creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

碩士學位論文

제주 자생식물 추출물의 생리활성

濟州大學校 大學院

食品工學科

玄 善 喜

2007年 2月

제주 자생식물 추출물의 생리활성

指導敎授　任　尙　彬

玄 善 喜

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함

2007年 2月

玄善喜의 工學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長　金 洙 賢　印

委　　員　高 榮 煥　印

委　　員　任 尙 彬　印

濟州大學校 大學院

2007年 2月

Biological Activities of Extracts from Native Plants in Jeju

Sun-Hee Hyun

(Supervised by professor Sang-Bin Lim)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of engineering

2007. 2.

This thesis has been examined and approved.

Thesis director, Soo-Hyun Kim, Prof. of Food Science and Engineering

Thesis director, Young-Hwan Ko, Prof. of Food Science and Engineering

Thesis director, Sang-Bin Lim, Prof. of Food Science and Engineering

February 2007

Department of Food Science and Engineering

GRADUATE SCHOOL

CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

Summary ····· 1

Ⅰ. 서 론 ····· 3

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 6

1. 재료 ····· 6

2. 실험방법 ····· 8

1) 유기용매 추출 ····· 8

2) 초임계유체 및 고압용매 추출 ····· 8

3) 총페놀 함량 ····· 10

4) DPPH radical 소거능 측정 ····· 10

5) Nitric oxide 소거능 측정 ····· 10

6) Xanthine oxidase 저해활성 측정 ····· 11

7) Tyrosinase 저해활성 측정 ····· 11

8) Elastase 저해활성 측정 ····· 12

Ⅲ. 결과 및 고찰 ····· 13

1. 유기용매 추출물의 생리활성 ····· 13

1) 총페놀 함량 ····· 13

2) DPPH radical 소거활성 ····· 16

3) Nitric oxide 소거활성 ····· 18

4) Xanthine oxidase 저해활성 ····· 21

5) Tyrosinase 저해활성 ····· 22

2. 고압용매 추출물의 생리활성 ····· 26

1) 추출수율 ····· 26

2) 추출방법에 따른 DPPH 소거활성과 tyrosinase 저해활성 ····· 27

3) 추출물의 농도에 따른 tyrosinase 저해활성 ····· 29

4) 추출물의 농도에 따른 elastase 저해활성 ····· 31

Ⅳ 요약 ····· 34

참고문헌 ····· 36

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

Summary

Natural plants in Jeju were extracted by traditional solvent extraction(70% methanol, atmospheric pressure, room temperature) and pressurized liquid extraction(100% methanol, 13.6 MPa, 40℃) methods. Their biological activity potentials such as total phenolic content(TPC), antioxidant activity(free radical scavenging activity(DPPH), nitric oxide(NO), xanthine oxidase(XOD)) and cosmetic functionality(tyrosinase and elastase inhibition activities) were measured.

In traditional solvent extracts, the highest TPC(mg GAE/g dry sample) were obtained from *Ostrya japonica*(maximum 287.9), *Geranium thunbergii*(281.8), *Malus sieboldii*(268.0), *Ardisia japonica*(261.6), *Agrimonia pilosa*(259.6) and *Sapium japonicum*(245.6). The extracts from *Potentilla chinensis*, *Pyrrosia lingua*, *Quercus acuta*, *Myrica rubra*, *Prunus padus*, *Rhus javanica* and *Euscaphis japonica* contained more than 200 mg GAE/g dry sample of TPC. DPPH inhibition activity was the highest as 94.1% in *Ardisia crenata*, and the extracts from *M. rubra*, *G. thunbergii*, *R. javanica*, *M. sieboldii*, *O. japonica*, *Sorbus alnifolia*, *A. japonica*, *P. padus*, *P. lingua*, *Q. acuta*, *P. chinensis*, *S. japonicum*, *A. pilosa*, *E. japonica*, *Persicaria filiformis* and *Cornus kousa* showed more than 90% inhibition activity. High correlation was observed between DPPH inhibition activities and TPC(R^2 = 0.87). Higher NO scavenging activity(>50%) were shown in *A. japonica*, *P. chinensis*, *M. rubra*, *P. lingua*, *C. kousa*, *P. filiformis*, *P. padus*, *Q. acuta* and *Stauntonia hexaphylla*. XOD inhibition activities were 100% in the extracts of *R. javanica* and *C. kousa*, The extracts from *P. filiformis* and *M. rubra* showed more than 90%, and those of *Corchoropsis tomentosa*, *A. japonica*, *O. japonica*, and *Q. acuta* showed more than 80% inhibition activities. Tyrosinase inhibition activity

was the highest as 93.1% in *P. filiformis*, and more than 80% tyrosinase inhibition activities were obtained from the extracts of *R. javanica*, *Alnus firma*, *M. rubra*, *A. japonica*, *A. pilosa* and *P. chinensis*.

Five natural plants with higher TPC and antioxidant activity were extracted by pressurized liquid. Their free radical scavenging(DPPH), tyrosinase and elastase inhibition activities were measured. Extraction yields by traditional solvent extraction and PLE were 16.8 and 13.4%, 18.4 and 14.3%, 18.6 and 11.6% in *A. japonica*, *C. kousa.* and *M. rubra*, respectively. DPPH and tyrosinase inhibition activities were almost the same in both extracts of traditional solvent extraction and PLE. In PLE, IC_{50} for tyrosinase inhibition activity were 802, 959, 1,494, 3,989 and 5,296 ppm in *A. japonica*, *M. rubra*, *R. javanica*, *P. filiformis* and *C. kousa*, respectively. In traditional solvent extracts, IC_{50} for tyrosinase inhibition activity were 903, 974, 1,092, 1,284, and 7,244 ppm in *A. japonica*, *M. rubra*, *P. filiformis, R. javanica* and *C. kousa*, respectively. In PLE, IC_{50} for elastase inhibition activity were 66, 88, 100, 170 and 282 ppm in *M. rubra*, *A. japonica*, *R. javanica*, *C. kousa*, and *P. filiformis*, respectively. In traditional solvent extracts, IC_{50} for elastase inhibition activity were 42, 57, 69, 88, and 302 ppm in *A. japonica*, *R. javanica*, *M. rubra*, *P. filiformis*, and *C. kousa*, respectively.

Ⅰ. 서론

산소는 지구상에서 가장 많은 원소로 대기 중의 21%를 차지하고 있는데, 호기성 생물은 산소를 전자수용체로 하는 호흡을 통해 에너지를 획득한다. 이와 같이 산소는 생명유지에 절대적으로 필요하지만, 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등의 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인에 의하여 반응성이 큰 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 전환되면 생체에 치명적인 독성을 일으킨다(You, 2002). 활성산소종은 정상적인 대사과정에서도 생성되지만 질병상태나 스트레스를 받을 때에는 과잉 생성된다(Park, 1997). 노화와 관련된 각종 퇴행성 질환과 동맥경화증 고혈압, 당뇨병, 순화기 장애, 관절염, 암 등의 질병은 활성산소와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 활성산소는 특히 세포 생체막의 인지질 중 불포화지방산을 공격하여 과산화지질을 생성하고 축적함으로써 생체기능을 저하시키고 동시에 DNA를 손상시켜 세포의 노화, 암과 각종 성인병의 유발을 초래하는 것으로 알려져 있다(Kang 등, 2005).

활성산소를 조절할 수 있는 항산화제에는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione reductase 등의 효소계열의 예방적 항산화제와 phenol성 화합물, flavone 유도체, tocopherol 류, ascorbic acid, carotenoids, glutathione, 아미노산 등의 천연 항산화제와 BHA(butylated hydroxy anisole), BHT(butylated hydroxytoluene), PG(propyl gallate), TBHQ (t-butylhydroquinone) 등의 합성 항산화제가 있다(Kang 등, 2005). 그런데 지금까지 널리 이용되어 왔던 합성 항산화제인 BHA와 BHT 등은 탁월한 항산화 효과와 경제성 때문에 많이 사용되어 왔으나 안전성에 논란이 있어(Choe와 Yang, 1982) 허용대상 식품이나 사용량이 엄격히 규제되고 있다. 따라서 근래에는 인간이 안전하게 오랫동안 섭취하여 왔던 천연물로부터, 인체에 안전하고 항산화력이 높은 물질을 분리 이용하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다.

천연물로부터 생리활성물질에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 질병에 대한 치료제 및 예방제 또는 건강보조제로서 식물자원이 널리 이용되고 있다. 천연 항산화제로는 α-tocopherol, vitamin C, carotenoids, flavonoids 등이 알

려져 있는데, 이러한 항산화 효과가 있는 물질은 동식물에 널리 분포되어 있으며, 특히 많은 연구가 이루어진 분야는 식물성 물질들이다. 특히 식물 유래의 2차 대사산물들은 free radical과 활성산소의 생성을 억제하거나 제거시켜서 산화에 의한 세포손상을 방지한다는 것이 생체 실험결과 밝혀졌다(Jeong 등, 2004). 지금까지 보고된 대부분의 천연 항산화제는 식물 유래로서 주로 폴리페놀 화합물인 것으로 알려져 있는데(Pratt 등, 1992), 특히 flavonoids는 지질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 함으로써 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과가 있어서 오늘날 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에 활용되고 있다(Kim 등, 2005).

미백, 항노화(주름), 자외선차단 기능을 가진 기능성화장품은 2003년에 2조 1,500억원의 시장을 형성하고, 2009년에는 12조 2,000억원, 2012년에는 24조원에 이를 것으로 전망되는 등 시장이 급격하게 커질 것으로 예측하고 있다(Park 2002). 최근 자연 지향적이고 환경친화적인 소비 추세에 따라, 생약을 포함한 식물성 원료에서 해양원료에 이르기까지, 다양한 천연소재를 이용한 화장품의 개발이 이루어져 천연 화장품의 전성시대가 도래하고 있다(Lee, 2004).

깨끗한 피부는 예로부터 미의 기준이 되어왔으며 생활수준의 향상과 평균수명의 연장으로 인하여 피부미용에 대한 관심의 증가에 따라 피부에 친화적이고 안정적인 미백 소재를 탐색하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다(Jang 등, 2004). 피부색 및 피부색소 침착은 각질세포에 있는 멜라닌의 양과 분포에 의해 결정되는데, 멜라닌은 피부 기저층에 존재하는 색소세포(melanocyte)에서 합성되어 각질세포로 전이된다(Cho, 1998). Tyrosinase는 polyphenol oxidase의 일종이며 구리를 함유하는 효소로서 색소세포에서 tyrosine을 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)로 변환하고 효소적 산화 반응에 의해 단계적으로 dopaquinone, dopachrome으로 변환하여 melanin을 생합성한다. Tyrosinase는 melanin 중합체를 생성하는 key enzyme으로 작용하고 있어 tyrosinase 활성억제 실험은 미백원료 개발의 1차 screening 단계에서 필수적이다(Lee 등, 1999).

