

회초리말(*Mutimo cylindricus*)의 항산화, 항염 및 미백 활성

박상남¹, 이옥희^{2*}

¹경동대학교 임상병리학과 교수

²경동대학교 보건관리학과 교수

The Antioxidation Effect of *Mutimo cylindricus* Extract and Its Influence on Cell Bioactivity

Sang-Nam Park¹, Ok-Hee Lee^{2*}

¹Professor, Department of Clinical Laboratory Science, KyungDong University

²Professor, Department of Health Administration, KyungDong University

요약 본 연구는 갈조류 중 하나인 회초리말의 기능성 화장품 원료로서 기능성을 알아보기 위하여, 항산화 실험 및 세포실험을 실시하였다. 항산화능 측정을 위해 회초리말을 70% 에탄올로 추출물을 제조하였다. 항산화 측정에는 DPPH와 ABTS 법을 사용하였으며, 각 실험에서 EC50값이 2.040과 2.182 mg/mL로 나타났다. 폴리페놀 함량과 환원능 측정에서는 103 mg gallic acid/g extract의 폴리페놀 함량과 134 mg ascorbic acid/g extract의 환원능이 나타났다. 세포실험에서는 MTT 법을 사용하여 해당 추출물이 세포독성이 없음을 나타내었으며, 100 µg/mL 농도에서 항염능과 미백능을 나타내었다. 결과적으로 수송나물 추출물은 미백 및 항염능을 가진 화장품 소재로서 사용가능함을 확인하였다.

주제어 : 갈조류, 회초리말, 항염, 미백, 항산화

Abstract The objective of this study was to evaluate functionality of *Mutimo cylindricus* as a cosmetic ingredient, one of the brown algae. The *M. cylindricus* 70% ethanol extract was manufactured for antioxidant measurement. DPPH and ABTS methods were used to measure antioxidants, and its EC50 values were 2.040 and 2.182 mg/mL in each experiment. The measurement of total polyphenol contents and reducing power showed total polyphenol content of 103 mg gallic acid/g extract and reducing power of 134 mg ascorbic acid/g extract. To measure cell toxicity, MTT method was used, and its result showed that the extract was not cytotoxic. And it has anti-inflammatory and whitening activity at concentrations of 100 µg/mL. The result confirmed that *M. cylindricus* extract is available as a cosmetic material with whitening and anti-inflammatory properties.

Key Words : Brown algae, *Mutimo cylindricus*, Antiinflammation, Whitening, Antioxidant

1. 서론

해양은 지구의 70%를 차지하고 있으며, 해조류는 이러한 해양에서 생산되는 생물자원이다. 해조류는 미세조류와 거대조류로 나뉘지며, 해조류의 성장은 육상식

물에 비하여 빠르고 단위면적당 생산성이 높다[1]. 동시에 열량이 낮고 비타민, 무기질, 단백질, 필수지방산 같은 필수 영양소와 폴리페놀, 카로티노이드 같은 생리활성물질을 함유하고 있어 높은 이용가치를 지닌다[2,3]. 하지만 70여 종의 해조류만 식용, 약용, 공업 제품의 원

*Corresponding Author : Ok-Hee Lee (loh1126@kduniv.ac.kr)

료, 가축 사료 및 비료 등으로 이용되고 있으며, 그 이외의 종은 거의 이용되지 않고 있다[4]. 해조류의 연구가 미비한 이유로는 시료 채취의 어려움, 시료의 생물학적 분류, 시료 보관 및 염 제거와 같은 전처리의 방법, 추출 방법 등 지상식물 연구 방법과 많은 차이가 있기 때문이다[5,6]. 이러한 어려움에도 불구하고 해조류로부터 2,400종 이상의 천연물질이 의약품 및 식품 첨가제로서 연구되고 있으며[7] 해조류를 다양한 산업에 응용하고자 하는 시도가 계속되고 있다.

해조류는 화장품 산업에도 많은 응용 가능성을 보인다. 최근 미용의 경향이 변화하여 외모를 화려하게 꾸미는 화장품보다 피부의 건강함이 화장품의 주 목적이 되었으며, 이에 따라 항산화능이나 항염같은 피부 건강에 주 목적을 둔 화장품에 대한 요구가 증가하고 있다. 최근 화장품 원료의 주된 특징 중 하나인 항산화능은 내인성 노화의 원인인 활성산소종을 소거하는 특성을 말하며[8], 항염능은 외인성 노화의 원인인 염증반응을 억제하는 특성을 말한다[9]. 해조류는 이러한 항산화능과 항염능을 가지고 있어 화장품 소재로서도 높은 가능성을 보인다.

