30초 간격으로 흡광도를 측정하였다. ADH 활성은 아래의 계산식, ADH activity (%)=(Sample₃₄₀-Sample blank₃₄₀)/(Control₃₄₀-Control blank₃₄₀) × 100에 의하여 활성을 계산하였다. 이때 대조구(Control₃₄₀)는 시료 대신 증류수를 가하여 측정된 흡광도를 나타내었고, positive control로 사용한 hepos (CHO-APharm. Co., Seoul, Korea)는 약국에서 구입하여 처방전에 따라 2배로 희석하여 사용하였다.

각 시료의 aldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성은 Bostian and Betts (1978)의 방법을 약간 변형하여 아래와 같이 측정하였다. 시험구의 반응액은 증류수 2.05 mL, 1 M Tris-HCl buffer (pH 8.8) 300 µL, 3 M KCl 100 µL, 시료 150 µL, 20 mM NAD⁺ 100 µL, 0.33 M 2-mercaptoethanol 100 µL, 0.1 M acetaldehyde 100 µL를 혼합하여 상온에서 5분간 반응시킨 후 ALDH (0.5 U/mL) 100 µL를 가하여 340 nm에서 10분 동안 30초 간격으로 흡광도를 측정하였다. ALDH 활성은 아래의 계산식, ALDH activity (%)=(Sample₃₄₀-Sample blank₃₄₀)/(Control₃₄₀-Control blank₃₄₀) × 100에 의하여 활성을 계산하였다. 이때 대조구(Control₃₄₀)은 시료 대신 증류수를 가하여 측정된 흡광도를 나타내었고, positive control로 사용한 hepos는 2배로 희석하여 사용하였다.

Angiotensin-I 전환효소 저해 활성 측정

Angiotensin-converting enzyme (ACE) 저해효과를 측정하기 위해 ACE inhibition potential evaluation kit의 방법에 따라 측정하였다. Enzyme working solution은 enzyme B에 증류수 2 mL를 주입하여 녹인 후, enzyme A에 enzyme B를 1.5 mL를 주입하여 제조하였다. Indicator working solution은 enzyme C와 coenzyme Bottle에 각각 증류수 3 mL를 주입하여 녹인 후 indicator solution에 각각 2.8 mL씩 넣어 혼합하여 만들었다. 96 well plate에 protocol을 따라 blank1 및 2에는 증류수를 20 µL와 시료를 각 농도별로 20 µL씩 처리하였다. 모든 well에 20 µL의 substrate buffer를 처리한 이후 blank2를 제외한 well에는 enzyme working solution을 20 µL씩 처리하였고 blank2에는 증류수 20 µL를 처리하였다. 37°C shaking incubator에서 60분간 반응시킨 다음 모든 well에 200 µL의 indicator working solution을 처리하여 상온에서 10분간 반응시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해활성은 다음 식, ACE inhibitory activity (%)=[(A_{blank1}-A_{sample}-A_{sample blank})/(A_{blank1}-A_{blank2})] × 100과 같이 산출하였다.

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 μ L, 50 mM sodium acetate, pH 4.5), BACE1 substrate (20 μ L, 50 μ M MOCAC-SEVNLD AEFK(Dnp)RR), 시료용액 (X μ L) 및 BACE1 효소(2 μ L, 0.3 unit/ μ L)를 순서대로 첨가하여 혼합한 후 37°C에서 2시간 반응시킨 다음 microplate reader (Infinte F200; Tecan, Männe dorf, Switzerland)를 사용하여 Ex 320/Em 405 nm에서 형광강도를 측정하였다. BACE1 활성의 저해 정도는 다음 식, BACE1 inhibitory activity (%)=[1-(SF/CF)] \times 100과 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 측정된 값의 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

납작파래 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

납작파래에 함유되어 있는 생리활성물질 및 유용성분을 대량 획득하기 위하여 70% EtOH, 80% MeOH 및 증류수를 추출용매로 사용하여 각각의 납작파래 추출물을 제조하였다. 납작파래 추출물의 수율 측정 결과는 Table 1에 나타내었다. 납작파래의 각 용매 추출물의 수율은 EtOH을 사용한 추출물은 9.55%, MeOH을 사용한 경우에는 10.52%, 열수를 사용한 고온고압 추출조건에서는 25.67%로 나타났다. 각 용매에 따른 납작파래 추출물의 수율을 비교하면 열수>MeOH>EtOH 추출물 순으로 수율이 높은 것으로 확인되었다.

