

톱니모자반(*Sargassum serratifolium*) 추출물의 항산화 활성 증가를 위한 추출공정 최적화

김성희 · 고지윤 · 김형락¹ · 이양봉*

부경대학교 식품공학과, ¹부경대학교 식품영양학과

Optimization of Extraction Process to Increase the Antioxidant Activity of *Sargassum serratifolium* Extracts

Seong-Hee Kim, Ji-Yun Ko, Hyeung-Rak Kim¹ and Yang-Bong Lee*

Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

¹Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Sargassum serratifolium is a rich source of antioxidant meroterpenoids. The optimal extraction temperature and time for obtaining maximal antioxidant yield, antioxidant activity, and phenolic content from *Sargassum serratifolium* were determined using response surface methodology (RSM). The ranges of the independent variables for extraction temperature and time were 30-70°C and 12-36 h, respectively. With increasing temperature and time, the yield increased significantly, while DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical-scavenging activity and total phenolic content decreased significantly. The optimal extraction temperature and time obtained by RSM were 54°C and 7 h, respectively, providing a yield of 8.2%, DPPH radical-scavenging activity of 60%, and total phenolic content of 163 mg GAE/g. The findings of this study provide useful information for the development of *Sargassum serratifolium* extraction processes for the food and cosmetic industries.

Keywords: *Sargassum serratifolium*, Sargahydroquinolic acid, Antioxidant activity, Optimization, Response surface methodology

서론

활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 유기호흡과 생체 이물 및 미생물 침입에 대한 세포 반응 중에 생성된다(Ray et al., 2012). 활성산소는 superoxide radical (O_2^-), peroxy radical (ROO^\cdot), hydroxyl radical ($\cdot OH$)과 같은 산소 중심의 라디칼과 hydroperoxide ($ROOH$), hydrogen peroxide (H_2O_2)와 같은 비 라디칼 종들을 포함한다. 이러한 활성산소가 증가하거나 세포 항산화 능력이 감소하게 되면 활성산소의 생성과 세포 항산화 능력 사이가 불균형을 일으키어 산화스트레스가 발생하게 된다(Sies, 2000). 이는 심혈관 질환, 신경장애, 비만, 노화, 암 및 만성 염증을 포함한 다양한 퇴행성 질환을 유발한다(Chakraborty et al., 2015). 따라서 산화스트레스는 다양한 질병과 밀접한 관계가 있기 때문에 free radical의 발생을 억제시키고 산화 작용

으로부터 생체를 보호할 수 있는 항산화 작용이 중요하다. 폐놀계 화합물은 라디칼 소거 활성과 항산화 효소 수준을 유도하여 항산화 활성을 갖는 것으로 알려져 있다. 해양자원과 관련해서는 해양 조류에서 다양한 항산화 화합물이 풍부하게 존재한다(Kadam et al., 2013). 이러한 해양 조류는 영양적 가치가 풍부하여 기능성 식품 및 식의약품으로서 널리 사용되고 있다(Wells et al., 2017). *Sargassum*은 갈조류로 Sargassaceae과에 속하며 전 세계적으로 약 400종을 포함하고 있다. *Sargassum*속은 meroterpenoids, polyphenols, fucoxanthins, sargaquinolic acids, sargachromanol을 포함한 다양한 생리 활성 화합물이 항산화, 신경보호, 항암, 항염증 및 간 보호 활성과 같은 유익한 특성을 가지고 있다고 알려져 있다(Yende et al., 2014). 톱니모자반(*Sargassum serratifolium*)은 모자반속에 속하며 국내에서는 제주도 해역과 남해에 분포하고 있으며 국외로는 중국, 일본, 홍

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5829 Fax: +82. 51. 629. 5824

E-mail address: yblee@pknu.ac.kr



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.2021.0009>

Korean J Fish Aquat Sci 54(1), 9-15, February 2021

Received 27 January 2021; Revised 10 February 2021; Accepted 19 February 2021

저자 직위: 김성희(대학원생), 고지윤(대학원생), 김형락(교수), 이양봉(교수)

콩 등에 분포하고 있다. 최근 톱니모자반의 기능성에 대한 연구로는 톱니모자반의 에탄올 추출물에 항산화능을 갖는 sargahydroquinic acid, sargaquinic acid 그리고 sargachromanol을 포함한 isoprenoid quinone과 chromanol이 많이 함유되어 있으며, 강한 저색소침착효과, 항염증 및 항비만 활성에 대하여 보고하였다(Azam et al., 2017). 이러한 주요 항산화 물질이 많이 함유되어 있어 천연 항산화제와 화장품의 원료로서 활용할 수 있는 가능성을 가지고 있다. 하지만 원료에서 기능성을 나타내는 성분을 추출하기까지는 오랜 시간이 소요된다. 이런 경우에 제조 공정의 효율을 증가시키기 위하여 반응표면분석법을 사용하여 효율을 증가시킬 수 있는데, 이는 실험 후 얻은 데이터를 통계적 분석방법을 통해 최소의 실험 횟수로 어떻게 최적의 효과를 얻을 수 있을지 계획하는 것이다(Lee, 2014).

