

Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Ulva lactuca* Linnaeus Extract

Kyung-Cheol Min¹, Geun-Dae Kim², Hyeon-Gyu Nam³ and Sang-Hyeon Lee^{1,2*}¹Department of Bioscience, Graduate School of Silla University, Busan 46958, Korea²Department of Pharmaceutical Engineering, Silla University, Busan 46958, Korea³GIOF&BCare, LTD., Busan 47247, Korea

Received December 28, 2021 / Revised January 7, 2022 / Accepted January 18, 2022

The anti-inflammatory and antioxidant activities of the *Ulva lactuca* Linnaeus extracts were measured. As a result of the MTT assay of the extract, it was found that the cell viabilities were higher than 90% at all concentrations, and the cell promotion rate exceeded 100% at a certain concentration. Therefore, in all subsequent experiments, the highest concentration was set at 500 µg/ml. In the nitric oxide (NO) assay, one of the anti-inflammatory experiments, the *Ulva lactuca* Linnaeus extracts exhibited inhibitory effects of 16%, 19%, and 62% at concentrations of 5, 50, and 500 µg/ml, respectively, compared with the LPS-only group. In tumor necrosis factor-α (TNF-α) assay, the extracts showed inhibitory effects of 16%, 17%, and 27% at concentrations of 5, 50, and 500 µg/ml, respectively, compared with the LPS-only group. In the interleukin-6 (IL-6) assay, the extracts also showed inhibitory effects of 15% and 28% at concentrations of 50 and 500 µg/ml, respectively, compared with the LPS-only group. In the total polyphenol content assay, the extracts exhibited 8.02, 9.90, and 23.8 mg GAE/g at concentrations of 0.3, 3, and 30 mg/ml, respectively. In the ABTS assay, the extracts exhibited scavenging activities of 2.6, 12.6, and 77.3% at concentrations of 0.3, 3, and 30 mg/ml, respectively. Therefore, it is considered that *Ulva lactuca* Linnaeus extracts can be used as anti-inflammatory and antioxidant substances for the development of functional foods.

Key words : ABTS, anti-inflammatory, antioxidant, nitric oxide, total polyphenol, *Ulva lactuca* Linnaeus

서 론

해양성 조류는 육상생물에 비하여 미네랄, 비타민 및식이섬유의 함량이 높고 철, 마그네슘, 요오드, 아연 등의 필수 미네랄이 많이 존재하는 해양성 식물이다[31, 32]. 녹조류 중 갈파래는 유럽에서 식용으로 이용되어 다양한 식품학적 및 생리활성에 관한 연구가 보고되어 있다[15, 32]. 갈파래의 주요 특성 중 하나로 육상 식물과 달리 황산기를 함유하는 다당을 다량 함유하며 이 산성 다당은 항바이러스성, 면역증강 효과, 혈액의 항응고, 항종양성 작용 등이 보고되어 있고, 국내의 경우, 홑파래에서 추출한 당단백질이 면역활성 및 항암효과가 보고된바 있다[15, 32]. 국내 해안가에 자생하는 참갈파래(*Ulva lactuca* Linnaeus)는 녹조류의 일종으로 파래과에 속하는 녹조식물로서 엽체는 옅은 녹색을 띠고 암반에 착생한다. 엽체

는 분지하지 않고 길이 10~15 cm, 폭 7~10 cm의 피침형이나 신장형으로 존재하고 가장자리는 파형으로 굴곡을 가지는 것이 특징이다[4, 27, 32, 33].

면역(immune)이란 생물이 외부의 공격 및 침입으로부터 방어하는 것을 뜻하며, 염증반응이란 미생물 등의 체내 감염 또는 외부의 물리적 상해 시에 신체를 보호하기 위한 생체 조직에서의 국소적 방어반응이다[5, 14, 41]. 이 원자 자유 라디칼인 nitric oxide (NO)의 경우 염증반응의 대표적인 매개체로서 NO synthase에 의해 L-arginine에서부터 생성되며, 신경전달, 혈관의 이완 및 세포 매개성 면역반응에 관여한다[41]. 유리기(free radical)나 활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 생성과 항산화 물질로 인한 불균형으로 정의되는 산화적 스트레스의 경우 노화 및 당뇨와 퇴행성 신경계 질환 등의 다양한 질환과 관련이 있다[1, 7, 16]. 세포 내의 산화적 손상을 억제시키거나 지연시키는 효소로는 catalase, peroxidase, superoxide dismutase (SOD) 등이 있다[9]. 지속적인 염증반응의 진행은 세포조직의 손상을 유발하여 뇌질환, 암, 관절염, 천식, 알츠하이머병, 염증성 장질환 및 동맥경화 등의 여러 질병뿐 아니라 노화의 간·직접적 원인이 되는 것으로 알려져 있다[7, 16, 17, 30, 35]. 대식세포는 염증반응에 관여하는 중요한 세포로 손상 부위로의 면역세포의 이동과 tu-

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5624, Fax : +82-51-999-5628

E-mail : slee@silla.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.