본 실험에서는 2012년 분류된 해조류인 회초리말(*Mutimo cylindricus*)에 대한 연구를 진행하였다[10]. 회초리말은 갈조류에 속하는 거대조류이며, 일반적으로 갈조류는 fucoidan, alginic acid 등 다당류 및 폴리페놀과 같은 다양하고 강력한 항산화 및 항염 물질을 함유하고 있다[11]. 특히 갈조류의 폴리페놀은 플로로글루시놀(phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene))이라는 물질을 기본 구조로 하는 플로로탄닌(phlorotannin)이라는 독특한 폴리페놀 2차 대사산물을 함유하여 지상 식물보다 강한 생물학적 특성을 보인다[12].

이러한 이유로 갈조류는 새로운 화장품 원료로서 주목받고 있다. 본 논문에서는 이러한 갈조류 중 회초리말의 항산화능 및 세포활성을 측정하여 화장품 원료로서의 가능성을 알아보려고 하였다.

2. 실험 방법

2.1 사용 시료 및 추출물

항산화 실험에 사용된 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), ascorbic acid, ferric chloride,

Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, manganese dioxide, phosphate buffered saline (PBS), potassium ferricyanide, sodium carbonate, trichloroacetic acid 는 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다.

세포 독성 실험에는 RAW 264.7, B16F10 cell line(한국세포주은행, 한국)을 사용하였다. 세포 배양에 사용된 배양액은 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, GE healthcare, USA), fetal bovine serum(FBS, Sigma, USA), penicillin-streptomycin solution(Sigma, USA)를 사용하였다.

실험에 사용된 회초리말 추출물은 해양수산부의 해양생명자원 정보 표준화 및 통합 데이터베이스 시스템인 해양생명자원 정보시스템(Marine Bio-Resource Information System, MBRIS)에서 분양받아 사용하였다.

2.2 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH)

소거능 측정

DPPH assay는 천연물의 수용성 혹은 유기용매 추출물의 항산화 활성 측정법으로 널리 사용하는 방법이다[13].

각 추출물은 0.313, 0.625, 1.250, 2.500, 5.000 mg/mL의 농도가 되도록 70% ethanol로 희석하여 사용하였다. DPPH는 95% ethanol에 희석하여 520 nm에서 흡광도가 0.6이 되도록 조정하였다. 추출물 용액 0.20 mL와 DPPH 용액 1.80 mL를 test tube에 주입 후 혼합하여 30분간 반응시켰다. 반응물은 UV-Vis Spectrophotometer (Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid (Sigma, USA)를 사용하였다. DPPH radical scavenging activity는 시료 첨가 전의 흡광도와 시료 첨가 후의 흡광도를 측정하여 식(1)과 같이 백분율로 표시하였다.

$$\text{Radical scavenging activity(\%)} = (\text{OD}_{520\text{nm}} \text{ of blank} - \text{OD}_{520\text{nm}} \text{ of sample}) / \text{OD}_{520\text{nm}} \text{ of blank} * 100 \quad \text{식(1)}$$

2.3 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) acid (ABTS) radical 소거능 측정

ABTS assay는 천연물 추출물의 항산화 활성 측정법으로 널리 사용하는 방법이다[14].

각 추출물은 0.313, 0.625, 1.250, 2.500, 5.000 mg/mL의 농도가 되도록 70% ethanol로 희석하여 사용하였다. ABTS는 2.5 mM 농도로 pH 7.40인 5 mM PBS에 희석한 뒤 oxidizing agent로서 manganese dioxide를 첨가하여 발색시켰다. 740 nm에서 흡광도가 0.6 이상이 되도록 발색이 되면 Whatman no. 2 filter paper를 이용하여 manganese dioxide를 제거한 후 흡광도가 0.6이 되도록 pH 7.40인 5 mM PBS으로 희석하였다. 추출물 용액 0.20 mL와 ABTS 용액 1.80 mL를 test tube에 주입 후 혼합하여 30분간 반응시켰다. 반응물은 UV-Vis Spectrophotometer (Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 740 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid (Sigma, USA)를 사용하였다. ABTS radical scavenging activity는 시료첨가구와 무첨가구의 흡광도를 구하여 식(2)와 같이 백분율로 표시하였다.

$$\text{Radical scavenging activity(\%)} = (\text{OD}_{740\text{nm}} \text{ of blank} - \text{OD}_{740\text{nm}} \text{ of sample}) / \text{OD}_{740\text{nm}} \text{ of blank} * 100 \quad \text{식(2)}$$

2.4 Total phenolic content

천연물 추출물에는 다양한 antioxidant가 포함되어 있으며, 천연물의 종류에 따라 차이가 있으나 phenolic content가 차지하는 비율이 높다. 이러한 이유로 phenolic content의 양을 측정하여 추출물의 항산화능을 유추할 수 있다.