납작파래 추출물들의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. EtOH을 용매로 사용한 추출물의 총 폴리페놀 함량은 20.76 mg GAE/g, MeOH 추출물은 28.41 mg GAE/g, 열수 추출물은 24.17 mg GAE/g으로 확인되어 MeOH>열수>EtOH 순으로 총 폴리페놀 함량이 높게

나타났다. Kim et al. (2015)의 다양한 녹조류의 폴리페놀 함량 연구에 따르면 매생이, 파래 및 청각 열수 추출물이 각각 7.86 mg/g, 8.68 mg/g, 6.44 mg/g으로 나타났고, 에탄올 추출물은 각각 37.33 mg/g, 16.61 mg/g, 12.43 mg/g으로 보고되어 있어 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 높은 폴리페놀 함량을 나타내어, 본 연구 결과와 다소 차이가 있는 것으로 확인되었다.

한편, 납작파래 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과, EtOH 추출물은 2.55 mg QE/g, MeOH 추출물은 3.71 mg QE/g, 열수 추출물은 18.59 mg QE/g으로 열수>MeOH>EtOH 추출물 순으로 총 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 확인되었다. Ahn et al. (2010)의 녹조류 7종(구멍갈파래, 바다포도, 청각 등)의 MeOH 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과 2.70–5.04 mg/g가 함유되어 있다고 보고하였으며, Park et al. (2022)의 청각의 플라보노이드 함량은 추출용매에 따른 차이가 크지 않다고 보고하였다. 따라서 해조류의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 시료의 종류, 채취 시기, 채취 장소, 추출용매 및 추출방법 등에 의하여 각 성분의 차이가 발생하는 것으로 생각된다(Park et al., 2022).

납작파래 추출물의 항산화 활성

납작파래 추출물의 추출용매에 따른 항산화 활성을 비교하기 위하여 EtOH, MeOH 및 열수를 용매로 사용한 납작파래 추출

Table 1. Comparison of the extraction yields, total polyphenolic and flavonoid contents of various solvent extracts from *Enteromorpha compressa*

Sample	Yield (%)	Total polyphenolic content (mg GAE/g) ¹	Total flavonoid content (mg QE/g) ²
EtOH extract	9.55	20.76±2.46 ^{b,3,4}	2.55±1.13 ^b
MeOH extract	10.52	28.41±4.34 ^{ab}	3.71±0.45 ^b
Water extract	25.67	24.17±3.53 ^a	18.59±2.16 ^a

¹GAE, Gallic acid 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 2. Antioxidant activities of *Enteromorpha compressa* extract with various solvents

Sample	ABTS (EC ₅₀ , mg/mL) ¹	NSA (EC ₅₀ , mg/mL) ¹	Reducing power (EC ₅₀ , mg/mL) ²	FRAP value (mM)
EtOH extract	8.99±0.25 ^{b,3,4}	16.50±0.59 ^b	2.98±0.22 ^b	0.12±0.00 ^b
MeOH extract	11.29±0.60 ^a	25.23±2.06 ^a	2.81±0.07 ^b	0.12±0.00 ^b
Water extract	12.44±1.19 ^a	ND	9.13±0.25 ^a	0.06±0.00 ^b
Ascorbic acid	0.12±0.00 ^c	0.51±0.00 ^c	0.01±0.00 ^c	12.62±0.18 ^a

¹EC₅₀ values for radical scavenging and nitrite scavenging activities are expressed as the effective concentration at which 50% of ABTS radicals and nitrites are scavenged. 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.

