KFAS 한국수산과학회지 Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences
한수지 56(6), 833-840, 2023

Original Article
Korean J Fish Aquat Sci 56(6),833-840,2023

넓패(*Ishige foliacea*) 추출물의 피부노화 억제활성

김지윤 · 박다빈 · 이연지 · 박선주[1]* · 김용태*

군산대학교 식품생명공학전공, [1]부경대학교 화학과

Anti-skin Aging Properties of Different Solvent Extracts from *Ishige foliacea*

Ji-Youn Kim, Da-Bin Park, Yeon-Ji Lee, Sun Joo Park[1]* and Yong-Tae Kim*

Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Republic of Korea
[1]Department of Chemistry, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

In this study, the antioxidant and anti-skin aging properties of the Korean marine algae *Ishige foliacea* were investigated. Solvent extracts from *I. foliacea* were prepared with 70% ethanol, 80% methanol, and water. The extraction yields of various solvent extracts ranged from 9.55% to 35.12%. In terms of antioxidant activity, the ethanol extract showed the highest ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) radical scavenging activity, nitrite oxide scavenging activity, reducing power, and FRAP (ferric reducing antioxidant power). Regarding anti-skin aging activity, evaluation of the skin whitening and anti-wrinkle activities revealed that the methanol, water, and ethanol extracts possessed the highest tyrosinase (IC_{50}=0.98 mg/mL), elastase (IC_{50}=0.15 mg/mL), and collagenase (IC_{50}=0.06 mg/mL) inhibitory activities, respectively. These results suggest that *I. foliacea* holds potential as an antioxidant and anti-skin aging substance in food and cosmetic materials.

Keywords: Anti-skin aging activity, Antioxidative activity, *Ishige foliacea*, Marine algae

서 론

우리나라는 삼면이 바다로 둘러싸여 있고 난류 및 한류가 교류하는 곳으로 자생하는 해양생물 자원이 풍부하여 해조류를 비롯한 다양한 해양생물을 식용, 약용 및 화장품 등으로 이용해 왔다(Shin et al., 2006). 천연물 유래 항산화 및 생리기능성 물질에 관한 연구의 대부분은 주로 육상생물로부터 이루어져 왔는데, 그 연구대상의 한계와 환경 오염 등으로 인하여 다양한 생리활성물질을 가지고 있는 해양생물이 육상생물의 대체자원으로 주목받고 있다(Byun and Kim, 2005; Lee, 2011). 해조류의 경우 폴리페놀, 가용성 식이섬유, 다중 불포화 지방산, 필수 아미노산 및 미네랄 등 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있으며(Cho et al., 2020) 영양학적으로 해조류의 열량은 매우 낮으면서 육상생물에는 없는 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유하고 있다고 알려져 있다(Yu and Lee, 2022). 해조류는 광합성 색소의 성분에 따라 녹조류(Chlorophyceae), 갈조류(Phaeophyceae), 홍조류(Rhodophyceae)로 나뉘어지며 녹조류의 경우 조간대 상부, 갈조류는 조간대 중하부, 홍조류는 조하대에서 주로 서식하는 것으로 알려져 있다(Yu and Lee, 2022). 그 중 갈조류는 항암, 항균 및 고지혈증 개선 등의 주요 생리 활성이 알려져 있고, 특히 갈조류에 다량 함유되어 있는 fucoidan의 경우 항암, 항혈액응고효과 및 비만억제효과 등의 생리활성이 확인되어 그 관련 질병의 치료제 및 건강기능식품으로 활용 가능성이 높은 것으로 알려져 있다(Han, 2010; Kim et al., 2017). 넓패는 갈조식물문(Phaeophyt), 민가지말목(Chordariales), 패과(Ishigeaceae)에 속하는 갈조류로서, 한국의 서 · 남해안 및 제주도를 비롯한 일본, 중국 및 대만에 분포하고, 파도가 조용한 곳의 조간대에서 서식하며, 식용으로도 이용되고 있다. 넓패의 형태학적 특징으로는 엽상이며 흑갈색이고 뿌리는 작은 반상, 짧은 원주상의 줄기를 가지고 있으며 상부는 넓은 사상 또는 대상이고 차상으로 분기하며, 패에 착생하거나 바위에 붙어 자란다(Cho et al., 2012). 현재까지 넓패에 대한 생리기능성 연구로는 항균, 항염증, 살조력, 항혈액 응고 효과 및 피부 미백에 관여하는 tyrosinase 억제 효과 등이 보고되어 있다. 특히 넓패에서

***Corresponding author:** Tel: +82. 63. 469. 1824 Fax: +82. 63. 469. 7448
E-mail address: parksj@pknu.ac.kr; kimyt@kunsan.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.2023.0833
Korean J Fish Aquat Sci 56(6), 833-840, December 2023
Received 14 September 2023; **Revised** 18 October 2023; **Accepted** 27 October 2023
저자 직위: 김지윤(대학원생), 박다빈(대학원생), 이연지(대학원생), 박선주(교수), 김용태(교수)

