

Characteristics of marine algae extracts using subcritical water extract method

Hwan Sik Na^{1*}, Jin Young Kim¹, Jong Soo Park¹, Gyeong Cheol Choi¹, Soo In Yang¹,
Ji Heon Lee¹, Jeong Young Cho², Seung Jin Ma³

¹Food Analysis Division, Jeollanamdo Institute of Health and Environment, Muan 534-821, Korea,

²Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea,

³Department of Food Engineering, Mokpo National University, Mokpo 534-729, Korea

아임계 추출법을 이용한 해조류 추출물의 특성

나환식^{1*} · 김진영¹ · 박종수¹ · 최경철¹ · 양수인¹ · 이지현¹ · 조정용² · 마승진³

¹전라남도보건환경연구원 식품분석과, ²전남대학교 식품공학과, ³목포대학교 식품공학과

Abstract

This study was performed in order to investigate the functional components of 5 kinds of marine algae. We have collected 5 samples of marine algae, such as the sea mustard (*Undaria pinnatifida*), sea tangle (*Laminaria japonica*), sea weed fusiforme (*Hizikia fusiforme*), green laver (*Enteromorpha*), laver (*Phophytatenera*), which have been harvested in Jeollanam-do. In order to examine the functional effects, 5 kinds of marine algae were extracted with hot water (80°C, 4 hr), ethanol and methanol (R.T., 4 hr), and subcritical water extract (SWE, 3 MPa, 90°C, 150°C, 210°C). A higher yield of extract was obtained through SWE method (3 MPa, 210°C) in all of the samples obtained. The highest total sugar content was 427.4 mg/g in green laver extracted with SWE (3 MPa, 210°C). The content of the SWE total phenolic compounds was higher than that of the water and solvent (methanol, ethanol) extracts. The anti-oxidative activities of the extracts from 5 kinds of marine algae were examined through the DPPH radical scavenging activity test. The SWE (3 MPa, 150°C and 210°C) of the marine algae was the highest among all of the extracts. As per the results, the SWE of the marine algae contained more functional components and it had a higher antioxidant activity than those of the other extracts. The IC₅₀ value of tyrosinase in seaweed fusiforme and laver were higher than those of the other samples. These results strongly support the possible use of marine algae as functional materials.

Key words : marine algae, subcritical water extract, functional components, antioxidative activity

서 론

우리나라에 알려진 750여 종의 해조류 중 식용으로 이용되는 해조류는 30여 종으로(1), 그 중 참가사리, 갈래곰보, 곰피, 고장초, 까막사리, 꼬시래기, 돌가사리, 세모가사리, 불등가사리, 실말, 진두발 등의 해조류는 해초무침, 해초 등의 가공식품과 제약, 화장품 등으로 이용되며(2), 미역, 김, 다시마, 툇, 파래 등 몇 가지만 가정에서 식재료로 이용하고 있다. 해조류는 단백질, 지질, 탄수화물 등 일반 영양성

분과 미네랄을 풍부하게 함유하고 있으며, 특히 칼슘, 마그네슘, 요오드, 철, 아연 등 필수 미량원소의 함유량이 높은 것이 특징이다. 또한 종류에 따라서는 특이한 생리활성을 나타내는 식이섬유를 비롯한 다양한 유효성분도 함유하고 있으며, 성인병과 비만 예방에도 효과가 있다는 것이 보고되면서 최근에는 건강식품으로서 주목받고 있다(3-5).

한편 해조류의 기능성과 관련하여 해조 단당류와 올리고당류에서 유래하는 다양한 생리활성이 밝혀지면서 해조류를 원료로 한 고부가가치를 지닌 새로운 기능성 소재 개발 연구도 활발히 진행되고 있다. 그러나 기능성 물질을 추출하는 방법으로 열수 및 용매 추출, 초임계 추출방법 등이

*Corresponding author. E-mail : hzna0103@korea.kr
Phone : 82-61-240-5253, Fax : 82-61-240-5260

제한적으로 행해지고 있으며, 단당류 및 올리고당 제조는 효소에 의한 분해나 합성, 산 분해에 의해 가능하지만 효과적인 가수분해를 위해서는 보다 효율적인 처리공정이 절실히 요구되고 있는 실정이다(6-8).