mor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) 및 interleukin-6 (IL-6) 등의 pro-inflammatory cytokine의 분비에 관여하는 등 아주 중요한 역할을 한다[3, 10, 11, 13, 17, 21]. 대식세포에서 생성된 염증매개물질이 박테리아 내독소인 lipopolysaccharide (LPS)와 같은 면역자극물질에 노출될 경우, RAW264.7 macrophage에서 TNF- α , IL-1 β , IL-6와 같은 염증매개체들인 cytokine을 분비하며 cyclooxygenase-2 (COX-2)와 inducible nitric oxide synthase (iNOS)가 활성화되어 NO를 생성한다[8, 12, 19, 22, 34]. NO의 경우 L-arginine을 기질로 하여 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 생성되는 무기 유리체로서 LPS에 의해 염증 반응을 유도해서 활성화된 세포에서 염증 반응의 중요 매개물질인 NO의 생성을 억제하는 원리를 이용하여 측정한다[37]. NO는 활성산소 중 하나이고 염증 유발에 중요한 역할을 하여 기관지염, 천식, 관절염, 다발성경화증, 동맥경화증, 알츠하이머 병, 파킨슨병 및 뇌졸중과 같은 퇴행성 뇌질환 및 바이러스 감염으로 인한 염증질환을 유발하여 질환을 악화시킨다[18]. 대사증후군에서는 IL-6의 증가가 염증신호에 깊은 연관성을 나타내고 체내의 IL-6의 분비의 경우, 아디포카인으로서 지방조직에서 많이 분비되는 것으로 알려져 있다. 소화기관의 점막에 분포하는 대식세포는 박테리아의 자극 및 내독소에 반응하여 염증을 유발하며, 염증성 사이토카인인 TNF- α 및 IL-6의 분비량을 조절하는 것으로 알려져 있다[2].

많은 연구자들이 식물들에서 다양한 종류의 항산화물질을 발견하였으며, 비타민 C, 토코페롤, 플라보노이드, 폴리페놀 화합물, 카로티노이드 등이 과일과 채소 등의 육상식물에 존재하는 우수한 항산화 물질로 알려져 있다[24]. 총 폴리페놀은 항암 효과와 항산화 효과가 뛰어나다고 보고되어 있으며[6], 옥수수 수염 유래의 플라보노이드로는 apimaysin, maysin, methoxymaysin이 있으며 이 중 maysin은 옥수수 수염에 가장 많이 함유되어 있는 대표적인 기능성 물질로, corn earworm의 종양세포주에 대한 세포독성 효과, 생육 억제활성 및 라디칼 소거활성 등이 보고되어 있다[23]. 인간의 수명단축에 큰 영향을 끼치는 활성산소는 면역, 세포 내 DNA, 각 인체 기관에 치명적인 손상을 유발하며, 피부노화 및 다양한 질병 또한 촉진하는 요소 중 하나이다. 이를 예방하기 위해 다양한 항산화제를 사용하고 있지만, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA)과 같은 합성 항산화제들은 과량 사용할 경우, 암 및 독성을 유발할 수 있는 문제점을 가지고 있다. 이 때문에 인간의 몸에 안전한 천연물질을 이용한 항산화제의 개발이 꾸준히 연구되고 있다[28].

따라서, 본 연구에서는 해양성 천연물질인 참갈파래 추출물을 이용하여 항염증 및 항산화 활성을 측정하였고, 기능성 식품소재로의 활용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

MTT assay

본 실험에 사용된 참갈파래 추출물은 (주)지오에프앤비케어에서 제공받아 사용하였다. 참갈파래 추출물의 세포독성을 조사하기 위하여 MTT assay를 시행하였다. 10% (v/v) FBS가 첨가된 DMEM (WELGENE, South Korea) 배지에 현탁시킨 RAW264.7 세포를 6×10^3 /well의 농도로 96 well plate에 100 μ l씩 분주하고 CO₂ incubator (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 1X PBS (Gibco, UK)로 세척한 후, 10% (v/v) FBS가 첨가된 새로운 DMEM 배지 200 μ l를 첨가하고 DMSO에 용해한 참갈파래 추출물을 다양한 농도로 처리한 후, CO₂ incubator (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 이후 MTT (USB, USA, final concentration: 1 mg/ml) 용액 100 μ l를 첨가하고 실온에서 차광한 상태로 3시간 동안 반응시켰다. 배지를 제거하고 DMSO 200 μ l를 첨가하고 상온에서 30분 동안 용해시킨 후 ELISA Reader (Multiskan Go, Thermo Scientific, Finland)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric Oxide (NO) assay

참갈파래 추출물의 항염증 활성을 조사하기 위하여 NO assay를 시행하였다. 10% (v/v) FBS가 첨가된 DMEM (WELGENE, South Korea) 배지에 현탁시킨 RAW264.7 세포를 12 well plate에 2 ml씩 분주하고 CO₂ incubator (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 1X PBS (Gibco, UK)로 세척한 후, 10% (v/v) FBS가 첨가된 새로운 DMEM 배지를 2 ml씩 분주하고 Lipopolysaccharide (LPS, Sigma, USA, final concentration: 1 μ g/ml)를 처리한 후, CO₂ incubator (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)에서 3시간 동안 배양하여 염증을 유도하였다. 이후, DMSO에 용해한 참갈파래 추출물과 사포닌(Sigma, USA)을 각각 500, 50, 5 μ g/ml의 농도로 처리해서 CO₂ incubator (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 배양 상등액에 Griess reagent (Sigma, USA)를 1:1로 혼합하여 15분 동안 실온에서 방치한 후, ELISA Reader (Multiskan Go, Thermo Scientific, Finland)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) assay