분리한 octaphlorethol A는 미백효과 및 α-glucosidase를 저해하는 항당뇨 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2013, 2016, 2017; Kim et al., 2015b). 본 연구에서는 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있는 해조류인 넓패의 성분을 분석하고, 항산화성 및 항노화에 대한 생리기능성을 구명하고자 증류수, 에탄올 및 메탄올을 용매로 사용하여 넓패 추출물을 제조한 뒤 추출조건에 따른 넓패의 항산화 활성 및 항피부노화 활성을 측정하여 기능성식품 및 화장품 소재로서의 활용 가능성을 비교 · 검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

본 실험에 사용된 넓패(*Ishige foliacea*)는 제주도에서 2021년 5월에 채취한 것을 (주)파라제주(Jeju, Korea)에서 구입하여 실험실로 운반한 후 협잡물을 제거한 다음 분쇄기(FM700SS; Hanil Co. Ltd., Seoul, Korea)로 분쇄하여 시료의 성분분석 및 추출물 제조에 사용하였다. 항산화 및 항노화활성을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, quercetin, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), vitamin C, mushroom tyrosinase, 3,4-dihydroxy-L-phenylalamine (L-DOPA), kojic acid, collagenase, epigallocatechin gallate(EGCG) 및 porcine pancreatic elastase 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 모든 시약은 분석용 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

넓패 추출물의 제조

넓패 추출물은 Han (1999) 및 Park et al. (2022)의 방법을 참고하여 예비실험을 거쳐 아래와 같이 제조하였다. 시료 분말을 3가지 용매(증류수, 70% ethanol, 80% methanol)를 사용하여 넓패 추출물을 각각 제조하였다. 증류수를 용매로 사용한 추출은 넓패 50 g에 증류수를 시료 대비 20배의 양을 첨가하여 고압증기멸균기(autoclave; ac-11; Jeiotech, Daejon, Korea) 121℃에서 3시간 동안 가열 추출하였다. 유기 용매를 사용한 추출은 70% ethanol과 80% methanol을 추출 용매로 사용하여 시료 50 g에 각 추출용매를 시료 대비 20배의 양으로 첨가하여 50℃에서 24시간 동안 일반중력대류배양기(shaking incubator; KMC-8480SR-L; Vision Scientific Co., Daejon, Korea) 120 rpm에서 추출하였다. 각 용매별로 추출한 넓패 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 여액을 회수하였다. 얻어진 각각의 추출물을 회전증발농축기(Rotavapor; RE-111; Buchi, Gwangmyeong, Korea)로 유기용매를 제거하여, 동결건조[Freeze Dryer; LP08 (XXX); Ilshinbiobase, Yangju, Korea]한 후에 -20℃ 냉동고에 보관하면서 각종 실험에 사용하였다. 모든 추출물은 적절한 양을 저울에 달아 증류수(증류수 추출물) 및 DMSO (EtOH 및 MeOH 추출물)로 용해하여 항산화성 및 생리활성 측정 시료로 사용하였다. 넓패 추출물의 수율은 각 추출물의 건량을 시료 건량으로 나누어 백분율로 나타내었다.

총 폴리페놀 함량 측정

넓패 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis 법을 약간 변형한 Lee et al. (2020b)의 방법에 준하여 수행하였다. 각 시료(1 mL)에 95% 에탄올 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.

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±SD)가 되도록 phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 추출물 50 μL에 ABTS 용액 950 μL를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 계산식, $ABTS^+$ radical scavenging ability (%)=[($Control_{734}$-$Sample_{734}$)/$Control_{734}$]×100에 의하여 활성을 산출하였다. EC_{50} (effective concentration)은 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 유효농도로 nonlinear regression analysis software (Prism 9; GraphPad, CA, USA)를 이용하여 구하였다. EC_{50}은 낮을수록 $ABTS^+$ 라디컬 소거능이 뛰어남을 의미한다.

아질산염(nitrite) 소거활성은 Lee et al. (2021)의 방법으로 측정하였다. 1 mM $NaNO_2$ 용액 1 mL에 소정 농도의 시료 1 mL를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2) 용액을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2로 조정한 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이어서 37℃에서 1시간 반응시켜 얻은 반응용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sufanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1로 혼합) 0.5 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 구하였다. 대조구는 griess시약 대신 증류수를 0.5 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 백분율로 나타내었다.

아질산염 소거활성 (%)=[1-(A-C)/B]×100

A, 1 mM nitrite 용액에 시료 를 첨가한 흡광도.
B, 1 mM nitrite 용액의 흡광도.
C, 시료의 흡 광도.