최근 아임계 수를 이용하여 기능성 성분을 추출하는 방법이 알려져 있으나 해조류와 관련된 연구는 거의 없는 실정이다. 아임계 추출(subcritical water extraction)은 물의 임계점(374°C, 22.1 MPa) 이하의 온도와 압력 조건에서 이온화된 물을 이용하여 물질을 분해하고 추출하는 방법으로 pressurized hot water extraction(PHWE) 혹은 pressurized low polarity water extraction(PLPW) 이라고도 한다. 이러한 아임계 추출의 장점은 사용 용매가 물이라는 점과, 추출에 소요되는 시간이 5~30분 정도로 추출 시간이 짧은 것이 장점이며, 페놀 화합물 같은 비극성 물질을 추출하는데 효율적인 것으로 알려져 있다(9-11).

따라서 본 연구에서는 전라남도 연안에서 대량 생산되고 있는 해조류의 활용 증진을 위해 미역·다시마·김·파래·툇을 대상으로 새로운 추출방법인 아임계 추출법을 도입하여 기존의 추출방법(열수, 용매추출)과 비교를 통해 해조류 기능성 성분의 효율적인 추출 조건에 관해 조사하였으며, 아임계 추출법을 통해 얻어진 추출물의 기능성 등 다양한 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

해조류는 전라남도 연안에서 채취한 갈조류인 다시마(고흥군), 미역(완도군, 진도군), 툇(완도군)과 홍조류인 김(완도군), 녹조류인 파래(완도군) 등 5종의 해조류를 시료로 사용하였다. 채취한 해조류는 증류수로 3회 씻어 탈염과정을 거치고, 동결건조기(vacuum freeze dryer, Biotron, Daejeon, Korea)로 건조한 후 마쇄하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

아임계 추출

해조류 추출물을 얻기 위하여 열수 추출은 시료 20배의 증류수로 80°C에서 4시간 환류 추출하였으며, 용매 추출은 시료의 20배에 해당하는 ethanol과 methanol로 실온에서 4시간 환류 추출을 통하여 추출하였다. 아임계 추출은 해조류 시료 10 g에 200 mL의 증류수를 넣고 압력조건은 0.5, 1, 3, 5 MPa, 온도는 90, 120, 150, 180, 210, 240°C로 각각 조건을 달리하여 추출물을 얻고, 예비 실험을 통해 압력은 3 MPa로 고정하고 온도는 90, 150, 210°C의 조건에서 각각 추출물을 얻어 시료로 사용하였다.

총당, 환원당 측정

해조류 추출물의 총당은 페놀황산법(12)에 따라 건조 시

료 3 g을 취하여 70% ethanol 60 mL를 가하고 80°C 수욕상에서 2시간 동안 환류 추출한 다음 여과지(Whatman No. 2)로 여과하여 여액 1 mL에 5% phenol 용액 1 mL, H₂SO₄ 5 mL를 가하고 15분간 방치한 후 550 nm에서 측정하였다. 환원당 분석은 Bertrand법(13)을 이용하여 측정하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 추출물 2 mL에 2배로 희석한 Folin 시약 2 mL를 첨가하고 잘 혼합하여 3분간 방치한 후 2 mL의 10% Na₂CO₃를 양금이 생기지 않도록 서서히 가하고 1시간 방치한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 tannic acid를 이용하여 0, 25, 50, 100, 200 µg/mL의 농도로 표준곡선을 작성한 후 함량을 구하였다(14,15).

항산화 활성 측정

DPPH를 이용한 radical scavenging activity의 측정은 Abe 등(16)의 방법에 따라 96 well plate에 150 µM DPPH 용액(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl in ethanol) 196 µL와 시료 4 µL를 처리하여 최종농도가 100, 500, 1,000, 2,000, 3,000 µg/mL가 되도록 하였다. 암실에서 10분간 반응시킨 후 반응액을 520 nm 흡광도에서 전자공여능(electron donating ability)으로 측정하였으며, positive control로 ascorbic acid를 사용하여 각 분획의 억제능을 대조군에 비하여 DPPH free radical을 50% 억제하는데 요구되는 함량(SC₅₀)으로 나타내었다.