Melanin은 동식물에 널리 분포하는 페놀류의 고분자 물질로 검은 색소와 단백질의 복합체이다. 인체 피부에 존재하여 자외선에 대항하는 기능을 가지며

아민, 유리기, 금속이온 등과 같은 세포 독성물질에 대한 제거제로 작용하여 세포를 보호하는 작용을 한다(Kim 등, 2005). 그러나 세포내 색소세포에서 tyrosinase가 활성화되어 melanin이 과잉 생산되면 기미, 주근깨, 점, 검버섯 등의 색소침착이 일어나 피부노화 및 손상을 초래한다(Kim 등, 2004).

Tyrosinase 저해물질로 알려진 것에는 ascorbic acid, kojic acid, hydroquinone, benzoic acid, corticosteroids, retinoids, arbutin 등이 있는데, 특히 kojic acid와 arbutin은 강한 미백효과를 가지고 있으나 제품 안전성 및 경제성 등의 문제로 사용에 어려움이 있다. 따라서 천연물 원료의 미백효과와 제품의 안전성이 인정받고 있음에 따라(Jung 등, 1995; Choi 등, 2004) 피부 친화적이고 안정적인 미백 소재로서 천연물 추출물을 대상으로 화장품 기능성을 확인하여 유효물질을 찾아내는 것이 중요하다. 식물은 오랜 기간 동안 인류가 이용하여 왔기 때문에 인간에게 비교적 안전한 성분을 포함할 것으로 생각되므로 식물을 원료로 항산화제를 개발할 수 있다면 보다 안전한 제품으로 이용이 가능할 것이다.

따라서 본 연구는 제주지역에 자생하는 식물자원 54종을 대상으로 항산화 활성과 화장품 기능성(미백효과, 주름개선효과)을 검증하여, 식품 및 화장품 산업에 응용할 천연소재를 탐색하는데 그 목적이 있다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 자생식물은 Table 1과 같으며, 2005년에 제주도 전역에서 54종을 직접 채취하여 세척·음건한 후 분쇄기(MF 10.1, Ika Work, Inc., USA)로 분쇄한 후 30 mesh를 통과하는 입자를 취하여 -20℃ 냉동고에 보관하면서 추출용 재료로 사용하였다.

Table 1. List of natural plants used for experiments

Scientific name	Korean name	Part used
Adina rubella	Jungdaegarinamu	leaves, branch, fruit
Agrimonia pilosa Ledeb.	Jibsinnamul	stem, leaves
Alnus firma Sieb. et Zucc.	Sabangorinamu	leaves, branch
Ardisia crenata Sims	Baegryanggum	leaves, branch
Ardisia japonica(thunberg)blume	Jakumwu	leaves, branch
Artemisia scoparia Waldst. et Kitamura	Bissug	stem, leaves
Astragalus adsurgens Pall.	Jajuddangbisuri	stem, leaves
Callicarpa mollis Sieb. et Zucc.	Saevinamu	leaves, branch
Carpesium abrotanoides Linne	Dambaepul	stem, leaves, flower
Cayratia japonica(Thunb.) Gagnep.	Gujidunggul	stem, leaves
Clematis mandshurica Rupr.	Euari	stem, leaves
Clerodendron trichotomum Thunberg	Nurijangnamu	leaves, branch, flower
Corchoropsis tomentosa(Thunb.) Makino	Suggachiggae	stem, leaves
Cornus kousa Buerg.	Sanddalnamu	leaves, branch, fruit
Corydalis pallida var. tenuis YATABE	Gouibuljumoeni	stem, leaves
Cudrania tricuspidata(Call.)	Ggujippongnamu	leaves, branch

Table 1. Continued

Scientific name	Korean name	Part used
Cuscuta australis R. Br.	Saesam	stem, leaves
Damnacanthus indicus	Hojanamu	branch
Dendropanax morbifera	Hwangchilnamu	leaves
Desmodium caudatum	Dounjangpul	leaves, branch
Edgeworthia papyrifera	Samjidaknamu	leaves
Euonymus quelpaertensis Nakai	Dungkeunipchambitsalnamu	leaves, branch
Euscaphis japonica(Thunb.) Kanitz	Malojumttaenamu	leaves, branch, fruit
Firmiana simplex W. F. Wight	Byugodongnamu	leaves, branch
Geranium nepalense ssp. thunbergii Hara	Ijilpul	stem, leaves
Gynostemma pentaphyllum Makino	Dolwoi	stem
Ilex crenata Thunb.	Ggwangggwangnamu	leaves, branch
Lespedeza cuneata G. Don	Bisuri	stem, leaves
Maackia fauriei(Lev.) Takeda	Solbinamu	leaves, branch
Malus sieboldii(Regel) Rehder	Agubaenamu	leaves, branch
Morus bombycis	Sanppongnamu	leaves, branch
Myrica rubra Sieb. et Zucc.	Sogwuinamu	leaves, branch
Ostrya japonica Sargent	Saeunamu	leaves, branch
Patrinia scabiosaefolia Fisch.	Matari	stem, leaves
Persicaria filiforme Nakai	Isacyouggui	stem, leaves
Potentilla chinensis Seringe	Ddakjiggot	leaves, branch
Prunus padus Linne.	Kwuirungnamu	leaves, branch, fruit
Pyrrosia lingua(Thunb.)Farw.	sukwi	stem, leaves
Pyrrosia tricuspis	Seppulsugwui	stem, leaves
Quercus acuta Thunberg	Buggasinamu	leaves, branch
Rhus javanica Linne	Bugnamu	leaves, branch
Sambucus sieboldiana Bl.	Dutnamu	leaves, branch
Sapium japonicum Pax et Hoffm.	Saramjunamu	leaves, branch
Scrophularia kakudensis Franchet	Kungaehyunsam	stem, leaves
Sorbus alnifolia K. Koch var. typica	Patbaenamu	leaves, branch, fruit

Table 1. Continued

Scientific name	Korean name	Part used
Stauntonia hexaphylla(Thunb.) Decaisne	Moulggul	leaves, branch
Strobilanthes oligantha Miq.	Bangulggot	root, stem, leaves
Styrax obassia SIEB et ZUCC.	JJogdongbaegnamu	leaves, branch, fruit
Thalictrum minus var. hypoleucum Miq.	Jomggounguidari	stem, leaves
Trachelospermum asiaticum var. intermed.	Masacjul	stem, leaves
Vicia unijuga	Nabinamul	stem, leaves, flower
Vitex rotundifolia L. fil.	Sunbigi	fruit
Zanthoxylum ailanthodes Sieb. et Zucc.	Mugwuinamu	leaves, branch
Zanthoxylum schinifolium Sieb.	Sangsannamu	leaves, branch

2. 실험방법

1) 유기용매 추출

건조분쇄시료 50 g에 70% 메탄올 용액 500 mL을 가하여 실온 암소에서 24시간 정치 추출하고 이 과정을 3회 반복하였다. 추출물은 여과지(No 5A, Toyo Roshi Kaixha, Ltd., Japan)로 여과하여 잔사를 제거하고 회전진공증발농축기(R-124, Buchi, Switzerland)로 감압농축한 후 동결건조하여 냉동고(-20℃)에 보관하면서 시료로 사용하였다.

2) 초임계유체 및 고압용매 추출

본 실험에 사용한 초임계유체 추출장치(SFX 3560, Isco Inc., Lincoln, NE, USA)는 최대 압력이 48.3 MPa 까지 사용 가능한 연속 유통형이다. 초임계유체 추출장치는 이산화탄소와 보조용매용 syringe pump, pump controller, sample cartridge가 장착되는 고압 chamber, 유량 조절을 위한 restrictor 그리고 collection vial로 구성되어 있다. 먼저 음건, 분쇄한 시료 1 g을 sample

cartridge에 충전하고 고압 chamber에 장착하였다. 초임계 이산화탄소와 보조용매는 각각 syringe pump에서 가압되었고 mixing zone에서 혼합된 후 supply valve를 통하여 sample cartridge로 주입되었다. 일정 온도와 압력에서 5분간 유지된 후 초임계유체는 시료가 충전된 cartridge를 통과하면서 추출을 행하였고, 초임계 이산화탄소와 추출물은 70℃로 가온된 restrictor를 통하여 collection vial(5℃)에 배출되었다. 이때 이산화탄소는 추출물과 분리되어 collection vial의 상부를 통하여 대기 중으로 방출되었고, 추출물은 10 mL의 ethanol이 채워져 있는 collection vial에 포집되었다. 포집된 추출물은 회전진공증발농축기로 농축하였고 에탄올로 10 mL 정용하여 -20℃에서 저장하면서 분석용 시료로 사용하였다. 추출조건으로서 추출온도는 40℃, 추출압력은 44.2 MPa, 추출시간은 20분, 보조용매는 에탄올(10%), 고압 syringe pump의 유속은 1 mL/min이었다.

고압용매 추출은 음건 분쇄한 시료 1 g을 sample cartridge에 충전하고 고압 chamber에 장착하였다. 고압 유기용매(메탄올)는 syringe pump에서 가압되었고 supply valve를 통하여 sample cartridge로 주입되었다. 40℃와 13.6 MPa에서 3분 동안 정치추출한 후에 고압 유기용매는 시료가 충전된 cartridge를 통과하면서 30분 동안 추출을 행하였고 추출물은 restrictor를 통하여 collection vial에 포집되었다. 이 때 고압 syringe pump의 유속은 1 mL/min이었다. 추출물은 회전진공증발농축기로 농축하였고 메탄올로 10 mL 정용하여 -20℃에서 저장하면서 분석용 시료로 사용하였다. 이때 가용성 고형분의 함량은 추출물 1 mL를 취하여 105℃에서 항량이 될 때까지 건조한 후 증발잔사의 양으로 나타내었다.

3) 총페놀 함량(total phenolic content) 측정

총페놀 함량은 Peschel 등(2006)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 시료 용액(1,000 ppm) 0.1 mL에 증류수 7.9 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol 시약(Fluka, Switzerland) 0.5 mL를 가하였다. 2분 후 20% 탄산나트륨 용액 1.5 mL를 가하여 혼합하여 2시간 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총페놀 함량은 gallic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 표준품으로 200~1000 μg/L 농도로 검량선을 작성한 후 gallic acid equivalents(mg GAE acid/g 시료)로 나타내었다.