이에 본 연구에서는 반응표면분석법의 중심합성설계법을 사용하여 2가지 독립변수인 추출온도와 추출시간을 이용하여 톱니모자반의 추출 수율, 항산화능과 총 폴리페놀 함량에 대한 최적의 추출조건에 대해 연구하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 톱니모자반(*S. serratifolium*)은 부산 인근 해안에서 채취한 것을 구입하였다. 구입한 모자반은 담수로 깨끗이 세척하고 열풍 건조한 후 잘게 분쇄하여 -20°C 에서 동결 저장하여 사용하였다.

추출물 제조

톱니모자반 추출물의 용매로는 추출 용매별 톱니모자반의 항산화능을 분석한 Lim et al. (2019)의 연구에서 보고된 결과를 바탕으로 에탄올을 추출 용매로 사용하였다. 톱니모자반 시료 20 g에 추출 용매 200 mL를 가하여 진탕 항온수조(BS-11, Lab companion, Korea)에서 추출 조건에 따른 시간과 온도를 유지하여 추출하였다. 추출이 끝난 후 여과지(Qualitative filter paper, No. 10, HM, Korea)를 이용하여 여과하였다. 여과액은 회전증발 농축기(Laborota 4000, Heidolph, Schwabach, German)를 이용하여 40°C 에서 농축액을 얻은 후, 드라이 오븐을 이용하여 20°C 에서 24시간 동안 건조하였다. 건조된 시료는 -20°C 에서 냉동 보관하며 실험에 사용하였다. 또한, 추출 수율은 건조 후 얻은 추출물의 함량을 통하여 각 실험조건에 따라 산출하였다.

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{Weight of extract}}{\text{Initial weight of dry sample}} \times 100$$

반응표면분석법을 이용한 실험설계

톱니모자반의 수율, 항산화능, 총 폴리페놀 함량의 최적화를

위하여 반응표면분석법을 사용하였다. 실험설계는 두 가지의 독립변수(independent variables)로 추출온도(X_1 , $^{\circ}\text{C}$)와 추출시간(X_2 , h)을 사용한 중심합성설계법(central composite design)을 이용하여 설계하였다(Table 1). 2개의 인자와 3개의 수준으로 이루어진 중심합성설계법으로 요인점 22개, 축점($\alpha=1.414$) 4개와 중심점이 5개로 총 13번의 실험으로 설계하였다(Table 2). 두 독립변수의 범위 및 중심점 값은 예비 실험 결과를 바탕으로 설정하였다. 종속변수(dependent variables)는 수율(Y_1 , g), DPPH 라디칼 소거능(Y_2 , %)과 총 폴리페놀함량(Y_3 , mg GAE/mL)으로 설정하였으며, 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀 분석에 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능(DPPH radical-scavenging activity)은 Blois (1958)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 조건 별로 추출한 추출물을 1 mg/mL 농도로 용매에 희석하여 시료로 사용하였으며, 각 시료 용액 2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 2 mL를 가한 후 암실에서 30분간 반응시켰다. 대조군은 시료 대신 용매를 사용하여 동일한 방법으로 반응시켰다. 반응액을 분광 광도계(UV1800, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 다음 계산식에 따라 라디칼 소거능(%)을 계산하였다.

$$\text{Scavenging activity (\%)} =$$

$$\frac{A_{517} \text{ of control} - A_{517} \text{ of sample}}{A_{517} \text{ of control}} \times 100$$

총 페놀 함량 측정

모자반 추출물의 총 페놀 함량(total phenolic content, TPC)은 Folin and Denis (1912)를 변형하여 측정하였다. 각각의 시료들을 1 mg/mL 농도로 에탄올에 녹인 다음, 시료 용액 100 μL 에 증류수 900 μL 를 가하여 총부피가 1 mL가 되도록 희석하였다. 여기에 Folin-Ciocalteu reagent 100 μL 를 가한 후 실온에 4분간 방치하였다. 이후 7.5% Na_2CO_3 용액 200 μL 를 가하여 혼합하고, 증류수 700 μL 를 가하고 암실에서 1시간 반응시켰다. 반응시킨 후 분광광도계(UV1800, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 700 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 추

Table 1. Coded and actual values of independent variables in central composite design used for optimization of extraction condition from *Sargassum serratifolium*

Independent variables	Symbol	Range and level				
		-1.414	-1	0	+1	+1.414
Extraction temperature ($^{\circ}\text{C}$)	X_1	22	30	50	70	78
Extraction time (h)	X_2	7	12	24	36	41

출물의 총 페놀 함량의 정량을 위해 농도별 gallic acid (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 표준용액을 시료와 동일한 방법으로 실험한 후 표준 검량선을 작성하여 mg gallic acid equivalent per mL (mg GAE/mL)로 나타내었다.