참갈파래 추출물의 항염증 활성을 조사하기 위하여 Tumor necrosis factor- α assay를 시행하였다. 10% (v/v) FBS가 첨가된 DMEM (WELGENE, South Korea) 배지에 현탁시킨 RAW264.7 세포를 12 well plate에 2 ml씩 분주하고 CO₂ incubator (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 1X PBS (Gibco, UK)로 세척한 후, 10% (v/v) FBS가 첨가된 새로운 DMEM 배지를 2 ml씩 분주하고

Lipopolysaccharide (LPS, Sigma, USA, final concentration: 1 µg/ml)를 처리한 후, CO₂ incubator (37°C, 5% CO₂)에서 3시간 동안 배양하여 염증을 유도하였다. 이 후, DMSO에 용해한 참갈파래 추출물과 사포닌(Sigma, USA)을 각각 500, 50, 5 µg/ml의 농도로 처리해서 CO₂ incubator (37°C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 배양 상등액의 TNF-α 함량을 Mouse TNF-α DuoSet ELISA kit (R&D SYSTEM, USA)를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

Interleukin-6 (IL-6) assay

참갈파래 추출물의 항염증 활성을 조사하기 위하여 Interleukin-6 assay를 시행하였다. 10% (v/v) FBS가 첨가된 DMEM (WELGENE, South Korea) 배지에 현탁시킨 RAW 264.7 세포를 12 well plate에 2 ml씩 분주하고 CO₂ incubator (37°C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 1X PBS (Gibco, UK)로 세척한 후, 10% (v/v) FBS가 첨가된 새로운 DMEM 배지를 2 ml씩 분주하고 Lipopolysaccharide (LPS, Sigma, USA, final concentration: 1 µg/ml)를 처리한 후, CO₂ incubator (37°C, 5% CO₂)에서 3시간 동안 배양하여 염증을 유도하였다. 이 후, DMSO에 용해한 참갈파래 추출물과 사포닌(Sigma, USA)을 각각 500, 50, 5 µg/ml의 농도로 처리해서 CO₂ incubator (37°C, 5% CO₂)에서 24시간 배양하였다. 배양 상등액의 IL-6 함량은 Mouse IL-6 DuoSet ELISA kit (R&D SYSTEM, USA)를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

참갈파래 추출물의 항산화 성분인 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법[24]을 응용하여 측정하였다. 시료를 각 농도별로 희석한 후, 1 N Folin-ciocalteu's phenol reagent (Sigma, USA)와 1:1로 혼합하여 실온에서 3분간 정치반응을 하였다. 이후 10% (w/v) Sodium carbonate를 500 µl씩 넣고 vortex하여 실온에서 차광한 상태로 1시간 동안 반응을 진행하였다. 반응이 끝난 후, 침전물이 있으면 원심분리(12,000× g, 10 min)를 진행하고 상등액을 96 well plate에 200 µl씩 분주하여 ELISA Reader (Multiskan Go, Thermo Scientific, Finland)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 에탄올에 녹인 gallic acid를 최종농도가 0, 25, 50, 100, 200 µg/ml이 되도록 희석하여 725 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량곡선을 작성하였고, 시료의 총 폴리페놀 함량의 계산에 사용하였다.

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid ABTS) radical 소거활성 측정

참갈파래 추출물의 항산화활성 측정을 위하여 ABTS assay를 시행하였다. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-

6-sulphonic acid (ABTS) radical 소거활성은 Re의 방법[26, 37]을 응용하여 측정하였다. 시료 또는 에탄올 50 µl에 ABTS (Sigma, USA) 용액 1 ml을 첨가하고 실온에서 차광한 상태로 60분간 반응시킨 후 원심분리(12,000× g, 10 min)하여 상등액을 96 well plate에 분주하였다. 흡광도는 ELISA Reader (Multiskan Go, Thermo Scientific, Finland)를 이용하여 734 nm에서 측정하였으며, 아래의 수식으로 ABTS radical 소거활성을 계산하였다. 양성대조군으로는 gallic acid (Sigma, USA)를 사용하였다. 분석 시 사용된 ABTS 용액은 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulphate를 혼합하여 암실에서 25°C에서 차광한 상태로 12 시간 이상 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 사용하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \{1 - (S - C)\} \times 100$$

S : Sample (sample added with ABTS solution)
 C : Control (ethanol added with ABTS solution)

통계처리

연구결과로 얻어진 자료는 SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 사용하여 하위그룹 각각의 기술통계치(mean ± SD)를 산출하였다. 집단 간의 차이를 알아보기 위해 일원변량분석(one-way ANOVA)를 이용하여 분석하였고, 사후검정은 LSD를 적용하였다. 유의수준은 p<0.05 수준으로 검증하였다.

결과 및 고찰

MTT assay

참갈파래 추출물의 세포독성을 측정하기 위하여 MTT 분석을 시행하였고, 그 결과를 Fig. 1에 나타냈다. DMSO에 용해한 참갈파래 추출물을 500 µg/ml의 농도까지 측정할 결과, 모든 농도에서 90% 이상의 생존율을 보였고 500 µg/ml의 농도에서도 세포에 대한 독성을 보이지 않았으며

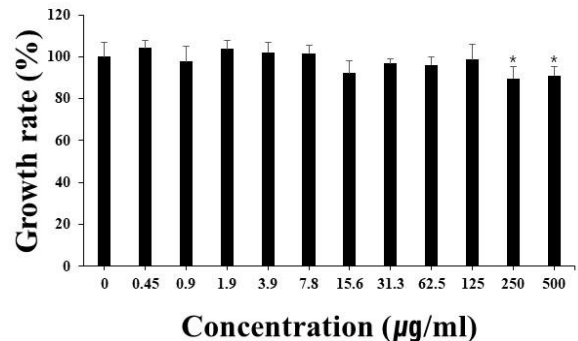


Fig. 1. MTT assays of the *Ulva lactuca* Linnaeus extract using RAW264.7 cells. Star marks represent the significance of ANOVA with LSD's post-hoc test (*p<0.05) compared with no sample. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

로 이후 세포배양 실험에서는 500 µg/ml의 농도를 가장 높은 농도로 정하여 실험을 진행하였다.