4) DPPH를 이용한 radical 소거능 측정

Radical 소거능은 Brand-Williams 등(1995)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 시료 용액(1,000 ppm) 0.1 mL에 6×10^{-5} mol/L DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, Fluka, Germany) 용액 3.9 mL을 가하였다. 실온에서 30분간 반응시킨 후 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 radical 소거능은 다음과 같이 나타내었다.

$$\% \text{ Inhibition} = (1 - \frac{B}{A}) \times 100$$

A : Absorbance without sample

B : Absorbance with sample

5) Nitric oxide 소거능 측정

Nitric oxide 소거능은 Marcocci 등(1994)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 10 mM sodium nitroprusside(Sigma, USA) 수용액 2 mL에 0.01 M phosphate buffer(pH 7.4) 0.5 mL와 시료 용액(10,000 ppm) 0.5 mL을 가하여 25℃에서 150분간 배양하였다. 이 반응액을 1 mL 취하여 sulfanilic acid 용액(0.33% in 20% acetic acid) 1 mL와 혼합한 후 5분간 방치하였다. 여기에 0.1%(w/v) naphthylethylenediamine dihydrochloride(Sigma, USA) 용액(in 20% acetic acid)을 1 mL 가하여 30분간 방치한 후 540 nm에서 흡광도를 측

정하였다. Nitric oxide 소거능은 다음과 같이 나타내었다.

$$\% \text{ Inhibition} = (1 - \frac{B - C}{A}) \times 100$$

A : Absorbance without sample

B : Absorbance with sample

C : Absorbance without enzyme

6) Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성은 Kweon 등(2001)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료용액(10,000 ppm) 0.1 mL에 50 mM phosphate buffer(pH 7.5) 2.9 mL와 xanthine oxidase(0.5 unit/mL, Sigma, USA) 용액 0.2 mL을 가하였다. 이 혼합물을 25℃에서 15분간 배양한 후 0.15 mM xanthine(Sigma, USA) 용액 2 mL를 가하여 25℃에서 30분간 반응시켰다. 1 N HCl 1.0 mL를 가하여 반응을 종결시키고 290 nm에서 흡광도를 측정하였다. 바탕시험은 동일한 방법으로 시행하였는데, 다만 효소용액은 1 N HCl을 가한 후 가하였다. Xanthine oxidase의 저해활성은 다음과 같이 나타내었다.

$$\% \text{ Inhibition} = (1 - \frac{B}{A}) \times 100$$

A : Absorbance without sample

B : Absorbance with sample

7) Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성은 Kubo와 Kinst-Hori(1998)의 방법으로 측정하였다. 즉, 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 1.8 mL에 증류수 0.6 mL를 가하였다. 여기에 일정 농도의 시료용액 0.1 mL와 mushroom tyrosinase(78 units, Sigma, USA) 용액 0.1 mL을 순서대로 가하여 25℃에서 5분간 배양하였다. 6.3 mM L-DOPA(L-3,4-dihydroxyphenylalanine, Sigma, USA) 용액 0.4 mL을 가하고 475 nm에서 2분 동안 흡광도의 직선적 증가 경향을 측정하였다.

대조군은 시료 대신 potassium phosphate buffer를 사용하였다. Tyrosinase 저해활성은 다음과 같이 나타내었다.

$$\% \text{ Inhibition} = (1 - \frac{B}{A}) \times 100$$

A : Absorbance change rate without sample

B : Absorbance change rate with sample

8) Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성은 Yamauch 등(2000)의 방법으로 측정하였다. 즉, 50 mM Tris-HCl buffer(pH 8.0, Sigma, USA)와 elastase(10 ㎍/mL, in 50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0, Sigma, USA)을 각각 0.5 mL 가하고 일정농도의 시료용액 0.1 mL을 가하여 혼합한 후, 37℃에서 5분간 배양하였다. 여기에 기질용액(0.8 mM N-succinyl-$(L\text{-}Ala)_3$-p-nitroanilide, in 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0, Sigma, USA)를 1.0 mL 가하여 37℃에서 10분간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다(Baylac과 Racine, 2004). Elastase 저해활성은 다음과 같이 나타내었다.

$$\% \text{ Inhibition} = (1 - \frac{B}{A}) \times 100$$

A : Absorbance change rate without sample

B : Absorbance change rate with sample

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 유기용매 추출물의 생리활성

1) 총페놀 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가지며, phenolic hydroxyl가 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하여 항산화 및 항암 등의 다양한 생리활성을 나타낸다(Lee 등, 2005).

제주 자생식물 54종을 대상으로 70% 메탄올로 추출하여 총페놀 함량을 측정하였다(Table 2). 자생식물 추출물의 총페놀 함량은 새우나무와 이질풀이 각각 287.9와 281.8 mg GAE/g로 가장 높았고, 아그배나무, 자금우, 짚신나물, 사람주나무가 각각 268.0, 261.6, 259.6, 245.6 mg GAE/g을 나타내었고, 딱지꽃, 석위, 붉가시나무, 소귀나무, 귀룽나무, 붉나무, 말오줌때 등도 200 mg GAE/g 이상의 높은 함량을 나타내었다. 또한 산딸나무, 이삭여뀌, 팥배나무, 사방오리나무, 백량금, 된장풀, 멀꿀은 150 mg GAE/g 이상의 총페놀 함량을 나타내었고, 쪽동백나무, 새삼, 비수리, 수까치깨, 중대가리나무, 마삭줄, 큰개현삼, 누리장나무, 꽝꽝나무, 벽오동나무, 머귀나무, 꾸지뽕나무, 비쑥, 새비나무, 순비기는 100 GAE/g 이상의 함량을 나타내었다.

Lee 등(2005)은 울릉도산 산채류 추출물의 폴리페놀 함량을 측정한 결과 물엉겅퀴와 섬고사리 잎 추출물에 각각 130.2와 120.6 ㎍/mg이 함유되어 있었으며, 대체로 뿌리보다는 잎에 페놀성 화합물이 많이 존재하였다고 보고하였다. 이들 결과와 비교하여 볼 때 제주 자생식물 추출물에는 다량의 폴리페놀이 함유되어 있는 것으로 나타났다. Chi 등(2005)은 총 페놀함량 측정시 같은 시료 일지라도 표준물질에 따라 차이가 나타났다고 보고하고 있으므로, 총페놀 함량을 비교할 때 이를 고려할 필요가 있다.

Table 2. Total phenolic content(TPC) and radical scavenging activities against DPPH of 70% methanol extracts from natural plants

Plant species	TPC (mg GAE/g)	DPPH % inhibition
Adina rubella	131.9±5.7	70.3±2.1
Agrimonia pilosa Ledeb.	259.6±5.3	93.0±0.9
Alnus firma Sieb. et Zucc.	188.7±4.6	86.4±2.4
Ardisia crenata Sims	180.7±1.7	94.1±0.9
Ardisia japonica(thunberg)blume	261.6±6.2	93.3±1.5
Artemisia scoparia Waldst. et Kitamura	108.1±2.1	56.0±2.6
Astragalus adsurgens Pall.	58.7±5.1	13.1±0.6
Callicarpa mollis Sieb. et Zucc.	103.7±4.0	56.4±3.0
Carpesium abrotanoides Linne	77.4±6.4	34.0±1.4
Cayratia japonica(Thunb.) Gagnep.	53.7±4.0	28.3±2.6
Clematis mandshurica Rupr.	57.2±6.6	27.1±0.9
Clerodendron trichotomum Thunberg	122.7±6.1	62.4±2.7
Corchoropsis tomentosa(Thunb.) Makino	133.7±5.4	79.1±1.9
Cornus kousa Buerg.	194.7±7.7	92.3±0.9
Corydalis pallida var. tenuis YATABE	42.0±4.4	16.4±1.7
Cudrania tricuspidata(Call.)	110.4±4.2	36.6±0.6
Cuscuta australis R. Br.	138.4±6.7	67.4±2.0
Damnacanthus indicus	33.8±3.7	7.3±0.6
Dendropanax morbifera	53.8±4.1	18.5±1.5
Desmodium caudatum	162.6±5.1	70.0±0.4
Edgeworthia papyrifera	71.1±7.1	31.1±2.3
Euonymus quelpaertensis Nakai	36.5±4.4	14.5±0.2
Euscaphis japonica(Thunb.) Kanitz	209.2±6.5	93.0±0.9
Firmiana simplex W. F. Wight	116.2±6.2	46.8±2.6
Geranium nepalense ssp. thunbergii Hara	281.8±4.4	94.0±0.8
Gynostemma pentaphyllum Makino	37.2±4.4	13.4±0.8

Table 2. Continued

Plant species	TPC (mg GAE/g)	DPPH % inhibition
Ilex crenata Thunb.	118.6±6.9	53.8±3.3
Lespedeza cuneata G. Don	137.2±2.8	71.2±1.7
Maackia fauriei(Lev.) Takeda	91.1±2.0	28.8±1.0
Malus sieboldii(Regel) Rehder	268.0±5.7	93.7±1.1
Morus bombycis	68.4±4.5	22.9±1.3
Myrica rubra Sieb. et Zucc.	229.2±7.5	94.0±0.9
Ostrya japonica Sargent	287.9±6.9	93.4±1.2
Patrinia scabiosaefolia Fisch.	94.9±5.8	46.3±2.7
Persicaria filiforme Nakai	191.7±6.9	92.6±0.9
Potentilla chinensis Seringe	245.1±1.8	93.1±1.1
Prunus padus Linne.	222.9±3.5	93.3±1.2
Pyrrosia lingua(Thunb.)Farw.	237.2±7.0	93.2±1.3
Pyrrosia tricuspis	97.2±5.2	45.9±2.9
Quercus acuta Thunberg	236.0±7.6	93.2±1.0
Rhus javanica Linne	212.8±5.6	93.8±1.0
Sambucus sieboldiana Bl.	84.8±4.9	35.9±2.0
Sapium japonicum Pax et Hoffm.	245.6±6.8	93.1±1.0
Scrophularia kakudensis Franchet	123.4±3.2	72.2±3.3
Sorbus alnifolia(Sieb. et Zucc.) K. Koch var. typica	191.3±3.0	93.4±1.1
Stauntonia hexaphylla(Thunb.) Decaisne	162.5±3.7	79.8±2.5
Strobilanthes oligantha Miq.	17.8±4.8	5.3±0.5
Styrax obassia SIEB et ZUCC.	148.8±5.6	69.6±1.5
Thalictrum minus var. hypoleucum Miq.	90.8±5.9	36.6±2.2
Trachelospermum asiaticum var. intermedium	123.8±2.8	52.7±0.7
Vicia unijuga	36.4±4.0	10.4±0.5
Vitex rotundifolia L. fil.	101.6±2.0	47.0±2.9
Zanthoxylum ailanthodes Sieb. et Zucc.	113.3±1.5	46.4±1.9
Zanthoxylum schinifolium Sieb.	78.7±5.8	27.8±1.0

* values are means ± standard deviations of three replicates.