EC_{50} value (mg/mL)는 50%의 아질산염 소거활성을 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 acid를 가하여 반응을 정지시킨 후, 원심분리(1,890 *g*, 10분)하였다. 상층액 1.5 mL에 1.5 mL의 증류수 와 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. EC_{50} 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 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$를 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. $FeSO_4 \cdot 7H_2O$를 표준물질로 사용하여 동일한 방법으로 얻은 표준 검량선으로부터 FRAP valve (mM)를 계산하였다. 모든 항산화 활성 측정의 표준 물질은 ascorbic acid를 사용하였다.

Tyrosinase 저해활성 측정

각 시료의 tyrosinase 저해활성은 Kim et al. (2022)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 0.1 mL의 시료용액은 0.3 mL의 mushroom tyrosinase (50 Unit/mL)와 0.5 mL의 50 mM phosphate buffer (pH6.8)을 혼합하여 실온에서 30분 동안 전 단계 반응을 실시한 후, 0.1 mL의 10 mM L-DOPA 용액을 가하여, 파장 475 nm에서 20분 동안 1분 간격으로 생성되는 dopachrome의 흡광도를 모니터링하면서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성(%)은 다음 식, Tyrosinase inhibitory activity (%)=[($Control_{475}$-$Sample_{475}$)/$Control_{475}$]×100을 통하여 계산하였다. 여기서 대조구($Control_{475}$)는 시료 대신 증류수를 가하여 측정한 흡광도를 의미하였다.

Elastase 저해활성 측정

각 시료의 elastase 저해활성은 Kim et al. (2022)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. Porcine pancreatic elastase를 반응용액(50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.2)에 녹여 1 U/mL로 제조하여 효소용액으로 사용하였고, 기질용액은 N-succinyl-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide (0.5 mM)을 동일한 반응용액에 녹여서 제조하였다. 효소활성 측정은 반응용액 650 µL에 시료 100 µL와 elastase (1 U/mL) 125 µL를 넣고 잘 혼합한 뒤 실온에서 10분간 전 단계 반응을 실시한 후, 0.5 mM 기질용액 125 µL를 가하여 파장 405 nm에서 0분의 흡광도를 측정한 후 25°C에서 10분간 반응한 후의 흡광도를 측정하였다. Elastase 저해활성은 다음의 식, Elastase inhibition activity (%)=[1-{S(OD 10 min-OD 0 min)/C(OD 10 min-OD 0 min)}]×100으로 산출하였다(S, 시료 첨가구의 흡광도; C, 시료 대신 증류수 첨가구의 흡광도).

Collagenase 저해활성 측정

각 시료의 collagenase 저해활성은 Kim et al. (2022)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. Collagenase를 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5), 10 mM CaCl2, 0.4 M NaCl에 녹여 0.2 U/mL로 제조하여 효소용액으로 사용하였고, 기질용액은 2 mM N-[3(2-furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala을 동일한 완충용액에 녹여서 제조하였다. 30 µL의 시료용액은 30 µL의 collagenase (0.2 U/mL)와 30 µL의 반응용액(100 mM Tris-HCl buffer, pH 7.5, 10 mM $CaCl_2$)을 혼합하여 실온에서 10분 동안 정치한 후, 60 µL의 2 mM 기질용액을 첨가하여 25°C에서 20분 동안 2분 간격으로 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. Collagenase 저해활성은 다음 식, Collagenase inhibitory activity (%)=(1-$Sample_{340}$/$Control_{340}$)×100을 통하여 산출하였으며, 대조구($Control_{340}$)는 시료 대신 증류수를 가하여 측정한 흡광도를 의미한다.

통계처리

실험 결과는 SPSS 22.0 package program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)으로 통계처리 하여 3회 측정한 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

넓패 추출물의 수율 및 총 폴리페놀 함량

넓패에 함유되어 있는 생리활성물질 및 유용성분을 대량 획득하기 위하여 70% EtOH, 80% MeOH 및 증류수를 추출 용매로 사용하여 각각의 넓패 추출물을 제조하였다. 넓패 추출물의 수율 결과는 Table 1과 같다. 넓패의 각 용매별 추출물의 수율은 EtOH를 사용한 추출물은 9.73%, MeOH를 사용한 경우에는 9.55%, 열수를 사용한 고온고압 추출조건에서는 35.12%

로 나타났다. 각 용매에 따른 넓패 추출물의 수율을 비교하면 열수>>EtOH≥MeOH 추출물 순으로 수율이 높은 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 해조류를 다양한 추출방법으로 추출한 연구보고에서 모든 시료가 에탄올과 메탄올을 사용한 유기용매 추출물보다 열수 추출물의 수율이 높게 나타났다는 보고와 일치하는 것으로 확인되었다 (Na et al., 2014; Lee et al., 2020a; Park et al., 2022).