Nitric Oxide (NO) assay

참갈파래 추출물의 항염증 활성을 확인하기 위하여 LPS에 의해 유도된 NO의 생성을 억제하는 효과를 측정하였고, 그 결과를 Fig. 2에 나타냈다. Lee 등[25]은 염증반응이 활성화되면 L-arginine에서 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 NO가 합성되며 과도한 NO 생성은 염증의 심화와 그로 인한 조직의 손상을 초래한다고 보고하였다. LPS만 처리한 군을 100%로 정하여 비교하였을 때, 사포닌은 5, 50, 500 µg/ml의 농도에서 각각 36%, 73%, 74%의 억제효과를 보였으며, 참갈파래 추출물은 5, 50, 500 µg/ml의 농도에서 각각 16%, 19%, 62%의 억제효과를 보였다. 양성 대조군인 사포닌에 비하여 참갈파래 추출물의 억제효과가 전반적으로 낮았고, 가장 높은 농도인 500 µg/ml의 농도에서는 크게 차이가 나지 않는 억제효과를 나타냈다. 하지만, 사포닌을 50 µg/ml로 처리한 군과 500 µg/ml로 처리한 군의 억제효과가 유사한 것으로 보아 사포닌은 50 µg/ml의 농도에서 이미 최대의 억제효과를 나타낸 것으로 사료된다. 따라서, 참갈파래 추출물은 500 µg/ml의 농도에서 사포닌 50 µg/ml의 농도에서의 억제효과와 유사한 결과를 나타내는 것으로 확인되었다. Park 등[36]은 톡을 유산균을 이용하여 발효한 뒤 NO 생성 억제효과를 측정하였는데, glucose+lactate를 첨가한 *Weissella* sp. SH-1 점종균에서 1,000 µg/ml의 농도의 추출물이 43.44%의 억제효과를 보였고, glucose+citrate를 첨가한 *Weissella* sp. SH-1 점종균에서 1,000 µg/ml의 농도의 추출물이 46.53%의 억제효과를 나타냈다고 보고하였다. 또한, Song 등[39]은 발효하지 않은 톡 추출액은 1,000 µg/ml의 농도에서 14.69%의 억제효과를 보였으며, 유산균 톡 발효액은 1,000 µg/ml의 농도에서 21.95%의 억제효과를 보였다고 보고하였다. 본 연구에 사용한 참갈파래 추출물은 위에서

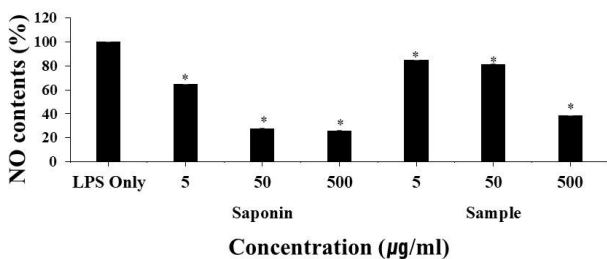


Fig. 2. Effects of the *Ulva lactuca* Linnaeus extract on LPS-induced nitric oxide (NO) production in RAW264.7 cells. Star marks represent the significance of ANOVA with LSD's *post-hoc* test (**p*<0.05) compared with LPS only. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

언급된 보고들보다 농도가 더 낮음에도 불구하고 약 3배의 억제효과를 보인 것으로 보아 높은 항염증 활성을 가진 것으로 사료된다.

Tumor necrosis factor-α (TNF-α) assay

참갈파래 추출물의 항염증 활성을 확인하기 위하여 LPS에 의해 유도된 TNF-α의 생성을 억제하는 효과를 측정하였고, 그 결과를 Fig. 3에 나타냈다. TNF-α는 endotoxin shock와 관련된 중요한 인자로 과발현되면 치명적인 독성을 유발하여 패혈증의 원인이 되는 것으로 알려지고 있다[29]. LPS만 처리한 군을 100%로 정하여 비교하였을 때, 사포닌은 5, 50, 500 µg/ml의 농도에서 각각 8%, 19%, 23%의 억제효과를 보였으며, 참갈파래 추출물은 각 5, 50, 500 µg/ml의 농도에서 각각 16%, 17%, 27%의 억제효과를 보였다. 양성 대조군인 사포닌에 비하여 참갈파래 추출물의 억제효과가 전반적으로 유사하게 나타났고, 50 및 500 µg/ml의 농도에서는 크게 차이 나지 않는 억제효과를 나타냈다. Jo 등[8]의 보고에 의하면 우슬을 에탄올로 추출한 시료가 LPS만 처리한 control군에 비해 54.7%의 저해율을 보였으므로, 본 연구에 사용한 참갈파래 추출물보다 더 높은 저해율을 보였다. Mun 등[30]은 발효 톡 에탄올 추출물의 *L. casei* 점종균은 500 µg/ml의 농도에서 TNF-α의 발현이 현저히 억제하였으므로, 발효 톡 에탄올 추출물이 pro-inflammatory cytokine의 생성을 저해하는 것을 확인하였다.