각 추출물은 2.5, 5.0, 10.0 mg/mL로 DMSO로 희석하여 사용하였다. NaCO₃ 포화용액은 증류수에 과량의 sodium carbonate를 용해시킨 뒤, Whatman no. 2 filter paper를 이용하여 녹지 않은 sodium carbonate를 제거하였다. 추출물 0.02 mL와 Folin-Ciocalteu reagent 0.01 mL, sodium carbonate 포화용액 0.06 mL를 micro tube에 주입한 뒤 15분간 반응시켰다. 그 후 증류수 0.20 mL를 주입하여 원심분리 후 상층액을 분리하였다. 반응물은 UV-Vis Spectrophotometer (Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 740 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 gallic acid를 사용하였다.

2.5 Reducing power

Reducing power 측정은 다음 방법으로 측정하였다. 각 추출물은 2.5, 5.0, 10.0 mg/mL로 DMSO로 희석하여 사용하였다. 추출물 0.05 mL와 sodium phosphate buffer (pH 6.6) 0.50 mL, 1% potassium ferricyanide 0.50 mL를 test tube에 주입한 뒤 50°C에서 20분간 반응시켰다. 그 후 10% trichloroacetic acid 2.00 mL를 주입하여 원심분리 후 상층액을 분리하였다. 그 후 상층액 0.10 mL와 0.1% ferric chloride 0.10 mL를 반응시켜 UV-Vis Spectrophotometer (Ultrospec 3100 pro, GE Healthcare, USA)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

2.6 세포 독성 실험

세포독성은 다음 방법으로 측정하였다.

DMEM 445 mL, FBS 50 mL, penicillin-streptomycin solution 5 mL을 혼합하여 배양액을 제조하였다. 세포 배양은 37°C, 5% CO₂조건에서 배양하였다. 추출물은 DMEM용액을 용매로 하여 12.5, 25.0, 50.0, 100 µg/mL 농도로 제조하였다.

세포독성실험은 MTT assay를 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 각 well 당 3.0×10⁴ cell을 seeding하여 1일간 37°C, 5% CO₂조건에서 세포를 배양하였다. 배양 후 상층액을 회수한 뒤 DMEM 배지 180p와 추출물 희석액을 20p 주입하여 다시 2일간 배양하였다. 배양 후 추출물 희석액을 회수한 뒤 MTT solution을 100p씩 처리하여 4시간 동안 결정화시켰다. 그 후 MTT solution을 다시 제거한 뒤, DMSO 100p를 처리하여 결정화된 MTT를 다시 용해시켜, 560nm 흡광도를 통해 결정화된 MTT의 양을 측정하였다. MTT의 결정 생성은 NADH의 양과 비례하며, 생존한 세포수에 비례한다. 세포생존률은 식(3)와 같이 백분율로 표시하였다.

$$\text{Survival rate(\%)} = (\text{OD}_{550\text{nm}} \text{ of sample} / \text{OD}_{550\text{nm}} \text{ of blank}) * 100 \quad \text{식(3)}$$

2.7 Melanin 생성 억제능

Melanin 생성 억제능 실험에는 B16F10 cell을 사용하였다. 세포 배양에는 DMEM, FBS, penicillin-

streptomycin solution을 사용하였으며, melanin 생성을 유도하기 위하여 α -melanocyte stimulating hormone(α -MSH, Sigma, USA)을 사용하였다. DMEM 470 ml, FBS 25 ml, penicillin-streptomycin solution 5 ml을 혼합하여 배양액을 제조하였다. 세포 배양은 37°C, 5% CO₂조건에서 배양하였다. 추출물 희석액은 DMEM용액을 용매로 하여 12.5, 25.0, 50.0, 100 μ g/mL 농도로 제조하였다. 96 well plate에 각 well 당 5.0×10^4 cell을 seeding하여 1일간 37°C, 5% CO₂조건에서 세포를 배양하였다. 배양 후 상층액을 회수한 뒤 α -MSH가 0.1 μ g/mL 농도로 첨가된 DMEM 배지 180p와 추출물 희석액을 20p 주입하여 다시 4일간 배양하였다. 배양 후 405 nm 흡광도를 측정하였다. 405 nm 흡광도는 생성된 melanin의 양과 비례한다. Melanin 생성 억제능의 계산은 식(4)와 같이 계산하였다.