데이터 분석 및 추출조건 최적화

통계 분석 및 처리는 Minitab 17 software (Minitab Inc., State College, PA, USA)를 사용하였다(P<0.05).

$$Y = \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^2 \beta_{ij} X_i X_j$$

3차원 반응표면 그래프는 Design-Expert software (Version 13, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 나타내었다.

반응표면모델의 검증

2차 다항방정식은 최적추출조건을 찾는 과정으로 정지점(stationary point)을 통하여 반응표면 모델이 최대점, 최소점, 안장점 및 능선 형태인지를 판단하였다. 그 후 Minitab software를 사용하여 최적 추출 조건을 예측하였고, 예측된 최적추출조건에서 실제 실험을 통해 예측값의 정확도를 검증하였다. 즉, 예측된 최적추출조건에서 실제로 추출공정과 실험을 수행하여 예측된 반응값과 실험으로 얻은 반응값을 비교하였다. 예측값과 실험값의 정확도는 오차(%)를 통해 검증하였다.

최적 추출물의 항산화 성분 분석

최적조건에서 추출한 추출물에 함유되어 있는 sargahydroquinoic acid (SHQA), sargachromanol (SCM), sargaquinoic acid (SQA)를 분석하기 위해 HPLC를 사용하였다. 분석 시료에 메탄올로 녹이고 원심 분리한 후 상층액 100 µL를 취하여, 그중 3 µL을 HPLC에 주입하여 Lim et al. (2019)의 조건에 따라 분석하였다. 분석시스템은 펌프(LC-6AD, Shimadzu, Kyoto, Japan), 광다이오드 배열 검출기(SPD-M20A, Shimadzu, Kyoto, Japan), 온라인 탈기장치(DUG-20A3, Shimadzu, Kyoto, Japan), 자동시료 주입기(SIL-20A) 및 시스템 컨트롤러(CBM-20A)로 구성되었으며, 데이터는 Shimadzu LC solution (ver. 1.22sp, Shimadzu, Kyoto, Japan)으로 분석하였다. 칼럼은 Phenomenex Luna RP-18 (2) column [Luna C18 (2), 3 µm particle size, 150×3.0 mm I.D.]을 사용하여 추출물의 성분을 분석하였다. 이동상으로는 A는 0.1% formic acid가 함유된 메탄올, B는 0.1% formic acid가 포함된 물을 사용하였다. A/B (90/10)에서 A/B (94/6)의 농도로 33분, A/B (94/6)에서 A/B (100/0)의 농도로 2분, A/B (100/0)로 10분 동안 세척한 후 A/B (90/10)의 농도로 평형화하였다. 유속은 0.34 mL/min이었으며, 피크는 270 nm에서 확인하였으며, 각 화합물은 retention time으로 확인하였다. 표준곡선 작성을 위해 SHQA, SQA 그리고 SCM의 표준시약을 메탄올을 이용하여 1.0, 5.0, 10.0, 25.0, 50.0, 100.0 µg/mL의 농도로 희석한 후 시료와 같은 HPLC 분석조건에서 분석하였다(Gwon et al., 2018).

Table 2. Matrix and values of independent and dependent variables of central composite design used for optimization of extraction condition from *Sargassum serratifolium*

Run no.	Independent variables ¹				Dependent variables ^{2,3}			
	Coded values		Uncoded values		Y ₁	Y ₂	Y ₃	
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂				
Factorial portions	1	-1	-1	30	12	5.2±0.7	62.1±0.7	161.7±12.0
	2	1	-1	70	12	9.8±0.1	46.2±5.6	118.3±4.5
	3	-1	1	30	36	6.8±0.1	60.9±0.6	132.6±7.8
	4	1	1	70	36	11.9±0.3	29.7±6.2	108.2±3.3
Axial portions	5	-1.414	0	22	24	5.4±0.1	56.1±1.2	163.1±13.0
	6	1.414	0	78	24	11.6±0.1	30.3±9.3	105.3±5.7
	7	0	-1.414	50	7	8.2±0.0	61.5±2.1	182.6±6.1
	8	0	1.414	50	41	10.0±0.1	46.3±8.6	119.8±3.4
Center points	9	0	0	50	24	8.9±0.1	53.3±1.4	127.9±2.2
	10	0	0	50	24	8.7±0.2	51.9±0.4	123.1±2.1
	11	0	0	50	24	9.3±0.1	54.4±0.5	125.2±4.3
	12	0	0	50	24	9.2±0.1	53.3±2.1	126.3±1.9
	13	0	0	50	24	9.2±0.2	52.5±2.2	125.8±1.8

¹X₁, Extraction temperature (°C); X₂, Extraction time (h). ²Y₁, Yield (%); Y₂, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical-scavenging activity (%); Y₃, Total phenolic content (mg GAE/mL). ³Mean±SD (n=2).