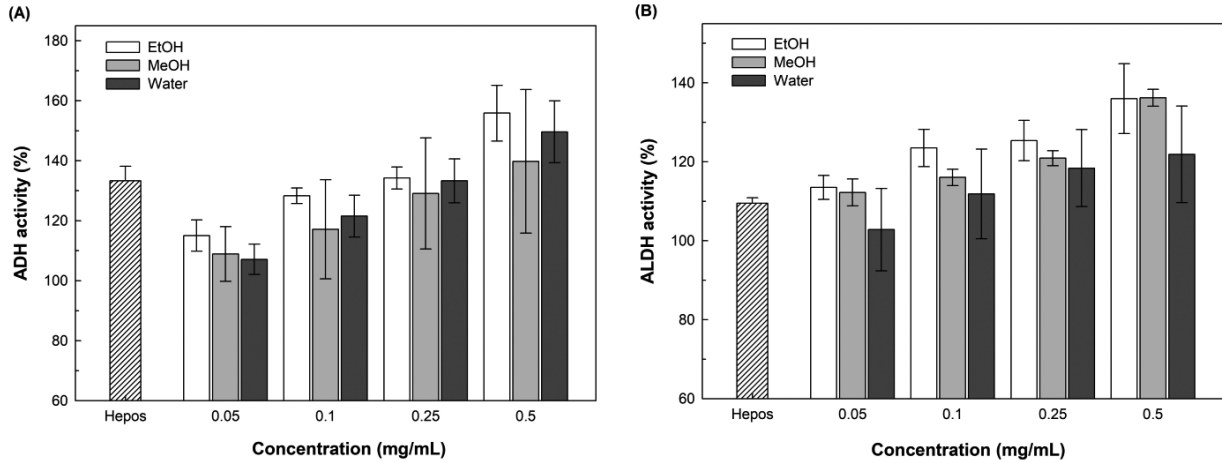


Fig. 1. Effects of concentration of fermented *Enteromorpha compressa* on the ADH activity (A) and ALDH activity (B) Hepos (2-fold diluted) was used as a positive control. ADH, Alcohol dehydrogenase; ALDH, Aldehyde dehydrogenase. Values are mean±SD (n=3).

물의 ABTS 라디칼 소거능, 아질산염 소거능, 환원력 및 FRAP 를 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. 납작파래 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성(EC_{50})을 측정된 결과, EtOH 추출물은 8.99 mg/mL, MeOH 추출물은 11.29 mg/mL, 열수 추출물은 12.44 mg/mL 로 나타나 납작파래의 ABTS 라디칼 소거활성은 EtOH>MeOH>열수 순으로 높은 것으로 확인되었다. Lee and Kim (2019)의 청각 EtOH 추출물의 항산화에 관한 연구에서 100 μ g/mL 농도에서 54.57%의 ABTS 라디칼 소거활성을 보고하였고, Kim et al. (2015)의 감태, 대항 및 지층이 추출물은 열수와 에탄올 추출물에서 모두 99% 이상의 높은 소거활성을 나타내었다. 위의 연구결과와 비교하였을 때 납작파래의 ABTS 라디칼 소거활성은 해조류 중에서 낮은 편에 속하는 것으로 확인되었다. 납작파래 추출물의 nitrite 소거활성(EC_{50})을 측정된 결과, EtOH 추출물은 16.50 mg/mL, MeOH 추출물은 25.25 mg/mL이었으나, 열수 추출물에서는 검출되지 않았다. positive control인 ascorbic acid (EC_{50} , 0.51 mg/mL)에 비하여 납작파래 추출물은 약 1/40의 낮은 활성을 나타내었다. 또한 35 종 해조류 추출물을 대상으로 아질산염 소거능을 측정된 Ahn et al. (2011)의 연구결과에 따르면 매생이, 잎파래, 납작파래 및 바다포도는 각각 농도 100 μ g/mL에서 68.34–73.05%로 나타났으며 본 연구에서 확인한 납작파래의 아질산염 소거능의 결과와의 차이는 시료의 종류, 채취시기, 추출용매 및 추출방법의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

한편, 각 추출용매에 따른 납작파래 추출물의 환원력(EC_{50})을 분석한 결과, EtOH 추출물은 2.98 mg/mL, MeOH 추출물은 2.81 mg/mL, 열수 추출물은 9.13 mg/mL로 확인되었다. 납작파래의 EtOH 및 MeOH 추출물의 환원력(EC_{50})은 유사하였으나 열수 추출물의 EC_{50} 값은 EtOH 및 MeOH 추출물에 비하여 약 3배 높은 것으로 나타났다. Kim et al. (2015)의 연구결과에 따르면 10종의 해조류 추출물(1 mg/mL)의 환원력은 열