Tyrosinase inhibition assay를 통한 미백효과 측정

해조류 아임계 추출물 및 열수, 용매(methanol, ethanol) 추출물에 대한 미백효과를 측정하기 위하여 melanin의 생합성에 관여한다고 알려진 tyrosinase 저해실험을 실시하였다. 실험에 사용된 효소는 tyrosinase(from mushroom, Sigma, St. Louis, MO, USA)로 기질은 3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA, Sigma)를 사용하였다. 0.5 mL의 sodium phosphate buffer(0.1 M, pH 6.8), 시료 0.2 mL 그리고 20 µL의 tyrosinase solution(in 0.1 M PBS, pH 6.8, 2500 unit/mL, Sigma)을 넣은 후 3차 증류수 0.78 mL를 첨가하고 25°C에서 6분 동안 pre-incubation 하였다. 여기에 0.5 mL의 기질(in 0.1 M PBS, 10 mM)을 첨가 후 475 nm에서 측정하여 계산하였다(17).

통계처리

각 실험은 3회 반복하여 얻은 결과를 평균과 표준편차로 나타내었으며, 그 결과는 SAS program software package (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)로 통계처리 하였으며, 시료간의 유의검증은 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

아임계 추출수율

해조류 추출방법은 열수(80℃, 4시간), 용매 추출(methanol과 ethanol, 실온, 4시간)과 아임계 추출(압력 3 MPa, 온도 90, 150, 210℃)을 실시하여 각 추출물을 동결·건조하여 실험에 사용하였다. 추출 수율은 Table 1과 같으며 전 시료에서 용매 추출(methanol, ethanol)보다는 열수 추출의 수율이 훨씬 높게 나타났으며, 이는 아임계 추출의 가장 낮은 조건인 3 MPa, 90℃에서 추출한 수율과 유사하였다. 아임계 추출의 경우 추출 온도조건이 높아지면서 수율 또한 크게 증가하였으며 210℃에서 가장 높은 수율 결과를 나타냈다.

시료별 추출 수율을 살펴본 결과 열수 추출의 경우 다시마, 미역, 김, 툫 순으로 수율이 높았으며, 아임계 추출의 경우 온도 조건에 따라 달라지는 경향을 보이거나 다시마, 미역의 추출 수율이 타 시료에 비해 높게 나타났다. 이러한 결과로 보아 기존의 추출방법인 열수 추출과 용매 추출(methanol, ethanol)에 비해 아임계 추출을 통한 추출법이 수율면에서 더 효과적임을 알 수 있었다.

Ahn 등(18)은 35종의 해조류 분말에 10배 분량의 methanol을 가하여 실온에서 2일간 추출한 결과 추출 수율이 갈조류가 2.71~11.10%, 홍조류가 1.87~7.35%, 녹조류가 3.58~13.19%라고 보고하여 본 실험결과와 비교해 볼 때 홍조류는 비슷한 결과를 보였고, 갈조류와 녹조류는 조금 낮은 결과를 보였으며 이는 추출횟수나 추출시간에 따라 달라지는 것으로 판단된다.

총당, 환원당 함량

해조류 추출물의 총당 분석 결과는 Table 2와 같다. 기존 추출 방법인 열수 추출과 용매 추출(methanol, ethanol)의 경우 모든 시료에서 열수 추출물의 총당 함량이 높게 나타났으며 이는 수용성인 당이 methanol이나 ethanol 등의 용매보다는 물에 더 잘 용출되는 특성에 기인하는 것으로 판단된다. 아임계 추출의 경우 모든 온도조건(90, 150, 210℃)의 추출물이 용매 추출조건보다는 높은 총당 함량을 보였으며, 3 MPa, 210℃에서 추출하는 경우 열수 추출보다 높은 총당 함량 결과를 보였다. 총당 함량의 시료별 분석 결과 열수 추출물, methanol 추출물과 아임계 추출물의 경우 파래>김>툫>미역>다시마 순으로 당 함량이 높게 나타났으

Table 1. Extraction yield from 5 kind of seaweed extracts with various extract process

(Unit : %)