2) DPPH radical 소거활성

항산화 활성 측정방법 중 DPPH 법은 비교적 간단하며 실제 항산화 활성과 연관성이 높은 방법으로서, 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐 아니라 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다(Jeong 등, 2004).

70% 메탄올 추출물(1.000 ppm)에 의한 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과는 Table 2와 같았다. 자생식물 추출물의 DPPH 소거활성은 백량금이 94.1%로 가장 높았고, 소귀나무, 이질풀, 붉나무, 아그배나무, 새우나무, 팥배나무, 자금우, 귀룽나무, 석위, 붉가시나무, 딱지꽃, 사람주나무, 짚신나물, 말오줌때, 이삭여뀌, 산딸나무에서 90% 이상의 높은 소거활성을 나타내었다. 사방오리나무, 멀꿀, 수까치깨, 큰개현삼, 비수리, 중대가리나무, 된장풀은 70% 이상을, 쪽동백나무, 새삼, 누리장나무, 새비나무, 비쑥, 꽝꽝나무, 마삭줄은 50% 이상의 소거활성을 나타내었다.

Jeong 등(2004)은 짚신나물 잎 추출물(1,000 ppm)의 DPPH radical 소거활성은 28.3%였다고 보고하였는데 본 연구에서는 93.0%로 높은 활성을 나타내었다. Rim 등(2000)은 국내 자원식물 86종을 대상으로 메탄올 추출물에 대하여 DPPH 소거활성을 측정한 결과 사방오리나무, 누리장나무, 이삭여뀌에서 높은 활성을 나타내었다고 보고하였는데, 본 연구결과와 비슷하였다. Lee 등(2004)은 소귀나무의 경우 목부, 수피, 잎 등 모든 부위의 추출물(100 ppm)이 100%의 높은 DPPH 소거활성을 나타내었고, 붉나무와 사방오리나무의 목부에서 각각 97.6%, 97.6%의 높은 DPPH 소거활성을 나타내었으며, 산뽕나무 목부에서도 100%의 높은 소거활성을 나타낸다고 보고하고 있으나 본 실험에서 산뽕나무 추출물의 소거활성은 22.9%로 낮은 효과를 보여주고 있어 다른 양상을 나타내고 있다. 또한 귀룽나무의 목부, 수피, 잎 추출물의 소거활성은 각각 97.9, 97.3, 92.7%로 나타났다고 보고하고 있는데, 본 연구에서의 소거활성인 93.3%와 유사한 경향을 나타내었다. 높은 항산화 활성은 소귀나무 수피에서는 myricitrin 성분에 의한 것이며(임업연구원, 1999), 산뽕나무에서는 resveratrol, oxyresveratrol 등의 페놀성 물질에 의한 것이며(Lee 등, 2000), 붉나무 수피에서는 methyl gallate에 의한 것(Oh 등, 2003)으로 보고하고 있다.

총페놀 함량과 항산화 활성은 서로 상관관계가 있는 것으로 알려져 있으며(Ra 등, 1997), Lee 등(2005)은 폴리페놀 함량에 비례하여 DPPH 소거활성(R^2 =0.82)이 증가하였다고 보고하였는데, 본 연구에서도 총페놀 함량과 항산화 활성 사이에 높은 상관관계(R^2 = 0.8776, Fig. 1)가 있는 것으로 판명되었다. 그런데 특이한 것은 TPC 함량이 약 180 mg GAE/g 이상에서는 거의 동일한 DPPH 소거활성을 나타내었다.

Lee 등(2002)은 포도종자 75% 에탄올 추출물과 이를 순차용매 추출하여 얻은 분획물의 페놀 화합물 함량과 전자공여작용을 측정한 결과, 페놀성 화합물의 함량이 증가할수록 전자공여작용도 함께 증가하였으며, 극성도가 높은 용매로 추출한 분획물이 페놀성 화합물 함량 및 전자공여작용이 높게 나타나는 경향을 보고하였다. 식물 추출물의 항산화 활성은 개개의 활성 phenolic 화합물과 관련이 있다고 보고하고 있으며(Djeridane 등, 2006), 약용식물로부터 얻은 flavonoids의 DPPH 소거활성은 구조 중 hydroxy group의 수와 위치가 중요한 것으로 보고되고 있다(Okawa 등, 2001).

제주도에 자생하는 여러 가지 식물을 대상으로 새로운 항산화 기능성 소재 개발을 위한 탐색 연구를 행하였는바, 항산화능이 우수한 것으로 확인된 식물은 인체 및 식품에서도 항산화제로서 지질산화의 개시와 연쇄반응을 효과적으로 차단할 것으로 생각되며, 식물 추출물 그대로 혹은 식물에 존재하는 항산화 효과가 뛰어난 폴리페놀 등의 phytochemicals를 이용한 기능성 식품, 화장품, 천연 보존료 및 의약품 등의 개발이 가능할 것으로 판단된다.

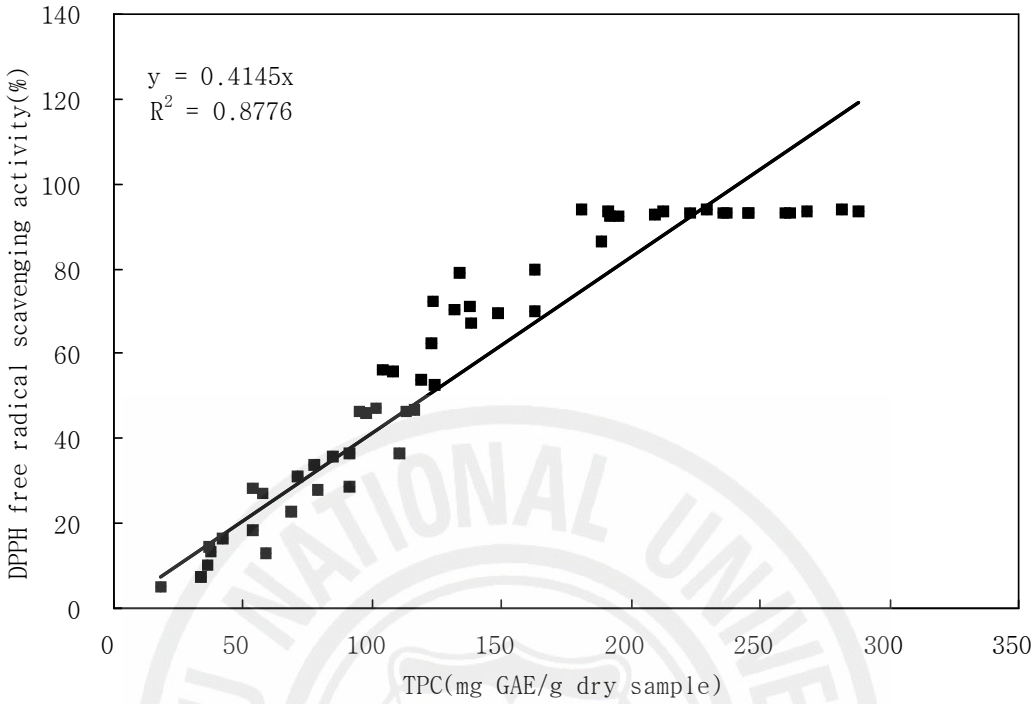

Fig. 1. Correlation between total phenolic content and free radical scavenging activity against DPPH of 70% methanol extracts from natural plants.

3) Nitric oxide(NO) 소거능

NO는 작고 불안정하며 독성이 강한 자유 유리기로서 혈관 평활근의 이완 작용뿐만 아니라 중추 말초 신경계에서도 신경정보를 전달하는 작용을 한다 (Chung 등, 2001). 긍정적 측면에서는 혈액응고 및 혈압조절기능, 암세포에 대한 면역기능 등이 알려져 있으며(Monocada와 Higgs, 1993), 부정적인 측면으로는 과량의 NO가 신체에 유해한 영향을 미치게 되어 세포손상을 초래할 뿐만 아니라 염증반응을 비롯한 뇌막염, 알츠하이머병이나 파킨스병과 같은 퇴행성 질환에 중요한 요인으로 알려져 있다(Kasckow 등, 2003).

70% 메탄올 추출물 가운데 총페놀 함량이 높고, DPPH 소거활성이 높은 20개 시료를 선정하여 NO 소거활성을 측정한 결과(Table 3), 자금우(10,000 ppm)가 60.6%로 가장 높은 소거활성을 나타내었고, 딱지꽃, 소귀나무, 석위, 산딸나무, 이삭여뀌, 귀룽나무, 붉가시나무, 멀꿀은 50% 이상의 소거활성을 나타내

었고, 된장풀, 짚신나물, 팥배나무, 비수리, 산뽕나무, 새우나무, 붉나무는 40% 이상의 소거활성을 나타내었다. 산뽕나무는 DPPH 소거활성이 22.9%로 낮은데 반하여 NO 소거활성은 43.1%로 다소 높은 활성을 보이고 있는데, 이는 같은 항산화 활성일지라도 측정방법에 따라 효과가 달라짐을 보여주고 있다. Moon 등(2003)도 항산화 효과는 측정방법에 따라 차이가 있으므로 여러가지 방법을 통하여 결과를 비교 해석하는 것이 필요하다고 보고하고 있다. 측정방법에 따른 항산화 효과에 차이를 나타내는 것은 산화과정에서 생성된 활성산소를 시료가 모두 소거할 수 있는 것이 아니라 시료에 따라 선택적으로 작용하는 산화기작이 있는 것으로 판단되고, 항산화제 개발을 위해서는 산화기작에 따른 맞춤형 항산화제의 개발이 필요하다(Kim 등, 2006).

Jagetia 등(2004)은 여러 가지 허브 추출물의 NO 소거활성을 측정한 결과 31~500 ppm 까지는 농도에 따라 22~80%로 증가하여 농도 의존적이었지만, 그 이상의 농도에서는 더 이상 활성이 증가하지 않았다고 보고하였다.