넓패 추출물들의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 1에 나타내었다. EtOH을 용매로 사용한 넓패 추출물의 총 폴리페놀 함량은 22.66 mg GAE/g이고, MeOH 추출물은 22.62 mg GAE/g이었으며, 열수 추출물은 14.36 mg GAE/g로 확인되어 넓패 추출물의 폴리페놀 함량은 EtOH≥MeOH>열수 추출물 순으로 높게 나타났다. 넓패의 EtOH 및 MeOH 추출물에서의 총 폴리페놀 함량은 유사한 것으로 나타났지만, 열수 추출물은 유기용매 추출물보다 약 1/2배 낮은 함량을 가진 것으로 나타났다. Kim et al. (2015a)의 다양한 해조류의 총 폴리페놀 함량 비교 연구에 따르면 유기용매를 사용한 추출물이 열수 추출물보다 총 폴리페놀 함량이 높게 나타난다는 보고와 본 연구의 총 폴리페놀 측정 결과는 유사한 것으로 나타났다. 한국산 해조류인 미역, 파래, 톳, 다시마, 김, 청각 EtOH 추출물의 총 폴리페놀에 관한 연구에 따르면 총 폴리페놀 함량은 1.17–13.76 mg/g인 것으로 나타났다. 본 연구와 비교해 보면 넓패 추출물의 총 폴리페놀 함량은 매우 높은 해조류에 속하는 것으로 확인되었다 (Kwak et al., 2005; Lee et al., 2020a; Park et al., 2022). 넓패를 포함한 갈조류의 폴리페놀은 육상식물과 다르게 플로로글루시놀[phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene)]을 기본 구조로 하는 플로로탄닌(phlorotannin)이라는 독특한 폴리페놀 2차 대사산물을 함유하고 있어 항산화성 뿐만 아니라 혈압강하, 콜레스테롤 저하, 간 보호, 항바이러스 및 항박테리아, 항암, 항염증 효과 등 해조류의 다양한 생리활성에 기여한다고 알려져 있다 (Lee et al., 2020a).

Table 1. Comparison of the extraction yields and total polyphenolic and flavonoid contents of *Ishige foliacea* extract with various solvents

Sample	Yield (%)	Total polyphenolic content (mg GAE/g)[1]
70% EtOH extract	9.73	22.66±4.44[a,2,3]
80% MeOH extract	9.55	22.62±4.25[a]
Water extract	35.12	14.36±3.50[b]

[1]GAE, Gallic acid equivalent mg/g. [2]Value are mean±SD (n=3). [3]Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

넓패 추출물의 항산화성

넓패 추출물의 추출용매에 따른 항산화 활성을 비교하기 위하여 EtOH, MeOH 및 열수 추출물의 ABTS 라디칼 소거능, 아질산염 소거능, 환원력 및 FRAP를 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 각 추출물을 다양한 농도 별로 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하여 ABTS 라디칼의 50%를 소거하는 시료 농도(EC_{50}) 값으로 나타내었다. EtOH 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성(EC_{50})은 0.92 mg/mL, MeOH 추출물은 1.05 mg/mL, 열수 추출물은 1.35 mg/mL로 측정되어, 넓패의 경우 EtOH>MeOH>열수 추출물 순으로 ABTS 라디칼 소거활성이 높은 것으로 확인되었다. 넓패 추출물 중에서 폴리페놀 함량이 높은 MeOH 및 EtOH 추출물이 열수 추출물보다 ABTS 라디칼 소거능 또한 높은 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 Kim et al. (2015a)의 폴리페놀 함량이 높은 해조류 추출물에서 ABTS 라디칼 소거능이 우수하다는 연구 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 넓패의 ABTS 라디칼 소거활성(EC_{50})은 검둥감태, 감태 및 톳 추출물보다는 낮지만, 꽈배기모자반, 알송이모자반, 가시뼈대그물말, 미역 및 바위수염 보다는 높은 ABTS 활성을 내포하는 것으로 확인되었다(Son et al., 2016; Lee et al., 2020b).

넓패 추출물의 아질산염 소거능(EC_{50})을 측정한 결과 EtOH 추출물은 3.07 mg/mL, MeOH 추출물은 3.80 mg/mL, 열수 추출물은 18.87 mg/mL로 나타났다. 따라서 넓패의 경우 EtOH 및 MeOH 추출물은 증류수 추출물에 비하여 약 6배 이상의 높은 아질산염 소거활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 이와 같이 EtOH 및 MeOH 추출물의 아질산염 소거활성이 열수 추출물 보다 높게 나타나는 것은 유기용매에 의한 폴리페놀을 포함

Table 2. Antioxidant activities of *Ishige foliacea* 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)
70% EtOH extract	0.92±0.01[c,3,4]	3.07±0.08[c]	0.63±0.03[c]	0.25±0.00[b]
80% MeOH extract	1.05±0.02[b]	3.80±0.05[b]	0.71±0.01[b]	0.23±0.00[c]
Water extract	1.35±0.06[a]	18.87±0.44[a]	1.38±0.01[a]	0.12±0.00[d]
Ascorbic acid	0.12±0.00[d]	0.51±0.00[d]	0.01±0.00[d]	12.62±0.18[a]

[1]EC_{50} values for radical scavenging and nitrite scavenging activities are expressed as the effective concentration at which 50% of ABTS radicals and nitrites are scavenged. [2]EC_{50} value for reducing power is expressed as the effective concentration at which the absorbance is 0.5. [3]Values are mean±SD (n=3). [4]Means 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.