Interleukin-6 (IL-6) assay

참갈파래 추출물의 항염증 활성을 확인하기 위하여 LPS에 의해 유도된 IL-6의 생성을 억제하는 효과를 측정하였고, 그 결과를 Fig. 4에 나타냈다. LPS만 처리한 군을 100%로 정하여 비교하였을 때, 사포닌의 경우, 50 및 500 µg/ml 농도에서 각각 15%, 28%의 억제효과를 보였다. 참갈파래 추출물의 경우, 500 µg/ml의 농도에서 29%의 억제

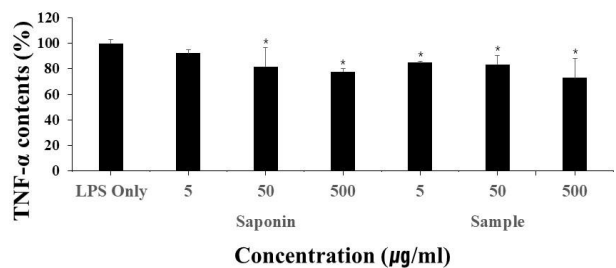


Fig. 3. Effects of the *Ulva lactuca* Linnaeus extract on LPS-induced Tumor necrosis factor-α (TNF-α) in RAW264.7 cells. Star marks represent the significance of ANOVA with LSD's *post-hoc* test (**p*<0.05) compared with LPS only. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

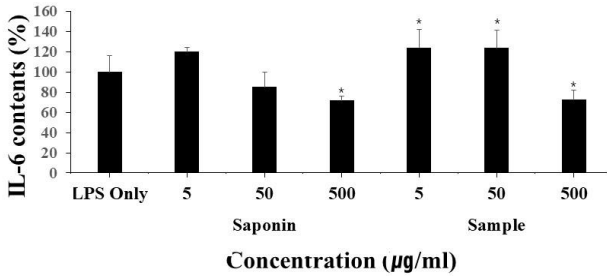


Fig. 4. Effects of *Ulva lactuca* Linnaeus extract on LPS-induced Interleukin-6 (IL-6) in RAW264.7 cells. Star marks represent the significance of ANOVA with LSD's *post-hoc* test (* $p < 0.05$) compared with LPS only. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

효과를 보였는데, 이는 동일농도에서의 사포닌의 억제 효과와 유사한 수치였다. Woo 등[40]은 우슬과 땅두릅을 2:1의 비율로 섞은 복합 열수추출물의 경우에 30%의 억제효과를 보였다고 보고하고 있어, 본 연구에 사용한 참갈파래 추출물과 비슷한 억제효과를 나타낸다고 할 수 있다. Kim 등[20]의 보고에 의하면 어성초와 두충을 혼합하여 열수추출한 시료를 이용해서 IL-6를 측정된 결과 90% 이상의 아주 높은 억제효과를 보였다.

총 폴리페놀 함량

참갈파래 추출물의 항산화 성분의 함량을 조사하기 위하여 총 폴리페놀 함량을 측정하였고, 그 결과를 Fig. 5에 나타냈다. 0.3, 3, 30 mg/ml의 농도에서 각각 8.02, 9.90, 23.8 mg GAE/g의 총 폴리페놀이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 하지만, 0.3 및 3 mg/ml의 농도에서는 시료의 농도에 의존하지 않고 총 폴리페놀 함량이 나타났으므로 0.3 mg/ml의 농도에서의 총 폴리페놀 함량을 제외한 다른 농도에서의 총 폴리페놀 함량을 1 mg/ml의 농도에서의 총 폴리페놀 함량으로 환산한 결과, 0.8-3.3 mg GAE/g의

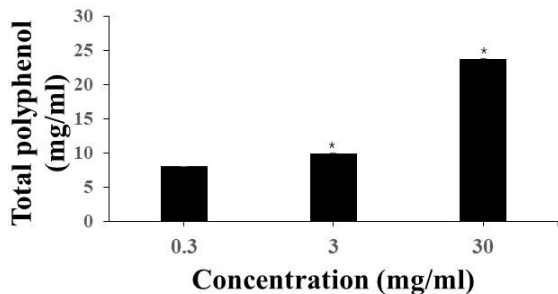


Fig. 5. Total polyphenol contents of *Ulva lactuca* Linnaeus extract. Star marks represent the significance of ANOVA with LSD's *post-hoc* test (* $p < 0.05$) compared with 0.3 mg/ml sample. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

함량으로 나타났다. Kwak 등[24]이 보고한 바에 의하면 파래의 총 폴리페놀 함량을 1 mg/ml로 환산하면 8.97 mg GAE/g으로 나타났고, 미역의 총 폴리페놀 함량을 1 mg/ml로 환산하면 2.43 mg GAE/g으로 나타나, 미역보다는 참갈파래 추출물의 총 폴리페놀 함량이 높은 것으로 나타났지만, 파래의 경우는 참갈파래 추출물의 총 폴리페놀 함량보다 약 3배 정도의 높은 총 폴리페놀이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid ABTS) radical 소거활성