수 추출물에서 0.010–0.876 범위를 나타내었고, 에탄올 추출물의 경우 0.060–1.710의 범위를 나타내어 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 환원력이 높은 것을 확인했다. 본 연구는 위의 연구와 유사하게 EtOH 및 MeOH 추출물이 열수 추출물보다 높은 환원력을 나타내었다. 납작파래 추출물의 FRAP value 분석에서 EtOH 및 MeOH 추출물은 0.12 mM로 동일한 값을 보였으나, 열수 추출물은 0.06 mM로 약 1/2배 가량 낮은 것으로 확인되었다. 또한 납작파래 추출물의 FRAP value는 양성 대조군인 ascorbic acid의 12.62 mM에 비하여 낮은 것으로 확인되었다. 이상의 납작파래의 항산화 활성 결과를 종합해보면 해조류 중에서 비교적 낮은 항산화능을 함유하고 있는 것으로 확인되었다.

ADH 및 ALDH 활성 측정

숙취의 주 원인물질인 acetaldehyde는 체내에서 흡수된 알코올이 분해 시 생성되는 대사산물로서 단순히 ADH만 활성화 시키면 혈중 알코올 농도는 빠르게 감소시킬 수 있으나 간이나 혈액에 남아있는 acetaldehyde는 계속 축적이 되어 심한 숙취를 일으킬 수 있는 가능성이 있다(Cho and Choi, 2010). 납작파래의 알코올 분해능을 확인하기 위하여 각 추출물의 ADH 및 ALDH 활성을 측정된 결과는 Fig. 1A 및 Fig. 1B와 같다. 납작파래의 ADH 활성 측정 결과 최종농도 0.5 mg/mL에서 EtOH, MeOH 및 열수 추출물은 각각 155.86%, 139.78%, 149.65%의 활성을 나타내었고, ALDH 활성은 납작파래 추출물들의 최종농도 0.5 mg/mL에서 EtOH, MeOH 및 열수 추출물 각각 135.98%, 136.21%, 121.88%의 활성을 나타내었다. 납작파래 추출물의 ADH 및 ALDH 활성 모두 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였고, 각각 농도 0.1 mg/mL부터 positive control인 hepos보다 높은 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. Cho and Choi (2010)의 연구에 따르면 감태 열수 추출물 10 mg/mL

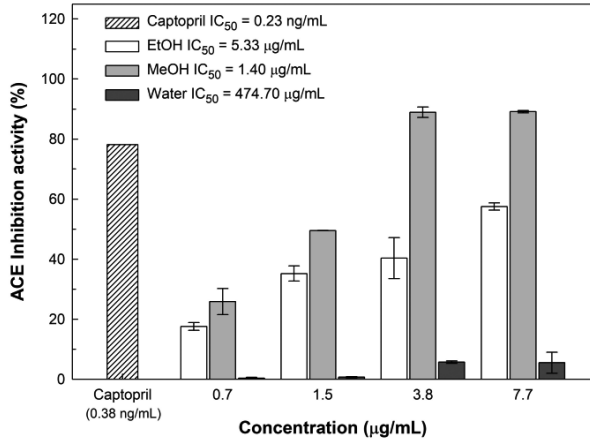


Fig. 2. ACE inhibitory activities of EtOH, MeOH extracts (A), and water extract (B) from *Enteromorpha compressa*. Captopril was used as a positive control. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. ACE, Angiotensin converting enzyme. Values are mean±SD (n=3).

에서 ADH 활성이 153%, 5 mg/mL에서 ALDH 활성이 164%로 보고하였고, Choi (2023)는 뜸부기 EtOH, MeOH 및 열수 추출물 최종농도 0.5 mg/mL에서 ADH 활성이 142–150% 활성을 보였으나, ALDH 활성은 농도 0.05 mg/mL에서 열수 추출물만이 111%의 활성을 나타냈다. 따라서, 이러한 결과를 종합해 보면 납작파래의 EtOH, MeOH 및 열수 추출물은 높은 알코올 분해능과 숙취해소능이 있는 것으로 생각되며, 납작파래 추출물은 숙취해소 소재로서 상품화 가능성이 높을 것으로 생각된다.