한 다양한 방향족 화합물의 추출이 용이하여 그 함량이 높아지기 때문이라는 보고와 본 연구 결과가 일치하는 것으로 생각된다(Do, 1992).

한편, 각 추출용매에 따른 넓패 추출물의 환원력(EC_{50})을 분석한 결과 EtOH 및 MeOH 추출물의 환원력은 각각 0.63 mg/mL 및 0.71 mg/mL이었으나 열수 추출물의 환원력은 1.38 mg/mL로 확인되어 넓패 추출물의 환원력은 EtOH>MeOH>열수 추출물 순으로 높은 것으로 나타났다. 넓패 추출물의 FRAP value 분석 결과, EtOH 추출물은 0.25 mM, MeOH 추출물은 0.23 mM, 열수 추출물은 0.12 mM로 확인되었다. 넓패 추출물의 FRAP values는 양성 대조군인 ascorbic acid의 12.62 mM에 비하여 매우 낮은 것으로 확인되었다. 이상의 넓패 추출물의 항산화활성 결과를 종합해보면 MeOH 및 EtOH을 용매로 사용한 추출물에서 높은 항산화활성이 나타났으나, 열수 추출물에서는 유기용매 추출물에 비하여 항산화활성이 확연히 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 해조류 추출물에 따른 항산화성의 차이는 각 추출물의 총 폴리페놀 함량과 비례한다는 보고와 일치하는 것으로 사료된다(Lee et al., 2020b; Park et al., 2022). 더구나, Ahn et al. (2011)은 넓패의 항산화 활성은 폴리페놀성 물질인 phlorotannin과 관련성이 높다고 보고하여, 넓패 추출물의 폴리페놀 함량과 항산화 활성의 상관성은 높을 것으로 예상된다.

넓패 추출물의 tyrosinase 저해활성

Tyrosinase는 피부의 표피 기저층에 존재하는 멜라노사이트에서 tyrosine을 산화시켜 멜라닌의 생성을 촉진시키는 효소로서 이들의 활성 억제는 피부 미백과 노화 방지에 매우 중요한 것으로 알려져 있다(Choi et al., 2011). 따라서 피부의 멜라닌 색소 침착 제어 및 억제와 밀접한 관련이 있는 tyrosinase 저해제는 화장품 분야에서 관심이 증가하는 추세이다. 넓패 추출물의 피부 미백에 관련이 있는 것으로 알려진 tyrosinase 저해활성을 비교·분석 결과는 Fig. 1A에 나타내었다. 추출용매에 따른 넓패 추출물의 tyrosinase 저해활성을 다양한 농도에서 측정한 결과, EtOH 및 MeOH 추출물은 농도 의존적으로 tyrosinase 저해활성이 증가하는 경향을 보였으나, 열수 추출물은 유기용매 추출물에 비하여 매우 낮은 활성을 나타내었다. 최종농도 1 mg/mL에서 EtOH 및 MeOH 추출물은 각각 45%와 57%로 열수 추출물(5%)보다 약 10배 높은 저해활성을 보였다. 넓패 EtOH 추출물의 tyrosinase 저해활성의 IC_{50}값은 1.51 mg/mL, MeOH 추출물은 0.98 mg/mL이었으나, 열수 추출물에서는 IC_{50}값을 측정할 수 없었다(Fig. 1A). 갈조류 추출물의 tyrosinase 저해활성에 관한 연구에 따르면 고리매, 모자반, 알송이모자반 및 톳의 MeOH 추출물(최종농도 0.33 mg/mL)에서 각각 24%, 21%, 86% 및 52%의 저해활성이 있는 것으로 보고하였나, 괭생이모자반, 긴부레기발 및 지충이 등은 저해활성이 없는 것으로 알려져 있다(Seo and You, 2003). 따라서 넓패는 갈조류 중