	Subcritical water extraction (3 MPa)			Water	Methanol	Ethanol
	90℃	150℃	210℃			
Sea mustard 1	36.24±2.40 ¹⁾²⁾	54.32±3.91 ^a	62.37±5.43 ^a	35.38±4.01 ^b	5.30±0.68 ^d	14.38±1.26 ^c
Sea mustard 2	15.38±1.77 ^c	22.47±3.02 ^b	32.86±3.18 ^a	19.76±2.27 ^b	5.87±0.54 ^d	7.20±0.89 ^d
Sea tangle	46.93±5.05 ^b	51.59±4.88 ^b	65.67±6.43 ^a	35.53±4.24 ^c	5.28±0.92 ^e	15.32±2.03 ^d
Sea weed fusiforme	14.70±1.06 ^b	18.75±1.92 ^a	22.36±3.29 ^a	18.55±2.41 ^a	0.36±0.02 ^e	0.96±0.04 ^e
Green laver	8.50±1.02 ^c	14.82±2.25 ^b	35.71±4.53 ^a	8.15±0.97 ^c	5.87±0.72 ^d	3.14±0.65 ^e
Laver	11.13±2.26 ^b	11.10±2.88 ^b	22.68±3.76 ^a	19.42±2.47 ^a	3.75±0.82 ^c	2.61±0.65 ^e

¹⁾Mean±SD of three times measurement²⁾Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

Table 2. Total sugar contents from 5 kind of seaweed extracts with various extract process

(Unit : mg/g)

	Subcritical water extraction (3 MPa)			Water	Methanol	Ethanol
	90℃	150℃	210℃			
Sea mustard 1	72.1±1.2 ¹⁾²⁾	92.3±0.9 ^c	117.3±0.3 ^a	101.2±0.4 ^b	56.6±0.6 ^c	72.1±1.2 ^d
Sea mustard 2	97.4±0.7 ^d	101.3±0.7 ^c	179.6±0.3 ^a	111.1±0.3 ^b	96.5±1.2 ^d	97.4±0.7 ^d
Sea tangle	69.4±0.3 ^c	89.4±0.9 ^b	109.2±1.1 ^a	41.0±0.1 ^e	48.7±0.8 ^d	47.1±0.8 ^d
Sea weed fusiforme	231.4±0.4 ^d	261.7±0.9 ^c	306.1±0.3 ^a	265.8±1.3 ^b	114.1±0.9 ^e	99.8±1.1 ^f
Green laver	328.3±1.4 ^d	384.2±0.2 ^c	427.4±0.5 ^a	401.1±0.7 ^b	141.7±0.4 ^e	125.7±1.2 ^f
Laver	310.0±1.4 ^d	331.3±0.8 ^c	393.1±0.5 ^a	346.9±1.1 ^b	141.1±0.4 ^e	87.5±1.5 ^f

¹⁾Mean±SD of three times measurement²⁾Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

며, 이러한 결과는 ethanol 추출의 경우에서도 거의 유사한 결과를 보였다.

해조류 중 김, 미역, 다시마 등은 식이섬유를 약 32~75% 함유하고 있으며 그중 51~85%가 수용성 식이섬유로 구성 되어 있다. 이러한 해조류에 함유된 식이섬유와 다당류는 혈압 강하작용, 혈중 콜레스테롤 저하효과, 종양세포의 성장저해 효과, 항 혈액응고 효과가 있다고 알려져 있다 (19-21). 따라서 총당 함량이 많은 결과는 해조류 내 다양한 기능성 물질을 좀 더 효과적으로 추출할 수 있는 방법의 지표가 될 것으로 추정된다.

다양한 추출방법을 통한 해조류 추출물의 환원당을 분석한 결과는 총당 측정 결과와 유사하여 열수 추출물이 용매 (methanol, ethanol) 추출물 보다 더 높은 함량을 보였으며, 90°C 아임계 추출물과는 비슷하거나 조금 낮은 결과를 보였다. 아임계 추출온도에 따라 기존의 추출방법에 비해 훨씬 높은 환원당 함량을 보이는 것으로 나타났다. 해조류 시료 별 결과는 총당 함량과는 조금 다른 양상을 보여 툃>김>미역>파래>다시마 순으로 환원당 함량이 높게 나타났다 (Table 3).

총 폴리페놀 함량

5종 해조류 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Table 4와 같다. 총 폴리페놀 함량은 210°C 아임계 추출물이 다른 조건의 추출물보다 유의적으로 높은 결과를 보였으며, 150°C 아임계 추출물 순으로 나타났다. 90°C 아임계 추출물의 경우 열수 추출 방법과 유의적으로 차이가 없거나 일부 시료에서 조금 높은 결과를 보였으며, 용매 추출(methanol, ethanol)은 상대적으로 낮은 결과를 보였다. 또한 시료별 총 폴리페놀 함량은 홍조류인 김(7.9~25.6 mg/g), 갈조류인 툃(7.2~18.1 mg/g), 갈조류인 미역(5.9~14.3 mg/g), 녹조류인 파래(3.2~12.4 mg/g) 순이었으며 모든 시료에서 아임계 추출법이 기존의 추출법에 비해 더 효과적이었다.