$$\text{Melanin 생성 억제능(\%)} = [1 - (\text{OD}_{405\text{nm}} \text{ of sample} / \text{OD}_{405\text{nm}} \text{ of blank})] * 100 \quad \text{식(4)}$$

2.8 Nitric oxide 생성 억제능

Nitric oxide 생성 억제능 실험에는 RAW 264.7 cell을 사용하였다. 세포 배양에는 DMEM, FBS, penicillin-streptomycin solution을 사용하였으며, 염증반응을 유도하기 위하여 lipopolysaccharide (Sigma, USA)를 사용하였다. Nitric oxide 생성 억제능은 griess reagent를 이용하여 측정하였다. Griess reagent는 1% sulfanilamide(TCI, Japan)를 5% phosphoric acid (Junsei, Japan)에 녹인 것과 0.1% naphthylethylenediamine dihydrochloride (TCI, Japan)수용액을 1 : 1 비율로 혼합한 것을 사용하였다. DMEM 445 ml, FBS 50 ml, antibiotics 5 ml을 혼합하여 배양액을 제조하였다. 세포 배양은 37°C, 5% CO₂조건에서 배양하였다. 추출물 희석액은 DMEM용액을 용매로 하여 12.5, 25.0, 50.0, 100 μ g/mL 농도로 제조하였다.

96 well plate에 각 well 당 5.0×10^4 cell을 seeding하여 1일간 37°C, 5% CO₂조건에서 세포를 배양하였다. 배양 후 상층액을 회수한 뒤 LPS가 1 μ g/mL 농도로 첨가된 DMEM 배지 180p와 추출물 희석액을 20p 주입하여 다시 2일간 배양하였다. 배양 후

추출물 희석액의 상층액 100p를 회수한 뒤 griess reagent를 100p씩 처리하여 15분간 동안 반응시켰다. 그 후 540 nm 흡광도를 측정하였다. 540 nm 흡광도는 생성된 NO의 양과 비례한다. Nitric oxide 생성 억제능의 계산은 식(5)와 같이 계산하였다.

$$\text{Nitric oxide 생성 억제능(\%)} = [1 - (\text{OD}_{540\text{nm}} \text{ of sample} / \text{OD}_{540\text{nm}} \text{ of blank})] * 100 \quad \text{식(5)}$$

3. 결과 및 고찰

3.1 DPPH radical 소거능

DPPH는 비교적 안정한 상태의 free radical이며, 이를 이용하여 항산화력을 측정하는데 널리 이용하고 있다[15]. 여기서 free radical은 인체의 DNA, 단백질과 대사산물에 화학적 손상을 주며, 이러한 손상이 노화의 원인이 되는 것으로 알려져 있다[16].

회초리말의 DPPH radical scavenging activity를 보기 위해 회초리말 추출물을 희석하여 DPPH radical solution에 반응시켜 측정하였다. 회초리말 추출물의 DPPH radical scavenging activity를 측정한 결과 Fig. 1과 Table 1과 같은 결과를 나타내었다. 이를 통해 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH radical scavenging activity가 농도에 따라 증가하는 것을 확인하였다. 회초리말 추출물은 0.313 mg/mL에서 $2.83 \pm 0.98\%$, 0.625 mg/mL에서 $12.56 \pm 1.10\%$, 1.250 mg/mL에서 $28.28 \pm 0.34\%$, 2.500 mg/mL에서 $54.11 \pm 0.16\%$, 5.000 mg/mL에서 $94.39 \pm 0.31\%$ 의 radical scavenging activity를 보였다.

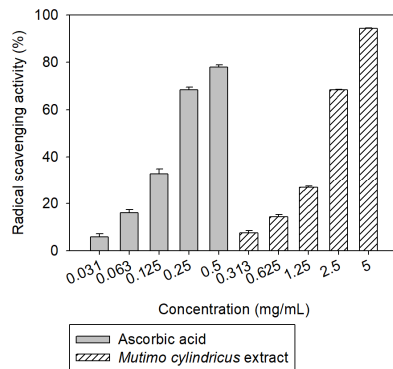


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of Mutimo cylindricus extract and ascorbic acid.