결과 및 고찰

추출 수율

식품 공정에서 유효성분의 추출 수율을 최대로 하는 조건을 연구하는 것은 중요한 요소이다. 본 연구에서는 추출 수율을 최대로 가질 수 있는 추출조건을 최적화하고자 하였다. 중심합성 설계법(central composite design)에 의해 설계된 실험조건에 대한 반응값을 Table 2에 나타내었다. 추출 수율에 대한 실험값 중에서 30°C, 12시간 추출한 경우에 가장 낮은 수율인 5.2%를 보였으며, 70°C 온도에서 36시간을 추출한 경우에 가장 높은 수율인 11.9%를 나타내었다. 추출온도(x)와 추출시간(y)에 대한 추출 수율(Y₁)의 관계를 데이터 통계 분석에 의한 2차 다항방정식은 다음과 같이 나타내었다.

$$Y_1 = 9.060 + 2.309x + 0.781y - 0.374x^2 - 0.074y^2 + 0.125xy$$

2차 다항방정식에 대한 P-value값은 Table 3에 나타내었다. 반응모델 회귀분석의 적합도를 나타내는 R² (결정계수)는 0.984였으며, 이 2차 다항방정식의 P-value는 0.000으로 유의적 의미가 있었다. 이를 통해 2차 다항방정식이 반응값을 예측하는데 적합하다고 판단하였다. 온도가 증가하고 시간이 길어짐에 따라 수율이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 추출온도가 반응모델에 가장 유의적인 영향을 주는 조건으로 예측되었다. 추출 수율에 대한 3차원 반응표면 그래프는 Fig. 1A에 나타내었다. 반응표면 그래프는 온도와 시간이 증가함에 따라 상승하는 능선의 형태를 보였는데, 이런 경우 최대값이 설정된 실험 조건 밖에서 나타나는 것을 의미한다. 즉, 추출 수율의 최대값은 온도 70°C 이상, 36시간 이상에서 나타날 것으로 예측되었다. 이는 *Sargassum latifolium*에서의 알긴산 추출 최적화에 대

Table 3. Results of statistical analyses on extraction yield, DPPH radical-scavenging activity, TPC from *Sargassum serratifolium* extracts

Sources	Yield	DPPH	TPC
Regression	0.000*	0.000*	0.003*
Linear	0.000*	0.000*	0.001*
X ₁	0.000*	0.000*	0.001*
X ₂	0.000*	0.000*	0.002*
Square	0.063	0.001*	0.091
X ₁ *X ₁	0.023*	0.000*	0.764
X ₂ *X ₂	0.585	0.332	0.034*
Interaction (X ₁ *X ₂)	0.486	0.004*	0.359
Residual - Lack of fit	0.162	0.046*	0.001*
Fitness of model (R ²)	0.984	0.983	0.895

DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; TPC, total phenolic content. *Significant at P<0.05