Table 3. Nitric oxide(NO) scavenging activity and xanthine oxidase(XOD) inhibition activity of 70% methanol extracts from natural plant

Plant species	NO % inhibition	XOD % inhibition
Adina rubella	38.7±0.4	44.8±3.0
Agrimonia pilosa Ledeb.	48.2±4.2	63.1±2.4
Alnus firma Sieb. et Zucc.	37.1±3.2	-
Ardisia japonica(thunberg)blume	60.6±0.8	84.9±3.1
Corchoropsis tomentosa(Thunb.) Makino	37.2±4.4	85.8±1.8
Cornus kousa Buerg.	53.7±2.9	104.3±3.3
Desmodium caudatum	49.4±3.3	62.3±2.6
Geranium nepalense ssp. thunbergii Hara	36.7±0.5	56.3±3.4
Lespedeza cuneata G. Don	46.2±2.0	68.6±2.2
Morus bombycis	43.1±3.1	41.2±1.5
Myrica rubra Sieb. et Zucc.	57.5±3.0	95.6±4.3
Ostrya japonica Sargent	43.0±1.0	82.1±2.4
Persicaria filiforme Nakai	53.3±5.7	96.4±1.9
Potentilla chinensis Seringe	59.3±0.6	59.7±4.0
Prunus padus Linne.	53.3±4.6	68.8±3.5
Pyrrosia lingua(Thunb.)Farw.	56.0±1.9	32.4±2.8
Quercus acuta Thunberg	52.2±3.0	80.2±3.4
Rhus javanica Linne	41.8±0.4	106.8±5.3
Sorbus alnifolia(Sieb. et Zucc.) K. Koch var. typica	46.9±0.5	77.0±2.4
Stauntonia hexaphylla(Thunb.) Decaisne	51.4±1.9	72.6±3.3

* values are means ± standard deviations of three replicates.

4) Xanthine oxidase(XOD) 저해활성

XOD는 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하며 urate가 혈장 내에 증가하면 골절에 축적되므로 통증을 동반하는 통풍을 일으키는 효소이다(Moon 등 2001, An 등, 1998). 따라서 XOD 저해 효과는 free radicals의 생성 억제와 더불어 생물학적으로 중요한 의의를 가진다.

70% 메탄올 추출물의 XOD 저해활성을 측정한 결과는 Table 3과 같았다. 붉나무와 산딸나무는 100%의 높은 저해활성을 나타내었고, 이삭여뀌와 소귀나무는 90% 이상을, 수까치깨, 자금우, 새우나무, 붉가시나무는 80% 이상의 저해활성을 나타내었다. 팥배나무, 멀꿀, 귀룽나무, 비수리, 짚신나물, 된장풀, 딱지꽃, 이질풀은 50% 이상의 저해활성을 나타내었다.

산사자 열수 추출물과 에탄올 추출물은 5,000 ppm에서 각각 15.2와 16.2%의 XOD 저해효과를 나타내었다(An과 Lee, 2002). 일반적으로 flavonoid류는 XOD 저해활성이 있는데, 감잎에서 추출한 탄닌(Moon 등, 2001)과 녹차에서 추출한 catechin(Yeo 등, 1995)은 XOD 저해활성이 있는 것으로 보고되었다. 식물계에 널리 존재하는 flavonoid류는 hydroxyl기의 위치에 따라 XOD 저해효과가 다르게 나타나는데, 방향족 hydroxyl기가 많을수록 저해작용이 강하게 나타난다고 보고되고 있다(Hayashi 등, 1988, An 등, 1998).

본 실험에서 이삭여뀌, 소귀나무, 짚신나물, 이질풀, 등은 XOD 저해활성이 높으면서 식용 가능하므로 통풍예방을 위한 생리활성 물질의 신소재로서 가치가 있을 것으로 추정된다.

5) Tyrosinase 저해활성

70% 메탄올 추출물(10,000 ppm)에 대하여 melanin 형성에 key enzyme으로 알려진 tyrosinase의 저해활성을 측정하였다(Table 4).

Tyrosinase 저해활성은 이삭여뀌가 93.1%로 가장 높았고, 붉나무, 사방오리나무, 소귀나무, 자금우, 짚신나물, 딱지꽃이 80% 이상의 높은 저해활성을 나타내었고, 멀꿀, 귀룽나무, 팥배나무, 붉가시나무, 수까치깨, 산뽕나무, 된장풀, 새우나무, 산딸나무, 중대가리나무, 비수리는 70% 이상의 저해활성을 나타내었으며, 이질풀, 석위, 솔비나무, 자주땅비수리, 누리장나무, 백량금은 50% 이상의 저해활성을 나타내었다.

An과 Lee(2002)는 산사자 열수 추출물과 에탄올 추출물은 30,000 ppm에서 각각 49.8과 62.4%의 tyrosinase 저해효과를 나타내었다고 보고하였다. Lee 등(2006)은 tyrosinase 저해효과가 총페놀 함량 및 항산화 효과와 상관관계가 있다고 보고하고 있으나, 본 실험에서는 tyrosinase 저해효과가 총페놀 함량(R^2 = 0.3575, Fig. 2) 및 항산화 효과(R^2 = 0.4591, Fig. 3)와 상관관계를 보이지 않았다. Kim 등(1997)과 Cho 등(2001)은 폴리페놀 중에서도 catechin류는 저해활성을 나타내지 않았고 gallocatechin이나 epicatechin류에서 높은 저해활성을 나타내었으며, dimer보다 monomer에서 저해활성이 더 우수하였다고 보고하였다.

본 연구에서 tyrosinase 저해활성은 총페놀 함량과 상관관계가 없는 것으로 나타났으나, 폴리페놀의 종류 및 그 구조와 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있으므로(Kim 등, 1997, Cho 등, 2001), tyrosinase의 저해활성이 높은 시료를 대상으로 폴리페놀의 종류 및 구조의 규명이 필요하다. 또한 tyrosinase 저해활성이 미백물질을 스크리닝하는 단계에서 중요하지만 *in vivo*에서 melanin 생성억제 효과와 반드시 일치하지 않는다는 보고(제주 건강뷰티산업 육성 심포지엄, 2005)도 있으므로, tyrosinase 저해활성 측정과 더불어 *in vivo* 실험이 병행되어야 할 것으로 예측된다.

Table 4. Tyrosinase inhibition activities of 70% methanol extracts from natural plants

Plant species	Tyrosinase % inhibition
Adina rubella	71.8±4.3
Agrimonia pilosa Ledeb.	84.4±1.8
Alnus firma Sieb. et Zucc.	85.6±2.1
Ardisia crenata Sims	51.5±4.8
Ardisia japonica(thunberg)blume	84.4±2.4
Artemisia scoparia Waldst. et Kitamura	33.4±4.1
Astragalus adsurgens Pall.	56.6±1.5
Callicarpa mollis Sieb. et Zucc.	40.5±3.6
Carpesium abrotanoides Linne	35.0±0.7
Cayratia japonica(Thunb.) Gagnep.	29.0±3.7
Clematis mandshurica Rupr.	10.8±1.6
Clerodendron trichotomum Thunberg	51.1±2.7
Corchoropsis tomentosa(Thunb.) Makino	74.3±4.0
Cornus kousa Buerg.	71.9±4.0
Corydalis pallida var. tenuis YATABE	10.7±1.9
Cudrania tricuspidata(Call.)	33.2±3.7
Cuscuta australis R. Br.	39.0±5.9
Damnacanthus indicus	10.2±3.0
Dendropanax morbifera	22.6±0.8
Desmodium caudatum	73.6±2.6
Edgeworthia papyrifera	38.5±1.8
Euonymus quelpaertensis Nakai	16.7±2.0
Euscaphis japonica(Thunb.) Kanitz	37.3±3.8
Firmiana simplex W. F. Wight	24.9±3.1
Geranium nepalense ssp. thunbergii Hara	64.3±1.8
Gynostemma pentaphyllum Makino	24.4±1.6
Ilex crenata Thunb.	36.8±4.9
Lespedeza cuneata G. Don	71.0±3.3
Maackia fauriei(Lev.) Takeda	58.3±4.3

Table 4. Continued

Plant species	Tyrosinase % inhibition
Malus sieboldii(Regel) Rehder	17.9±3.2
Morus bombycis	73.7±2.3
Myrica rubra Sieb. et Zucc.	85.5±1.4
Ostrya japonica Sargent	72.5±4.0
Patrinia scabiosaefolia Fisch.	41.9±5.6
Persicaria filiforme Nakai	93.1±0.5
Potentilla chinensis Seringe	81.2±3.5
Prunus padus Linne.	79.0±1.4
Pyrrosia lingua(Thunb.)Farw.	63.2±1.6
Pyrrosia tricuspis	35.7±4.2
Quercus acuta Thunberg	76.3±2.4
Rhus javanica Linne	89.4±0.4
Sambucus sieboldiana Bl.	26.9±3.0
Sapium japonicum Pax et Hoffm.	35.8±2.9
Scrophularia kakudensis Franchet	44.3±3.8
Sorbus alnifolia(Sieb. et Zucc.) K. Koch var. typica	76.7±0.6
Stauntonia hexaphylla(Thunb.) Decaisne	79.1±1.1
Strobilanthes oligantha Miq.	13.5±3.0
Styrax obassia SIEB et ZUCC.	21.8±2.0
Thalictrum minus var. hypoleucum Miq.	24.6±3.0
Trachelospermum asiaticum var. intermedium	39.7±3.7
Vicia unijuga	12.2±3.9
Vitex rotundifolia L. fil.	13.9±5.6
Zanthoxylum ailanthodes Sieb. et Zucc.	23.9±4.5
Zanthoxylum schinifolium Sieb.	20.6±2.9

* values are means ± standard deviations of three replicates.