Table 1. Mean and standard deviation of DPPH radical scavenging activity of Mutimo cylindricus extract

	RSA (%)		S.D
0.313 mg / mL	7.67	±	0.82
0.625 mg / mL	14.44	±	0.93
1.25 mg / mL	26.83	±	0.49
2.5 mg / mL	68.33	±	0.27
5 mg / mL	94.39	±	0.21

이를 기반으로 ascorbic acid의 EC₅₀을 계산한 결과 0.151 mg/mL로 나타났으며 회초리말 추출물의 EC₅₀을 계산한 결과 2.040 mg/mL로 나타났다.

이 수치는 갈조류 10종에 대해 항산화능을 실험한 선행연구와 비교하였을 때, *Ishige foliacea*와 *Sargassum nigrifolium* 다음으로 높은 항산화능을 보여 선행연구에서 연구된 10종의 갈조류 중 높은 수치를 나타내었다[6].

3.2 ABTS radical 소거능

ABTS 역시 비교적 안정한 상태의 free radical이며, DPPH보다 다양한 방법을 통한 radical 소거능을 측정할 수 있고, hydrophilic한 물질뿐 아니라 hydrophobic한 물질에도 적용이 가능하여 더욱 다양한 시료에 응용할 수 있다.

회초리말의 ABTS radical scavenging activity를 보기 위해 회초리말 추출물을 희석하여 ABTS radical solution에 반응시켜 측정하였다. 회초리말 추출물의 ABTS radical scavenging activity를 측정한 결과 Fig. 2와 Table 2와 같은 결과를 나타내었다. 이를 통해, 추출물의 농도가 증가함에 따라 ABTS radical scavenging activity가 농도에 따라 증가하는 것을 확인하였다. 회초리말 추출물은 0.313 mg/mL에서 2.83±0.98%, 0.625 mg/mL에서 12.56±1.10%, 1.250 mg/mL에서 28.28±0.34%, 2.500 mg/mL에서 54.11±0.16%, 5.000 mg/mL에서 94.39±0.31%의 radical scavenging activity를 보였다.

이를 기반으로 ascorbic acid의 EC₅₀을 계산한 결과 0.362 mg/mL로 나타났으며 회초리말 추출물의 EC₅₀을 계산한 결과 2.182 mg/mL로 나타났다.

이 수치는 갈조류 10종에 대해 항산화능을 실험한 선행연구와 비교하였을 때, *Ishige foliacea* 다음으로

높은 항산화능을 보여 선행연구에서 연구된 10종의 갈조류 중 높은 수치를 나타내었다[6].

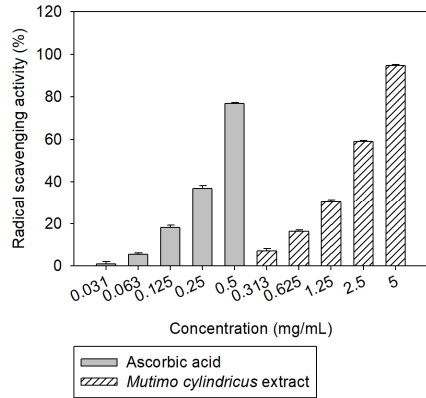


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of Mutimo cylindricus extract and ascorbic acid.

Table 2. Mean and standard deviation of ABTS radical scavenging activity of Mutimo cylindricus extract

	RSA (%)		S.D
0.313 mg / mL	7.06	±	1.22
0.625 mg / mL	16.28	±	0.70
1.25 mg / mL	30.33	±	1.22
2.5 mg / mL	59.06	±	0.48
5 mg / mL	94.67	±	0.59

3.3 Total phenolic content

폴리페놀 화합물에 존재하는 hydroxyl group은 free radical의 중화시키는 수소이온을 공여하는 능력이 있으며, 폴리페놀의 함량이 증가할수록 항산화력이 증가하는 경향을 보인다[17,18]. 이러한 이유로 phenolic content의 양을 측정하여 추출물의 항산화능을 유추할 수 있다.

이러한 이유로 회초리말의 total phenolic content를 측정하였다. 회초리말 추출물의 total phenolic content를 측정한 결과 Table 3과 같은 결과를 나타내었다. 이를 통해, 추출물의 농도가 증가함에 따라 total phenolic content가 농도에 따라 증가하는 것을 확인하였다. 회초리말 추출물은 0.25 mg/mL에서 0.021±0.018 mg/mL, 0.50 mg/mL에서 0.059±0.018 mg/mL, 1.00 mg/mL에서 0.103±0.018 mg/mL의

total phenolic content를 보였다. 이를 환산하면 103 mg gallic acid/g extract로 나타났다.