참갈파래 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위하여 2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid ABTS) radical 소거활성을 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 6에 나타냈다. ABTS radical 소거활성은 ABTS solution이 항산화 물질과 반응하여 탈색된 색을 흡광도로 측정하는 것이다 [6]. 참갈파래 추출물은 0.3, 3, 30 mg/ml의 농도에서 각각 약 2.6, 12.6, 77.3%의 소거활성을 나타냈으며, 시료의 농도증가에 따라 소거활성이 증가하였다. 양성 대조군으로 사용한 ascorbic acid의 경우, 0.3 mg/ml의 농도에서부터 이미 포화상태가 되어 더 높은 농도에서의 측정은 무의미하다고 판단하여 최대 농도를 0.3 mg/ml로 정하여 실험에 진행하였다. Ascorbic acid의 경우는 정제된 물질이고 참갈파래 추출물의 경우는 정제가 되지 않은 물질이라 약 100배 정도의 농도차이가 있으므로 30 mg/ml의 농도에서의 참갈파래 추출물의 ABTS 소거활성이 0.3 mg/ml농도의 ascorbic acid와 유사한 활성을 나타냈으며, 이 보다 더 낮은 농도에서도 유사한 활성을 나타냈다. Lim 등[28]은 매생이를 첨가한 절편의 ABTS를 측정된 결과, 7% 첨가한 군에서 13.51%의 소거능을 보였다고 보고하였다. 또한, Sung 등[38]의 보고에서는 전나무 부산물 추출물의 경우 35% (v/v) 에탄올로 추출한 군이 61.27%로 가장 낮은 활성

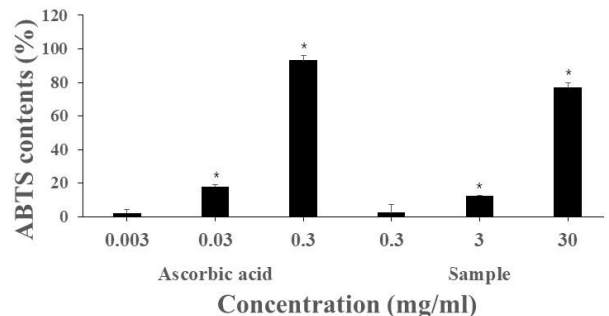


Fig. 6. Effects of *Ulva lactuca* Linnaeus extract on ABTS radical scavenging. Star marks represent the significance of ANOVA with LSD's *post-hoc* test (* $p < 0.05$) compared with the lowest concentration of each sample. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

을 보였으며, 100°C의 열수로 추출한 군이 77.98%로 가장 높은 활성을 보여, 본 연구에서 사용한 참갈파래 추출물과 유사한 항산화 활성을 가진다고 볼 수 있다.