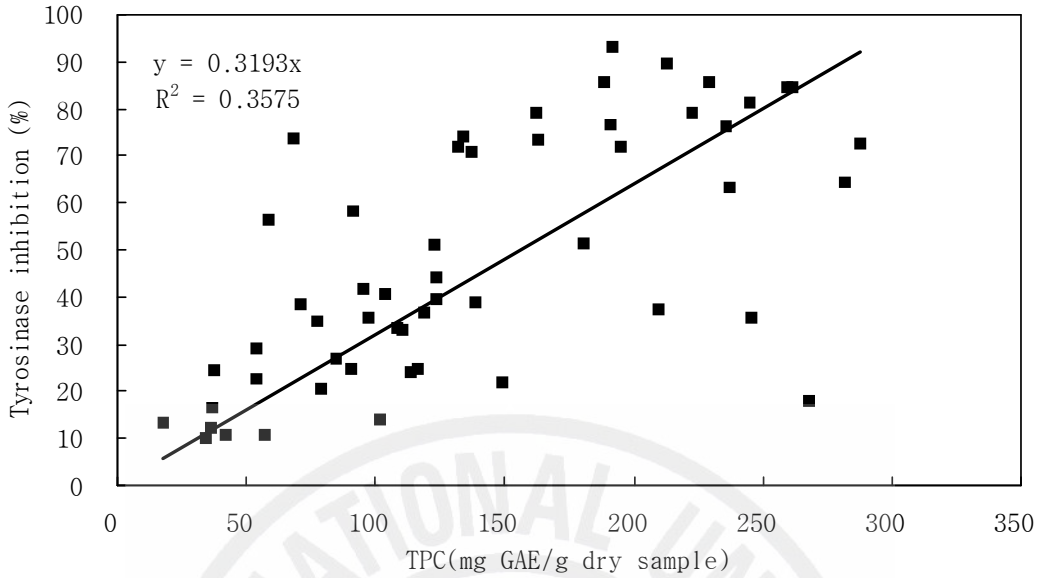

Fig. 2. Correlation between total phenolic content and tyrosinase inhibition of 70% methanol extracts from natural plants.

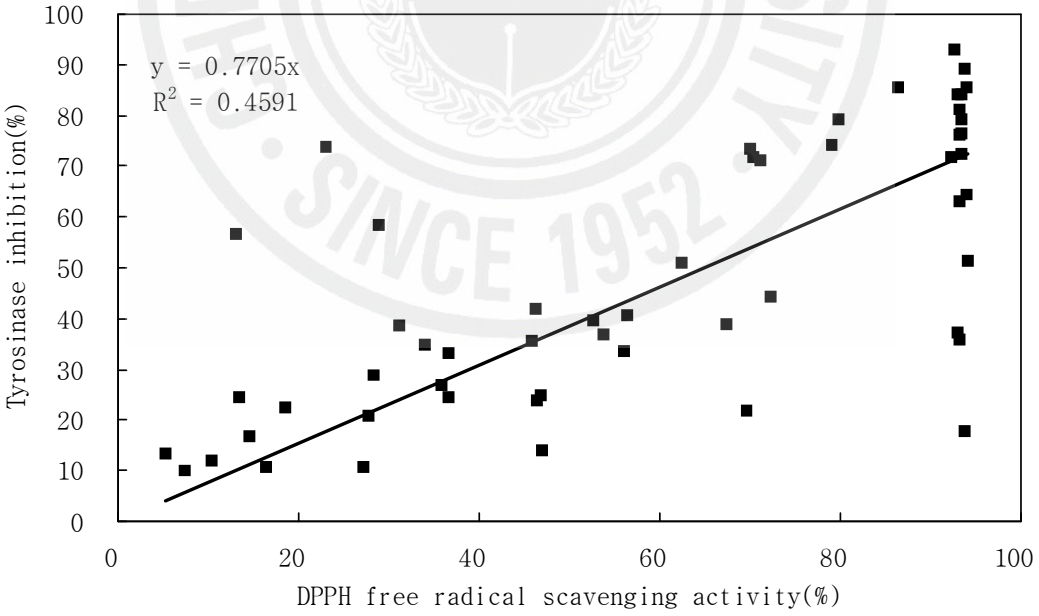

Fig. 3. Correlation between DPPH radical scavenging activity and tyrosinase inhibition of 70% methanol extracts from natural plants.

2. 고압용매 추출물의 생리활성

1) 추출수율

유기용매 추출법은 추출수율 면에서는 좋으나, 과도한 유기용매 사용으로 인간의 건강과 안전, 그리고 환경에 유해요소로 작용한다. 유기용매 사용을 최소화하는 추출방법들이 많이 개발되어 있으나, 이들 방법은 추출 효능이 좋지 않고 비용이 많이 드는 단점을 가지고 있다. Pressurized liquid extraction(PLE) 또는 accelerated solvent extraction(ASE)은 최근에 항산화 phytochemicals를 추출하는데 이용되고 있는데(Palma 등, 2001; Pineiro 등, 2004), PLE에서는 추출용제로 유기용매를 사용하여 고압과 고온에서 행함으로써 빠르고 효율적으로 추출을 할 수 있는 장점이 있다(Tsao, 2004).

제주 자생식물 54종 중 항산화 활성과 미백 효과가 높은 5개의 시료를 대상으로 고압용매 추출을 행하여 추출수율을 측정한 결과는 Table 5와 같았다. 상압 유기용매 추출법(70% 메탄올, 대기압, 상온)과 고압 유기용매 추출법(100% 메탄올, 13.6 MPa, 40℃)에 의한 추출수율은 자금우가 각각 16.8과 13.4%, 산딸나무가 각각 18.4%와 14.3%, 소귀나무가 각각 18.6과 11.6%로, 상압 유기용매 추출법이 고압 유기용매 추출법에 비해 추출수율이 다소 높은 경향을 나타내었다.

상압 유기용매 추출법은 고압 유기용매 추출법에 비하여 장기간의 추출 시간과 다량의 유기용매가 소비된다는 것을 고려한다면, 고압 유기용매 추출법이 더 간편하고 경제적이라고 추정된다. 고압 유기용매 추출방식은 성분들에 대한 용해도를 증가시키고 시료 매트릭스간의 상호작용을 감소시켜 목적 성분의 용출이 용이한 것으로 알려져 있다. 대상 식물이 추출 용매에 따라 항산화 활성과 추출수율이 차이가 나며, 항산화 물질 추출 시 추출용매로 메탄올을 많이 사용하는데, 이는 항산화 활성이 높은 극성 물질의 추출과 추출수율이 높기 때문이다(Lee 등, 1993).

Table 5. Extraction yields of natural plants by solvent extraction and pressurized liquid extraction

Plant species	Extraction yield(%)	
	Solvent extraction[1)]	PLE[2)]
Ardisia japonica blume	16.8	13.4
Cornus kousa Buerg.	18.4	14.3
Myrica rubra Sieb.	18.6	11.6
Persicaria filiforme Nakai	7.8	7.9
Rhus javanica Linne	19.9	21.8

1) 70% methanol, atmospheric pressure, room temperature.

2) pressurized liquid extraction(100% methanol, 13.6 MPa, 40℃).

2) 추출방법에 따른 DPPH 소거활성과 tyrosinase 저해활성

자생식물 4종을 대상으로 고압 유기용매 추출법과 초임계 유체 추출법을 이용하여 추출한 후 DPPH radical 소거능과 tyrosinase 저해활성을 측정하였다 (Table 6). 고압 유기용매 추출물의 DPPH 소거능은 70% 메탄올 추출물과 마찬가지로 높은 활성을 나타낸 반면, 초임계 유체 추출물은 매우 낮았다. Tyrosinase 저해활성도 고압용매 추출물은 70% 메탄올 추출물과 비슷하게 높은 활성을 나타낸 반면, 초임계 유체 추출물은 저해활성이 음의 값으로 효소활성을 촉진하는 것으로 나타났다. 이는 초임계 이산화탄소와 보조용매인 에탄올보다 고압 유기용매 추출인 경우 메탄올에 용해되는 성분들이 많으며, 고압에 의한 유효성분 용출량이 많았기 때문인 것으로 판단된다.

Table 6. DPPH and tyrosinase inhibitory activities of natural plants by solvent extraction, pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction

Plant species	Solvent extraction[1]		PLE[2]		SFE[3]	
	DPPH % inhibition	Tyrosinase % inhibition	DPPH % inhibition	Tyrosinase % inhibition	DPPH % inhibition	Tyrosinase % inhibition
Ardisia japonica blume	93.3±1.5	84.4±2.4	90.6±0.2	86.7±2.0	19.7±0.3	-9.2±8.6
Cornus kousa Buerg.	92.3±0.9	71.9±4.0	92.4±0.1	78.6±1.4	6.6±0.1	-1.3±3.8
Myrica rubra Sieb.	94.0±0.9	85.5±1.4	91.4±0.2	93.1±2.0	10.3±0.9	-7.8±8.2
Rhus javanica Linne	93.8±1.0	89.4±0.4	89.9±0.3	98.4±9.0	19.6±1.6	-13.3±3.5

1) 70% methanol, atmospheric pressure, room temperature.

2) pressurized liquid extraction(100% methanol, 13.6 MPa, 40℃).

3) supercritical fluid extraction(CO_2+ ethanol(10%), 44.2 MPa, 40℃).

* values are means ± standard deviations of three replicates.

3) 추출물의 농도에 따른 tyrosinase 저해활성

상압 유기용매 추출물과 고압 유기용매 추출물의 농도에 따른 tyrosinase 저해활성은 Table 7과 같았다. 추출물의 농도에 따라 tyrosinase 저해활성이 증가하였다. Tyrosinase 활성을 50% 감소시키는데 요하는 추출물의 농도인 IC_{50}(Table 8)은 70% 메탄올 추출물인 경우 자금우가 903 ppm으로 가장 낮았고, 소귀나무, 이삭여뀌, 붉나무, 산딸나무는 각각 974, 1,092, 1,284, 7,244 ppm을 나타내었다. 고압 유기용매 추출물의 IC_{50}은 상압 유기용매 추출물과 마찬가지로 자금우가 802 ppm으로 가장 낮았고, 소귀나무, 붉나무, 이삭여뀌, 산딸나무는 각각 959, 1,494, 3,989, 5,296 ppm을 나타내었다. 자금우, 산딸나무, 소귀나무의 경우 고압 유기용매 추출물이 상압 유기용매 추출물보다 낮은 IC_{50}을 나타내었지만, 이삭여뀌, 붉나무는 상압 유기용매 추출물에서 낮은 IC_{50}을 나타내었다. Tyrosinase 저해활성의 대조물질인 kojic acid의 IC_{50}(53 ppm)과 비교할 때 제주 자생식물의 IC_{50}은 높아 낮은tyrosinase 저해활성을 보여주고 있으나, 자생식물 추출물은 단일물질이 아니라는 점에서 tyrosinase 저해제로서 가치가 있다고 추정된다.

Tyrosinase 저해활성이 보고되어 있는 천연물로부터 분리된 화합물은 대개가 phenolic compounds로 phenyl chromone류나 flavan 3-ol류, 그 외에도 stilbene계 화합물, vanilyl alcohol류, isoflavonoid류 등이 알려져 있고, flavonol glycoside류도 저해활성 가능성이 있으므로, 자연계에 풍부하게 분포하는 각종 flavonoid류에 대한 검토가 이루어져야 한다(Lee 등, 1999).