이 수치는 갈조류 10종에 대해 항산화능을 실험한 선행연구와 비교하였을 때, 가장 높은 total phenolic content를 보여 선행연구에서 연구된 10종의 갈조류 중 높은 수치를 나타내었다[6].

Table 3. Mean and standard deviation of total phenolic contents of Mutimo cylindricus extract

	mg		S.D
0.25 mg / mL	0.021	±	0.018
0.50 mg / mL	0.059	±	0.018
1.00 mg / mL	0.103	±	0.018

3.4 Reducing power

Reducing power은 항산화 물질의 radical quenching processes와 관련이 적다고 주장되어졌으나, 식물 추출물에 대한 실험의 경우 ABTS 및 total phenolic content와 유의미한 상관관계를 가져 다른 항산화능 측정 방법과 같이 유의미한 결과를 내는 것으로 나타났다[19].

이러한 이유로 회초리말의 reducing power를 측정하였다. 회초리말 추출물의 reducing power를 측정할 결과 Table 4와 같은 결과를 나타내었다. 이를 통해, 추출물의 농도가 증가함에 따라 A reducing power가 농도에 따라 증가하는 것을 확인하였다. 회초리말 추출물은 0.25 mg/mL에서 0.033 ± 0.007 mg/mL, 0.50 mg/mL에서 0.066 ± 0.016 mg/mL, 1.00 mg/mL에서 0.138 ± 0.016 mg/mL의 reducing power를 보였다. 이를 환산하면 134 mg ascorbic acid/g extract로 나타났다. 이 수치는 회초리말 추출물이 ascorbic acid의 13.4%의 항산화력을 지닌 것을 의미하며, DPPH에서의 결과인 7.4%보다 높게 측정되었으며, ABTS에서의 결과인 16.59%보다 낮게 측정되었다.

Table 4. Mean and standard deviation of total phenolic contents of Mutimo cylindricus extract

	mg/mL		S.D
0.25 mg / mL	0.033	±	0.004
0.50 mg / mL	0.066	±	0.012
1.00 mg / mL	0.138	±	0.014

3.5 세포 독성 측정

회초리말 추출물의 RAW 264.7과 B16F10 세포에 대한 세포 독성을 확인하고자 12.5, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도 별로 처리하여 세포 독성 평가 결과를 나타내었다.

세포 생존율은 대조군을 100%로 보았을 때 Table 5와 같은 결과를 나타내었으며 RAW 264.7에서는 모든 농도에서 100%이상의 생존율을 보였고, B16F10에서는 25 μ g/mL이외의 모든 농도에서 100%이상의 생존율을 보였다(Table 6).

Table 5. Mean and standard deviation of cell viability of B16F10 and Raw 264.7 cell with Mutimo cylindricus extract

B16F10	Cell viability (%)		S.D
12.5 μ g/mL	100.14	±	1.27
25.0 μ g/mL	100.98	±	2.50
50.0 μ g/mL	106.19	±	3.97
100 μ g/mL	123.21	±	3.39
Raw 264.7	Cell viability (%)		S.D
12.5 μ g/mL	101.76	±	1.50
25.0 μ g/mL	99.31	±	2.77
50.0 μ g/mL	101.48	±	1.72
100 μ g/mL	103.16	±	1.80

3.6 Melanin 생성 억제능

회초리말 추출물의 B16F10 세포에 대한 melanin 생성 억제능을 확인하고자 12.5, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도 별로 처리하여 melanin 생성 억제능을 나타내었다. 대조군으로서는 arbutin을 동일한 농도로 처리하여 melanin 생성 억제능을 나타내었다.

Melanin 생성 억제능은 melanocyte-stimulating hormone 처리군을 100%로 보았을 때 Table 6과 같은 결과를 나타내었으며 B16F10에서는 100 μ g/mL 농도에서 81.56%의 melanin 생성을 보였다. 한편 대조군으로 처리한 arbutin의 경우 100 μ g/mL 농도에서 78.23%의 melanin 생성을 보였다. 즉 회초리말 추출물은 arbutin의 89.29% 정도의 melanin 생성 억제능을 지니고 있다.

이 수치는 *Undaria pinnatifida*와 *Ecklonia cava*에 대해 미백능을 실험한 선행연구와 비교하였을 때,

유사한 수치를 나타내었으나, *U. pinnatifida*와 *E. cava*는 높은 세포독성을 보여 화장품으로서 부적합할 가능성이 높다[20].