Kwak 등(22)은 5종(김, 미역, 다시마, 툃, 파래)의 해조류 ethanol 추출물의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과 파래가 8.97 mg/g으로 가장 높았으며, 김(3.81 mg/g), 미역(2.43 mg/g), 툃(1.44 mg/g), 다시마(1.17 mg/g) 순으로 보고하여 본 실험 결과보다 조금 낮은 결과를 보였다. Ahn 등(18)은 갈조류, 홍조류, 녹조류를 대상으로 총 폴리페놀 함량을 조사한 결과 갈조류의 평균 폴리페놀 함량이 47.88±59.1

Table 3. Reducing sugar contents from 5 kind of seaweed extracts with various extract process

	Subcritical water extraction (3 MPa)			Water	Methanol	Ethanol
	90 °C	150 °C	210 °C			
Sea mustard 1	24.5±0.7 ¹⁾⁽²⁾	36.0±0.6 ^b	42.4±0.9 ^a	28.4±0.9 ^c	8.6±0.4 ^e	6.7±0.3 ^f
Sea mustard 2	37.8±0.5 ^c	51.7±0.3 ^b	62.0±0.6 ^a	37.4±0.9 ^c	20.3±0.6 ^d	13.4±1.2 ^e
Sea tangle	34.4±0.4 ^c	40.4±1.2 ^b	44.7±0.6 ^a	23.5±0.3 ^d	8.3±0.7 ^e	7.9±0.5 ^e
Sea weed fusiforme	89.9±0.8 ^c	138.8±0.6 ^b	151.6±0.9 ^a	67.2±0.4 ^d	37.7±0.2 ^e	30.4±0.6 ^f
Green laver	39.4±1.1 ^c	44.9±1.4 ^b	56.1±0.3 ^a	26.1±0.6 ^d	17.0±0.5 ^e	14.0±0.6 ^f
Laver	66.5±0.9 ^c	103.4±1.3 ^b	153.8±0.5 ^a	38.0±0.2 ^d	22.8±0.6 ^e	16.8±0.7 ^f

1)Mean±SD of three times measurement

2)Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

Table 4. Total polyphenol compounds from 5 kind of seaweed extracts with various extract process

	Subcritical water extraction (3 MPa)			Water	Methanol	Ethanol
	90 °C	150 °C	210 °C			
Sea mustard 1	4.4±1.4 ¹⁾⁽²⁾	7.4±0.6 ^b	14.3±0.3 ^a	4.0±0.9 ^c	1.9±0.2 ^d	0.7±0.1 ^e
Sea mustard 2	6.9±0.8 ^c	11.5±0.2 ^b	14.3±1.1 ^a	6.3±0.7 ^c	6.1±0.8 ^c	5.9±0.3 ^{cd}
Sea tangle	5.8±0.7 ^b	6.5±1.1 ^b	10.8±0.6 ^a	4.3±0.8 ^{bc}	0.8±0.4 ^e	2.2±0.3 ^d
Sea weed fusiforme	9.2±0.4 ^c	13.2±0.8 ^b	18.1±1.3 ^a	8.1±0.7 ^d	8.1±0.5 ^d	7.2±0.6 ^{de}
Green laver	6.1±1.2 ^c	10.1±0.9 ^b	12.4±1.0 ^a	5.5±0.7 ^c	4.3±0.4 ^d	3.2±0.7 ^c
Laver	12.4±0.3 ^c	15.0±0.9 ^b	25.6±0.8 ^a	9.8±0.4 ^d	8.5±0.3 ^c	7.9±0.6 ^c

1)Mean±SD of three times measurement

2)Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

mg/g, 홍조류가 5.36 ± 2.5 mg/g, 녹조류가 11.88 ± 5.6 mg/g으로 갈조류가 총 플라보노이드와 총 폴리페놀 함량이 상대적으로 높다고 하였으며, 항 혈전활성이 우수한 8종의 해조류는 총 폴리페놀 함량이 상대적으로 매우 높은 특징을 나타낸다고 보고하여 이들 해조류는 항산화활성 뿐만 아니라 항 혈전활성도 우수한 것으로 보인다.