Table 7. Tyrosinase inhibition activities of natural plants by solvent extraction and pressurized liquid extraction

Plant species	Solvent extraction[1]		PLE[2]	
	Concentration (ppm)	Tyrosinase % inhibition	Concentration (ppm)	Tyrosinase % inhibition
Ardisia japonica blume	400	22.0±1.8	536	39.7±2.1
	700	41.6±2.3	670	46.9±0.9
	1,000	52.8±2.6	893	54.0±1.6
	1,300	63.5±1.8	1,340	58.8±1.5
	1,600	68.1±2.8	2,680	78.3±1.6
Cornus kousa Buerg.	1,000	21.2±2.7	1,787	30.1±1.0
	3,000	33.1±1.1	2,383	38.8±1.4
	5,000	38.4±1.1	3,575	43.3±0.4
	7,000	49.5±2.1	7,150	65.5±2.9
	10,000	61.0±0.7	14,300	78.6±1.4
Myrica rubra Sieb.	500	36.3±1.0	464	30.4±1.8
	1,000	50.4±3.6	580	37.4±1.1
	1,500	61.2±1.5	773	41.7±1.5
	2,000	68.3±1.9	1,160	57.4±2.1
	2,500	76.1±2.4	2,320	74.7±1.0
Persicaria filiforme Nakai	500	32.3±1.7	987	10.1±1.7
	1,000	46.5±2.2	1,316	28.1±0.9
	1,500	58.7±0.4	1,975	37.0±2.6
	2,000	62.8±2.5	3,950	47.6±1.4
	2,500	69.1±1.1	7,900	64.4±2.0
Rhus javanica Linne	500	17.5±3.0	872	34.2±1.2
	1,000	38.1±1.6	1,090	41.6±1.8
	1,500	57.4±1.6	1,453	48.0±0.6
	2,000	67.0±2.2	2,180	66.1±1.6
	2,500	74.0±0.9	4,360	75.6±1.9

1) 70% methanol, atmospheric pressure, room temperature.

2) pressurized liquid extraction(100% methanol, 13.6 MPa, 40℃).

* values are means ± standard deviations of three replicates.

Table 8. IC_{50} of natural plants by solvent extraction and pressurized liquid extraction for tyrosinase inhibition activity

Plant species	IC_{50}(ppm)	
	Solvent extraction[1)]	PLE[2)]
Ardisia japonica blume	903	802
Cornus kousa Buerg.	7,244	5,296
Myrica rubra Sieb.	974	959
Persicaria filiforme Nakai	1,092	3,989
Rhus javanica Linne	1,284	1,494

1) 70% methanol, atmospheric pressure, room temperature.

2) pressurized liquid extraction(100% methanol, 13.6 MPa, 40℃).

4) 추출물의 농도에 따른 elastase 저해활성

상압 유기용매 추출물과 고압 유기용매 추출물을 대상으로, 피부 각질층의 엘라스틴을 분해하여 피부의 탄력성을 소실시켜 피부의 노화를 일으키는 elastase의 저해활성을 측정하였다(Table 9). 추출물의 농도에 따라 elastase 저해활성이 증가하였다. Elastase 활성을 50% 저해하는데 요하는 추출물의 농도인 IC_{50}(Table 10)은 70% 메탄올 추출물인 경우 자금우가 42 ppm으로 가장 낮았고, 붉나무, 소귀나무, 이삭여뀌, 산딸나무가 각각 57, 69, 88, 302 ppm을 나타내었고, 고압 유기용매 추출물은 소귀나무가 66 ppm으로 가장 낮았고, 자금우, 붉나무, 산딸나무, 이삭여뀌가 각각 88, 100, 170, 282 ppm을 나타내었다. Elastase 저해활성은 70% methanol 추출물이 고압 유기용매 추출물에 비하여 다소 높은 경향을 나타내었다.

Kim 등(2002)은 주목 추출물의 elastase 저해 효과를 측정한 결과 줄기, 잎, 씨앗 추출물에서 각각 23.5, 13.7, 66.0%로, 줄기와 잎보다 씨앗 추출물에서 저해효과가 높았다고 보고하였다.

한편 tyrosinase 활성 저해농도보다 10배 이상 훨씬 낮은 농도에서 elastase 저해활성을 보이고 있으며, 자금우, 산딸나무, 소귀나무, 이삭여뀌, 붉나무는 항산화 활성은 물론 피부 미백과 주름개선에 우수한 효과를 나타내고 있으

므로 기능성 화장품 소재로 이용 가능성이 높을 것으로 추정된다.

Table 9. Elastase inhibition activities of natural plants by solvent extraction and pressurized liquid extraction

Plant species	Solvent extraction[1]		PLE[2]	
	Concentration (ppm)	Elastase % inhibition	Concentration (ppm)	Elastase % inhibition
Ardisia japonica blume	20	20.2±4.4	44	18.8±3.6
	40	44.9±3.1	53	29.1±0.4
	60	62.3±3.3	67	37.8±1.3
	80	70.3±4.8	89	50.6±2.7
	100	72.4±0.4	134	64.5±4.1
Cornus kousa Buerg.	100	27.2±3.6	71	21.2±2.3
	200	38.7±2.9	89	30.4±3.7
	300	48.4±1.9	119	33.9±3.8
	400	62.9±4.8	178	58.9±4.2
	500	67.6±4.8	357	68.2±1.7
Myrica rubra Sieb.	20	5.4±1.7	38	19.5±2.6
	40	25.0±1.3	46	35.7±3.6
	60	48.6±2.1	58	43.7±3.2
	80	52.5±5.5	77	53.9±3.2
	100	70.9±1.3	116	71.8±2.7
Persicaria filiforme Nakai	20	18.4±3.4	158	24.7±3.8
	40	24.1±1.2	197	34.8±3.8
	60	36.7±2.4	263	45.3±3.9
	80	45.9±4.7	395	69.1±2.3
	100	56.2±1.7	790	77.9±3.3
Rhus javanica Linne	20	13.1±4.3	72	28.0±1.6
	40	37.7±3.6	87	41.2±3.5
	60	55.3±2.7	109	55.6±1.5
	80	58.1±3.5	145	59.9±4.2
	100	68.7±0.4	218	67.1±2.2

1) 70% methanol, atmospheric pressure, room temperature.

2) pressurized liquid extraction(100% methanol, 13.6 MPa, 40℃).

* values are means ± standard deviations of three replicates.

Table 10. IC_{50} of natural plants by solvent extraction and pressurized liquid extraction for elastase inhibition activity

Plant species	IC_{50}(ppm)	
	Solvent extraction[1)]	PLE[2)]
Ardisia japonica blume	42	88
Cornus kousa Buerg.	302	170
Myrica rubra Sieb.	69	66
Persicaria filiforme Nakai	88	282
Rhus javanica Linne	57	100

1) 70% methanol, atmospheric pressure, room temperature.

2) pressurized liquid extraction(100% methanol, 13.6 MPa, 40℃).

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

Ⅳ 요약

제주 자생식물 54종을 대상으로 상압 유기용매(70% 메탄올, 대기압, 상온)와 고압 유기용매(100% 메탄올, 13.6 MPa, 40℃)로 추출하여 총페놀 함량, DPPH radical과 nitric oxide(NO) 소거능, xanthine oxidase(XOD), tyrosinase 및 elastase 저해활성을 측정하여 자생식물 추출물의 항산화 활성 및 화장품 기능성을 검정하였다.

70% 메탄올 추출물의 총페놀 함량은 새우나무가 287.9 mg GAE/g로 가장 높았고, 이질풀, 아그배나무, 자금우, 짚신나물, 사람주나무가 각각 281.8 268.0, 261.6, 259.6, 245.6 mg GAE/g을 나타내었고, 딱지꽃, 석위, 붉가시나무, 소귀나무, 귀룽나무, 붉나무, 말오줌때 등도 200 mg GAE/g 이상의 높은 함량을 나타내었다. DPPH radical 소거활성은 백량금이 94.1%로 가장 높았고, 소귀나무, 이질풀, 붉나무, 아그배나무, 새우나무, 팥배나무, 자금우, 귀룽나무, 석위, 붉가시나무, 딱지꽃, 사람주나무, 짚신나물, 말오줌때, 이삭여뀌, 산딸나무가 90% 이상으로 높은 활성을 나타내었다. 총페놀 함량에 비례하여 항산화 활성이 증가하는 상관관계(R^2 = 0.8776)를 나타내었다. NO 소거활성은 자금우가 60.6%로 가장 높았고, 딱지꽃, 소귀나무, 석위, 산딸나무, 이삭여뀌, 귀룽나무, 붉가시나무, 멀꿀은 50% 이상의 소거활성을 나타내었다. XOD 저해활성은 붉나무와 산딸나무가 100%로 가장 높았고, 이삭여뀌와 소귀나무는 90% 이상을, 수까치깨, 자금우, 새우나무, 붉가시나무는 80% 이상의 저해활성을 나타내었다. Tyrosinase 저해활성은 이삭여뀌가 93.1%로 가장 높았고, 붉나무, 사방오리나무, 소귀나무, 자금우, 짚신나물, 딱지꽃이 80% 이상의 높은 활성을 나타내었다.

고압 유기용매 추출물의 tyrosinase 저해활성에 대한 IC_{50}은 자금우가 802 ppm으로 가장 낮았고, 그 다음이 소귀나무(959 ppm), 붉나무(1,494pm), 이삭여뀌(3,989 ppm), 산딸나무(5,296 ppm) 순이었다. 상압 유기용매(70% 메탄올) 추출물의 tyrosinase 저해활성에 대한 IC_{50}은 자금우가 903 ppm으로 가장 낮았고, 그 다음이 소귀나무(974 ppm), 이삭여뀌(1,092 ppm), 붉나무(1,284 ppm), 산딸

나무(7,244 ppm) 순이었다. 고압 유기용매 추출물의 elastase 저해활성에 대한 IC_{50}은 소귀나무가 66 ppm으로 가장 낮았고, 그 다음이 자금우(88 ppm), 붉나무(100 ppm), 산딸나무(170 ppm), 이삭여뀌(282 ppm) 순이었다. 70% methanol 추출물의 elastase 저해활성에 대한 IC_{50}은 자금우가 42 ppm으로 가장 낮았고, 그 다음이 붉나무(57 ppm), 소귀나무(69 ppm), 이삭여뀌(88 ppm), 산딸나무(302 ppm) 순이었다.