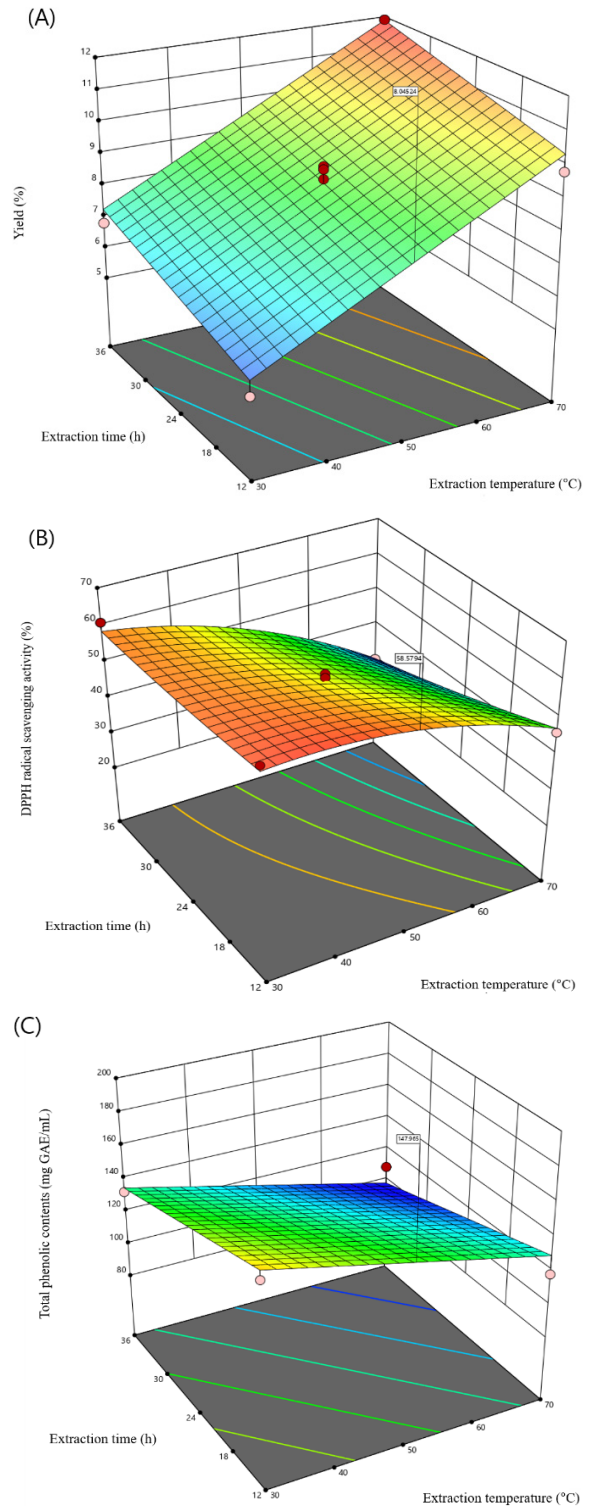


Fig. 1. Response surface plot showing the effects of extraction temperature (X₁) and time (X₂) on extraction yield (A; Y₁), DPPH radical-scavenging activity (B; Y₂) and TPC (C; Y₃). DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; TPC, total phenolic content.

Table 4. Optimum conditions and comparison of predicted and observed values for verification

Responses	Optimum extract condition		Predicted	Observed ¹	Error (%)
	Temperature (°C)	Time (h)			
Yield (%)	78	41	12.8	12.5±0.1	2.3
DPPH (%)	39	7	62.8	66.1±3.3	5.3
TPC (mg GAE/mL)	22	7	205.8	212.6±8.7	3.3

¹Mean±SD (n=2). DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; TPC, total phenolic content; GAE, gallic acid equivalent.

한 선행연구에서도 추출공정에서 온도가 높아질수록 추출 수율이 증가하였으며, 추출 수율의 반응표면 그래프와 등고선도 가능선형을 나타내고 있음을 확인하였다(Fawzy et al., 2017).

추출물의 DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능 측정은 빠르고 간단하게 시료의 항산화 효과를 측정할 수 있어 식물이나 식품 추출물 등에 많이 사용되고 있는 방법이다. DPPH는 비교적 안정한 라디칼 화합물로 항산화 활성을 가지고 있는 물질에 의해 비가역적으로 환원되어 짙은 보라색이 노란색으로 얼어지는데, 이러한 색차를 비색정량하여 시료의 항산화 활성을 측정한다(Wisanu et al., 2009). 본 실험조건에 따른 DPPH 라디칼 소거능은 Table 2에 나타내었다. 실험조건 중 추출온도 70°C에서 36시간 추출하는 경우에 29.7%로 가장 낮은 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈으며, 추출온도 30°C에서 12시간 추출하는 경우에 최대값인 62.1%를 가지는 것으로 측정되었다. 추출온도(x)와 추출시간(y)에 대한 DPPH 라디칼 소거능(Y₂)의 관계에 대한 결과는 다음의 2차 다항방정식으로 나타내었다.

$$Y_2 = 53.080 - 10.448x - 4.900y - 4.646x^2 + 0.704y^2 - 3.825xy$$

2차 다항방정식에 대한 P-value값은 Table 3에 나타냈다. R² 값은 0.983을 나타냈으며, 2차 다항방정식에서 독립변수에 대한 통계분석의 결과로 P<0.05에서 의미가 있으므로, 이를 적용한 2차 다항방정식이 반응값을 예측하는데 적합하다고 판단하였다. DPPH 라디칼 소거능에 대한 3차원 반응표면 그래프는 Fig. 1B에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 온도가 낮아지고, 시간이 짧아짐에 따라 증가하는 경향을 보였다. 통계분석 결과 추출 온도가 DPPH 라디칼 소거능에 가장 유의적인 영향을 주는 요인으로 예측되었다. 이러한 결과를 통해 높은 온도와 오랜 시간 동안 추출한 추출물은 라디칼 소거 활성을 갖는 항산화 활성을 나타내는 폴리페놀 등의 성분들 대신 항산화 활성을 갖지 않는 성분들이 많이 추출된 것으로 판단된다(Ha et al., 2015).