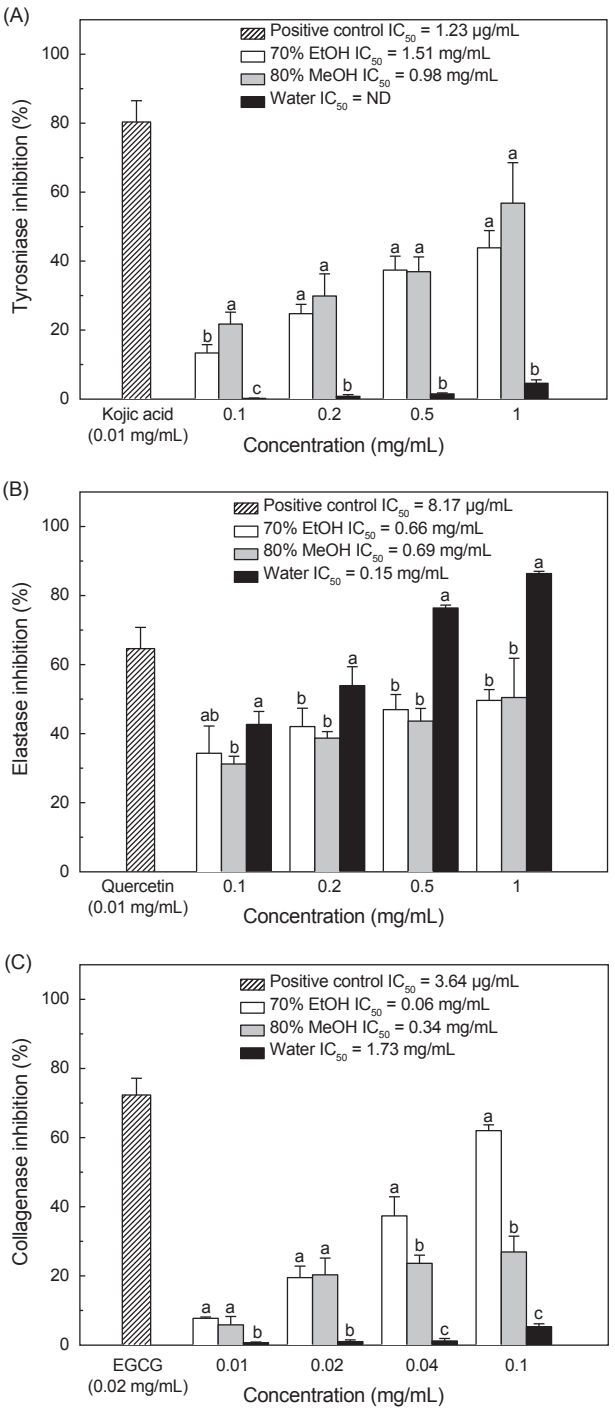

Fig. 1. Tyrosinase (A), elastase (B), and collagenase (C) inhibitory activities of *Ishige foliacea* extract with various solvents. Values are mean±SD (n=3). The 50% inhibitory concentration (IC_{50}) values (mg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. Means with different letters in the same item indicate a significant difference at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test. Positive controls for tyrosinase, elastase, and collagenase were used kojic acid, quercetin, and epigallocatechin gallate (EGCG), respectively.

에서 중간 정도의 tyrosinase 저해활성을 내포하고 있는 것으로 판단된다. 더구나 넓패에서 분리한 octaphlorethol A 화합물은 *in vivo* zebrafish model에서 농도 의존적으로 melanin 합성과 tyrosinase 활성을 저해하는 것으로 보고되어 있다(Kim et al., 2015b). 따라서, 넓패 추출물의 tyrosinase 저해활성은 octaphlorethol A 화합물과도 상관성이 있을 것으로 사료된다.

넓패 추출물의 elastase 저해활성

Elastase는 피부의 진피 내 피부 탄력을 유지하는 기질 단백질인 elastin의 분해에 관여하여 피부의 주름 및 탄력성 소실 등을 유발시키는 단백질 가수분해효소로 알려져 있어 elastase 저해활성물질은 피부의 주름을 개선하는 효과가 있어 기능성 화장품 원료로 주목받고 있다(Lee, 2015). 넓패 추출물의 피부 탄력 유지 효과를 확인하기 위하여 elastase 저해활성을 측정하여 그 결과를 Fig. 1B에 나타내었다. EtOH, MeOH 및 열수 추출물의 elastase 저해활성을 다양한 농도에서 측정한 결과, 열수 추출물에서는 농도 의존적으로 elastase 저해활성이 명확히 증가하는 경향을 보였으나, EtOH 및 MeOH 추출물에서는 elastase 저해활성이 추출물의 농도에 비례하여 증가하지만, 열수 추출물에 비하여 증가하는 경향이 작게 나타났다. 최종농도 0.5 mg/mL에서 넓패 EtOH, MeOH 및 열수 추출물의 elastase 저해활성은 각각 47%, 44% 및 76%로 열수 추출물이 약 1.6배 높은 것으로 확인되었다. 각 추출물의 저해활성(IC_{50})은 EtOH 추출물이 0.66 mg/mL이었고, MeOH 추출물은 0.69 mg/mL, 증류수 추출물은 0.15 mg/mL로 확인되어 열수>>EtOH≥MeOH 추출물 순으로 elastase 저해활성이 높은 것으로 확인되었다. 갈조류에 속하는 감태 및 톳의 열수 추출물(1 mg/mL)에서 각각 44% 및 53%의 elastase 저해활성이 있는 것으로 보고 되어있으나(Cho and Choi, 2010; Kwon and Youn, 2017), 넓패의 열수 추출물의 elastase 저해활성은 87%로 감태 및 톳 보다 약 2배 높은 것으로 확인되어 넓패는 피부의 탄력유지 및 주름개선 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