항산화 활성

해조류 아임계 추출물 및 열수, methanol, ethanol 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 모든 시료에서 열수 추출, 용매 추출, 3 MPa, 90°C 아임계 추출물의 SC₅₀ 값은 서로 유사한 결과를 보였으며(data not shown), 210°C 아임계 추출물의 경우 SC₅₀ 농도가 현저히 낮아 항산화 활성이 크게 증가하는 것으로 나타났다. 시료간 DPPH radical 소거능은 열수 추출의 경우 시료별 큰 차이를 보이지 않았지만 미역, 김, 툇, 파래, 다시마 순으로 나타났으며, 210°C 아임계 추출물의 경우 김, 툇, 미역, 다시마, 파래 순으로 활성이 보였으며 항산화 활성의 크기도

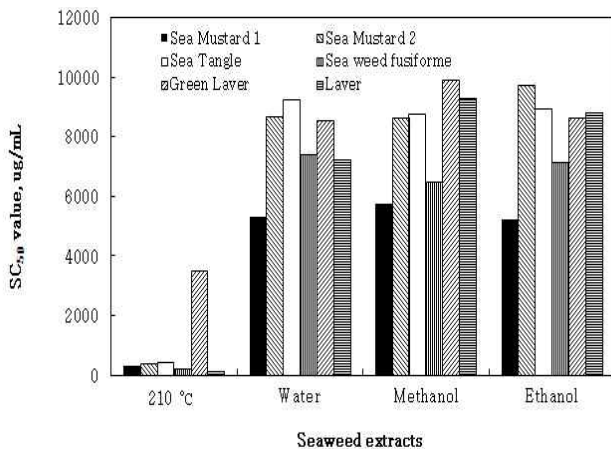


Fig. 1. DPPH radical scavenging test from 5 kind of seaweed extracts with various extract process.

210°C : Subcritical water extract (3 MPa)

크게 증가함을 알 수 있었다.

DPPH radical 소거능은 활성이 있는 시료의 농도에 따라 추출물의 항산화 활성이 달라진다고 하였으며, 추출에 사용된 용매에 따라서 radical 소거 활성이 달라져 항산화 활성이 추출 용매, 농도, 시료 상태 등에 따라 달라짐을 알 수 있었다(22,23). Kim 등(24)은 해조류 methanol 추출물의 가용성 분획과 불용성 분획에 대한 총 페놀 함량과 free radical 소거능을 측정한 결과 가용성 분획의 활성이 높게 나타났는데, 이는 총 페놀 함량과 정의 상관관계를 보인다고 하였으며, methanol 불용성 분획은 7종의 모든 해조류에서 총 페놀이 거의 없었으며 활성 또한 없는 것으로 나타나 항산화 활성이 페놀 화합물과 관련이 있음을 시사하였다.

Tyrosinase 저해효과

미백효과 실험을 위해 tyrosinase 저해 효과를 살펴본 결과(Table 5), 툇과 김이 가장 효과가 좋았으며 미역, 다시마 순으로 나타났고, 파래의 경우 거의 효과가 없는 것으로 나타났다. 추출 방법별 비교는 아임계 추출 방법(90°C, 120°C, 150°C)이 기존의 추출법에 비해 좋은 결과를 보였으며 아임계 추출 온도가 올라갈수록 저해 효과가 증가하는 것으로 나타났고, 비교를 위해 사용된 기존의 추출 방법인 열수 추출과 methanol, ethanol 추출물은 서로 차이를 보이지 않았다.

피부 색소 침착에 영향을 주는 멜라닌은 L-tyrosine의 연속적인 산화반응으로 합성되는데, L-tyrosine은 tyrosinase에 의해 3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)으로 전환되고, L-DOPA는 phenylalanine-3,4-quinone으로 산화되며, 중간대사 산물을 거쳐 최종적으로 멜라닌이 된다. 따라서 피부미백과 관련된 기능성 소재를 개발하기 위해서는 해당 추출물이 tyrosinase의 활성을 저지하는지의 여부가 매우 중요하다고 한다(25,26).