감사의 글

본 연구는 BB21+ 사업의 지원을 받아 수행하였으며 이에 감사를 드립니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Akihisa, T., Kokke, W. C. M. C., Kimura, Y. and Tamura, T. 1993. Isokarounidiol (D-C-Friedooleana-6,8-diene-3-alpha, 29-diol) the first naturally occurring triterpene with a delta-6,8-conjugated diene system—Iodine-mediated dehydrogenation and isomerization of its diacetate. *J. Org. Chem.* **58**, 1959-1962.
- Choi, E. J., Lee, S. C. and Chang, A. K. 2016. Effects of tower climbing resistance exercise on leptin, TNF- α , IL-6 gene expression of colon in mice. *J. Sports Sci.* **3**, 1245-1255.
- Cow, W. I. 2010. Anti-inflammatory effect of *Houttuynia cordata* extract in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 Cells. MS thesis. Chung-Ang University, Seoul, South Korea.
- Jang, M. K., Kim, M. Y., Lee, D. G., Lee, J. H., Ha, J. M., Ha, B. J., Kim, M. H., Bae, S. J., Jang, J. S. and Lee, S. H. 2006. Effects of *Ulva lactuca* extracts on cytotoxicity of cancer cell lines and immune stimulation. *J. Life Sci.* **7**, 1169-1173.
- Jeong, H. J., Kim, H. J., Ju, E. S., Lee, S. G., Kong, C. S. and Weo, Y. W. 2017. Antiinflammatory activity of solvent-partitioned fractions from *Atriplex gmelinii* C. A. Mey. in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *J. Life Sci.* **2**, 187-193.
- Jin, J. H., Kwon, H. O., Ha, Y. J., Heo, S. H. and Lee, J. M. 2017. Anti-inflammatory and anti-oxidative effect of *Pinus koraiensis* cone shell extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **46**, 1053-1060.
- Jin, K. S., Lee, J. Y., Kwon, H. J. and Kim, B. W. 2014. Antioxidative and anti-inflammatory activities of *Ardisia arborescens* ethanol extract. *J. Life Sci.* **24**, 713-720.
- Jo, E. S., Woo, Y. M., Kim, O. J., Jo, M. Y., Ahn, M. Y., Lee, J. H., Ha, J. M. and Kim, A. 2019. Enhancement of anti-inflammatory activity of *Lactobacillus plantarum* fermented by *Achyranthes japonica* on extraction solvents. *Appl. Chem. Eng.* **2**, 145-150.
- Jung, S., Kim, H. W. and Yoon, S. 1999. Analysis of anti-oxidant nutrients in green yellow vegetable juice. *J. Food Sci. Biotech.* **31**, 880-886.
- Jung, Y. S., Eun, C. S., Jung, Y. T., Kim, H. J. and Yu, M. H. 2013. Anti-inflammatory effects of *Picrasma quasiosoides* (D.DON) BENN leaves extracts. *J. Life Sci.* **23**, 629-636.
- Kang, C. H., Han, S. H. and So, J. S. 2013. Anti-inflammatory effect of chloroform extract from *Potentilla chinensis*. *Kor. Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* **28**, 13-17.
- Kang, H. W. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory effect of extracts from *Flammulina celutipes* (curtis) singer. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 1072-1078.
- Kang, J. B. and Lee, Y. K. 2006. A study of altered IL-6 and TNF- α expression in peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Kor. J. Fertil. Steril.* **1**, 45-52.
- Kim, I. H., Hyun, J. W., Lee, S. H., Ha, J. M., Ha, B. J. and Lee, J. H. 2006. Immunological stimulating effects of the marine macroalgae *Ulva lactuca* with different solvents. *Environ. Mutagen. Carcinogen.* **26**, 89-92.
- Kim, I. H., Lee, H. H., Jang, J. S., Lee, S. H., Ha, J. M., Ha, B. J. and Lee, J. H. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of seaweed, *Ulva lactuca*. *Environ. Mutagen. and Carcinogen.* **26**, 48-52.
- Kim, K. P., Jung, K. I., Choi, Y. J. and Gal, S. W. 2017. Anti-inflammatory effects of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extracts in LPS-induced RAW264.7 cells. *J. Life Sci.* **9**, 986-993.
- Kim, Y. J. 2011. Anti-inflammatory effect and mechanism of an extract from *Anethum graveoloens* flowers. MS Thesis. Yon-Sei University, Seoul, South Korea.
- Kim, Y. J. and So, D. Y. 2012. Antioxidant and inhibitory effects of Korean *Panax ginseng* extract on pro-inflammatory mediators in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 1371-1377.
- Kim, Y. J. and Son, D. Y. 2014. Inflammatory mediator regulation of the *Zizyphus jujube* leaf fractions in the LPS-stimulated Raw264.7 mouse macrophage. *Kor. J. Food Preserv.* **21**, 114-120.
- Kim, Y. S., Gwon, H. J., Park, J. S., Lim, Y. M. and Nho, Y. C. 2011. Anti-inflammatory activity of herbal extracts through inhibition of TNF- α , IL-6 and IL-8. *J. Radiat. Indust.* **5**, 273-277.
- Kim, Y. S., Lee, S. J., Hwang, J. W., Kim, E. H., Park, P. J. and Jeong, J. H. 2012. Anti-inflammatory effects of extracts from *Ligustrum ovalifolium* H. leaves on RAW 264.7 macrophages. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 1205-1210.
- Kong, C. S. 2014. Anti-inflammatory activity of the solvent-partitioned fractions from *Spergularia marina* in LPS stimulated RAW264.7 cells. *Prev. Nutr. Food Sci.* **19**, 261-267.
- Ku, K. M., Kim, S. K. and Kang, Y. H. 2009. Antioxidant activity and functional components of corn silk (*Zea mays* L.). *Kor. J. Plant Res.* **22**, 323-329.
- Kwak, C. S., Kim, S. A. and Lee, M. S. 2005. The correlation of antioxidative effects of Korean common edible sea-