JEJU NATIONAL UNIVERSITY · SINCE 1952 · 제주대

참고문헌

An BJ, Lee JT. 2002. Studies on biological activity from extract of *Crataegi fructus*. *Kor J Herbology* 17: 29-38.

An BJ, Lee JT, Bea MJ. 1998. Isolation of a novel polyphenol from Oolong tea and its effective prevention of the gout. *Korean J Food Sci Technol 30: 970-975.*

Baylac S, Racine P. 2004. Inhibition of human leukocyte elastase by natural fragrant extracts of aromatic plants. *Int J Aromatherapy* 14: 179-182.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss Technol* 28: 25-30.

Chi HY, Kim KH, Kong WS, Kim SL, Kim JA, Chung IM, Kim JT. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of *P. eryngii spp.* extracts. *Korean J Crop Sci* 50: 216-219

Cho SM, Kim JH, Lee MW. 2001. Inhibitory effects of tannins on tyrosinase activity. *Kor J Pharmacogn* 32: 68-71.

Cho WG. 1998. Cosmeceuticals in skin care. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 24: 40-79.

Choe SY, Yang KH. 1982. Toxicological studies of antioxidants, butylated

hydrotoluene(BHT) and butylated hydroxy anisole(BHA). *Korean J Food Sci Technol* 14: 283-288.

Choi DY, Ahn SY, Lee SG, Han JS, Kim EC, Lee HB, Shin JH, Kim EK, Row KH. 2004. Separation and performance test of whitening agent in *Rhodiola Sachalinensis. Korean J Biotechnol Bioeng* 19: 169-173.

Chung HT, Pae HO, Choi BM, Billiar TR, Kim YM. 2001. Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochem Biophys Rescommum* 282:1075-1079.

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem* 97: 654-660.

Hayashi T, Sawa K, Kawasaki M, Arisawa M, Shimizu M, Morita N. 1988. Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *J Natural Products* 51: 345-348

Jagetia GC, Rao SK, Baliga MS, Babu KS. 2004. The evaluation of nitric oxide scavenging activity of certain herbal formulations in vitro: a preliminary study. *Phytother Res* 18: 561-565.

장경희, 노석선. 2004. 미백효과가 있는 천연물에 대한 고찰. 대전대학교 한의학 연구소 논문집.

제주 건강.뷰티산업 육성 심포지엄. 2005. 화장품신문.

Jeong SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baeg NI. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl*

Biol Chem 47: 135-140.

Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DS. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.

Kang IH, Cha JH, Han JH, Lee SW, Kim HJ, Kwon SH, Ham IH, Hwang BS, Whang WK. 2005. Isolation of anti-oxidant from domestic *Crataegus pinnatifida* Bunge leaves. *Kor J Pharmacogn* 36: 121-128.

Kasckow JW, Aguilera G, Mulchahey JJ, Sheriff S, Herma JP. 2003. In vitro regulation of corticotropin-releasing hormone. *Life Sciences* 73: 769-781.

Kim CJ, Kang BH, Ryoo IJ, Park DJ, Lee HS, Kim YH, Yoo DI. 1996. Screening of biologically active compounds from various weeds. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 39: 409-413.

Kim EC, Ahn SY, Hong ES, Li GH, Kim EK, Row KH. 2005. Extraction of whitening agents from natural plants and whitening effect. *J Korean Ind Eng Chem* 16: 348-353.

Kim JY, Lee JA, Yoon WJ, Oh DJ, Jung YH, Lee WJ, Park SY. 2006. Antioxidative and antimicrobial activities of *Euphorbia jolkini* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 38: 699-706.

Kim IY, Lee KJ, Jung SW, Lee JD, Lyoo HC, Zhoh CK. 2002. A study on the effects of *Taxus* extracts in cosmetic industry. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 28:80-89.

Kim JK, Cha WS, Park JH, Oh SL, Cho YJ, Chun SS, Choi C. 1997.

Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J Food Sci Technol* 29: 173-177.

김종평. 1998. 천연 항산화제 개발연구. 생물산업 11: 6-14.

Kim KT, Kim JG, Park SH, Lee JH, Lee SH, Kim KH, Park SN. 2004. Anti-melanogenesis effect of phenolic compounds isolated from *Gastrodia elata*. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 30: 33-38.

Kim SK, Ban SY, Kim JS, Chung SK. 2005. Change of antioxidant activity and antioxidant compounds in *Saururus chinensis* by extraction conditions. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 89-92.

Kubo I, Kinst-Hori I. 1998. Tyrosinase inhibitors from cumin. *J Agric Food Chem* 46: 5338-5341.

Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. 2001. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from *Bamboo(Phyllostachys edulis)*. *J Agric Food Chem* 49: 4646-4655.

이한영. 2004. 천연물 화장품. 한국생물공학회. 생물공학 News p 36-41.

Lee SH, Kim SY, Kim JJ, Jang TS, Chung SY. 1999. The isolation of the inhibitory constituents on melanin polymer formation from the leaves of *Cercis chinensis*. *Kor J Pharmacogn* 30: 397-403.

Lee SJ, Park DW, Jang HG, Kim CY, Park YS, Kim TC, Heo BG. 2006. Total phenol content, electron donating ability, and tyrosinase inhibition activity of pear cut branch extract. *Kor J Hort Sci Technol* 24: 338-341.

Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.

Lee SS, Lee HJ, Choi DH. 2000. Studies on biological activity of wood extractives(Ⅲ)-on the phenolic compounds isolated from heartwood of *M. bombycis*. *Mokchae Konghak* 28: 42-48.

Lee SS, Lee HJ, Choi DH. 2004. Studies on biological activity of wood extractives(XV)-antimicrobial and antioxidative activities of extracts from diverse families. *Mokchae Konghak* 32: 8-17.

Lee YC, Hwang HJ, Oh SS. 2002. Antioxidative properties of grape seeds extract. *Food Eng Prog* 6: 165-171.

Lee YJ, Shin DH, Chang YS, Kang WS, 1993. Antioxidative effect of *us javanica Linne* extract by various solvents. *Korean J Food Sci Technol* 25: 677-682.

임업연구원. 1999. 임산추출물의 살균 및 항산화물질 탐색. 1999년도 임원연구사업보고서(5-Ⅱ).

Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT, Packer L. 1994. The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract EGb 761. *Biochem Biophys Res Comm* 201: 748-755.

Monocada S, Higgs A. 1993. L-arginine nitric oxide pathway. *NEng J Med* 329: 2002-2012.

Moon GS, Kwon TW, Ryu SH. 2003. Comparison of antioxidative activities of soybean components by different assays. *Korea Soybean Digest* 20: 28-36.

Moon SH, Lee MK. 2001. Inhibitory effects of xanthine oxidase by boiled water extract and tannin from persimmon leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 3: 354-357.

Oh JY, Choi U, Kim YS, Shin DH. 2003. Isolation and identification of antioxidative components from bark of *Rhus javanica* Linne. *Korean J Food Sci Technol* 35: 726-732.

Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. 2001. DPPH radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biological Pharmaceutical Bulletin* 24: 1202-1205.

박창걸, 이상필, 손은수. 2002. 기능성화장품. 한국과학기술정보연구원.

Palma M, Pineiro Z, Barroso CG. 2001. Stability of phenolic compounds during extraction with superheated solvents. *J Chromatography A* 921: 169-174.

Park SN. 1997. Skin aging and Antioxidants. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 23: 1226-2587.

Peschel W, Sanchez-Rabaneda F, Diekmann W, Plescher A, Gartzia I, Jimenez D, Lamuela-Raventos R, Buxaderas S, Codina C. 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable

and fruit wastes. *Food Chem* 97: 137-150.

Pineiro Z, Palma M, Barroso CG. 2004. Determination of catechins by means of extraction with pressurized liquids. *J Chromatography A* 1026: 19-23.

Pratt DE, Huang MT, Ho ST, Lee CY. 1992. Phenolic Compounds in Food and their Effects on Health(Ⅱ), Antioxidants and Cancer Prevention, Washington DC. p 54-71.

Ra KS, Suh HJ, Chung SH, Son JY. 1997. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *Korean J Food Sci Technol* 29: 595-600.

Rim YS, Park YM, Park MS, Kim KY, Kim MJ, Choi YH. 2000. Screening of antioxidants and antimicrobial activity in native plants. *Kor J Medicinal Crop Sci* 8: 342-350.

Tsao R, Deng Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J Chromatography B*. 812: 85-99.

Yamauchi R, Mukouyama D, Yamaguchi K. 2000. Screening of inhibitory activities for elastase and collagenase in the edible parts of fish and shellfish. *Fish Sci* 66: 798-800.

Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. 1995. Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tae, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 154-159.

유익동. 2002. 항산화 기능성 천연 생명공학소재 기술개발. 생물산업 15:42-46.

감사의 글

홀로 걸어야하는 길에서 홀로 있다는 외로움보다 뭔가를 하고 있다는 사실만으로도 행복함을 느끼게 됩니다.

먼저 부족한 저에게 끊임없는 관심으로 배움의 희망과, 배움의 의미를 알게 해주신 임상빈 교수님께 진심으로 감사드립니다. 논문이 나오기까지 격려를 아끼지 않으신 김수현 교수님, 고영환 교수님께 감사드리며, 송대진 교수님, 강영주 교수님, 하진환 교수님께도 감사의 말씀을 전합니다.

물가에 내놓은 아이를 걱정하시듯 저를 걱정하고 격려해주셨던 좌미경 선생님께 감사드리고, 그 어느 정상에선가 만나자던 성근오빠, 그리고 분리공정 실험실 선배님, 후배님들께도 감사의 말씀 전합니다.

점심 도시락에 커피한잔의 여유를 함께 즐겼던 호정선생님, 대학원 선배님, 그리고 시료채취에 도움을 주신 김지훈 선생님께도 감사드립니다.

논문을 쓰는 동안 부식당번에서 고민상담사까지 해주었던 미진, 할 수 있다고 용기를 준 정희, 미금, 성희, 성미, 지희, 은미, 지연, 영심, 미란, 재한, 성훈, 수형, 은재, 수현, 원석, 정한오빠, 그리고 지연간사님께 고마움을 전합니다.

교생실습의 추억에서 맺은 인연으로 어려움을 함께했던 재연, 미경, 경하, 문종오빠에게도 감사드립니다.

스물다섯 끝자락에서 논문 마지막 페이지인 감사의 말씀을 쓰게 해주신 또 다른 주인공 사랑하는 나의 부모님께 진심으로 감사드리며, 밤늦은 귀가에 부모님보다 더 쌍심지 켜고 잔소리했던 오빠와 우리집 복덩이 동생 태우에게 고마움을 전합니다.