납작파래 추출물의 ACE 저해 활성

체내에 널리 분포되어 있는 안지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme, ACE)는 불활성형인 안지오텐신I의 말단을 절단하여 활성형인 안지오텐신II로 전환시키며 이렇게 생성된 안지오텐신II는 직접적으로 혈관을 수축하고 신장에서 알도스테론의 분비를 증가시키고 체액량을 증가시켜 혈압을 상승시키는 작용을 한다(Hong et al., 2006). 납작파래 추출물의 ACE 저해활성을 측정한 결과(Fig. 2), EtOH 추출물의 저해활성(IC₅₀)은 5.33 µg/mL, MeOH 추출물은 1.40 µg/mL, 열수 추출물은 474.70 µg/mL로 확인되어 MeOH>EtOH>열수 추출물 순으로 ACE 저해활성이 높은 것으로 나타났다. Cho et al. (2011)의 연구에 따르면 녹조류의 일종인 매생이의 에탄올 및 열수 추출물(1 mg/mL)의 ACE 저해활성이 각각 49.7% 및 5.9%로 나타났다. Cha et al. (2006)의 녹조류와 갈조류 추출물의 항고혈압 연구결과에 따르면 일반적으로 갈조류가 더 높은 항고혈압 저해활성을 나타냈고, 가장 높은 저해활성을 보인 톳의 MeOH 추출물은 200 µg/mL에서 86.59%를 나타냈다. 따라서 납작파래는 다양한 녹조류 및 갈조류와 비교하여도 높은 고

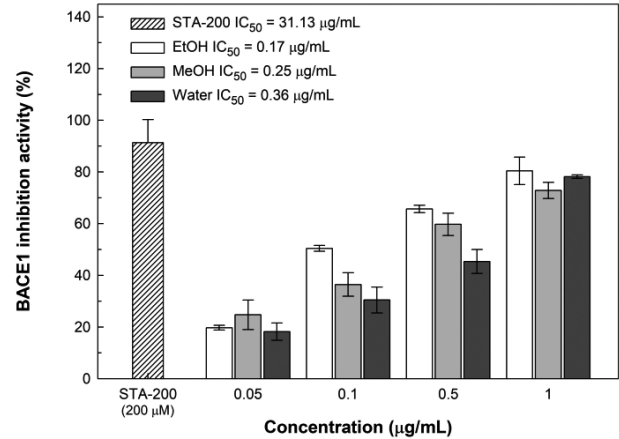


Fig. 3. BACE1 inhibitory activities of various solvent extract from *Enteromorpha compressa*. STA-200 (H-Lys-Thr-Glu-Glu-Ile-Ser-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-Phe-OH; final concentration at 200 µM) was used as a positive control. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. BACE1, β-secretase. Values are mean±SD (n=3).

혈압 저해활성이 내포되어 있는 것으로 확인되었다.

납작파래 추출물의 BACE1 저해 활성

납작파래 추출물에 대한 BACE1을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 알츠하이머병은 베타아밀로이드(β-amyloid, Aβ) 단백질이 주 원인 물질로 알려져 있으며 Aβ는 아밀로이드 전구단백질(amyloid precursor protein, APP)이 대사되는 과정에서 β-secretase와 γ-secretase 효소에 의해 생성된다(Son et al., 2016). β-secretase는 APP에 특이적으로 반응하는 효소로 APP 아미노산 말단을 절단하여 Aβ 생성에 관여하며, 최근 알츠하이머 질환 치료제로 β-secretase 저해제 관련 연구가 많이 진행되고 있다(Shin et al., 2014). 본 연구에서는 납작파래 추출물의 Aβ 생성 억제능을 확인하기 위하여 납작파래 추출물의 BACE1 (β-secretase) 저해활성을 측정하여 알츠하이머병의 예방 효과를 탐색하였다. 각 납작파래 추출물의 BACE1 저해활성을 다양한 농도에서 측정된 결과, EtOH 추출물의 BACE1 저해활성(IC₅₀)은 0.17 µg/mL이고, MeOH 추출물은 0.25 µg/mL, 열수 추출물은 0.36 µg/mL로 확인되어 BACE1 저해활성은 EtOH>MeOH>열수 추출물 순으로 높은 저해활성을 나타내었다. Fig. 3에 나타난 것과 같이 납작파래 추출물들의 BACE1 저해활성은 각 추출물들의 농도 의존적인 경향을 보였으며, 각 납작파래 추출물 1 µg/mL에서 양성 대조군인 STA-200 (200 µM)과 유사한 BACE1 저해활성을 보였다. 또한, 양성대조군인 STA-200의 IC₅₀값 31.13 µg/mL와 비교하였을 때 모든 납작파래 추출물이 약 85–180배의 높은 저해활성을 함유하고 있는 것으로 확인되었다. 염생식물인 갯사상자의 추출물은 20 µg/mL의 농도에서 약 80%의 BACE1 저해활성을 보