- weeds and total polyphenol content. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1143-1150.
25. Lee, H., Yang, S. G., Park, S. M. and Jeon, D. Y. 1992. Effect of lactobacilli on reactive oxygen scavenging and immune stimulation. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **7**, 290-295.
 26. Lee, S. J. 2016. Bioactive substances searching and bioactivities evaluation of fermented *Sargassum siliquans-trum*. MS thesis. Silla University, Busan, South Korea.
 27. Li, H., Lee, S. M., Lee, D. G., Lee, J. H., Lee, S. H., Ha, B. J., Jang, J. S., Kim, W. S. and Ha, J. M. 2007. Antioxidant activities of *Ulva lactuca* extracts with different solvents. *J. Life Sci.* **1**, 51-55.
 28. Lim, E. J., Kim, Y. B. and Kwon, K. H. 2021. Anti-oxidant activity and sensory evaluation of Jeolpyeon with *Capsosiphon fulvescens*. *Clin. Sci. Hospit. Res.* **27**, 79-88.
 29. Maeng, O. Y., Kim, Y. C., Kim, Y. S., Paik, S. G. and Lee, H. Y. 2002. The function and regulation of NO; Identification of a gene that is up-regulated in RAW264.7 macrophage cells by nitric oxide. *Bull. of Biotechnol. CNU.* **2**, 1-9.
 30. Mun, O. J., Kwon, M. S., Bae, M. J., Ahn, B. N., Fatih, K., Kim, M. H., Lee, S. H., Yu, K. H., Kim, Y. Y., Seo, Y. W. and Kong, C. S. 2015. Anti-inflammatory activity of *Hizikia fusiformis* extracts fermented with *Lactobacillus casei* in LPS stimulated RAW264.7 macrophages. *KSBBS J.* **30**, 38-43.
 31. Nam, C. S., Kang, K. S. and Ha, B. J. 2007. *Ulva lactuca* fucoidan extract and its protective effects on CCl₄-induced liver dysfunction. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **2**, 73-77.
 32. Nam, C. S., Kang, K. S., Ha, J. M., Lee, S. H., Lee, J. H., Lee, D. G., Jang, J. S., Kang, H. Y. and Ha, B. J. 2006. Anti-oxidative effects of *Ulva lactuca* extract fractions against CCl₄ toxification. *J. Toxicol. Pub. Health.* **4**, 333-338.
 33. Nam, C. S., Kang, K. S., Ha, J. M., Lee, S. H., Lee, J. H., Lee, D. G., Jang, J. S., Kang, H. Y. and Ha, B. J. 2006. The correlativity of *Ulva lactuca* fractions, LPS, enzymatic activity and the evaluation of water fraction. *J. Life Sci.* **6**, 984-988.
 34. Noh, K. H., Jang, J. H., Min, K. H., Chinzorig, R., Lee, M. O. and Song, Y. S. 2011. Suppressive effect of green tea seed coat ethyl acetate fraction on inflammation and its mechanism in RAW264.7 macrophage cell. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 625-634.
 35. Park, S. H., Kim, J. I., Jeong, Y. K. and Choi, Y. H. 2011. Extracts of *Allium fistulosum* attenuate pro-inflammatory action in the lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia cells. *J. Life Sci.* **21**, 796-804.
 36. Park, S. H., Lee, S. J., Jeon, M. J., Kim, S. Y., Mun, O. J., Kim, M. H., Kong, C. S., Lee, D. G., Yu, K. H., Kim, Y. Y. and Lee, S. H. 2014. Evaluation of biological activities of fermented *Hizikia fusiformis* extracts. *J. Life Sci.* **24**, 304-310.
 37. 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. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
 38. Seong, E. S., Kim, S. K., Lee, J. W., Choi, S. H., Yoo, J. H., Lim, J. D., Na, J. K. and Yu, C. Y. 2018. Antioxidant and antibacterial activities of the byproducts of *Abies holophylla* extract. *Kor. J. Medicin. Crop Sci.* **26**, 134-140.
 39. Song, H. S., Eom, S. H., Kang, Y. M., Choi, J. D. and Kim, Y. M. 2011. Enhancement of the antioxidant and anti-inflammatory activity of *Hizikia fusiforme* water extract by lactic acid bacteria fermentation. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **44**, 111-117.
 40. Woo, Y. M., Jo, E. S., Kim, O. J., Lee, Y. H., Ahn, M. Y., Lee, D. G., Lee, S. H., Ha, J. M. and Kim, A. 2019. Anti-inflammatory effects of *Achyranthes japonica* Nakai and *Aralia continentalis* Kitagawa complex fermented extracts on LPS-stimulated RAW264.7 macrophage. *Appl. Chem. Eng.* **4**, 479-486.
 41. Woo, Y. M., Kim, O. J., Jo, E. S., Jo, M. Y., Ahn, M. Y., Lee, S. H., Ha, J. M. and Kim, A. 2018. Enhancement of the anti-inflammatory activities of *Aralia continentalis* Kitagawa extracts fermented by *Lactobacillus plantarum*. *J. Life Sci.* **12**, 1438-1447.

초록 : 참갈파래 추출물의 항염증 및 항산화 활성

민경철¹ · 김근대² · 남현규³ · 이상현^{1,2*}

(¹신라대학교 일반대학원 바이오과학과, ²신라대학교 제약공학과, ³(주)지오에프앤비케어)

참갈파래(*Ulva lactuca* Linnaeus) 추출물에 대한 항염증 활성 및 항산화 활성을 측정하였다. 참갈파래 추출물의 MTT assay의 결과로 500 µg/ml 이하의 모든 농도에서 약 90% 이상의 세포생존율을 보였으며, 일정 농도에서는 100%를 능가하는 세포성장 촉진율까지 보인 것으로 나타났다. 그리하여 이후 모든 실험에서는 가장 높은 농도를 500 µg/ml으로 정하여 실험을 진행하였다. 항염증 실험 중 하나인 nitric oxide (NO) 소거능을 측정한 결과, LPS만 처리한 군을 100%로 정하여 비교하였을 때, 참갈파래 추출물은 5, 50, 500 µg/ml의 농도에서 각각 16%, 19%, 62%의 억제효과를 보였다. Tumor necrosis factor-α (TNF-α)의 경우, LPS만 처리한 군을 100%로 정하여 비교하였을 때, 참갈파래 추출물은 5, 50, 500 µg/ml의 농도에서 각각 16%, 17%, 27%의 억제효과를 보였다. Interleukin-6 (IL-6)의 경우, LPS만 처리한 군을 100%로 정하여 비교하였을 때, 참갈파래 추출물의 경우, 500 µg/ml의 농도에서 29%의 억제효과를 보였다. 참갈파래 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위하여 항산화 성분을 조사하는 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 총 폴리페놀 함량의 경우, 0.3, 3, 30 mg/ml의 농도에서 각각 8.02, 9.90, 23.8 mg GAE/g의 총 폴리페놀이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. ABTS radical 소거활성을 측정한 결과, 0.3, 3, 30 mg/ml의 농도에서 각각 약 2.6, 12.6, 77.3%의 소거활성이 나타났으며, 시료의 농도증가에 따라 소거활성이 증가하였다. 따라서, 본 연구에 사용된 참갈파래 추출물은 향후 항염증 및 항산화 활성소재로서 기능성 식품의 개발에 이용이 가능할 것으로 사료된다.