Table 6. Mean and standard deviation of melanin inhibitory activity of *Mutimo cylindricus* extract

	Melanin inhibitory activity (%)		S.D
12.5 μ g/mL	2.06	±	2.94
25.0 μ g/mL	7.17	±	2.11
50.0 μ g/mL	11.51	±	2.58
100 μ g/mL	19.44	±	3.08

3.7 Nitric oxide 생성 억제능

회초리말 추출물의 Raw 264.7 세포에 대한 nitric oxide 생성 억제능을 확인하고자 12.5, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도 별로 처리하여 nitric oxide 생성 억제능을 나타내었다.

Nitric oxide 생성 억제능은 lipopolysaccharide 처리군을 100%로 보았을 때 Table 7과 같은 결과를 나타내었으며, Raw 264.7에서는 100 μ g/mL 농도에서 56.41%의 nitric oxide 생성 억제능을 보였다.

이 수치는 갈조류 9종에 대해 항염능을 실험한 선행 연구와 비교하였을 때, 3번째로 높은 total phenolic content를 보여 9종의 갈조류 중 비교적 높은 수치를 나타내었다[21].

Table 7. Mean and standard deviation of nitric oxide inhibitory activity of *Mutimo cylindricus* extract

	Nitric oxide inhibitory activity (%)		S.D
12.5 μ g/mL	5.47	±	2.01
25.0 μ g/mL	13.87	±	1.79
50.0 μ g/mL	28.42	±	3.37
100 μ g/mL	56.41	±	1.12

4. 결론

기존 약용 및 식용으로 사용되는 회초리말의 화장품 원료로서의 가능성을 실험해 보기 위해 회초리말의 항산화능, 항염, 미백능을 평가하여 해 보았다.

DPPH를 통한 항산화능 측정 결과, 회초리말 추출물

은 2.040 mg/mL의 EC₅₀을 보였다.

ABTS를 통한 항산화능 측정 결과, 회초리말 추출물은 2.182 mg/mL의 EC₅₀을 보였다.

Total phenolic content 측정 결과, 회초리말 추출물은 103 mg gallic acid/g extract에 해당하는 total phenolic content를 함유하고 있으며, reducing power 측정 결과 134 mg ascorbic acid/g extract에 해당하는 reducing power를 가지고 있었다.

세포 생존율은 사용된 RAW 264.7 세포와 B16F10 세포 모두, 실험 농도범위에서 유의미한 세포독성을 보이지 않았다.

B16F10 세포를 통한 미백능 측정 결과, 회초리말 추출물은 arbutin의 89.29% 정도의 melanin 생성 억제능을 지니고 있으며 강한 미백능을 보여 미백 화장품으로서의 가능성을 보였다.

RAW 264.7 세포를 통한 항염능 측정 결과, 회초리말 추출물은 100 μ g/mL에서 56.31% 정도의 nitric oxide 생성 억제능을 나타내었다.

이와 같은 결과를 종합해 볼 때 회초리말 추출물은 높은 항산화능을 지니고 있으며, 많은 phenolic content를 함유하고 있다. 이러한 항산화능과 phenolic content는 세포 내 ROS 생성 억제를 통한 미백 효과 및 항염효과를 나타낸 것으로 보인다. 이러한 이유로 회초리말 추출물은 미백 및 항염능을 가진 화장품 소재로서의 개발 가능성이 있다.

REFERENCES

- [1] G. T. Jeong & D. H. Park. (2014). Effect of Pretreatment Method on Lipid Extraction from *Enteromorpha intestinalis*. *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, 29(1), 22-28. DOI : 10.7841/ksbbj.2014.29.1.22
- [2] C. S. Kumar, P. Ganesan, P. V. Suresh & N. Bhaskar. (2008). Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds-a review. *Journal of Food Science and Technology*, 45(1), 1.
- [3] Y. E. Jeon, F. Y. Xing, S. S. Lim, C. K. Chung & I. J. Kang. (2012). Antioxidant Activities and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities from Seaweed Extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 41(4), 443-449. DOI : 10.3746/jkfn.2012.41.4.443