였으며(Kim et al., 2022), 청각 추출물은 50 µg/mL 농도에서 80%의 BACE1 저해활성이 확인되어(Park et al., 2022), 납작파래는 해조류 중에서 알츠하이머병에 관련이 있는 것으로 알려진 BACE1 저해활성이 높을 부류에 속하는 것으로 확인되었다.

본 연구에서는 해조류인 납작파래의 다양한 추출물을 제조하여 항산화성 및 생리활성을 측정하였다. 납작파래 추출물의 항산화 활성 측정 결과, ABTS 라디칼 소거활성과 nitrite 소거활성은 EtOH 추출물, 환원력은 MeOH 추출물에서 가장 높은 항산화 활성이 검출되었다. 납작파래 추출물의 다양한 생리활성을 측정한 결과, 알코올 분해대사 관련 ADH, ALDH 활성은 농도의존적으로 증가하였다. 항고혈압 관련 실험인 ACE 저해활성 실험에서는 MeOH 추출물이 높은 저해활성을 나타냈고, 납작파래 추출물의 항치매 관련 BACE1의 저해활성을 측정한 결과 모든 추출물에서 높은 저해활성이 확인되었다. 본 실험에서 실시한 항산화, 항고혈압 및 항치매 활성 실험 결과 유기용매 추출물에서 높은 활성이 나타나는 것으로 확인되었다. 이상의 연구 결과에서 납작파래 추출물은 알코올 분해대사 관련 ADH와 ALDH 활성, 항고혈압 관련 ACE 저해활성 및 항치매 관련 BACE1 저해활성을 포함한 다양한 생리기능성 물질이 존재할 것으로 판단되어, 기능성식품 및 의약품 소재 분야에서 활용 가능성이 높을 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 2023년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단(NRF-2021R1I1A3043692)과 2023년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단-현장연계 미래선도인재양성 지원사업(No. NRF-2022H1D8A3038669)의 지원을 받아 수행된 연구 사업입니다.

References

Ahn SM, Hong YK, Kwon GS and Sohn HY. 2010. Evaluation of *in-vitro* anticoagulation activity of 35 different seaweed extracts. *J Life Sci* 20, 1640-1647. <https://doi.org/10.5352/JLS.2010.20.11.1640>.

Ahn SM, Hong YK, Kwon GS and Sohn HY. 2011. Evaluation of antioxidant and nitrite scavenging activity of seaweed extracts. *J Life Sci* 21, 576-583. <http://doi.org/10.5352/JLS.2011.21.4.576>.

Baek SY, Kim DH, Kim SJ and Kim MR. 2020. Phytochemicals and antioxidant properties of *Enteromorpha prolifera* extract in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 49, 462-472. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2020.49.5.462>.

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>.

Bostian KA and Betts GF. 1978. Rapid purification and properties of potassium-activated aldehyde dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem J* 173, 773-786. <https://doi.org/10.1042/bj1730773>.

Cha SH, Ahn GN, Heo SJ, Kim KN, Lee KW, Song CB, Cho SK and Jeon YJ. 2006. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35, 307-314. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2006.35.3.307>.

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 *Maesangi (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 JW. 2023. Physiocochemical properties of *Silvetia siliquosa* and effect of biological activities by extraction solvent. M.S. Thesis, Kunsan University, Gunsan, Korea.

Choi MS. 2016. Studies on the antiaging activities of *Petalonia binghamiae* extracts. M.S. Thesis, Hanbat University, Daejeon, Korea.

Hong JH, Son BS, Kim BK, Chee HY, Song KS, Lee BH, Shin HC and Lee KB. 2006. Antihypertensive effect of *Ecklonia cava* extract. *Kor J Pharmacogn* 37, 200-205.