넓패 추출물의 collagenase 저해활성

Collagen 단백질은 피부 진피층을 구성하는 extracellular matrix (ECM) 단백질의 주요 구성성분으로 ECM 단백질 전체의 90%를 차지하며 피부의 형태와 강도를 유지하는 역할을 한다. 또한, collagen은 다양한 ECM 단백질인 elastin, fibronectin, fibrillin, integrin 등과 가교결합을 만들기 때문에 collagen 분해가 일어나면서 가교결합이 끊기게 되어 진피층의 부피가 줄어들고 주름이 발생하게 된다(Go et al., 2020). Collagenase는 collagen을 분해하는 단백질 가수분해효소로 피부의 collagen을 특이적으로 분해하여 주름 생성을 촉진한다. 넓패 추출물의 피부노화 및 주름 생선 억제력을 확인하기 위하여 collagenase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 1C에 나타내었다. 전반적으로 넓패 추출물은 농도 의존적으로 collagenase 저해활성이 증가하는 경향을 보였다. EtOH 추출물의 collagenase 저해활성(IC_{50})은 0.06 mg/mL, MeOH 추출물은 0.34 mg/mL, 증류수 추출물은 1.73 mg/mL로 확인되어 EtOH>MeOH>>열수 추출물 순으로 collagenase 저해활성이 높은 것으로 확인되었다. Positive control로 collagenase의 특이적인 저해제인 EGCG는 0.02 mg/mL의 농도에서 73%의 저해활성을 보였으나, 넓패의 EtOH 및 MeOH 추출물은 동일한 농도에서 약 20%의 저해활성을 나타내 EGCG의 약 1/4의 저해활성을 함유하는 것으로 확인되었다. 잔가시모자반, 뜸부기 및 갯사상자 EtOH 추출물의 collagenase 저해활성(IC_{50})은 각각 0.28, 0.49 및 2.80 mg/mL로, 넓패 EtOH 추출물의 collagenase 저해활성이 더 높은 저해활성을 보유하는 것으로 확인되어 피부의 주름 개선에 높은 효과가 있을 것으로 사료된다(Park, 2015; Kim et al., 2022; Choi et al., 2023).

본 연구에서 해조류인 넓패의 다양한 추출물을 제조하여 항산화성 및 항노화 활성을 살펴보았다. 추출 용매에 따른 넓패 추출물의 수율 및 총 폴리페놀 함량은 9.55–35.12% 및 14.36–22.66 mg GAE/g이었다. 넓패의 항산화 활성 측정 결과, ABTS 라디칼 소거활성, 아질산 소거활성, 환원력 및 FRAP value는 EtOH 추출물에서 가장 높은 항산화 활성이 검출되었다. 한편, 각 추출물의 피부 미백, 탄력 및 주름개선에 관한 활성을 측정한 결과, MeOH 추출물에서는 tyrosinase 저해활성, 열수 추출물에서는 elastase 저해활성, EtOH 추출물에서는 collagenase 저해활성이 가장 높은 것으로 확인되었다. 이상의 연구 결과에서 넓패 추출물은 높은 항산화 활성을 내포하고 있을 뿐만 아니라 tyrosinase, elastase 및 collagenase 활성을 저해하는 생리기능성 물질이 존재할 것으로 판단되어 기능성식품 및 화장품 소재 분야에서 활용 가능성이 높을 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 한국연구재단(NRF-2021R1I1A3043692)의 지원을 받아 수행된 연구 사업입니다.

References

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. https://doi.org/10.5352/JLS.2011.21.4.576.

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.

Byun HG and Kim SK. 2005. Development of physiological activity and health functional materials of seaweed. Susan-yeon-gu 22, 1-10.

Cho BO, Ryu HW, So YK, Jin CH, Byun MW, Kim WG and Jeong IY. 2012. *Ishige sinicola* extracts induce apoptosis via

activation of a caspase cascade in human HeLa cells. J Korean Soc Food Sci Nutr 41, 901-906. https://doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.7.901.

Cho CH, Kim M, Youm GH, Kim S, Park Y and Lee SH. 2020. Advanced glycation end-products inhibitory activities and renoprotective effects of *Ishige foliacea* ethanolic extract. J Chitin Chitosan 25, 134-142. https://doi.org/10.17642/jcc.25.3.4.

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.

Choi JH, Kim JS, Jo BS, Kin J, Park HJ, An BJ, Kim M and Cho YJ. 2011. Biological activity in functional cosmetic purple sweet potato extracts. Korean J Food Preserv 18, 414-422. https://doi.org/10.11002/kjfp.2011.18.3.414.

Choi JW, Lee YJ, Moon SK and Kim YT. 2023. Anti-aging and anti-dementia activities of different solvent extracts from *Silvetia siliquos*. Korean J Fish Aquat Sci 56, 526-531. https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0526.