추출물의 총 페놀 함량

다양한 추출물에서 항산화능과 총 페놀 함량 사이의 긍정적인 관계에 대해서 알려져 있다(Balboa et al., 2013). 여러 연구에서 페놀 화합물은 갈조류에서 가장 효과적인 항산화제 중 하나

라고 보고하였다(Nagai and Yukimoto, 2003; Chandini et al., 2008). 최근 연구에서 톱니모자반에 meroterpenoids (SHQA, SQA, SCM), phlorotannins 그리고 fucoxanthin 등 다양한 페놀 화합물을 가지고 있다고 알려져 있다(Yende et al., 2014). 이에 각 추출물의 총 페놀 함량을 분석하여 항산화능을 판단하였다. 실험조건에 따른 추출물의 총 페놀 함량은 Table 2에 나타내었다. 실험조건 중 추출온도 78°C에서 24 시간 추출하는 경우에 105.3 mg GAE/mL로 가장 낮은 폴리페놀 함량이 추출되었으며, 추출온도 50°C에서 7시간 추출하는 경우에는 182.6 mg GAE/mL로 가장 많은 폴리페놀 함량이 추출되었다. 추출온도(x)와 추출시간(y)에 대한 추출물의 총 페놀 함량(Y₃)의 관계식을 테이터 분석에 의한 얻은 2차 다항방정식은 다음과 같이 나타내었다.

$$Y_3 = 125.66 - 18.69x - 16.00y + 1.14x^2 + 9.64y^2 + 4.75xy$$

2차 다항방정식에 대한 회귀분석과 분산분석 결과는 Table 3에 나타냈다. R² 값은 0.895를 나타냈으며, 2차 다항방정식은 P<0.05에서 유의하므로, 2차 다항방정식이 반응값 예측에 적합하다고 판단하였다. 총 폴리페놀 함량에 대한 3차원 반응표면 그래프는 Fig. 1C에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 온도가 낮아지고, 시간이 짧아짐에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 이는 DPPH 라디칼 소거능의 결과와 유사한 경향을 보였다. 통계 분석 결과에서 추출 시간이 반응모델에 가장 유의적으로 영향을 주는 요인으로 예측되었다.

최적 추출조건 결정 및 모델 검증

본 연구에서의 각 2차 다항방정식에서 예측한 최대값은 설정한 범위의 밖에 존재하는 것으로 예측되었다. 또한, 3차원 반응표면 그래프를 이용한 반응변수에서는 최대점이나 최소점을 찾지 못하였으며, 추출온도와 추출시간에 따른 반응값의 증가와 감소하는 경향만을 확인하였다. 이에 반응변수의 최대값이나 최소값을 갖는 최적 추출 조건이 아닌 실험조건 내에서의 최적의 추출 조건을 예측하였다. 각 반응변수에 대한 최적추출조건은 Table 4에 나타내었다. 예측된 각각의 반응변수별 최적의 추출 조건으로 실제 추출 및 실험을 수행하였고 그 실험값을 예측값과 비교하여 모델의 정확도를 검증하였다. 실험값과 예측값의 차이는 오차를 통해 표현하였다. 추출 수율에서 가장 낮은 오차(2.3%)를 나타내었고, 다음으로 총 페놀 함량(total phenolic

Table 5. Experimental and predicted results of verification under optimized condition

	Y ₁ Yield (%)	Y ₂ DPPH (%)	Y ₃ TPC (mg GAE/mL)
Predicted values	8.2	60.3	162.9
Experimental values ¹	8.6±0.1	63.1±2.5	175.3±9.3
Error (%)	4.9	4.6	7.6

Optimized condition: Extraction temperature=54°C; Extraction time=7 h. ¹Mean±SD (n=2). DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; TPC, total phenolic content; GAE, gallic acid equivalent.

Table 6. Identification and quantification of three major antioxidants from *Sargassum serratifolium* in the optimum condition

Sargahydroquinonic acid (mg/100g)	Sargachromanol (mg/100g)	Sargaquinonic acid (mg/100g)
50.41±3.90	3.28±0.07	9.69±0.16

content, TPC) (3.3%), DPPH 라디칼 소거능 (5.3%) 순으로 나타났다(Table 4). 각각의 반응변수들의 2차 다항식들이 유의하고, 실험값과 예측값 사이의 오차가 크지 않다는 점을 통해 모델이 반응을 설명하는데 적합하다고 판단하였다. 이에 수율, DPPH 라디칼 소거능, TPC에 대한 최적추출조건을 설계한 실험조건 범위 내에서 예측하였다. 중심합성설계법을 통해 예측된 최적추출조건은 추출온도 53.7°C, 추출시간 7시간으로 나타났다. 예측된 최적추출조건에 대한 반응변수의 예측값은 수율 8.2%, DPPH 라디칼 소거능 60.3%, TPC 162.9 mg GAE/mL이었다. 예측된 반응값의 정확도를 검증하기 위해 최적추출조건에서 추출 및 실험을 수행하였으며, 그 결과 수율 8.6%, DPPH 라디칼 소거능 63.1%, TPC 175.3 mg GAE/mL로 예측값과 유사한 결과를 보였다(Table 5).