Kim DG, Park JB and Lee TK. 2013a. Analysis of biochemical compositions and nutritive values of six species of seaweeds. *J Life Sci* 23, 1004-1009. <https://doi.org/10.5352/JLS.2013.23.8.1004>.

Kim DH and Jeong GT. 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of extracts of marine green-algae *Enteromorpha intestinalis*. *KSBB J* 29, 92-97. <https://doi.org/10.7841/ksbbj.2014.29.2.92>.

Kim HJ, Kim TG, Yoo JK, Son MH, Kim DI, Han GS, Kim TW and Kim JH. 2013b. Southern coast of the east sea. In: *The Story of the Life of the Wave*. Jo SY, Park HM, Son MH and Nam YJ, eds. Ministry of Oceans and Fisheries, Sejong, Korea, 124-125.

Kim JH, Kang HM, Lee SH, Lee JY and Park LY. 2015. Antioxidant and α -glucosidase inhibition activity of seaweed extracts. *Korean J Food Preserv* 22, 290-296. <http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2015.22.2.290>.

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 JY, Park DB, Lee YJ, Park SJ and Kim YT. 2023. Anti-skin aging properties of different solvent extracts from *Ishige foliacea*. *Korean J Fish Aquat Sci* 56, 833-840. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0833>.

Kim KN, Heo SJ, Cha SH and Jeon YJ. 2006. Evaluation of

- DPPH radical scavenging activity of Jeju seaweeds using high throughput screening (HTS) technique. *J Mar Biosci Biotechnol* 1, 170-177.
- Kim PH, Kim MJ, Kim JH, Lee JS, Kim KH, Kim HJ, Jeon YJ, Heu MS and Kim JS. 2014. Nutritional and physiologically active characterizations of the sea squirt *halocynthia roretzi* sikhae and the seasoned sea squirt. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 1-11. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0001>.
- Lee CW, Kim HA, Yoon HR and Jeon TY. 2019. Establishment of seaweed fermentation process for cosmetic material research. *JKAIS* 20, 14-19. <https://doi.org/10.5762/JKAIS.2019.20.9.14>.
- Lee DH, Lee SJ, Ryu JA, Park EJ and Nam KW. 2004. Effects of light and temperature on nitrate uptake, germling growth and fatty acid composition of *Enteromorpha compressa* (Chlorophyta). *Korean J Fish Aquat Sci* 37, 57-64. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2004.37.1.057>.
- Lee JH and Kim BA. 2019. A study on seaweed sea staghorn (*Codium fragile*) ethanol extract for antioxidant. *J Convergence Cult Technol* 5, 467-472. <http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.4.467>.
- Lee YJ, Jeon YJ and Kim YT. 2020. 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 YP. 2008. Marine Algae Of Jeju. Ju SP, ed. Academybook, Seoul, Korea, 10.
- Lim EJ. 2006. Physiological function of *Enteromorpha intestinalis* and rheological properties of bread dough added with *Enteromorpha intestinalis*. Ph.D. Thesis, University of Korea, Seoul, Korea.
- 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).
- Park DB, Lee YJ, Rho JW, Kim WS, Park SJ and Kim YT. 2022. Comparison of antioxidant and physiological activities of different solvent extracts from *Codium fragile*. *Korean J Fish Aquat Sci* 55, 858-866. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0858>.
- Racker E. 1950. Crystalline alcohol dehydrogenase from baker's yeast. *J Biol Chem* 184, 313-319.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang Min and Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26, 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- Shin DB, Han EH and Park SS. 2014. Cytoprotective effects of Phaeophyta extracts from the coast of Jeju island in HT-22 mouse neuronal cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43, 224-230. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.2.224>.
- Shin YS. 2018. The research for cosmetic component about algae complex including of *Sargassum horneri* and *Enteromorpha prolifera* extracts. *J Korean Soc Cosmet Cosmetol* 8, 135-147.
- 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>.
- Song JE and Lee SH. 2023. Anti-inflammatory and skin whitening activity of *Chaetomorpha torta* extract. *JNCTA* 7, 1447-1458. <https://doi.org/10.33097/JNCTA.2023.07.09.1447>.