Table 5. Tyrosinase inhibition activity from 5 kind of seaweed extracts with various extract process

(Unit : IC₅₀ value, mg/mL)

	Subcritical water extraction (3 MPa)			Water	Methanol	Ethanol
	90°C	150°C	210°C			
Sea mustard 1	4.96±0.05 ^{1)(d2)}	4.54±0.04 ^c	3.96±0.04 ^f	6.15±0.08 ^c	6.64±0.07 ^b	6.91±0.10 ^a
Sea mustard 2	6.07±0.08 ^b	5.56±0.05 ^c	5.13±0.04 ^d	6.06±0.06 ^b	5.54±0.06 ^c	6.95±0.08 ^a
Sea tangle	5.75±0.06 ^b	5.34±0.05 ^c	4.81±0.06 ^d	5.96±0.04 ^a	5.71±0.07 ^b	5.86±0.07 ^{ab}
Sea weed fusiforme	4.08±0.05 ^d	3.22±0.04 ^c	2.63±0.04 ^f	4.42±0.04 ^c	4.96±0.06 ^b	5.41±0.06 ^a
Green laver	-	-	4.67±0.07 ^a	-	-	-
Laver	4.56±0.06 ^b	3.43±0.03 ^d	2.81±0.04 ^e	4.72±0.04 ^a	4.37±0.05 ^c	4.76±0.06 ^a

¹⁾Mean±SD of three times measurement

²⁾Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

요 약

전라남도 연안에서 대량 생산되고 있는 해조류 5종(다시마·미역·김·파래·툇)을 대상으로 새로운 추출방법인 아임계 추출법을 도입하여 기존의 추출방법(열수, 용매추출)과 비교를 통하여 전남산 해조류의 기능성 측정 및 효율적인 추출물에 대한 자료를 확보하기 위해 조사를 실시하였다. 해조류 추출물 제조는 열수(80℃, 4시간), 용매추출(methanol, ethanol, 실온, 4시간)과 아임계 추출(압력 3 MPa, 온도 90, 150, 210℃)을 이용하여 제조하였다. 추출 수율은 아임계 추출>열수 추출>용매 추출 순으로 높게 나타났으며, 아임계 추출의 경우 추출 온도 조건이 높아지면서 수율 또한 증가하였으며 210℃에서 가장 높은 수율 결과를 나타냈다. 해조류 추출물의 총당 분석 결과 열수와 용매 추출의 경우 모든 시료에서 열수 추출이 높은 총당 함량을 보였으며, 아임계 추출의 경우 모든 조건(90, 150, 210℃)의 추출물이 용매 추출보다는 높은 총당 함량을 보였다. 시료별 총당 함량의 경우 열수 추출물은 파래, 김, 툇, 미역, 다시마 순으로 당 함량이 높았으며, 이러한 결과는 아임계 추출의 경우에서도 동일한 결과를 보였다. 환원당 분석 결과도 총당 결과와 유사하였다. 5종 해조류 추출물의 총 폴리페놀 함량은 210℃ 아임계 추출물>150℃ 아임계 추출물>90℃ 아임계 추출물>열수 추출물>methanol 추출물>ethanol 추출물 순으로 높게 나타났다. 해조류 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과, 모든 해조류 시료에서 열수 추출, 용매 추출, 3 MPa, 90℃ 아임계 추출물의 SC₅₀ 값은 서로 유사한 결과를 보였으며, 150℃ 아임계 추출물의 경우 농도가 조금 낮아졌으며, 특히 210℃ 아임계 추출물의 경우 SC₅₀ 농도가 현저히 낮아져 항산화 활성이 크게 증가하는 것으로 나타났다. 미백효과 실험을 위해 tyrosinase 저해 효과를 살펴본 결과 툇과 김이 가장 효과가 좋았으며 미역, 다시마, 미역귀 순으로 나타났고, 파래의 경우 거의 효과가 없는 것으로 나타났다. 결론적으로 새로운 추출방법인 아임계 추출법은 다른 방법에 비하여 높은 항산화 활성을 보여준다는 사실을 확인할 수 있었고, 이러한 추출공정은 식품소재로부터 기능성 성분을 보다 더 효과적으로 추출하는 방법으로 적용할 수 있을 것으로 판단된다.