Do JR. 1992. Biochemical functions of the components of traditional tea materials in Korea. Ph.D. Dissertation, National Fisheries University of Pusan, Busan, Korea.

Go YJ, Kim YE, Kim HN, Lee EH, Cho EB, Sultanov A, Kwon SI and Cho YJ. 2020. Inhibition effect against elastase, collagenase, hyaluronidase and anti-oxidant activity of thinning Green ball apple. J Appl Bioll Chem 63, 43-50. https://doi.org/10.3839/jabc.2020.006.

Han CA. 1999. Establishment of extract conditions for antioxidant screening from natural products. M.S. Thesis, Konkuk University, Seoul, Korea.

Han YB. 2010. Edible Seaweed I-Ingredients and Bioactivity. Korea University Press, Seoul, Korea, 247-252.

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

Kim JH, Kim MJ, Kim KBWR, Park SH, Cho KS, Kim GE, XU X, Lee DH, Park GR and Ahn DH. 2017. Anti-inflammatory effects of *Ishige sinicola* ethanol extract in LPS-induced RAW 264.7 cell and mouse model. Korean J Food Preserv 24, 1149-1157. https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.8.1149.

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 KN, Yang HM, Kang SM, Ahn G, Roh SW, Lee WW, Kim DY and Jeon YJ. 2015b. Whitening effect of octaphlorethol A isolated from *Ishige foliacea* in an *in vivo* zebrafish model. J Microbiol Biotechnol 25, 448-451. https://doi.org/10.4014/jmb.1409.09033.

Kwak CS, Kim SA and Lee MS. 2005. The correlation of antioxidative effects of 5 Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. J Korean Soc Food Sci Nutr 34, 1143-1150. https://doi.org/10.3746/jkfn.2005.34.8.1143.

Kwon YR and Youn KS. 2017. Antioxidant and physiological activities of *Hijikia fusiforme* by extraction methods. Korean J Food Prese 24, 631-637. https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.5.631.

Lee CH, Park YN and Lee SG. 2020a. Analysis and comparison of bioactive compounds and total antioxidant capabilities of Korean brown algae. Korean J Food Sci Technol 52, 54-59. https://doi.org/10.9721/KJFST.2020.52.1.54.

Lee JH, Ko JY, Kim HH, Kim CY, Jang JH, Nah JW and Jeon YJ. 2017. Efficient approach to purification of octaphlorethol A from brown seaweed, *Ishige foliacea* by centrifugal partition chromatography. Algal Res 22, 87-92. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.006.

Lee SH. 2011. Current status and prospect of nutraceuticals from marine algae. Bull Food Technol 24, 165-175.

Lee SH, Kang SM, Ko SC, Kang MC and Jeon YJ. 2013. Octaphlorethol A, a novel phenolic compound isolated from *Ishige foliacea*, protects against streptozotocin-induced pancreatic b cell damage by reducing oxidative stress and apoptosis. Food Chem Toxicol 59, 643-649. https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.011.

Lee SH, Ko SC, Kang MC, Lee DH and Jeon YJ. 2016. Octaphlorethol A, a marine algae product, exhibits antidiabetic effects in type 2 diabetic mice by activating AMP-activated protein kinase and upregulating the expression of glucose transporter 4. Food Chem Toxicol 91, 58-64. https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.02.022.

Lee SY. 2015. Analysis of skin mechanism and an application for functional cosmetic from red bean (*Phaseolus angularis*) shell extract. Ph.D. Dissertation, Hoseo University, Asan, Korea.

Lee YJ, Jeon YJ and Kim YT. 2020b. 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.

Na HS, Kim JY, Park JS, Choi GC, Yang SI, Lee JH, Cho JY and Ma SJ. 2014. Characteristics of marine algae extracts using subcritical water extract method. Korean J Food Preserv 21, 62-68. https://doi.org/10.11002/kjfp.2014.21.1.62.

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.

Park WM. 2015. Anti-melanogensis and anti-wrinkle effects of

Sargassum micracanthum and *Myagropsis myagroides* extracts. M.S. Thesis, Pukyong University, Busan, Korea.

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 Bio Med 26, 1231-1237. https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

Seo YW and Yoo JS. 2003. Screening for antioxidizing and tyrosinase-inhibitory activities of the extracts of marine algae from Busan coastal area. Ocean Polar Res 25, 129-132. https://doi.org/10.4217/OPR.2003.25.1.129.

Shin JH, Choi DJ, Lim HC, Seo JK, Lee SJ, Choi SY and Sung NJ. 2006. Nutrients and antioxidant activity of red seaweeds. J Life Sci 16, 400-408. https://doi.org/10.5352/JLS.2006.16.3.400.

Son HJ, Um MY, Kim I, Cho S, Han D and Lee C. 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.

Yu MY and Lee SH. 2022. Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Grateloupia filicina* extract. J Conver Inform Technol 12, 119-126. https://doi.org/10.22156/CS4SMB.2022.12.01.119.