최적 추출물의 항산화 성분 함량

토피모자반 에탄올 추출물은 항산화, 항염증 및 항비만과 같은 효능을 가지는 meroterpenoid 를 함유하고 있다. 특히 모자반에 함유되어 있는 SHQA는 항산화(Lim et al., 2019), 항암(Jiaqi et al., 2019), 항비만(Kwon et al., 2019)의 효능을 나타내며, SCM은 항산화(Lim et al., 2019), 항염증(Lee et al., 2013; Yoon et al., 2012) 효능을 나타내며 마지막으로 SQA는 세 가지 성분 중 가장 높은 항산화능을 가지고 있으며(Lim et al., 2019), 저색소침착효과(Azam et al., 2018), 항염증(Joung et al., 2015), 항비만(Kwon et al., 2020) 등의 효능을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이에 토피모자반에 함유되어 있는 SHQA, SCM, SQA를 분리하여 HPLC를 이용하여 분석하였다. 최적 조건에서 추출한 토피모자반 추출물의 세 가지 성분의 농도는 Table 6에 나타내었다. 토피모자반의 세 가지 성분은 SHQA 50.41 mg/100g, SCM 3.28 mg/100g, SQA 9.69 mg/100g으로 세 가지 성분의 총량은 63.39 mg/100g이었다. SHQA, SQA,

SCM 순으로 많이 함유되어 있었으며, 이는 토피모자반의 추출 용매별 항산화 성분을 측정된 Lim et al. (2019)의 연구에서 나타난 경향과 같았다.

고 찰

본 연구에서는 식품공정에서 주요한 반응조건인 추출 수율과 기능성을 나타내는 항산화능, 총 폴리페놀 함량의 최적화를 위하여 중심합성설계법을 사용하여 최적추출조건을 예측하였다. 2가지 인자(추출온도와 추출시간)와 축점을 적용한 5가지의 수준으로 총 13번의 실험을 3번 반복하였다. 최적화하기 위한 반응변수로는 총 3가지 인자(추출 수율, DPPH 라디칼 소거능, 총 폴리페놀 함량)가 설정되었다. 실험데이터의 분석 결과, 추출온도와 추출시간 모두 3가지 인자에 유의적으로 영향을 주는 것을 알 수 있었다. 이에 토피모자반의 최적추출조건은 추출온도 53.7°C, 추출 시간 7시간으로 예측되었으며, 이에 대한 반응값은 추출 수율 8.2%, DPPH 라디칼 소거능 60.3%, 총 폴리페놀 함량 162.9 mg GAE/mL로 예측되었다. 예측된 조건에서 실제로 추출 및 실험하여 얻은 실험값과 유사한 결과를 보였다. 본 연구의 결과는 토피모자반 추출물을 식품 및 화장품 원료로 개발하기 위한 제조 공정에서 유용한 정보를 제공할 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의기술연구비(2019년)에 의하여 연구되었음.

References

- Azam MS, Joung EJ, Choi J and Kim HR. 2017. Ethanolic extract from *Sargassum serratifolium* attenuates hyperpigmentation through CREB/ERK signaling pathways in α -MSH-stimulated B16F10 melanoma cells. *J Appl Phycol* 29, 2089-2096. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1120-8>.
- Azam MS, Kwon M, Choi J and Kim HR. 2018. Sargaquinonic acid ameliorates hyperpigmentation through cAMP and ERK-mediated downregulation of MITF in α -MSH-stimulated B16F10 cells. *Biomed Pharmacother* 104, 582-589. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.083>.
- Balboa EM, Conde E, Moure A, Falque E and Dominguez H. 2013. *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem* 138, 1764-1785. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.026>.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 199-200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>.
- Chakraborty K, Joseph D and Praveen NK. 2015. Antioxidant activities and phenolic contents of three red seaweeds (Di-