- [4] Y. H. Park, Y. J. Kang, J. H. Pyeun & H. K. Oh. (1976). Chemical Composition of Unexploited Algae and Extraction of Algal Protein = Utilization of Unexploited Algae for Food or Other Industrial Uses. *Journal of the Korean Fisheries Society*, 9(3), 155-162.
- [5] N. Y. Park, I. S. Kim & Y. J. Jeong. (2008). Effects of Extraction Conditions on the Componential Extraction of Brown Seaweed (*Undaria pinnatifida*). *Preventive Nutrition and Food Science*, 13(4), 321-326.
DOI : 10.3746/jfn.2008.13.4.321
- [6] C. H. Lee, Y. N. Park & S. G. Lee. (2020). Analysis and Comparison of Bioactive Compounds and Total Antioxidant Capabilities of Korean Brown Algae. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 54-59.
DOI : 10.9721/KJFST.2020.52.1.54
- [7] P. Kumari, C. R. K. Reddy & B. Jha. (2011). Comparative evaluation and selection of a method for lipid and fatty acid extraction from macroalgae. *Analytical biochemistry*, 415(2), 134-144.
DOI : 10.1016/j.ab.2011.04.010
- [8] B. Poljšak & R. Dahmane. (2012). Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatology research and practice*, 2012(1), 1-4.
DOI : 10.1155/2012/135206
- [9] B. Poljšak, R. G. Dahmane & A. Godić. (2012). Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*, 21(2), 33-36.
DOI : 10.2478/v10162-012-0012-5
- [10] H. Kawai, K. Kogishi, Y. Hanyuda & T. Kitayama. (2012). Taxonomic revision of the genus *Cutleria* proposing a new genus *Mutimo* to accommodate *M. cylindricus* (Cutleriaceae, Phaeophyceae). *Phycological research*, 60(3), 241-248.
DOI : 10.1111/j.1440-1835.2012.00651.x
- [11] D. B. Shin, E. H. Han & S. S. Park. (2014). Cytoprotective Effects of Phaeophyta Extracts from the Coast of Jeju Island in HT-22 Mouse Neuronal Cells. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 43(2), 224-230.
DOI : 10.3746/jkfn.2014.43.2.224
- [12] F. Ferreres, G. Lopes, A. Gil-Izquierdo, P. B. Andrade, C. Sousa, T. Mouga & P. Valentão. (2012). Phlorotannin extracts from fucales characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties. *Marine drugs*, 10(12), 2766-2781.
DOI : 10.3390/md10122766
- [13] M. S. Blois. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- [14] N. J. Miller & C. A. Rice-Evans. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS+• radical cation assay. *Free radical research*, 26(3), 195-199.
DOI : 10.3109/10715769709097799
- [15] S. B. Kedare & R. P. Singh. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412-422.
DOI : 10.1007/s13197-011-0251-1
- [16] V. N. Gladyshev. (2014). The free radical theory of aging is dead. Long live the damage theory!. *Antioxidants & redox signaling*, 20(4), 727-731.
DOI : 10.1089/ars.2013.5228
- [17] J. Imai, N. Ide, S. Nagae, T. Moriguchi, H. Matsuura & Y. Itakura. (1994). Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta medica*, 60(5), 417-420.
DOI : 10.1055/s-2006-959522
- [18] B. Halliwell, R. Aeschbach, J. Löliger & O. I. Aruoma. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 33(7), 601-617.
DOI : 10.1016/0278-6915(95)00024-V
- [19] N. S. Rajurkar & S. M. Hande. (2011). Estimation of phytochemical content and antioxidant activity of some selected traditional Indian medicinal plants. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 73(2), 146.
DOI : 10.4103/0250-474x.91574
- [20] L. Wang, Y. R. Cui, H. W. Yang, H. G. Lee, J. Y. Ko & Y. J. Jeon. (2019). A mixture of seaweed extracts and glycosaminoglycans from sea squirts inhibits α -MSH-induced melanogenesis in B16F10 melanoma cells. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22(1), 1-8.
DOI : 10.1186/s41240-019-0126-3
- [21] S. J. Heo et al. (2010). Evaluation of anti-inflammatory effect of fucoxanthin isolated from brown algae in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2045-2051.
DOI : 10.1016/j.fct.2010.05.003

박 상 남(Nam-Sang Park)

[정회원]



- 2016년 8월 : 대전대학교 미생물학과 (이학박사)
- 2015년 3월 : 경운대학교 임상병리학과 조교수
- 2016년 3월~현재 : 경동대학교 임상병리학과 조교수

· 관심분야 : 임상생리, 미생물, 천연오일, 보건미용
· E-mail : snpark@kduniv.ac.kr

이 옥 희(Ok-Hee LEE)

[정회원]



- 2014년 8월: 인제대학교 보건학과 (보건학 박사)
- 2016년 3월~현재 : 경동대학교 보건관리학과 부교수
- 관심분야 : 의료정보, 의료기관평가, 보건미용, 생리학
- E-mail : loh1126@kduniv.ac.kr