References

- Lee IK, Gang SW (1986) A check list of marine algae in Korea. *Algae*, 2, 311-325
- Sohn JW (2009) A study on Korean seaweed foods by literature review. *Korean J Food Nutr*, 22, 75-86
- Cho DM, Kim DS, Lee DS, Kim HR, Pyeun JH (1995) Trace components and functional saccharides in seaweed. 1. Changes in proximate composition and trace element according to the harvest season and places. *Bull Korean Fish Soc*, 28, 49-59
- Mabeau S, Fleurence J (1993) Seaweed in food products ; Biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci Technol*, 4, 103-107
- Funahashi H, Imai T, Mase T, Sekiya M, Yokoi K, Hayashi H, Shibata A, Hayashi T, Nishikawa M, Suda N, Hibi Y, Mizuno Y, Tsukamura K, Hatakawa A, Tanuma S (2001) Seaweed prevents breast cancer. *Japan J Cancer Res*, 92, 483-487
- Lim EJ, Cho KR, Kim JY, Lee YH, Ho JM, Kim YJ, Cho HY (2008) The anticoagulant and anticancer activities of *Enteromorpha intestinalis* extracts. *Korean J Food Nutr*, 21, 7-14
- Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH, Rhee KS (1991) Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. *Korean J Food Sci Technol*, 23, 256-261
- Roh MK (2009) Recovery of monosaccharide and amino acid from brown seaweed (*Undaria pinnatifida*) by sub- and supercritical water hydrolysis. Ph D Thesis, Pukyong National University, Korea
- Anitescu G, Zang Z, Tavlarides LL (1999) A kinetic study of methanol oxidation in supercritical water. *Ind Eng Chem Res*, 38, 2231-2237
- Choi JW, Lim HJ, Han KS, Choi DH (2006) Thermo-chemical conversion of poplar wood to monomeric sugars by supercritical water treatment. *J Wood Sci & Technol*, 34, 44-50
- Martino JC, Savage PE (1999) Oxidation and thermolysis of methoxy-, nitro-, and hydroxy-substituted phenols in supercritical water. *Ind Eng Chem Res*, 38, 1784-1791
- Dubois M, Gillers KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substance. *Anal Chem*, 28, 350-352
- Joo HK (1989) Analysis method of food. *Yurim-munhwasa*, 1th ed, Seoul, Korea, p 273-276
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15th ed, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, p 703
- Gutfinger T (1981) Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc*, 58, 966-968
- Abe N, Nemoto A, Tsuchiya Y, Hojo H, Hirota A (2000) Studies of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging mechanism for a 2-pyrone compound. *Biosci Biotech Biochem*, 64, 306-333
- Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DS (1995) Screening

- of tyrosinase inhibitor from plants. Korean J Food Sci Technol, 27, 891-896
18. Ahn SM, Hong YK, Kwon GS, Sohn HY (2010) Evaluation of in-vitro anticoagulation activity of 35 different seaweed extracts. J Life Sci, 20, 1640-1647
 19. Lahaye M (1991) Marine algae as sources of fibers : Determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some sea vegetables. J Sci Food Agric, 54, 587-594
 20. Grid JP, Marion C, Liutkus M, Boucard M, Rechencq E, Vidal JP, Rossi JC (1988) Hypotensive constituents of marine algae. 1 Phamacological studies of laminine. Plantamed, 54, 193-196
 21. Jung BM, Ahn CB, Kang SJ, Park JH, Chung DH (2001) Effects of *Hizikia fusiforme* extracts on lipid metabolism and liver antioxidative enzyme activities in triton-induced hyperlipidemic rats. J Korean Soc Food Sci Nutr, 30, 1184-1189
 22. Kwak CS, Kim SA, Lee MS (2005) The correlation of antioxidative effects of Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. J Korean Soc Food Sci Nutr, 34, 1143-1150
 23. Park JH, Kang KC, Baek SB, Lee YH, Rhee KS (1991) Separation of antioxidant compounds from edible marine algae. Korean J Food Sci Technol, 23, 256-261
 24. Kim BM, Jun JY, Park YB, Jeong IH (2006) Antioxidative activity of methanolic extracts from seaweeds. J Korean Soc Food Sci Nutr, 35, 1097-1101
 25. Seo SY (2001) Screening of tyrosinase inhibitors from oriental herbs. Korean J Plant Res, 14, 32-37
 26. Han JY, Sung JH, Kim DJ, Jeong HS, Lee JS (2008) Inhibitory effect of methanol extract and its fractions from grape seeds on mushroom tyrosinase. J Korean Soc Food Nutr, 37, 1679-1683

(접수 2013년 3월 7일 수정 2013년 9월 4일 채택 2014년 2월 10일)