- vision: Rhodophyta) harvested from the gulf of mannar of peninsular India. *J Food Sci Technol* 52, 1924-1935. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1189-2>.
- Chandini SK, Ganesan P and Bhaskar N. 2008. *In vitro* antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chem* 107, 707-713. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.081>.
- Fawzy MA, Gomaa M, Hifney AF and Abdel-Gawad KM. 2017. Optimization of alginate alkaline extraction technology from *Sargassum latifolium* and its potential antioxidant and emulsifying properties. *Carbohydr Polym* 157, 1903-1912. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.077>.
- Folin O and Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12, 239-243. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)88697-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)88697-5).
- Gwon WG, Joung EJ, Shin T, Utsuki T, Wakamatsu N and Kim HR. 2018. Meroterpenoid-rich fraction of the ethanol extract from *Sargassum serratifolium* suppresses TNF- α -induced monocytes adhesion to vascular endothelium and vascular inflammation in high cholesterol-fed C57BL/6J mice. *J Funct Foods* 46, 384-393. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.013>.
- Ha JH, Jeong YJ, Seong JS, Kim KM, Kim AY, Fu MM, Suh JY, Lee NH, Park J and Park SN. 2015. Antioxidant and antibacterial activities of glycyrrhiza uralensis fisher (Jecheon, Korea) extracts obtained by various extract conditions. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 41, 361-373. <https://doi.org/10.15230/SCSK.2015.41.4.361>.
- Jiaqi Z, Shin T and Yun JM. 2019. Sargahydroquinone acid, a meroterpenoid in brown seaweed, induces apoptosis in high glucose treated-human colon cancer HCT116 cells. In: Proceedings of the 70th Annual Meeting of the Korean Society of Food Science and Nutrition, Jeju, Korea, 453.
- Joung EJ, Lee B, Gwon WG, Shin T, Jung BM, Yoon NY, Choi JS, Oh CW and Kim HR. 2015. Sargaquinone acid attenuates inflammatory responses by regulating NF- κ B and Nrf2 pathways in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Int Immunopharmacol* 29, 693-700. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.09.00>.
- Kadam SU, Tiwari BK and O'Donnell CP. 2013. Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae. *J Agric Food Chem* 61, 4667-4675. <https://doi.org/10.1021/jf400819p>.
- Kwon M, Lee B, Lim SJ, Choi JS and Kim HR. 2019. Sargahydroquinone acid, a major compound in *Sargassum serratifolium* (C. Agardh) C. Agardh, widely activates lipid catabolic pathways, contributing to the formation of beige-like adipocytes. *J Funct Foods* 58, 355-366. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.045>.
- Kwon M, Lee B, Lim S and Kim HR. 2020. Effects of sargaquinone acid in *Sargassum serratifolium* on inducing brown adipocyte-like phenotype in mouse adipocytes *in vitro*. *Planta Med* 86, 45-54. <https://doi.org/10.1055/a-1023-7385>.
- Lee JH, Ko JY, Samarakoon K, Oh JY, Heo SJ, Kim CY, Nah JW, Jang MK, Lee JS and Jeon YJ. 2013. Preparative isolation of sargachromanol E from *Sargassum siliquastrum* by centrifugal partition chromatography and its anti-inflammatory activity. *Food Chem Toxicol* 62, 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.010>.
- Lee SB. 2014. Example-based DOE using Minitab. Eretec Inc, Gunpo, Korea, 227-261.
- Lim S, Choi AH, Kwon M, Joung EJ, Shin T, Lee SG, Kim NG and Kim HR. 2019. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food Chem* 278, 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.058>.
- Nagai T and Yukimoto T. 2003. Preparation and functional properties of beverages made from sea algae. *Food Chem* 81, 327-332. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00426-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00426-0).
- Ray PD, Huang BW and Tsuji Y. 2012. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal* 24, 981-990. <https://doi.org/10.1016/j.cell-sig.2012.01.008>.
- Sies H. 2000. What is oxidative stress?. In: *Oxidative stress and vascular disease*. Springer, 1-8. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-4649-8_1.
- Wells ML, Potin P, Craigie JS, Raven JA, Merchant SS, Helliwell KE, Smith AG, Camire ME and Brawley SH. 2017. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J Appl Phycol* 29, 949-982. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0974-5>.
- Wisanu T, Boonsom L and Saisunee L. 2009. Flow injection analysis of total curcuminoids in turmeric and antioxidant capacity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay. *Food Chem* 112, 494-499. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.083>.
- Yende SR, Harle UN and Chaugule BB. 2014. Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. *Pharmacogn Rev* 8, 1-7. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125514>.
- Yoon WJ, Heo SJ, Han SC, Lee HJ, Kang GJ, Kang HK, Hyun JW, Koh YS and Woo ES. 2012. Anti-inflammatory effect of sargachromanol G isolated from *Sargassum siliquastrum* in RAW 264.7 cells. *Arch Pharm Res* 35, 1421-1430. <https://doi.org/10.1007/s12272-012-0812-5>.